

Ministère de l'Enseignement
Supérieur et de la Recherche
Scientifique

République du Mali
Un Peuple - Un But - Une Foi



Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-stomatologie

Année académique : 2010-2011

N° 47

Thèse

*Contribution à l'étude de la résistance des
Enterobacteriaceae aux antibiotiques par
production de β -lactamases au Centre Charles
Mérieux de Bamako*

Présentée et soutenue publiquement le .../.../2011 devant la faculté
de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

Diakaria KONATE

Pour obtenir le Grade de Docteur en Pharmacie
(DIPLOME D'ETAT)

Jury

Président :	Pr. Boubacar	Sidiki CISSE
Membres :	Pr. Sounkalo	DAO
	Dr. Daniel	YALCOUYE
Co-directeur :	Dr. Nagirou	DJIBO
Directeur :	Pr. Flabou	BOUGOUDOGO

FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE
ANNEE UNIVERSITAIRE 2010 - 2011

ADMINISTRATION

DOYEN : ANATOLE TOUNKARA - PROFESSEUR
1^{er} ASSESSEUR : BOUBACAR TRAORE - MAITRE DE CONFERENCES
2^{eme} ASSESSEUR : IBRAHIM I. MAIGA - MAITRE DE CONFERENCES
SECRETAIRE PRINCIPAL : IDRISSE AHMADOU CISSE - MAITRE -ASSISTANT
AGENT COMPTABLE : MADAME COULIBALY FATOUMATA TALL - CONTROLEUR DES FINANCES

LES PROFESSEURS HONORAIRES

Mr Alou BA	Ophtalmologie
Mr Bocar SALL	Orthopédie Traumatologie - Secourisme
Mr Yaya FOFANA	Hématologie
Mr Mamadou L. TRAORE	Chirurgie Générale
Mr Balla COULIBALY	Pédiatrie
Mr Mamadou DEMBELE	Chirurgie Générale
Mr Mamadou KOUMARE	Pharmacognosie
Mr Ali Nouhoum DIALLO	Médecine interne
Mr Aly GUINDO	Gastro-Entérologie
Mr Mamadou M. KEITA	Pédiatrie
Mr Siné BAYO	Anatomie-Pathologie-Histoembryologie
Mr Sidi Yaya SIMAGA	Santé Publique
Mr Abdoulaye Ag RHALY	Médecine Interne
Mr Boulkassoum HAIDARA	Législation
Mr Boubacar Sidiki CISSE	Toxicologie
Mr Massa SANOGO	Chimie Analytique
Mr Sambou SOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Sanoussi KONATE	Santé Publique
Mr Abdou Alassane TOURE	Orthopédie - Traumatologie
Mr Daouda DIALLO	Chimie Générale & Minérale
Mr Issa TRAORE	Radiologie
Mr Mamadou K. TOURE	Cardiologie -
Mme SY Assitan SOW	Gynéco-Obstétrique
Mr Salif DIAKITE	Gynéco-Obstétrique

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT PAR D.E.R. & PAR GRADE

D.E.R. CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdel Karim KOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Kalilou OUATTARA	Urologie
Mr Amadou DOLO	Gynéco Obstétrique
Mr Alhousseini Ag MOHAMED	O.R.L.
Mr Djibril SANGARE	Chirurgie Générale
Mr Abdel Kader TRAORE Dit DIOP	Chirurgie Générale, Chef de D.E.R
Mr Gangaly DIALLO	Chirurgie Viscérale
Mme TRAORE J. THOMAS	Ophtalmologie

2. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Abdoulaye DIALLO	Ophtalmologie
Mr. Mamadou TRAORE	Gynéco-Obstétrique
Mr Filifing SISSOKO	Chirurgie Générale
Mr Sékou SIDIBE	Orthopédie. Traumatologie
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie - Réanimation
Mr Tiéman COULIBALY	Orthopédie Traumatologie
Mr Mamadou L. DIOMBANA	Stomatologie
Mr Nouhoum ONGOIBA	Anatomie & Chirurgie Générale
Mr Sadio YENA	Chirurgie Thoracique
Mr Youssouf COULIBALY	Anesthésie - Réanimation
Mr Zimogo Zié SANOGO	Chirurgie Générale
Mr Mohamed KEITA	ORL

Mr Mady MACALOU
Mme TOGOLA Fanta KONIPO
Mr Ibrahim ALWATA
Mr Sanoussi BAMANI
Mr Tiemoko D. COULIBALY
Mme Diénéba DOUMBIA
Mr Bouraïma MAIGA
Mr Niani MOUNKORO
Mr Zanafon OUATTARA
Mr Adama SANGARE
Mr Aly TEMBELY
Mr Samba Karim TIMBO
Mr Souleymane TOGORA
Mr Lamine TRAORE

Orthopédie/Traumatologie
ORL
Orthopédie - Traumatologie
Ophtalmologie
Odontologie
Anesthésie/Réanimation
Gynéco/Obstétrique
Gynécologie/Obstétrique
Urologie
Orthopédie - Traumatologie
Urologie
ORL
Odontologie
Ophtalmologie

3. MAITRES ASSISTANTS

Mr Issa DIARRA
Mr Youssouf SOW
Mr Djibo Mahamane DIANGO
Mr Moustapha TOURE
Mr Mamadou DIARRA
Mr Boubacary GUINDO
Mr Moussa Abdoulaye OUATTARA
Mr Birama TOGOLA
Mr Bréhima COULIBALY
Mr Adama Konoba KOITA
Mr Adégné TOGO
Mr Lassana KANTE
Mr Mamby KEITA
Mr Hamady TRAORE
Mme KEITA Fatoumata SYLLA
Mr Drissa KANIKOMO
Mme Kadiatou SINGARE
Mr Nouhoum DIANI
Mr Aladji Seïdou DEMBELE
Mr Ibrahima TEGUETE
Mr Youssouf TRAORE
Mr Lamine Mamadou DIAKITE
Mme Fadima Koréïssy TALL
Mr Mohamed KEITA
Mr Broulaye Massoulé SAMAKE
Mr Yacaria COULIBALY
Mr Seydou TOGO
Mr Tioukany THERA
Mr Oumar DIALLO
Mr Boubacar BA
Mme Assiatou SIMAGA
Mr Seydou BAKAYOKO
Mr Sidi Mohamed COULIBALY
Mr Adama GUINDO
Mme Fatimata KONANDJI
Mr Hamidou Baba SACKO
Mr Siaka SOUMAORO
Mr Honoré Jean Gabriel BERTHE
Mr Drissa TRAORE
Mr Bakary Tientigui DEMBELE
Mr Koniba KEITA
Mr Sidiki KEITA
Mr Soumaïla KEITA
Mr Alhassane TRAORE

Gynéco-Obstétrique
Chirurgie Générale
Anesthésie-réanimation
Gynécologie
Ophtalmologie
ORL
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Chirurgie Pédiatrique
Odonto-Stomatologie
Ophtalmologie
Neuro Chirurgie
ORL-Rhino-Laryngologie
Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Gynécologie/Obstétrique
Gynécologie/Obstétrique
Urologie
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Chirurgie Thoracique et Cardio Vasculaire
Gynécologie
Neurochirurgie
Odontostomatologie
Ophtalmologie
Ophtalmologie
Ophtalmologie
Ophtalmologie
Ophtalmologie
ORL
ORL
Urologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale

D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS

Mr Amadou DIALLO
Mr Moussa HARAMA
Mr Ogobara DOUMBO
Mr Yénimégué Albert DEMBELE
Mr Anatole TOUNKARA
Mr Bakary M. CISSE
Mr Abdourahamane S. MAIGA
Mr Adama DIARRA
Mr Mamadou KONE
Mr Sékou F.M. TRAORE
Mr Mamady KANE

Biologie
Chimie Organique
Parasitologie – Mycologie
Chimie Organique
Immunologie
Biochimie
Parasitologie
Physiologie
Physiologie
Entomologie Médicale
Radiologie

2. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Amadou TOURE
Mr Flabou BOUGOUDOGO
Mr Amagana DOLO
Mr Mahamadou CISSE
Mr Abdoulaye DABO
Mr Ibrahim I. MAIGA
Mr Mahamadou A. THERA
Mr Moussa Issa DIARRA
Mr Mouctar DIALLO
Mr Djibril SANGARE
Mr Boubacar TRAORE
Mr Mounirou BABY
Mr Guimogo DOLO
Mr Kaourou DOUCOURE
Mr Lassana DOUMBIA
Mr Abdoulaye TOURE
Mr Cheik Bougadari TRAORE
Mr Souleymane DIALLO

Histoembryologie
Bactériologie-Virologie
Parasitologie **Chef de D.E.R.**
Biologie
Malacologie, Biologie Animale
Bactériologie – Virologie
Parasitologie -Mycologie
Biophysique
Biologie Parasitologie
Entomologie Moléculaire Médicale
Parasitologie Mycologie
Hématologie
Entomologie Moléculaire Médicale
Biologie
Chimie Organique
Entomologie Moléculaire Médicale
Anatomie-Pathologie
Bactériologie-Virologie

3. MAITRES ASSISTANTS

Mr Bouréma KOURIBA
Mr Mahamadou DIAKITE
Mr Bakarou KAMATE
Mr Bakary MAIGA
Mr Bokary Y. SACKO

Immunologie
Immunologie – Génétique
Anatomie Pathologie
Immunologie
Biochimie

4. ASSISTANTS

Mr Mamadou BA
Mr Moussa FANE
Mr Blaise DACKOUCO
Mr Aldiouma GUINDO
Mr Boubacar Ali TOURE
Mr Issa KONATE
Mr Moussa KONE
Mr Hama Abdoulaye DIALLO
Mr Seydina Aboubacar Samba DIAKITE
Mr Mamoudou MAIGA
Mr Samba Adama SANGARE
Mr Oumar GUINDO
Mr Seydou Sassou COULIBALY
Mr Harouna BAMBA
Mr Sidi Boula SISSOKO
Mr Bréhima DIAKITE
Mr Yaya KASSOUCHE
Mme Safiatou NIARE
Mr Abdoulaye KONE
Mr Bamodi SIMAGA
Mr Klétigui Casmir DEMBELE
Mr Yaya GOITA

Biologie, Parasitologie Entomologie Médicale
Parasitologie Entomologie
Chimie Analytique
Hématologie
Hématologie
Chimie Organique
Chimie Organique
Immunologie
Immunologie
Bactériologie
Bactériologie
Biochimie
Biochimie
Anatomie Pathologie
Hysto-Embryologie
Génétique
Génétique
Parasitologie
Parasitologie
Physiologie
Biochimie Clinique
Biochimie Clinique

D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1. PROFESSEURS

Mr Mahamane MAIGA	Néphrologie
Mr Baba KOUMARE	Psychiatrie
Mr Moussa TRAORE	Neurologie
Mr Hamar A. TRAORE	Médecine Interne
Mr Dapa Aly DIALLO	Hématologie
Mr Moussa Y. MAIGA	Gastro-entérologie – Hépatologie
Mr Somita KEITA	Dermato-Léprologie
Mr Boubakar DIALLO	Cardiologie
Mr Toumani SIDIBE	Pédiatrie

2. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Abdel Kader TRAORE	Médecine Interne
Mr Siaka SIDIBE	Radiologie
Mr Mamadou DEMBELE	Médecine Interne
Mr Saharé FONGORO	Néphrologie
Mr Bakoroba COULIBALY	Psychiatrie
Mr Bou DIAKITE	Psychiatrie
Mr Bougouzié SANOGO	Gastro-entérologie
Mme SIDIBE Assa TRAORE	Endocrinologie
Mr Adama D. KEITA	Radiologie, Chef de DER
Mr Sounkalo DAO	Maladies Infectieuses
Mme TRAORE Mariam SYLLA	Pédiatrie
Mr Daouda K. MINTA	Maladies Infectieuses
Mr Souleymane DIALLO	Pneumologie
Mr Seydou DIAKITE	Cardiologie
Mr Mahamadou TOURE	Radiologie
Mr Idrissa Ah. CISSE	Rhumatologie/Dermatologie
Mr Mamadou B. DIARRA	Cardiologie
Mr Moussa T. DIARRA	Hépat. Gastro-Entérologie
Mme Habibatou DIAWARA	Dermatologie
Mr Cheick Oumar GUINTO	Neurologie
Mr Anselme KONATE	Hépat. Gastro-Entérologie
Mr Kassoum SANOGO	Cardiologie
Mr Boubacar TOGO	Pédiatrie
Mr Arouna TOGORA	Psychiatrie
Mr Souleymane COULIBALY	Psychologie

3. MAITRES ASSISTANTS

Mme KAYA Assétou SOUCKO	Médecine Interne
Mr Mahamadoun GUINDO	Radiologie
Mr Ousmane FAYE	Dermatologie
Mr Yacouba TOLOBA	Pneumo-Phtisiologie
Mme Fatoumata DICKO	Pédiatrie
Mr Boubacar DIALLO	Médecine Interne
Mr Youssoufa Mamoudou MAIGA	Neurologie
Mr Modibo SISSOKO	Psychiatrie
Mr Ilo Bella DIALL	Cardiologie
Mr Mahamadou DIALLO	Radiologie
Mr Adama Aguisa DICKO	Dermatologie
Mr Abdoul Aziz DIAKITE	Pédiatrie
Mr Boubacar dit Fassara SISSOKO	Pneumologie
Mr Salia COULIBALY	Radiologie
Mr Ichaka MENTA	Cardiologie
Mr Souleymane COULIBALY	Cardiologie
Mr Japhet Pobanou THERA	Médecine Légale/Ophthalmologie

4. Assistants

Mr Drissa TRAORE	Anatomie
------------------	----------

D.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEURS

Mr Gaoussou KANOUTE	Chimie analytique
Mr Ousmane DOUMBIA	Pharmacie Chimique
Mr Elimane MARIKO	Pharmacologie, Chef de D.E.R.

2. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Drissa DIALLO	Matières Médicales
Mr Alou KEITA	Galénique
Mr Benoît Yaranga KOUMARE	Chimie Analytique
Mr Ababácar I. MAÏGA	Toxicologie
Mme Rokia SANOGO	Pharmacognosie
Mr Saïbou MAÏGA	Législation

3. MAITRES ASSISTANTS

Mr Yaya KANE	Galénique
Mr Ousmane KOITA	Parasitologie Moléculaire
Mr Yaya COULIBALY	Législation
Mr Abdoulaye DJIMDE	Microbiologie-Immunologie
Mr Sékou BAH	Pharmacologie
Mr Loséni BENGALY	Pharmacie Hospitalière

4. ASSISTANT

Mr Aboubacar Alassane Oumar	Pharmacologie Clinique
Mr Sanou Khô COULIBALY	Toxicologie
Mr Tidiane DIALLO	Toxicologie
Mr Bourama TRAORE	Législation
Mr Mr Issa COULIBALY	Gestion
Mr Mahamadou TANDIA	Chimie Analytique
Mr Madani MARIKO	Chimie Analytique
Mr Mody CISSE	Chimie Thérapeutique
Mr Ousmane DEMBELE	Chimie Thérapeutique
Mr Hamma Boubacar MAÏGA	Galénique
Mr Bacary Moussa CISSE	Galénique
Mr Adama DENOUE	Pharmacognosie
Mr Mahamane HAIDARA	Pharmacognosie
Mr Hamadoun Abba TOURE	Bromatologie
Mr Balla Fatoma COULIBALY	Pharmacie Hospitalière

D.E.R. DE SANTE PUBLIQUE

1. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Mamadou Souncalo TRAORE	Santé Publique, Chef de D.E.R.
Mr Jean TESTA	Santé Publique
Mr Massambou SACKO	Santé Publique
Mr Alassane A. DICKO	Santé Publique
Mr Seydou DOUMBIA	Epidémiologie
Mr Samba DIOP	Anthropologie Médicale
Mr Hamadoun SANGHO	Santé Publique

2. MAITRES ASSISTANTS

Mr Adama DIAWARA	Santé Publique
Mr Hammadoun Aly SANGO	Santé Publique
Mr Akory AG IKNANE	Santé Publique
Mr Ousmane LY	Santé Publique
Mr Cheick Oumar BAGAYOKO	Informatique Médecine
Mme Fanta SANGHO	Santé Communautaire

3. ASSISTANTS

Mr Oumar THIERO
Mr Seydou DIARRA
Mr Abdrahamne ANNE

Biostatistique
Anthropologie Médicale
Bibliothéconomie-Bibliographie

CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES

Mr N'Golo DIARRA
Mr Bouba DIARRA
Mr Zoubeïrou MAÏGA
Mr Boubacar KANTE
Mr Souleymane GUINDO
Mme DEMBELE Sira DIARRA
Mr Modibo DIARRA
Mme MAIGA Fatoumata SOKONA
Mr Mahamadou TRAORE
Mr Lassine SIDIBE
Mr Cheick O. DIAWARA
Mr Ousmane MAGASSY

Botanique
Bactériologie
Physique
Galénique
Gestion
Mathématiques
Nutrition
Hygiène du Milieu
Génétique
Chimie Organique
Bibliographie
Biotatistique

ENSEIGNANTS EN MISSION

Pr. Babacar FAYE
Pr. Amadou Papa DIOP
Pr. Lamine GAYE
Pr. Pascal BONNABRY

Pharmacodynamie
Biochimie
Physiologie
Pharmacie Hospitalière

DEDICACES

A DIEU le tout puissant

A ma mère Fatou COULIBALY

A mon père Balla KONATE

A ma grand-mère Mah SY chérie

A mes petites sœurs Assan KONATE, Kadidiatou KONATE, Assetou dite Mah Sy KONATE

A mon grand frère Daba KONATE

A mon petit frère Dramane KONATE

Au Professeur Aboubacar Sidiki CISSE

Au Docteur Feu Youssouf ISSABRE

Au Dr Nagirou DJIBO (Niger)

Au Dr YALCOUYE

A mes tantes Fanta Sy, Ami COULIBALY, Rokia COULIBALY

A mes oncles Bakary COULIBALY, Cheick Oumar COULIBALY, Salif COULIBALY, Mamary COULIBALY, Binkin COULIBALY

A tous mes cousins et cousines

A toute ma famille

A tous mes oncles et tantes

A mon ami Alpha I. A. Dicko

A mon ami Ichaka Diallo

A tous mes amis

A tous ceux qui m'ont enseigné un jour ou l'autre

A pharmahome

REMERCIEMENTS

DIEU tout puissant

De m'avoir permis de réaliser une partie de mes rêves qui était de devenir Pharmacien.

Ma mère Fatou Coulibaly

Si je suis là aujourd'hui à un pas de mon diplôme de Docteur en Pharmacie, c'est grâce à toi et à ton courage à me suivre et à me donner des conseils. Merci pour toutes les fois où tu as insisté pour que j'apprenne mes leçons ou que je lise. Merci pour toutes les fois où tu m'a punis par ce que je n'avais pas bien fait un exercice ou que je n'avais pas été attentif en classe. Merci de m'avoir soutenu dans l'un des moments les plus dures de ma vie. Merci de m'avoir toujours poussé à étudier d'avantage. Si tous les enfants du Mali avaient une mère comme toi, le Mali serait la première puissance mondiale.

Mon père Balla Konaté

Tu es l'une des deux personnes grâce à qui je suis à ce stade. Merci d'avoir été toujours là pour m'épauler financièrement et moralement. Merci de m'avoir compris à chaque fois que j'ai eu à te demander quoi que ce soit. Tu as été pour moi le père que tout enfant rêve d'avoir. Je ne sais pas ce que je peux espérer d'autre de ta part car tu m'as déjà tout donné. Je ne te remercierai jamais assez.

Mes frères et sœurs

Daba, Aïcha, Kady, Mamy, Dramane, vous êtes les frères et sœurs les plus formidables du monde. Surtout soyons unis et aidons nous les uns les autres toute la vie dans cette vie pleine de beauté mais qui peut être aussi injuste et très dure.

Mon oncle Nouhoun Bouaré

C'est grâce à toi que j'ai pu avoir l'opportunité de faire ma thèse dans ce laboratoire de biologie médicale. Je ne te remercierai jamais assez pour tes encouragements, tes conseils, ta bienveillance. Tu as été pour moi plus qu'un oncle. Merci pour tout.

Mes oncles et tantes

Pour tout ce que vous avez fait pour moi. Merci de vos encouragements dont j'avais tant besoin.

Ma grand-mère Mah Sy chérie

Merci d'être toujours là pour nous surveiller lorsque Papa et Maman étaient sortis. Merci d'avoir toujours su nous protéger. Je te souhaite une meilleure santé et une longévité qui te permettra de voir tes petits enfants se marier et leurs enfants grandir.

Pr Flabou Bougoudogo, mon directeur de thèse

Merci pour m'avoir aidé à choisir ce sujet de thèse. Merci pour votre disponibilité, pour tout l'intérêt que vous portez aux étudiants de la FMPOS.

Docteur Djibo mon co-directeur de thèse

Je pense que le mot que vous méritez pour vous qualifier n'existe même pas. Merci pour votre volonté farouche à former les autres sur ce que vous connaissez. Votre capacité à vous sacrifier pour les autres m'a épaté. Merci pour ce que vous avez fait pour le Mali et pour l'Afrique. Bon retour en France et bonne chance pour l'ouverture de votre laboratoire au Niger.

Docteur Yalcouyé

Pour toute l'aide que vous m'avez apporté durant cette thèse, merci de vos conseils, de vos encouragements, de votre disponibilité. Merci pour toutes vos initiatives de recherche. Votre implication dans cette thèse m'a tout simplement épaté. Je ne sais pas comment vous remercier. Je vous souhaite une brillante carrière de pharmacien biologiste et je n'oublierai jamais tout ce que vous avez fait pour moi.

Docteur Feu Youssouf Issabré et à toute sa famille

Pour qui j'ai le plus grand respect pour ce qu'il a fait pour le Mali. La création de ce laboratoire est un grand pas pour le peuple Malien. Le Laboratoire Rodolphe Mérieux a non seulement créé de l'emploi mais aussi a contribué à l'amélioration de la santé malienne. La formation est une chose qui ne manque pas non plus dans ce laboratoire. Repose en paix Docteur Youssouf Issabré.

Professeur Boubacar Sidiki CISSE, Directeur de la Fondation Mérieux Mali

De m'avoir permis de réaliser ma thèse dans votre service, de votre disponibilité et votre attention pour les étudiants.

Docteur Aissata Sidibé Issabré

Merci pour ta sévérité qui n'a pour but que le travail bien fait et l'acquisition d'une bonne formation et de bonnes pratiques de laboratoire.

Mme TRAORE Fatou Faye, responsable assurance qualité

Merci infiniment pour ta disponibilité, ton amour pour la science, le travail bien fait, ta volonté à transmettre ta connaissance aux autres.

Tout le personnel du Laboratoire Rodolphe Mérieux :

Abdourahamane Maïga, Awa Cissé, Judicaël Ouedraogo, Kadidia Diarra, Boula Kanouté, Haidara, Abdoulaye Touré, Joachim Diarra, Mme Coulibaly Lala Sidibé, Mme Keita Niamoye Maïga, Mme Bertbé Hadiata Maïga, Aida, Massaran, Mme Touré Sira, Mme Traoré Fatou Faye, Mme Issabré Aissata, Mme Lorène Ladan Fofana, Fatou Sacko, Sira Sidibé, Moussa Diallo, Moussa Camara, Mary Sidibé, Makan Sissoko, Bado Sissoko, Mariko, Coulibaly, Diarra. Merci pour votre gentillesse, vos encouragements, votre disponibilité. Merci pour tous les bons moments que nous avons passé ensemble.

Docteur Diall Moussa Gouro

Pour toute la formation que j'ai reçue dans votre pharmacie, ceci n'a pas de prix. Merci pour vos encouragements, votre volonté à apprendre aux autres et vos engagements à l'égard des étudiants en Pharmacie et des jeunes pharmaciens.

HOMMAGES
AUX MEMBRES
DU JURY

A notre maître et Président du jury
Professeur Boubacar Sidiki CISSE

- ✓ **Professeur honoraire de toxicologie**
- ✓ **Premier recteur de l'université du Mali**
- ✓ **Directeur général de la fondation Méricieux Mali**

Cher maître,

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury de thèse malgré vos multiples occupations. Cela atteste le témoignage de vos qualités humaines.

Le privilège que vous nous faites en contribuant à l'amélioration de ce travail par vos critiques et suggestions nous comble de satisfaction. Cher maître, nous vous prions d'accepter le témoignage de nos sentiments distingués.

A notre maître et juge
professeur Soukalo DAO

- ✓ **Maître de conférences**
- ✓ **Spécialiste en maladies infectieuses**
- ✓ **Praticien hospitalier**
- ✓ **Chercheur au SEREFO**
- ✓ **Responsable des cours à la FMPOS**

Cher maître,

Nous vous sommes reconnaissants d'accepter d'apprécier ce modeste travail. Vos qualités humaines immenses, votre simplicité et votre dévouement pour le travail forcent l'admiration. Soyez assuré cher maître de toute notre reconnaissance.

A notre maître et Directeur de thèse
Professeur Flabou BOUGOUDOGO

- ✓ **Professeur agrégé en bactériologie-virologie à la FMPOS**
- ✓ **Directeur de l'INRSP (Institut National de Recherche en Santé Publique)**

Cher maître,

Vous nous avez fait l'honneur de diriger cette thèse ; nous pouvons nous glorifier d'avoir été un de vos étudiants. Par votre grande expérience dans la recherche, et vos connaissances en bactériologie-virologie vous forcez l'admiration.

Votre rigueur scientifique, pédagogique et vos qualités humaines font de vous un maître admiré de tous.

Veuillez accepter cher maître, nos sentiments de respect.

A notre maître et juge
Docteur Daniel YALCOUYE

- ✓ **Pharmacien spécialiste en hématologie**
- ✓ **Directeur du laboratoire Rodolphe Mérieux Mali**

Cher maître,

Les mots nous manquent pour exprimer avec exactitude notre profonde admiration et notre profond respect.

Vous nous avez inspiré, suivi et guidé dans l'élaboration de ce travail. Votre simplicité, votre générosité et votre dévouement à notre égard sont des qualités que nous nous efforcerons d'approcher. Nous sommes aujourd'hui remplis d'une immense joie d'être votre disciple.

A notre maître et codirecteur de thèse

Docteur Nagirou DJIBO

Pharmacien biologiste

Ancien directeur du Laboratoire Rodolphe Mérieux Mali

Cher maître, La spontanéité avec laquelle vous avez accepté de diriger ce travail a forcé notre admiration. Vos qualités humaines et scientifiques font de vous un homme exemplaire. Nous avons été impressionnés par votre simplicité, votre disponibilité.

Trouvez ici le témoignage de notre reconnaissance et de notre profond respect.

Liste des abréviations :

- BLSE : β -lactamase à spectre élargi
CC M : Centre Charles Mérieux
Case : céphalosporinase
CIT : citrate de Simmon
C. freundii : *Citrobacter freundii*
C. koseri : *Citrobacter koseri*
C. youngae : *Citrobacter youngae*
C. brackii : *Citrobacter brackii*
CMI : concentration minimale inhibitrice
CNA : colistine Nystatine acide nalidixique.
C1G : céphalosporine de 1^{ère} génération
C2G : céphalosporine de 2^{ème} génération
C3G : céphalosporine de 3^{ème} génération
EMB : éosine bleu de méthylène.
E. coli : *Escherichia coli*
E. tarda : *Edwardsiella tarda*
GEL : gélatinasse
Hémoc : hémoculture
Kleb p : *Klebsiella pneumoniae*
K. oxytoca : *Klebsiella oxytoca*
Liq d'asc = liquide d'ascite
LRM : Laboratoire Rodolphe Mérieux
M. morgani : *Morganella morgani*
Pase+Case : pénicillinase+céphalosporinase
PBN : pénicillinase bas niveau
PHN : pénicillinase haut niveau
PMP : *Proteus Morganella Providencia*
P. mirabilis : *Proteus mirabilis*
P. stuartii : *Providencia stuartii*
P. vulgaris : *Proteus vulgaris*
PV prélèvements vaginaux
S. enterica : *Salmonella enterica*
TRI : TEM résistant aux inhibiteurs

Contribution à l'étude de la résistance des *Enterobacteriaceae* aux antibiotiques par production de β -lactamases au CCM de Bamako

VCN : Vancomycine Colistine Nystatine.

VP : Vauges Prauskaeur

Sommaire

I. Introduction	1
II. Objectifs	3
1. Objectif général.....	3
2. Objectifs spécifiques.....	3
III. Généralités	4
1. Généralités sur les entérobactéries.....	4
2. Aperçu sur les antibiotiques.....	9
2.1. Définition.....	9
2.2. Classification des antibiotiques.....	9
2.3. Spectre d'activité des antibiotiques.....	17
3. La résistance bactérienne aux antibiotiques.....	18
4. Résistance chez les entérobactéries.....	22
4.1. Modification de PLP.....	22
4.2. Phénomène d'efflux.....	22
4.3. Imperméabilité.....	22
4.4. Phénotype de résistance des entérobactéries aux β -lactamines.....	23
5. Les β -lactamases.....	26
5.1. Définition.....	26
5.2. Classification.....	26
IV. Matériels et méthodes	29
1. Cadre d'étude.....	29
1.1. Présentation du Centre Charles Mérieux.....	29
1.2. Identité du Centre.....	29
1.3. Les missions.....	29
1.4. Les objectifs du Centre.....	30
1.5 plateau technique.....	30
2. Type et période d'étude.....	30
3. Population d'étude.....	30
3.1. Critères d'inclusion.....	30
3.2. Critère de non inclusion.....	30
4. Echantillonnage.....	30
4.1. Technique de collecte.....	31
5. Culture.....	31

6. Isolements des <i>Enterobacteriaceae</i>	31
7. Identification.....	33
7.1. Le test à l'oxydase.....	33
7.2. Milieu urée-indole : mode opératoire.....	33
7.3. Milieu Uri select.....	34
7.4. La galerie Api 20E.....	35
7.4.1. Principe de la galerie API 20 E.....	35
7.4.2. Mode opératoire de la galerie API 20 E.....	36
8. Sensibilité des <i>Enterobacteriaceae</i> aux antibiotiques.....	37
8.1. La galerie ATB G-.....	37
8.1.1. Réactif et matériels.....	37
8.1.2. Principe.....	37
8.1.3. Mode opératoire.....	37
8.1.4. Lecture et interprétation.....	38
8.1.5. Limites du test.....	39
8.2. Recherche de BLSE.....	39
8.2.1. Les disques d'antibiotiques.....	40
8.2.2. Milieu de culture.....	40
8.2.3. La méthode de recherche des BLSE.....	41
8.2.3.1. Principe.....	41
8.2.3.2. Mode opératoire.....	41
8.2.3.3. Lecture.....	41
9. Aspect éthique.....	41
10. Chronogramme des activités.....	41
V. Résultats	43
1. Nature des prélèvements.....	43
2. Répartition des <i>Enterobacteriaceae</i> selon l'espèce.....	44
3. Répartition des patients porteurs d' <i>Enterobacteriaceae</i> selon le sexe.....	45
4. Répartition des patients par tranche d'âge.....	46
5. Répartition des <i>Enterobacteriaceae</i> selon l'espèce et la nature des prélèvements.....	47
6. Phénotypes de résistance des <i>Enterobacteriaceae</i> par production de β -lactamases.....	48
7. Sensibilité des <i>Enterobacteriaceae</i> aux Pénicillines et à leur association aux inhibiteurs.....	49
7.1. Amoxicilline et l'association amoxicilline+acide clavulanique.....	49
7.2. Ticarcilline et l'association ticarcilline+acide clavulanique.....	49

7.3. Pipéracilline et Pipéracilline+tazobactam.....	50
8. Sensibilité des <i>Enterobacteriaceae</i> aux C1G (céphalotine) et aux C2G (céfoxitime).....	50
9. Sensibilité des <i>Enterobacteriaceae</i> aux C3G (ceftazidime et cefotaxime).....	51
10. Sensibilité des <i>Enterobacteriaceae</i> aux C4G (céfépime) et aux carbapénèmes.....	51
11. Sensibilité des <i>Enterobacteriaceae</i> aux aminosides (amikacine et gentamycine).....	52
12. Sensibilité des <i>Enterobacteriaceae</i> à la fosfomycine.....	52
13. Le phénotype β -lactamase à spectre élargi (BLSE).....	53
13.1. Répartition des <i>Enterobacteriaceae</i> producteurs de BLSE selon la nature des prélèvements.....	53
13.2. Répartition des <i>Enterobacteriaceae</i> selon la production de BLSE.....	54
13.3. Répartition par espèces des souches d' <i>Enterobacteriaceae</i> selon la production de BLSE.....	54
13.4. Sensibilité des souches d' <i>Escherichia coli</i> et de <i>Klebsiella pneumoniae</i> productrices de BLSE.....	54
VI. Commentaires et discussions.....	55
1. Interpretation.....	56
2. résultats globaux.....	56
3. La production de β -lactamases chez les entérobactéries.....	56
3.1. <i>Escherichia coli</i>	56
3.2. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	57
3.3. <i>Salmonella spp.</i>	58
3.4. <i>Enterobacter spp.</i> :	58
3.5. <i>Proteus mirabilis</i>	59
4. Relation entre sensibilité des entérobactéries et production de β -lactamases.....	59
4.1. Amoxicilline et association Amoxicilline+acide clavulanique.....	59
4.2. Ticarcilline et association Ticarcilline+acide clavulanique.....	59
4.3. Pipéracilline et association pipéracilline+tazobactam.....	60
5. Sensibilité des entérobactéries à la céphalotine (C1G) et à la céfoxitime (C2G).....	61
6. Sensibilité des souches d'entérobactéries aux céphalosporines de 3 ^{ème} génération (cefotaxime et ceftazidime).....	61
7. Sensibilité des entérobactéries au cefepime et à l'inipénème.....	61
8. Sensibilité des entérobactéries à l'amikacine et à la gentamycine.....	62
9. Sensibilité des entérobactéries à La fosfomycine.....	62
10. Les BLSE.....	62

VII. Conclusion et recommandations	65
VIII. Références bibliographiques	66
Fiche signalétique.....	76
ANNEXES.....	77

I.

INTRODUCTION

Les *Enterobacteriaceae* constituent une vaste famille de bacilles à Gram négatif à coloration bipolaire. Parmi les nombreuses espèces décrites à ce jour, 23 sont habituellement rencontrées de façon régulière en pathologie humaine. La plupart de ces germes sont des commensaux du tube digestif de l'homme ou des animaux ou des saprophytes présents dans l'eau, le sol et l'air¹. Cependant, ces germes peuvent être responsables d'infections graves chez l'homme telles que la fièvre typhoïde, la peste. A l'état sauvage, sensibles à la presque totalité des β -lactamines, ces bactéries sont de plus en plus résistantes². La production d'enzyme constitue le principal mécanisme de résistance de ces microorganismes. Ces enzymes, appelées β -lactamases ont pour substrat les β -lactamines qui constituent l'une des familles d'antibiotiques les plus vastes et les plus variées. Il existe principalement deux types de β -lactamases qui sont les pénicillinases et les céphalosporinases. Une de ces enzymes appelée β -lactamase à spectre élargi (BLSE) est aujourd'hui au centre des sujets de résistance chez les *Enterobacteriaceae*. Les BLSE sont des enzymes transmissibles par des plasmides et qui sont capables d'hydrolyser un grand nombre de pénicillines et de céphalosporines. La plupart des BLSE a évolué par mutation génétique à partir des β -lactamases indigènes en particulier TEM-1, TEM-2 et SHV-1. Ces enzymes mères sont couramment retrouvées chez les bacilles à Gram négatif en particulier les *Enterobacteriaceae*². Elles sont très actives sur les pénicillines et les céphalosporines³. La résistance des BLSE à une grande variété d'antibiotiques a fait de la prolifération des entérobactéries qui les produisent une véritable préoccupation de santé publique. Cette prolifération a limité considérablement les choix thérapeutiques et compliqué les stratégies de traitement de nombreux patients. La surproduction de β -lactamases de type AmpC cause également un problème sérieux dans le traitement des patients infectés par des entérobactéries productrices de cette enzyme. Ces organismes partagent un profil de résistance aux antibiotiques semblable à celui des bactéries productrices de BLSE, avec l'exception notable que, contrairement aux BLSE, les enzymes de type AmpC ne sont pas inhibées par l'acide clavulanique et autres inhibiteurs de β -lactamases³. Les premiers rapports sur les BLSE venaient de l'Allemagne et d'Angleterre^{4, 5}, plus tard de nombreux rapports sont venus de la France^{6, 7}. Dans ce pays, jusqu'à 35% des hôpitaux hébergeaient des souches de *Klebsiella pneumoniae* productrices de BLSE au début des années 1990⁸. Aux Etats Unis, la surveillance nationale des infections nosocomiales (NNIS) a révélé que 6,1% des souches de *Klebsiella pneumoniae* en provenance des soins intensifs produisaient une BLSE⁹. En chine, la production de BLSE varie entre 25-40%¹⁰. La présence de BLSE chez les entérobactéries a été rapporté dans plusieurs pays d'Afrique tels que le Kenya¹¹, l'Afrique du Sud^{12, 13}, le Madagascar^{14, 15}, l'Algérie¹⁶, la République Centre Africaine¹⁷.

Au Mali, une seule étude a été rapportée sur la production de BLSE chez les entérobactéries. Celle-ci a été menée dans un orphelinat en Mars 2003¹⁸. Vu l'importance de la fréquence de production de β -lactamases (en particulier les types BLSE et AmpC) chez les entérobactéries, une évaluation régulière de leur résistance aux antibiotiques s'avère nécessaire. C'est dans ce cadre que nous nous sommes proposé de faire cette étude en notant bien que peu de publications sur la production de β -lactamases ont été faites au Mali. Notre étude se proposait d'identifier les espèces d'entérobactéries isolées au Laboratoire du Centre Charles Mérieux de Bamako et à évaluer leur résistance aux antibiotiques par production de β -lactamases.

II.

OBJECTIFS

1. Objectif général :

Contribuer à l'étude de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques par production de β -lactamases au CCM de Bamako de 2005 à 2010.

2. Objectifs spécifiques :

- Identifier les espèces d'entérobactéries isolées au CCM de Bamako
- Décrire le profil de l'antibiogramme chez les entérobactéries isolées au CCM
- Décrire les types de β -lactamases rencontrés chez les entérobactéries isolées au laboratoire du CCM.

III.

GENERALITES

1. Généralités sur les *Enterobactériaceae* :

1.1. Historique :

La naissance de la famille des *Enterobacteriaceae* se situe en 1937 lorsqu'Otto Ranh proposa le genre *Enterobacter* pour regrouper les micro-organismes présentant des propriétés biochimiques et morphologiques communes et parmi lesquels on trouvait déjà des noms comme *Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Serratia*, et *Shigella*¹⁹.

Cette classification des genres, espèces, sous espèces, biogroupes et sérotypes d'entérobactéries a longtemps été uniquement basée sur des caractères biochimiques et antigéniques. En 1972, Edwards et Ewing rapportaient 11 genres et 26 espèces dans la famille des *Enterobacteriaceae*. En 1985, Farmer et collaborateurs décrivaient 22 genres comprenant 69 espèces et 29 groupes entériques. Aujourd'hui, plus de 40 genres et 200 espèces ont été décrits depuis le genre *Serratia* reconnu par Bartelomeo Bizio en 1823 jusqu'aux genres *Samsonia* en 2001 et *Dickeya* en 2004¹⁹. Les entérobactéries constituent une famille très large du point de vue génétique. Quelques genres comme *Proteus*, *Providencia* et *Yersinia* montrent très peu d'homologie par rapport au groupe représenté par *Salmonella*, *Citrobacter*, *Shigella* et surtout *Escherichia coli*. Des modifications importantes ont eu lieu dans la famille des *Enterobacteriaceae*. Par exemple, *Plesiomonas shigelloides* qui appartenait à la famille des *Vibrionaceae*, a rejoint celle des *Enterobacteriaceae* en 1992 à la suite des travaux de Martinez-Murcia²⁰. En effet des études phylogénétiques et chimio taxonomiques et la présence d'un antigène commun aux entérobactéries ont démontré cette proximité entre *Plesiomonas shigelloides* et certaines entérobactéries comme *Proteus*. Ce transfert a nécessité une nouvelle définition permettant d'inclure une bactérie oxydase positive chez les entérobactéries. La plus part des espèces nouvellement décrites sont rarement isolées en pathologie humaine. Parmi ces dernières figurent *Butiauxella ferruginae*, *Butiauxella gaviniae*, *Butiauxella brennerae*, *Butiauxella izardii*, *Citrobacter rodentium*, *Kluyvera georgiana*^{20, 21, 22}.

1.2. Définition :

Les entérobactéries sont :

- Des bacilles à Gram négatif, asporulés
- Immobiles (*Klebsiella*, *Shigella* et *Yersinia pestis*) ou mobiles avec une ciliature péritriche ;
- Capables de se développer aussi bien en aérobie que en anaérobie sur des milieux ordinaires à base d'extrait de viande sans addition de NaCl ni d'autres suppléments, et présentent une croissance optimale sur milieu de Mac Conkey ;

- Elles utilisent le D-glucose et les autres sucres par fermentation plutôt que par oxydation avec ou sans production de gaz ;
- Catalase positive (à l'exception de *Shigella dysenteriae* sérotype 1) et oxydase négative ;
- Réduisent les nitrates en nitrites (à l'exception de certaines souches d'*Erwiniae*) ;
- Possèdent un antigène commun (antigène Kunitz) et un pourcentage en GC (guanine et cytosine) compris entre 39 et 59 %) ¹.

Tableau I¹ : Caractéristiques phénotypiques généraux de la famille des *Enterobacteriaceae* et leurs exceptions :

Caractéristiques	Exceptions
Bacille à Gram négatif	<i>Alterococcus agarolyticus</i>
Oxydase négatif	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
Catalase positif	<i>Shigella dysenteriae</i> séro groupe 01 <i>Xenorhabdus nematophila</i>
Absence de spores	<i>Serratia marcescens subsp sakuensis</i>
Nitrate réductase positive	Quelque <i>Erwinia</i> et <i>Yersinia</i>
Antigène commun aux entérobactéries	<i>Dickeya (pectobacterium)</i>
Croissance sur les milieux ordinaires	Endosymbiotes

1.3. Epidémiologie :

Les entérobactéries sont des microorganismes très fréquemment rencontrés en pathologie humaine. Elles représentent près de 2/3 des germes isolés dans un laboratoire de bactériologie médicale²². L'identification définitive de ces microorganismes correspond dans 80 à 95 % des cas à l'une des trois espèces : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ou *Proteus mirabilis*²⁴.

1.4. Classification :

Les entérobactéries peuvent être classées en fonction de plusieurs critères.

La classification basée sur les caractères biochimiques est la plus simple, la plus fiable et la plus utilisée (galerie API20E Lot n° 839720201, Réf. 20160, bioMérieux® SA, Marcy l'étoile, France)²⁵.

^{26, 27}

Le test biochimique simple de départ qui permet de séparer la famille des entérobactéries des autres bacilles à Gram négatif est la recherche d'oxydase.

Ce test est négatif chez les entérobactéries et *Acinetobacter* (coccobacille à Gram négatif aérobie stricte) et positif chez *Pseudomonas* et apparentés. Les principaux caractères biochimiques permettant de classer les entérobactéries sont les suivants :

- la fermentation ou non de certains sucres (par exemple lactose), ou la présence de certaines enzymes impliquées dans cette réaction (β -galactosidase) ;
- la production de gaz ou non lors de la fermentation du glucose ;
- Possibilité de croissance ou non en milieu synthétique (par exemple, possibilité d'utiliser le citrate de sodium comme seule source de carbone) ;
- La recherche d'enzymes ou de catabolites azotés (par exemple uréase, tryptophane désaminase(TDA), l'indole, H₂S) ;
- La recherche de produits terminaux de fermentation, par exemple acetyl-méthyl carbinol (réaction de Voges Proskauer ou réaction de VP) ;

Grâce à ces caractères biochimiques, certains genres d'entérobactéries ont pu être regroupés :

- Groupe VP + : *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* ;
- Groupe TDA + : *Proteus*, *Providencia*, *Morganella*.²⁸

Tableau II : Les caractères biochimiques de quelques *Enterobacteriaceae*²⁹ :

Espèces	Glucose	Lactose	ONPG	Indole	VP	Citrate	Mobilité	TDA	Urée	H ₂ S
<i>E.coli</i>	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-
<i>Citrobacter</i>	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+/-
<i>Enterobacter</i>	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-
<i>Klebsiella</i>	+	+	+	+/-	+	+	-	-	+	-
<i>Serratia</i>	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-
<i>Salmonella</i>	+	-	-	-	-	+/-	+	-	-	+
<i>Shigella</i>	+	-	+/-	+/-	-	-	-	-	-	-
<i>Proteus</i>	+	-	-	+/-	-	+/-	+	+	+	+/-
<i>Providencia</i>	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-
<i>Yersinia</i>	+	-	+	+/-	+	-	+	-	+	-

1.5 Caractères cultureux :

Les *Enterobacteriaceae* se développent bien dans un bouillon ou sur une gélose ordinaire incubée 18 heures à 37° C.

Ils peuvent donner plusieurs formes et tailles de colonies selon les espèces. Certaines apparaissent sous forme de colonies lisses (Smooth), d'autres sous formes de colonies rugueuses (forme R) ou muqueuses. A cause des anomalies, certaines espèces d'*Enterobacteriaceae* donnent des colonies naines.

- **Les formes S (Smooth)**

C'est la forme communément rencontrée chez l'humain. Les colonies sont lisses, bombées, brillantes et humides sur gélose ordinaire. Elles ont 2 à 4mm de diamètre en 18-24 heures. La culture en bouillon liquide donne un trouble homogène.

- **Les formes R (Rough)**

Elles s'observent surtout avec des souches ayant subi plusieurs repiquages ou épreuves de congélation. Les colonies sont rugueuses, sèches, à contour irréguliers et à teinte mate. En bouillon, les formes R donnent un aspect grumeleux.

- **Les colonies muqueuses**

Elles sont habituelles chez *Klebsiella*. Leur diamètre peut dépasser 10mm. Elles ont une tendance à la confluence.

- **Les colonies naines**

Elles s'observent avec les souches déficientes dans certaines de leurs chaînes métaboliques. Ces souches ne sont pas exceptionnelles chez les *Escherichia coli* isolés d'infection urinaires²⁹.

1.6 Caractères antigéniques :

L'identification des *Enterobacteriaceae* se fait par l'étude des caractères génétiques. La détermination du sérotype ne peut être entreprise que pour des souches dont l'identification est certaine. Toute autre façon de faire ne peut qu'entraîner des agglutinations croisées non spécifiques. Deux types d'antigènes sont habituellement recherchés, les antigènes somatiques O et les antigènes flagellaires H. En pratique, l'agglutination se fait principalement sur des souches de *Salmonella*, *Shigella* et *Escherichia coli*.²⁹.

- Les antigènes O :

Ce sont des antigènes de paroi constitués de lipo-polysaccharides (LPS) qui sont thermostables et résistant à l'alcool et à l'acide. L'agglutination de type O se produit lentement. On obtient des agglutinats granulaires, difficilement dissociables par agitation. La spécificité O est perdue par les souches R qui sont auto-agglutinables en eau distillée²⁹.

Les antigènes H :

Ce sont des antigènes flagellaires, présents chez les souches mobiles. Constitués d'une protéine, la flagélline, ils sont thermolabiles et inactivés par l'alcool. La réaction d'agglutination de type H se produit rapidement. Elle est floconneuse, facilement dissociable par agitation²⁹.

Les antigènes K :

Ces antigènes capsulaires sont généralement constitués d'une couche externe polysaccharidique. Parmi les antigènes K se trouvent les antigènes L, A, B des *Escherichia coli* et l'antigène Vi de certains *Salmonella* ou *Citrobacter*. Ces antigènes rendent la souche non agglutinable par les antiséras O. Ils sont détruits par une ébullition à 100°C pendant deux heures. Les antigènes d'adhérence ou adhésines, de nature protéique, en relation avec la présence de pili sont classés parmi les antigènes K (K88, K99)²⁹.

Antigène Kunin :

Cet antigène commun aux *Enterobacteriaceae* n'est pratiquement retrouvé que dans cette famille et a un intérêt taxonomique²⁹.

1.7 Habitat :

Les *Enterobacteriaceae* sont une famille très homogène en terme de niche écologique. Les espèces qui composent cette famille sont soit parasites (*Shigella*, *Yersinia pestis*), soit commensales (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella spp*) soit saprophytes (*Serratia spp*, *Enterobacter spp*). Ces bactéries sont largement retrouvées sur les plantes, dans le sol, dans l'eau et le tube digestif de l'homme et des animaux d'où leur nom. Elles participent au grand cycle de dégradation des matières organiques souvent étroitement liées aux plantes. Elles constituent une part importante de la flore intestinale, relativement peu rencontrées dans d'autres sites du corps humain. Ce caractère ubiquitaire n'est pas général puisque quelques espèces occupent des niches écologiques précises. C'est l'exemple de *Salmonella typhi*, responsable de la typhoïde, exclusivement retrouvé chez l'homme^{30,31}.

1.8. Pouvoir pathogène :

Bien que les *Enterobacteriaceae* occupent une part prépondérante de la flore digestive de l'homme, elles peuvent être responsables d'infections parfois très sévères chez l'homme. C'est par exemple le cas de *Salmonella typhi* qui donne la fièvre typhoïde¹.

Les infections des voies urinaires sont la deuxième maladie infectieuse la plus fréquente, après les infections des voies respiratoires, et comptent plus d'un million de visites aux services d'urgence aux Etats-Unis, ce qui nécessite 100.000 hospitalisations³².

Certaines souches d'*Escherichia coli* sont responsables d'infections intestinales et ces souches sont actuellement classées dans 10 sérovars définis sur la base des facteurs de pathogénicité et des signes cliniques engendrés^{33, 34}. Les *Shigella* sont des pathogènes strictes de l'homme et des autres primates. La propriété de virulence majeure de *Shigella* est la capacité des bactéries à envahir l'épithélium colique et rectal. Ce processus déclenche un recto-colite inflammatoire aiguë fébrile pouvant évoluer jusqu'à un syndrome dyssentérique³⁵. L'espèce *Klebsiella pneumoniae* peut être responsable de plusieurs types d'infections à savoir. Ces dernières années, il y a eu une augmentation de l'incidence des abcès hépatiques primaires dus à *Klebsiella pneumoniae* en Asie du Sud, principalement en Taïwan et en Corée³⁶. Ces infections sont compliquées dans 10% des cas, avec des lésions des fosses septiques et métastatiques sur d'autres organes²⁴. Beaucoup des lésions suppurantes ont été décrites comme des complications des infections dues à cette espèce, y compris des endophtalmies. Des abcès du cerveau, l'ostéomyélite, arthrite septique, abcès du psoas, la fasciite nécrosante, embolie pulmonaire^{37, 38, 39, 40}.

2. Aperçu sur les antibiotiques :

2.1. Définition:

Waksman (1943) : Toutes les substances chimiques produites par des microorganismes capables d'inhiber le développement et de détruire les bactéries et d'autres microorganismes⁴¹.

Turpin et Velu (1957) : Tout composé chimique, élaboré par un organisme vivant ou produit par synthèse, à coefficient chimiothérapeutique élevé dont l'activité thérapeutique se manifeste à très faible dose d'une manière spécifique, par l'inhibition de certains processus vitaux à l'égard des virus, des microorganismes ou même de certains êtres pluricellulaires⁴¹.

2.2 Classification des antibiotiques :

Plusieurs antibiotiques ont entre eux des similitudes de structure chimique d'où découle un mécanisme d'action commun et, en conséquence un spectre d'activité comparable. Il est donc possible d'établir une classification des antibiotiques basée sur ces critères. On définit ainsi douze familles d'antibiotiques auxquelles il faut ajouter quelques antibiotiques isolés : Acide fusidique, Fosfomycine, Novobiocine, Glycopeptides⁴¹.

Ces douze familles sont :

- Les β -lactamines
- Les aminosides ou aminoglycosides

- Les quinolones
- Les phénicolés
- Les tétracyclines
- Les macrolides, lincosamides, streptogramines, kétolides (MLSK)
- Les rifampicines
- Les polypeptides : polymyxines et bacitracine + tyrotricine
- Les sulfamides et trimétoprimes
- Les dérivés de l'oxyquinoléine ou 8-hydroxy-quinoléines
- Les dérivés des nitrofuranes ou nitrohétérocycles
- Les 5-nitroimidazolés⁴¹.

NB : on parlera peu ou pas de certains antibiotiques à cause de leur inefficacité sur les *Enterobacteriaceae*.

2.2.1 Les β -lactamines :

Ces antibiotiques bactéricides temps dépendant tirent leur nom d'une structure commune dénommé noyau β -lactame. La pénicilline G est la première molécule découverte par Alexander Fleming en 1928⁴². Elle est encore prescrite. Sa structure de base a été le point de départ pour la synthèse de très nombreux dérivés antibactériens, les pénèmes étant les plus récents⁴³. Les différentes molécules sont classées en quatre groupes en fonction des modifications apportées à la structure chimique de base :

- Les pénicillines dont le chef de file est la pénicilline G possèdent un cycle pentagonal saturé.
- Les pénèmes avec l'imipénème comme premier représentant ont un cycle pentagonal insaturé.
- Les céphèmes correspondant aux céphalosporines sont divisés en quatre générations dénommées de la première à la quatrième. Ils ont un cycle hexagonal saturé.
- Les monobactames avec l'Azthréonam comme seul représentant se limitent au seul cycle β -lactame³¹.

Mécanisme d'action :

Il s'agit d'une inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne. Les β -lactamines se fixent sélectivement sur certaines protéines enzymatiques présentes au niveau de la paroi bactérienne. Ce sont les protéines liant les pénicillines (PLP) impliquées dans la synthèse de la muréine, constituant chimique assurant la rigidité de la paroi. La fixation des β -lactamines aux PLP aboutit au blocage de l'activité enzymatique et à l'inhibition de la synthèse de la paroi.

Ce mécanisme d'action explique que les β -lactamines ne soient actives que sur les bactéries en état de croissance. Les bactéries au repos ne produisent pas de paroi et leur sont indifférentes. Il en est de même pour des rares bactéries sans paroi comme les *Mycoplasma* et les *Chlamydiae*³².

2.2.1.1 Les pénicillines ou pénames :

- **Historique :**

Le nom de pénicilline a été donné par Fleming en 1929 à la substance bactérienne produite par *Penicillium notatum* qui inhibait une culture de Staphylocoques⁴².

La synthèse de l'acide 6-aminopénicillanique (6-APA) réalisée en 1957 a ouvert la voie aux pénicillines semi synthétiques (production naturelle et synthétique de la pénicilline G et V par remplacement de la chaîne latérale)⁴⁴.

- **Structure :**

Elles ont en commun l'acide 6-aminopénicillanique (6-APA) constitué par l'accolement de 2 cycles : un cycle β -lactame et un cycle thiazolidine.

Les pénicillines diffèrent entre elles par le radical R⁴⁵.

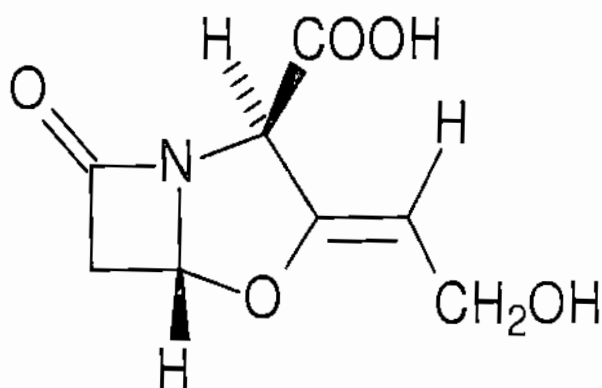


Figure 1 : Structure de l'acide clavulanique

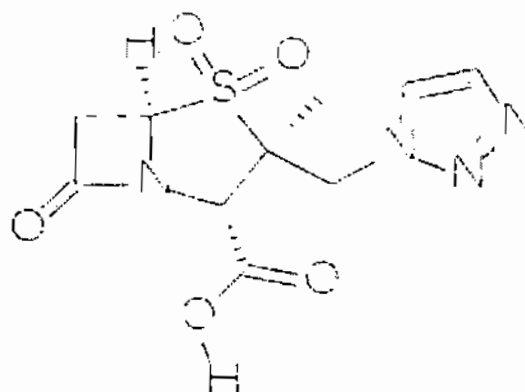


Figure 2 : Structure du tazobactam

2.2.1.2. Céphalosporines ou céphèmes :

- **Historique :**

Les produits de ce groupe utilisés en thérapeutique sont des dérivés semi-synthétiques de la céphalosporine C, antibiotique naturel produit par un champignon du genre *Acremonium* isolé d'une eau d'égout en Sardaigne⁴¹.

- **Structure :**

Elle est proche de celle des pénicillines. Le noyau céphème (l'acide 7-aminocéphalosporanique) commun à toutes les molécules est formé d'un cycle β -lactame dihydrothiazine, à l'exception des oxacéphalosporines où un atome d'oxygène remplace l'atome de soufre (cycle oxacéphème).

Par ailleurs, ils interfèrent avec le système de transport d'électrons de la chaîne respiratoire, provoquant des désordres ioniques, altérant les enveloppes bactériennes et affectant indirectement la réplication de l'ADN. Leur cible est l'ARN 16S de la sous unité 30S du ribosome bactérien⁴⁹.

2.2.2.3. Structure :

Les aminosides sont formés d'un cycle à six (6) atomes de carbones de type aminocyclitol reliés par des liaisons glycosidiques à un ou plusieurs dérivés sucrés. L'aminocyclitol peut être la streptidine ou le 2-désoxystreptamine (2-DOS) d'où une première classification en deux sous familles.

Le cycle 2-DOS peut être substitué en position 4 et 5 (groupe des 4,5-2 DOS : néomycine et paromomycine) ou en position 4 et 6 (groupe des 4,6-2 DOS : amikacine, kanamycine, gentamicine, tobramycine, nétilmicine, isépamicine)⁵⁰.

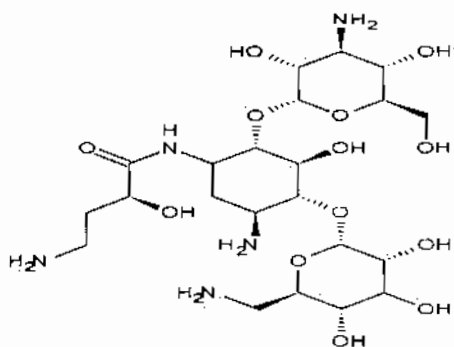


Figure 5 : Structure de l'amikacine⁵⁰.

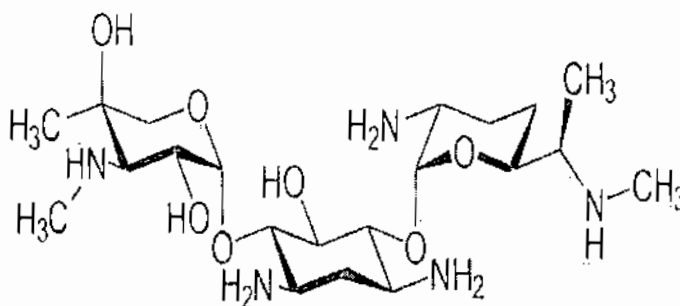


Figure 6 : Structure de la gentamicine⁵⁰.

2.2.3. Les quinolones :

Les quinolones sont des composés antibactériens de synthèse. La 1^{ère} molécule qui est l'acide nalidixique fut découverte en 1962 par Leshner et autres⁵¹. Les fluoroquinolones sont obtenus par synthèse à partir de quinolones classiques. Elles sont caractérisées par la présence d'un atome de fluor en position 6 et d'un cycle azoté, le plus souvent une pipérazine en position 7. Les quinolones sont divisées principalement en deux groupes.

- Les quinolones de première génération : l'acide nalidixique, pipémidique, oxolinique...
- Les fluoroquinolones : Péfloxacin, norfloxacin, ofloxacin, ciprofloxacin, Levofloxacin, sparfloxacin, Trovafloxacin, garénofloxacin, La gatifloxacin et la moxifloxacin.

2.2.3.1. Mécanisme d'action :

Les quinolones exercent une inhibition sélective de la synthèse de l'ADN bactérien en agissant sur deux enzymes impliquées dans cette biosynthèse qui sont la topoisomérase II (ou ADN gyrase) et la topoisomérase IV.

L'ADN gyrase souvent simplement appelée gyrase est responsable du surenroulement de type négatif de l'ADN lors de sa réplication. La topoisomérase IV intervient dans la décaténation après la réplication de l'ADN⁵².

2.2.3.2. Structure :

Toutes ces molécules possèdent un cycle pyridine dont l'azote peut être diversement substitué et présentent une fonction azote en position 4 et un groupement carboxylique en position 3. Ce cycle est accolé à un cycle aromatique de structure variable : benzène, pyridine

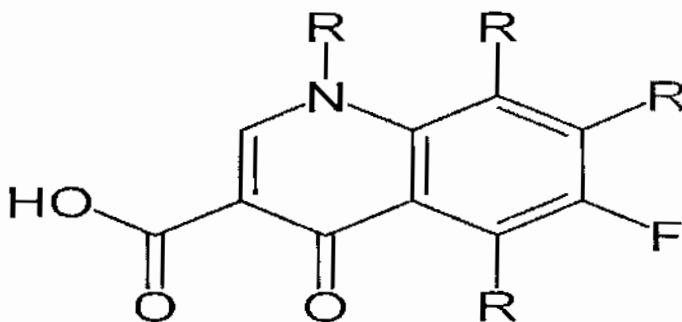


Figure 7 : Structure de base des quinolones⁵¹.

2.2.4. Les Phénicolés

2.2.4.1. Chloramphénicol :

Le chloramphénicol a été utilisé comme un antibiotique à large spectre en médecine humaine et vétérinaire depuis les années 1950, mais l'utilisation du chloramphénicol chez l'homme est maintenant assez limitée⁵³.

- **Utilisation :**

Du fait de son faible coût, de sa grande efficacité, le chloramphénicol reste disponible dans les pays en voie de développement sous forme d'esters : le palmitate pour la voie orale et le succinate pour la voie parentérale⁵⁴. Cependant cette molécule possède une importante myélotoxicité⁵⁴. Ceci a fortement diminué son emploi dans les pays industrialisés. En France par exemple, le chloramphénicol n'est que peu utilisé sous forme de collyre (Cebenicol[®]) pour le traitement des infections oculaires. Seul le thiamphénicol est utilisé par voie orale ou parentérale à la posologie de 1,5 à 3 g/j chez l'adulte (thiophénicol[®])⁵⁴. Aux États-Unis, le chloramphénicol a été utilisé dans les infections à entérocoque résistant à la vancomycine⁵⁵.

- **Mécanisme d'action :** Les phénicolés inhibent la synthèse protéique. Ils bloquent l'élongation du peptide en cours de formation par fixation réversible à la sous unité ribosomale 50S (ARNr 23S). Ces molécules agissent en réduisant l'activité catalytique de la peptidyl transférase.

Le chloramphénicol se fixe sur le site A du ribosome. Il existe un second site de fixation de faible affinité sur la sous-unité 30S faisant intervenir la protéine S14⁵⁶.

• **Structure :**

La structure du chloramphénicol est relativement simple et il a été le premier antibiotique de synthèse chimique sur le marché⁴³. Le chloramphénicol contient un noyau aromatique avec un groupe nitro en para, une chaîne aminopropanediol (contenant deux carbones asymétriques) et une chaîne acyle latérale⁵⁶.

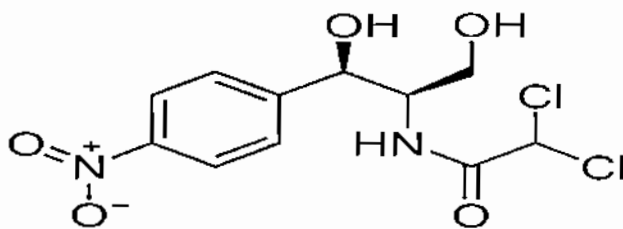


Figure 8 : Structure du chloramphénicol⁵⁶

2.2.5. Les Tétracyclines :

2.2.5.1. Introduction :

Le spectre relativement limité des tétracyclines classiques, l'incapacité à être utilisées chez les enfants, pendant la grossesse et l'allaitement, et l'émergence de nouveaux composants efficaces dans d'autres familles d'antibiotiques a limité de façon importante l'utilisation des tétracyclines chez l'homme.

En Espagne par exemple, la consommation de la tétracycline n'a cessé de diminuer au fil des années, de sorte que le nombre de doses quotidiennes déterminées pour 1000 habitants et par jour a diminué, passant de 0,8 en 1998 à 0,6 en l'an 2006⁵⁷. Cette diminution de consommation a été presque entièrement attribuable à l'utilisation de la doxycycline, la tétracycline qui font partie des médicaments les plus couramment utilisés chez l'homme dans le monde entier, et l'un des médicaments essentiels de l'Organisation mondiale de la santé (OMS)⁵⁸.

2.2.5.2. Mécanisme d'action :

Les tétracyclines sont des inhibiteurs de la phase d'élongation de la synthèse protéique.

Elles se fixent à la sous unité 30S du ribosome plus précisément à la protéine S7 et aux nucléotides G693, A892, U1052, C1054, G1300, G1338, de l'ARNr 16S, pour empêcher la fixation de l'aminocyl ARNt⁵⁹.

2.2.5.3. La structure :

Les molécules les plus anciennes, chlortétracycline et oxytétracycline, sont des antibiotiques naturels produits respectivement, par *Streptomyces aureofaciens* et *Streptomyces rimosus*. Certaines molécules sont produites par d'autres bactéries. Des produits comme la minocycline et la doxycycline sont héli-synthétiques. Au milieu des années 90 sont apparus de nouveaux composés héli-synthétiques, les glycylicyclines. Ces cyclines dites de troisième génération sont en cours d'évaluation^{59, 60}. Les cyclines sont constituées de quatre cycles (A, B, C, D). Les carbones 1, 10, 11 et 12 sont toujours substitués par des composants oxygénés, le carbone C4 presque toujours par une diméthylamine, tandis que les carbones C5, C6 et C7 sont diversement substitués^{59, 60}.

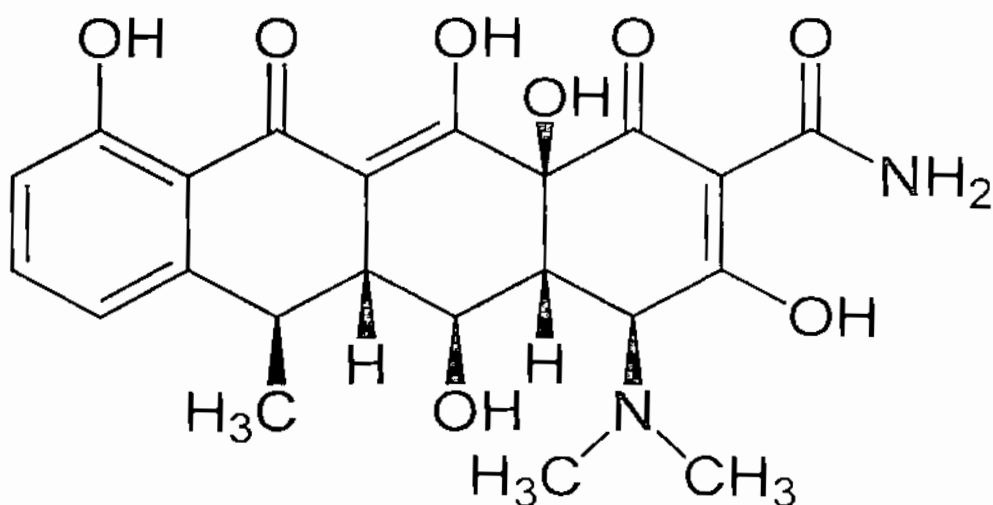


Figure 9 : Structure de la doxycycline⁵⁹.

2.2.6. Les polymyxines :

2.2.6.1. Introduction :

Les polymyxines sont des antibiotiques cycliques naturels initialement isolés à partir de souches de *Bacillus*. Leur structure de base est composée d'acides gras attachés à un noyau peptidique polycationique composé de huit à dix acides aminés⁶¹. Les Polymyxines B et E (colistine) ont été introduits dans la pratique clinique dans les années 1950 pour le traitement des infections des bacilles à Gram négatif. Toutefois, l'utilisation parentérale de ces composés a été abandonnée dans les années 1970 lorsque les agents anti-*Pseudomonas* mieux tolérés sont devenu disponibles^{62, 63}. L'émergence de bacilles multirésistants tels que *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter spp.* a demandé l'élargissement d'usage systémique de ces polymyxines⁶⁴.

2.2.6.2. Mécanisme d'action :

Les polymyxines possèdent un mécanisme d'action unique. Ces antibiotiques ont pour cible la membrane bactérienne.

Le cycle peptidique polycationique des polymyxines interagit avec les lipopolysaccharide anioniques de la membrane externe des bactéries à Gram négatives, déplaçant ainsi les cations de calcium et de magnésium qui stabilisent les molécules des lipopolysaccharides (LPS). Ce processus est indépendant de l'entrée des polymyxines dans la cellule, et aboutit à une augmentation de la perméabilité des cellules de l'enveloppe, des fuites du contenu des cellules et, par conséquent, la mort cellulaire^{64, 65}. En plus de leur action antibactérienne, les polymyxines possèdent également une activité anti-endotoxine. L'endotoxine des bactéries à Gram négative est le lipide A qui fait partie des LPS et qui est neutralisée par l'action des polymyxines⁶⁶.

2.3. Spectre d'activité des antibiotiques :

Tableau III : Spectre d'activité des antibiotiques

Antibiotiques	Spectres
β-lactamines	Aminopénicillines (exemple : amoxicilline) : le spectre est large mais ces antibiotiques sont détruits par les pénicillinases y compris celle du Staphylocoque.
	Carboxypénicillines (exemple : ticarcilline) : l'avantage par rapport aux aminopénicillines est qu'ils sont souvent actifs sur le bacille pyocyanique et sur certaines souches productrices de céphalosporinases parmi les <i>Enterobacter</i> , <i>Serratia</i> et surtout <i>Proteus</i> indole positif.
	Pénicillines inhibiteurs des β-lactamases (exemple : acide clavulanique) : possèdent une faible activité antibactérienne mais détruit la majorité des pénicillinases.
	C1G (exemple : céphalotine) : elle résiste à la pénicillinase du Staphylocoque et est active sur un nombre de bacilles à Gram- parmi les entérobactéries mais non sur le bacille pyocyanique. Elle est détruite par les β -lactamases ⁶⁵ .
	C2G (exemple : céfoxitine) : Ces produits se distinguent des derniers par une résistance accrue vis-à-vis des céphalosporinases et un léger gain d'activité sur les souches sensibles ⁶⁵ .
	C3G (exemple : ceftazidime) : accentuent les avantages des précédents : meilleure activité sur les souches sensibles et rareté des souches résistantes. Ils ont une certaine activité sur le bacille pyocyanique, notamment la céfopérazone et la ceftazidime. De plus un autre produit, la cefsulodine est particulière pour son activité sur le bacille pyocyanique, alors qu'il est inactif sur les autres bacilles à Gram négatif ^{16,47} .
Aminosides	Les aminosides (exemples : gentamycine, nétilmycine, tobramycine) : Les aminosides sont actives sur les bactéries à Gram négatif et positifs, seules les bactéries anaérobic strictes résistent naturellement à leur action. La quasi-totalité des genres bactériens composant la famille des <i>Enterobacteriaceae</i> est naturellement sensible aux aminosides, à l'exception de <i>Providencia</i> qui produit une AAC (enzyme qui entraîne une acétylation du groupement amine des aminosides) ⁶⁷ . Les streptocoques, les entérocoques et les pneumocoques, bactéries à métabolisme anaérobic et aérobie tolérant sont naturellement résistant à de basses

	<p>concentrations d'aminosides avec des concentrations minimales inhibitrices (CMI), variant de 4 à 256 mg/l..</p> <p>Ce bas niveau de résistance s'explique par un transport actif inefficace à travers la membrane cytoplasmique lié à l'absence des enzymes de la chaîne respiratoire. En revanche, ces bactéries sont naturellement sensibles à de hautes concentrations d'aminosides ($\geq 1000\text{mg/L}$)⁶⁸.</p>
Quinolones	<p>Quinolones de 1^{ère} génération (exemple : acide nalidixique) : En raison de leurs spectres étroits, de leurs propriétés pharmacocinétiques, les quinolones de 1^{ère} génération sont restées des médicaments des infections urinaires à entérobactéries sensibles. Ils n'ont pas d'activité sur les bactéries à Gram positif.</p> <p>Quinolone de 2^{ème} génération (exemple : Péfloxacin, ciprofloxacine): Ces quinolones améliorent l'activité sur les bacilles à Gram négatif avec extension aux cocci à Gram positif. La Ciprofloxacine a l'activité la plus stable sur les entérobactéries. Elle est active sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>⁶⁵.</p>
phénicolés	<p>Le spectre comprend la plus part des bactéries aérobies et anaérobies, les espèces responsables de méningites : <i>Haemophilus influenzae</i>, <i>Streptococcus pneumoniae</i> et <i>Neisseria meningitidis</i>⁴⁵. Les cocci à Gram positif aérobies et la plupart des entérobactéries. L'activité est variable selon les souches de <i>Proteus</i> et apparentés, les <i>Serratia</i> et <i>Enterobacter</i>. <i>Providencia stuartii</i> est résistante et seulement un tiers des souches de <i>Proteus mirabilis</i> sont sensibles. Excellente activité sur les <i>Bacteroides</i> du groupe <i>fragilis</i>. Actif sur les spirochètes, <i>Chlamydiae</i>, <i>Mycoplasma</i> et <i>Rickettsiae</i>. Les espèces naturellement résistantes : <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, <i>Acinetobacter</i>, <i>Nocardia asteroides</i> et <i>Mycobacterium tuberculosis</i>^{54, 55}.</p>
Polymyxines	<ul style="list-style-type: none"> □ Les bacilles Gram négatif, à l'exclusion toutefois des <i>Proteus</i>, <i>Providencia</i>, <i>Serratia</i>, <i>Bacteroides</i> et d'un grand nombre de <i>Fusobactérium</i>. □ Les bactéries Gram positif, ainsi que les cocci Gram négatif sont résistantes. Il en est de même pour les mycobactéries⁶⁹.
Tétracyclines	<p>Antibiotiques à large spectre. Sont actifs sur un grand nombre d'espèces bactériennes à Gram positif et négatif, y compris les rickettsies, les chlamydiales, les mycoplasmes.</p> <p>Le spectre de ces différents produits est identique. Il existe seulement entre eux de minimes différences quantitatives d'activité. Toutefois, la minocycline est un peu particulière : certaines souches résistantes à la tétracycline peuvent rester sensibles à la minocycline^{69, 70}.</p>

3. La résistance bactérienne aux antibiotiques :

3.1 Définition :

D'un point de vue strictement bactériologique, une souche bactérienne est dite 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. Elle est dite naturelle lorsqu'elle est liée aux caractères génétiques normaux de l'espèce bactérienne. Elle est dite acquise lorsqu'elle atteint des souches au sein d'une espèce bactérienne normalement sensible⁷¹.

3.2 La résistance naturelle :

Une résistance est dite naturelle lorsqu'elle s'étend à toutes les souches d'une même espèce ou d'un même genre et permet ainsi de définir le spectre d'activité de l'antibiotique.

La résistance naturelle est liée le plus souvent à l'inaccessibilité de la cible de l'antibiotique, à l'absence totale de cette cible ou à une diminution de l'affinité de cette dernière pour la molécule.

La cible des β -lactamines est la paroi bactérienne. Les mycoplasmes dépourvus de cette dernière sont naturellement résistants à ces antibiotiques.

Les *Enterobacteriaceae* et *Pseudomonas* dont les enveloppes sont imperméables aux grosses molécules telles que les macrolides, les pénicillines G, V, la rifampicine présentent une résistance naturelle à ces drogues. On peut également citer l'exemple de la résistance des streptocoques et des bactéries anaérobies aux aminosides due à l'absence du système de chaîne respiratoire chez ces germes. La résistance naturelle peut également être liée à une sécrétion d'enzyme qui modifie l'antibiotique. C'est le cas des *Enterobacter cloacae* qui produisent naturellement une céphalosporinase inactivant les Aminopénicillines, les Céphalosporines de 1^{ère} et de 2^{ème} génération.

La résistance naturelle est une propriété innée, programmée dans le génome bactérien, elle est fixe et constante, elle concerne toutes les souches de l'espèce et est transmissible à la descendance.

3.3 La résistance acquise :

Il y a résistance acquise, lorsqu'une partie d'une souche bactérienne qui était normalement sensible à un antibiotique devient résistante. La résistance acquise n'est pas forcément innée, elle se transmet rarement à la descendance, mais peut se transmettre à d'autres bactéries (le transfert de plasmides).

La résistance acquise peut parfois être spontanée (c'est le cas de la résistance par mutation), elle peut survenir par plusieurs autres mécanismes : la mutation, la transformation, la conjugaison, la transduction, résistance acquise par l'intermédiaire des intégrons, des transposons.

3.3.1 Les mutations :

La mutation peut se définir comme toute modification provoquée ou spontanée dans la séquence d'ADN bactérien. C'est une modification stable et se transmet seulement à la descendance (transmission verticale). Cette mutation est très rare avec un pourcentage de survenue de 10^{-6} à 10^{-10} . Une mutation peut apparaître à la suite d'une délétion, d'une insertion ou d'un remplacement d'une ou de plusieurs paires de bases⁷². Il est à noter que des bactéries peuvent subir plusieurs mutations à la suite d'une inactivation du système naturel de correction des erreurs de réplication. C'est le cas de mutations rencontrées chez les entérobactéries aboutissant à une diminution de la perméabilité de la membrane bactérienne aux quinolones en plus d'une modification concernant les gènes de la topoisomérase II et IV^{73, 74}.

Les mutations peuvent concerner les gènes de structure des cibles des antibiotiques, dans ce cas, l'antibiotique ne reconnaîtra pas sa cible et devient inefficace. La mutation peut survenir aussi sur des gènes dont le rôle est de réguler la production d'enzyme inhibitrice. Ce qui va entraîner une production exagérée de l'enzyme pouvant aboutir à une multirésistance⁷⁵.

Le plus souvent, la mutation entraîne une résistance à un seul antibiotique ou à plusieurs molécules appartenant à une famille d'antibiotique.

Quand la mutation affecte la perméabilité et/ou le phénomène d'efflux une résistance à plusieurs familles d'antibiotique peut apparaître.

C'est le cas par exemple d'*Escherichia coli* chez qui une mutation dans le régulon *mar* affecte simultanément l'expression de plus de soixante gènes réduisant la production de la porine OmpF et augmentant la production d'AcrAB, qui est une pompe assurant l'efflux des bêta-lactamines, des fluoroquinolones, du chloramphénicol et de la tétracycline⁷⁶.

Chez *Pseudomonas aeruginosa*, une résistance à l'imipénème apparaît après une mutation qui entraîne une diminution de la production de porine oprD2. Cette porine permet le passage de l'imipénème à travers la membrane de la bactérie⁷⁶.

Des mutations peuvent entraîner l'altération du site actif de l'enzyme sécrétée par la bactérie. Cela entraîne une augmentation du spectre de substrat de l'enzyme⁷⁶.

3.3.2 La transformation :

La transformation a été décrite pour la première fois dans les années 1925⁷⁷. C'est le premier mécanisme de transfert de matériel génétique à avoir été décrit. La transformation se définit comme un transfert de matériel génétique nu ou libre d'une bactérie donatrice à une bactérie réceptrice dite en état de compétence. Le matériel génétique est introduit dans le génome bactérien où il pourra s'exprimer. Les nouveaux caractères génétiques sont stables et transmissibles à la descendance (transmission verticale). Plusieurs bactéries sont transformables parmi lesquelles certaines sont pathogènes : *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis* pour ne citer que ceux-là^{72, 77}.

Généralement, les gènes impliqués dans le processus de transformation sont des gènes de régulation et des gènes de composants structuraux^{72, 78}.

La transformation se déroule en six étapes qui sont :

- 1) La libération de matériel génétique nu dans l'environnement suite à la mort bactérienne ou après sa lyse par une technique comme la sonification. Le fragment d'ADN peut également provenir de l'excrétion par une bactérie vivante. Très récemment, la capacité de *Neisseria gonorrhoeae* à excréter du matériel génétique transformable a été démontrée⁷⁹.

- 2) La fixation d'ADN double brin sur les protéines de surfaces de la membrane bactérienne^{72,79}.
- 3) Le transport de l'ADN à l'intérieur de la bactérie, directement au travers du peptidoglycane chez les bactéries à Gram positif et après passage par la membrane externe chez les bactéries à Gram négatif. Ce transfert fait intervenir les porines⁷².
- 4) la transformation de l'ADN double brin en ADN simple brin par dénaturation.
- 5) La pénétration de l'ADN monobrin dans le cytoplasme de la bactérie après passage par la membrane cytoplasmique ;
- 6) La dernière étape consiste à l'intégration de l'ADN étranger dans le chromosome de la bactérie réceptrice. Elle nécessite une certaine homologie des séquences nucléotidiques entre bactérie donatrice et réceptrice⁷².

3.3.3 La conjugaison :

La conjugaison est un processus par lequel l'ADN est transféré d'une bactérie donatrice (appelée mâle) à une bactérie réceptrice (dite femelle). Elle a été découverte en 1947^{72, 80}. Ce type de transfert de matériel génétique exige un contact étroit entre les deux cellules bactériennes^{72, 80}. Elle peut se faire entre des bactéries n'appartenant ni à la même famille ni au même genre. La conjugaison a été décrite entre des bactéries à Gram positif et négatif. Elle peut se faire entre des bactéries phylogénétiquement éloignées^{81, 82}. Après formation d'un pont cytoplasmique qui résulte de la fusion du cytoplasme des deux bactéries, il y a un passage du matériel génétique de la bactérie mâle à la bactérie femelle. La conjugaison fait intervenir des complexes multi-protéiques codés par des gènes localisés dans les transposons ou sur le chromosome. La conjugaison fait intervenir les pili sexuels chez les bactéries à Gram négatif. Concernant les bactéries à Gram positif les bases de ce transfert restent encore mal connues^{72, 80}.

3.3.4. Transduction :

La transduction se définit comme un transfert d'ADN bactérien par le biais de vecteurs appelés bactériophages. Les bactériophages peuvent se présenter sous deux formes. La forme virulente est une infection lytique de la bactérie. La forme tempérée conserve la vie de la bactérie tout en s'introduisant dans son chromosome. L'ADN transféré va se répliquer en même temps que le chromosome bactérien. Cette forme tempérée peut se soustraire du chromosome, se multiplier et devenir virulente. Ce prophage peut emporter un ou plusieurs fragments d'ADN bactérien. En infectant d'autres bactéries il le transfère à la bactérie hôte. Ces fragments vont être répliqués en même temps que le chromosome de cette dernière.

La transduction est dite généralisée lorsque n'importe quel gène est transféré. Elle est dite spécialisée lorsque seuls les gènes situés sur le site d'intégration du prophage sont transférés⁸².

La transduction permet le transfert de gène entre bactérie du même genre ou phylogénétiquement proches. Cela est dû à la spécificité d'infection des pbages⁸³.

4. Résistance chez les entérobactéries :

4.1. Modification de PLP :

Plusieurs facteurs peuvent concourir à la résistance par modification de la cible : perte d'affinité des PLP pour les β -lactamines par mutation, acquisition de gènes ou de fragments de gènes codant pour des PLP d'affinité diminuée ou hyperproduction de PLP normales.

Des souches de *Proteus mirabilis* résistante à l'imipénème et au mécillinaïne ont été observées suite à une perte d'affinité de la PLP2 et à une diminution de la quantité de PLP1A⁸⁴. Cependant, ce mécanisme de résistance reste très rare chez les entérobactéries.

4.2. le phénomène d'efflux :

Les systèmes d'efflux sont constitués chez les entérobactéries de trois protéines :

Une insérée dans la membrane cytoplasmique jouant le rôle de la pompe,

Une seconde, insérée dans la membrane externe assurant le passage au travers de la membrane externe. Une 3^{ème}, périplasmique qui formerait un lien entre la pompe et les protéines de la membrane externe. Ces systèmes sont en fait des pompes métaboliques assurant l'expulsion active des produits du métabolisme ou de toxiques, comme les antibiotiques. En cas d'hypersécrétion, ces systèmes comme celui correspondant au gène *marRAB* chez *Escherichia coli*, entraînent généralement une résistance à bas niveau et croisée, à différents antibiotiques comme les β -lactamines, les quinolones, le chloramphénicol et les tétracyclines. La résistance par efflux est souvent couplée à une diminution de la perméabilité. L'association de ces 2 mécanismes peut entraîner une résistance à haut niveau et simultanée vis-à-vis d'antibiotiques non structuralement reliés, constituant de véritables systèmes de résistance⁸³.

4.3. Imperméabilité :

La membrane plasmique des entérobactéries est formée de lipopolysaccharide (LPS) dont la structure est hydrophile grâce à ces charges électriques de surface et très compact en profondeur grâce à ces acides gras insaturés. Cette organisation explique une résistance naturelle aux antibiotiques hydrophobes et/ou de masse moléculaire élevée (la pénicilline G, V et M, macrolides, rifampicine, acide fusidique et glycopeptides)⁸³. Les porines permettent des échanges par diffusion passive de nutriments et d'autres substances entre le périplasme et le milieu extérieur. Les β -lactamines hydrophiles peuvent également traverser la membrane externe en empruntant cette voie (porines OmpF et OmpC chez *Escherichia coli* et leurs équivalents OmpK36, OmpD et Omp36 chez *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Salmonella typhimurium*).

Des résistances acquises par diminution de perméabilité ont été rapportées chez *Escherichia coli*, *Proteus*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Enterobacter* et *Serratia* suite à une altération quantitative ou qualitative des porines⁸³.

4.4. Phénotype de résistance des *Enterobacteriaceae* aux β -lactamines:

Certaines entérobactéries sont naturellement productrices de(s) β -lactamase(s). Ceci permet de les classer en groupes phénotypiques de résistance qui sont :

4.4.1. Groupe 0 :

Il est constitué par des espèces totalement dépourvues de β -lactamases à l'état sauvage. Ces espèces telles que *Proteus mirabilis* et *Salmonella spp* sont naturellement sensibles à la majorité des β -lactamines : les aminopénicillines, les carboxypénicillines, les ureidopénicillines, les céphalosporines, les carbapénèmes ou l'aztreonam. Pour l'espèce *Proteus mirabilis* ainsi que la plus part des *Proteae*, l'imipénème est légèrement touché mais cette faible résistance n'a pas de conséquence clinique.

4.4.2. Groupe 1 :

Les espèces de ce groupe produisent naturellement mais en faible quantité une céphalosporinase de classe C. Ce sont *Escherichia coli* et *Shigella spp*. Ces espèces sont naturellement sensibles aux aminopénicillines, aux carboxypénicillines, aux ureidopénicillines, à l'aztreonam, aux céphalosporines et aux carbapénèmes. Cette céphalosporinase est chromosomique, non inductible de type AmpC. Elle peut chez certaines souches entraîner une résistance aux aminopénicillines, à leur association aux inhibiteurs de beta-lactamases et/ou aux céphalosporines de première génération⁸⁵. En France la fréquence du phénotype sauvage d'*Escherichia coli* en milieu hospitalier est de 50%⁸⁶.

4.4.3. Groupe 2 :

Le groupe 2 est constitué par des bactéries qui produisent une pénicillinase chromosomique de bas niveau. Les espèces de ce groupe sont *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter koseri*, *Citrobacter amalonaticus* et *Escheria hermanni*. Ces espèces produisent naturellement des pénicillinases non induites par les β -lactamines. Ces enzymes sont de classe A sensibles aux inhibiteurs de β -lactamases : SHV-1 ou LFN-1 pour *Klebsiella pneumoniae*, OXY pour *Klebsiella oxytoca*, des enzymes de type CKO pour *Citrobacter koseri*, CdiA pour *Citrobacter amalonaticus* et HER-1 pour *Escherichia hermanni*. Ces enzymes confèrent une résistance importante aux aminopénicillines, aux carboxypénicillines et très souvent inapparente aux ureidopénicillines. Pour ce phénotype sauvage, il y a toujours une persistance du diamètre d'inhibition autour des aminopénicillines.

En cas de pénicillinase haut niveau, souvent plasmidique, ce diamètre d'inhibition est aboli. Les associations pénicillines-inhibiteurs sont actives sur le phénotype pénicillinase bas niveau⁷³. A l'hôpital, environ 70% des souches de *Klebsiella pneumoniae*, 75% des souches de *Klebsiella oxytoca* et *Citrobacter Koseri* sont de phénotype sauvage en France⁸⁷.

4.4.4 Groupe 3 :

Ce groupe est constitué par les bactéries produisant une céphalosporinase à bas niveau. Elle est chromosomique de classe C (type AmpC) inductible par les β -lactamines. Les molécules fortement inductrices sont : la céfoxitine, l'imipénème et le clavulanate. Ces enzymes sont très répandues chez les entérobactéries isolées en bactériologie clinique. Il s'agit de : *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Serratia marcescens* (et toutes les autres espèces de ce genre), *Providentia stuartii*, *Providentia rettgeri*, *Pantoea agglomerans*, *Citrobacter freundii*, *Hafnia alvei*, *Morganella morganii*. Ce phénotype est résistant aux aminopénicillines, à leur association aux inhibiteurs de β -lactamases, aux céphalosporines de première génération⁸⁵.

Leur comportement vis-à-vis de la céfoxitine et du céfuroxime permet de les classer en trois sous-groupes :

- les espèces qui sont sensibles à la céfoxitine et au céfuroxime : *Hafnia alvei*, *Providentia stuartii*, *Providentia rettgeri*, *Pantoea agglomerans*.
- Celles qui sont plus résistantes à la céfoxitine qu'au céfuroxime : il s'agit de *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes* et *Citrobacter freundii*.
- Et le dernier sous-groupe qui est composé d'espèces qui sont plus résistantes au céfuroxime qu'à la céfoxitine : c'est *Serratia marcescens* et *Morganella morganii*.

La fréquence du phénotype sauvage est variable. Elle est fonction de l'espèce, de la situation épidémiologique du moment et du lieu considéré. En France la fréquence du phénotype sauvage est plus élevée chez *Hafnia alvei*, *Providentia stuartii*, *Providentia rettgeri* et *Morganella morganii* (65-85%) que chez *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes* et *Citrobacter freundii* (38-65%).

4.4.5. Groupe 4 :

Il s'agit de *Yersinia enterocolitica* et *Serratia fonticola*. Ces deux espèces produisent naturellement une céphalosporinase de classe C inductible et une pénicillinase de classe A non inductible et produite à bas niveau (groupe fonctionnel 2b). Chez *Serratia fonticola*, l'enzyme de classe A est une β -lactamase de classe 2be (SFO-1).

Les deux espèces de ce groupe sont résistantes aux aminopénicillines, à l'association aminopénicillines-inhibiteurs de β -lactamases, aux céphalosporines de première génération, aux carboxypénicillines. In vitro, ces deux espèces sont sensibles aux ureidopénicillines⁸⁵.

Tableau IV : Sensibilité des *Enterobacteriaceae* par groupe phénotypique de résistance aux β -lactamines.

Antibiotiques	Groupe 0	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3	Groupe 4
Aminopénicillines	S	S/I	R	R	R
Aminopénicillines + CLA	S	S/I	S	R	R
Carboxypénicillines	S	S	R	S	R
Carboxypénicillines + CLA	S	S	S	S	S
Ureidopénicillines	S	S	S→I	S	S→I
Ureidopénicillines + TAZ	S	S	S	S	S
C1G	S	S/I	S	R	R
C2G	S	S	S	R/I/S	S _c
Céfoxitine	S	S	S	R/I/S	S
C3G	S	S	S	S	S
C4G	S	S	S	S	S
Carbapénèmes	S	S	S	S	S

La flèche indique les interprétations préconisées

Tableau V : Répartition des *Enterobacteriaceae* par groupe phénotypique de résistance aux β -lactamines.

Groupe 0	<i>Proteus mirabilis</i> , <i>Salmonella spp</i>
Groupe 1	<i>Escherichia coli</i> , <i>Shigella spp</i>
Groupe 2	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Citrobacter koseri</i> , <i>Citrobacter amalonaticus</i> , <i>Escherichia hermanni</i> <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Serratia marcescens</i> (et toutes les autres
Groupe 3	espèces de ce genre), <i>Providentia stuartii</i> , <i>Providentia rettgeri</i> , <i>Pantoea agglomerans</i> , <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Hafnia alvei</i> , <i>Morganella morganii</i> .
Groupe 4	<i>Yersinia enterocolitica</i> et <i>Serratia fonticola</i>

5. Les β -lactamases :

5.1. Définition :

Les β -lactamases appartenant à la grande famille des hydrolases d'amides cycliques^{88, 89}. Elles sont une cause majeure de la résistance des bactéries aux β -lactamines⁹⁰. Les β -lactamases catalysent de manière efficace et irréversible l'hydrolyse de la liaison amide du cycle β -lactame donnant un produit biologiquement inactif qui perd totalement son activité antimicrobienne⁸⁹, régénérant l'enzyme pour une nouvelle réaction d'hydrolyse⁹². Il apparaît difficile de considérer les β -lactamases comme destinées seulement à protéger les bactéries contre les β -lactamines. Elles pourraient avoir un rôle physiologique dans l'édification de la paroi, au même titre que la transpeptidase et la D, D-carboxypeptidase. En effet toutes ces enzymes ouvrent le cycle β -lactame et s'y fixent⁹².

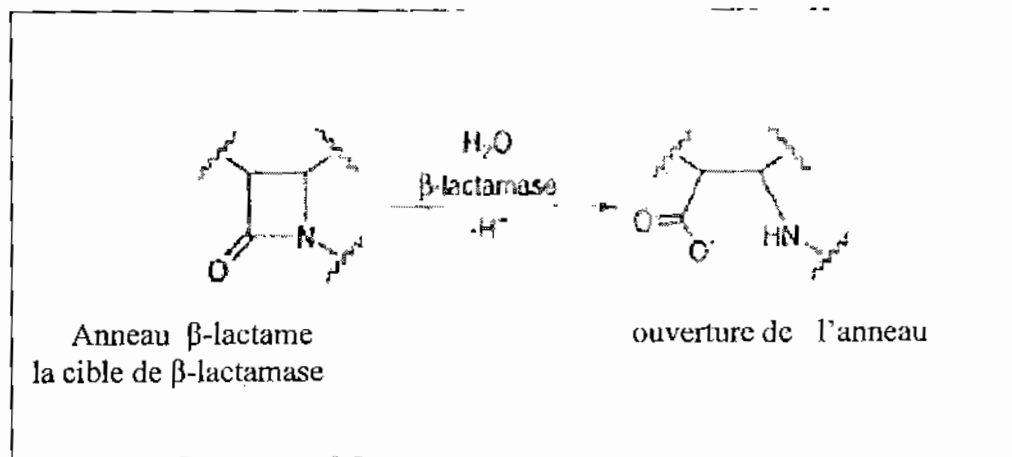


Figure 10 : l'hydrolyse de l'anneau β -lactame par les β -lactamases⁹².

5.2. Classification :

La classification de β -lactamases La plus largement utilisée est la classification d'Ambler^{93, 94}, qui prend en compte les analogies de séquences peptidiques, en particulier celles du site enzymatique ; ainsi 4 classes (A, B, C, et D) ont été identifiées. Les β -lactamases des classes A, C et D sont partie des enzymes à sérine active, c'est-à-dire qui possèdent dans leur site actif une sérine qui intervient dans le mécanisme d'acylation au cours de l'hydrolyse des β -lactamines. Par contre la classe B inclut les métallo- β -lactamases dont l'activité nécessite la présence d'ions métalliques⁹⁵. Les BLSE appartiennent soit au groupe A (types TEM, SHV, CTX-M) et en plus petit nombre au groupe D (type OXA). Les β -lactamases du groupe C sont des céphalosporinases (type AmpC) mais non BLSE⁹⁴.

5.2.1 Les enzymes de classe A :

Elles sont les plus nombreux et les mieux étudiées. Un très grand nombre de ces enzymes ont été signalés et plus de 45 séquences ont été déterminées. Leur poids moléculaire moyen est de 29000 DA⁸⁹. Dans cette classe, on retrouve les pénicillinases des bactéries à Gram positif, les β -lactamases plasmidiques à large spectre qui hydrolysent les céphalosporines avec autant d'efficacité que les pénicillines, les β -lactamases à spectre élargi qui hydrolysent les céphalosporines de 3^{ème} génération et les monobactames. La majorité de ces enzymes sont sensibles aux inhibiteurs suicides (acide clavulanique, sulbactame et tazobactame) utilisés en médecine⁹⁵.

Les principaux représentants de ce groupe sont les β -lactamases de type TEM, SHV et très récemment le type CTX-M.4⁹⁵.

5.2.2 Les β -lactamases de la classe B :

Contrairement aux sérine- β -lactamases, les β -lactamases de la classe B nécessitent la présence d'un ou deux ions zinc pour être actives⁹⁶. Ce sont des protéines monomériques obtenues exclusivement par des bactéries à Gram négatif. Par rapport à la classe diversifiée d'enzyme A, ils forment une famille plus homogène, avec une masse moléculaire d'environ 39 kDa⁹⁰. Leur importance clinique est liée au fait qu'elles hydrolysent les carbapénèmes, composés qui échappent à l'activité des β -lactamases à sérine active. La plupart des métallo- β -lactamases hydrolysent une variété de pénicillines et de céphalosporines, et sont insensibles aux inhibiteurs classiques (acide clavulanique, sulbactame, tazobactame). A partir de la séquence des enzymes, cette classe est subdivisée en trois sous classes, B1, B2, et B3⁹⁶.

5.2.3 Les enzymes de la classe C :

Ces enzymes sont des protéines monomériques obtenues exclusivement par des bactéries à Gram négatif⁸⁹. Leur hyperproduction est associée au phénotype de multirésistance observé chez certains bacilles à Gram négatif⁹⁷. Par rapport à la classe A d'enzymes diversifiée, ils forment une famille plus homogène, avec une masse moléculaire d'environ 39 kDa⁸⁹. Les enzymes de cette classe peuvent être divisés en deux groupes : les β -lactamases chromosomiques ampC et les β -lactamases plasmidiques. Elle renferme les céphalosporinases qui sont des enzymes résistantes à l'action de l'acide clavulanique et le sulbactame.

5.2.4 Les β -lactamases de Classe D :

Ce sont des protéines monomériques de 27 à 31 kDa, qui sont obtenues par des bactéries à Gram négatif⁸⁹. Elles hydrolysent les isoxazolylpénicillines comme la cloxacilline et l'oxacilline.

On les appelle des oxacillinases et sont représentées par les β -lactamases du type OXA. Ces enzymes sont plus ou moins résistantes à l'action de l'acide clavulanique, mais sont bien inhibées par le tazobactame⁹⁸.

IV.
MATÉRIELS
ET
MÉTODES

1. Cadre d'étude⁹⁹ :

Notre étude a été menée au Centre Charles Mérieux de Bamako.

1.1. Présentation du Centre Charles Mérieux :

Le Centre Charles Mérieux se situe à Bamako à Bamako Coura Bolibana. Il est composé de 2 entités : le laboratoire Rodolphe Mérieux (LRM) et le Centre de formation.

Les événements concernant ce centre se sont succédés comme suit :

- | | |
|--|--------------------|
| ✓ Pose de la première pierre | 15 janvier 2004 |
| ✓ Inauguration | 17 janvier 2005 |
| ✓ Démarrage des activités d'analyses médicales | 02 mai 2005. |
| ✓ Démarrage Action BIOMALI | 01 juillet 2005 |
| ✓ Démarrage des activités de formation | 01 août 2005 |
| ✓ Démarrage des activités de recherche | 01 septembre 2005. |

1.2. Identité du Centre :

- | | |
|--------------------------|---|
| ✓ Désignation | Fondation Mérieux Mali |
| ✓ Accord Cadre | N° 01899 du 18 Février 2004 |
| ✓ Forme juridique | ONG à but non lucratif |
| ✓ Domaine d'intervention | Analyses médicales, Formations, Recherche |
| ✓ Siège social | Rue du Docteur Charles Mérieux.
BP E 2283 Bamako MALI. |

1.3. Les missions :

Le Centre s'est fixé trois missions à savoir :

Améliorer la santé des populations

- ✓ Contribuer à l'accès à un diagnostic de qualité non discriminatoire
- ✓ Favoriser la formation et l'information scientifique des spécialistes africains
- ✓ Contribuer à la recherche scientifique sur les maladies à potentiel épidémique.

Créer un véritable partenariat Public - Privé

- ✓ La Fondation Mérieux
- ✓ Le Gouvernement du Mali
- ✓ Les Partenaires Nord Sud (Bailleurs et autres Organismes)

1.4. Les objectifs du Centre :

- ✓ Contribuer à la mise à disposition d'un diagnostic biologique non discriminatoire et accessible au plus grand nombre de patients.

- ✓ Renforcer la recherche dans le domaine de la santé publique et des maladies émergentes
- ✓ Accroître la motivation et la qualification des agents de santé par l'accès à la Formation et à l'Information scientifique
- ✓ Contribuer significativement au renforcement des capacités de diagnostic des laboratoires du Mali
- ✓ Participer à la création d'un réseau de laboratoires publics et privés pour une veille sanitaire durable
- ✓ Renforcer la synergie entre le Diagnostic, la Prévention et le Traitement
- ✓ Créer un véritable partenariat Privé - Public mobilisant les compétences Nord-sud.

1.5. Plateau technique :

Le laboratoire Rodolphe Méricux a des activités dans plusieurs disciplines de la biologie clinique que sont : la bactériologie, la parasitologie, l'hématologie, l'immunologie, la biochimie et l'hormonologie.

Les prélèvements débutent à 7 heures 30 minutes et sont exécutés par une responsable technique du laboratoire avec l'assistance d'une sage femme chargée des prélèvements.

Pour les prélèvements de sang, les tubes sont choisis selon la nature du prélèvement : les tubes secs pour les tests immunologiques et biochimiques, les tubes d'héparine pour le dosage de la glycémie, les tubes EDTA pour les examens hématologiques, les tubes de citrates pour l'hémostase.

Biochimie :

-En Biochimie, le dosage des paramètres est exclusivement effectué par des automates comme le Cobas Mira plus, le Pentra 400, l'Ilyte et le PRIM SECOMAM.

L'utilisation de ces appareils nécessite un nettoyage et une pré calibration des réactifs avant le passage des échantillons. Le Cobas Mira plus est nettoyé chaque jour avant et après l'exécution des analyses. Il utilise trois types de Rack : des Racks pour le contrôle et calibration, des Racks pour les réactifs et des Racks pour les échantillons.

Les Racks des réactifs sont perforés de trous dans les quels sont placés les godets. Chaque godet correspond à un paramètre. Ils sont remplis chaque jour avec les réactifs correspondants.

Après le remplissage des godets, les Racks sont placés sur l'automate et on procède à la pré calibration des paramètres à dosés.

Le passage des échantillons nécessite l'introduction du numéro d'ordre du patient, sa position sur le Rack et ainsi que les tests le concernant.

Les résultats sont imprimés automatiquement par l'appareil.

Comme pour le Cobas Mira plus, le PRIM SECOMAM et l'Ilyte sont nettoyés par l'eau distillée et le « critical care » avant le passage des échantillons.

L'utilisation du PRIM SECOMAM nécessite l'introduction des valeurs de la longueur d'onde et de l'étalon pour le dosage des paramètres (calcium, magnésium et acide urique).

-En Hématologie :

Les examens effectués sont essentiellement la numération formule sanguine, la vitesse de sédimentation, le test d'Emmel, l'électrophorèse de l'hémoglobine, la goutte épaisse dans le cadre de la recherche des hématozoaires, l'hémoglobine glyquée dans le cadre de la suivie des personnes diabétiques, la numération des réticulocytes dans le cadre des anémies arégénératives et régénératives.

L'ABX micros 60, l'ABX Penta 60 et le PentraXL 80 sont des automates qui permettent d'exécuter la numération formule sanguine. Notons que le passage des échantillons nécessite un passage des contrôles Diffrol normal et pathologique.

D'autre part certaines sont manuelles : la goutte épaisse dont les lames sont colorées à la solution de Geimsa diluée au 1/10^e pendant 15 minutes, des frottis réalisés par un mélange à part égale de sang et de bleu de crésyle brillant incubé dans l'étuve à 37° pendant 15 minutes pour la numération des réticulocytes.

-En Immunologie : la plus part des examens sont réalisés par des automates. Notamment le VIDAS et le mini VIDAS qui est fonctionnel après une programmation des paramètres à dosés.

Une fois les cartouches et les cônes pour chaque type d'analyse sont en place, on procède au lancement des sections.

D'autre part certaines analyses sont exécutées manuellement : le BW et le Widal par la méthode de dilution, l'ASLO (antistreptolysine O), le facteur rhumatoïde par des tests d'agglutinations, HCV (virus de l'hépatite C) par l'immuno CombsII, l'anticorps anti HIV-1/HIV-2 par le génie II.

L'option4 plus pour les TP (temps de prothrombine), TCA (temps de céphaline activée) et le dosage du fibrinogène.

-En Bactériologie :

Les examens sont essentiellement basés sur la cytologie urinaire, la recherche de mycoplasme par la méthode, la coproculture, la recherche d'infections urinaires et gynécologiques, cutanées, méningée etc...

En bactériologie, on adopte une procédure qui aboutit à l'identification et la détermination du germe infectieux en passant par plusieurs étapes telles que l'examen de l'aspect macroscopique, l'examen microscopique (état frais et coloration de Gram), le dosage des protéines (dans les prélèvements de

liquides en générale) etc... Selon les types de prélèvements, certaines étapes sont brulées comme par exemple l'état frais qui ne se fait pas avec un prélèvement de pus. La culture est faite sur des milieux de cultures adéquates en fonction de la nature des prélèvements comme indiqué dans l'annexe I.

-En parasitologie :

On a la coproculture d'une part qui se fait sur le milieu Ilektoen et la recherche des parasites dans les selles par la méthode de Kato qui consiste à :

- déposer une quantité de l'échantillon sur la lame ;
- Ajouter une goutte de vert de malachite ;
- Recouvrir le mélange par du scotch ;
- Chauffer la lame et observé au microscope à l'objectif 40

Pour la recherche de mycobacterium tuberculosis dans les urines, les crachats, les liquides céphalo rachidien et les liquides pleuraux, on utilise deux sortes de milieu : un milieu liquide (le BacT/ALERT) et le milieu Lowenstein Jensen.

Après une série de traitements des produits pathologiques et de décontaminations, le flacon BTA est incubé dans un automate appelé : le BacT/ALERT 3 D. Si le BTA signale la positivité du test, une quantité de l'échantillon est étalée sur la lame et colorée au Ziehl Neelsen pour identifier les bactéries qui ont poussées.

En plus de ces différentes analyses, le laboratoire Rodolphe Méricux fait également le spermocytogramme qui est une analyse visant à détecter de la stérilité masculine.

2. Type et période d'étude :

Notre travail est une étude analytique rétrospective et prospective réalisé de Février 2005 à Février 2010.

3. Population d'étude :

La population d'étude était constituée de patients ayant une infection à entérobactérie isolée au laboratoire Rodolphe Méricux (LRM) de Février 2005 à Février 2010.

3.1. Critères d'inclusion :

Ont été inclus dans notre étude des patients ayant une infection à entérobactérie isolée au LRM de Février 2005 au Février 2010 et ayant fait l'objet d'un antibiogramme quelque soit leur provenance et la nature des produits pathologiques:

3.2. Critère de non inclusion :

N'étaient pas inclus dans notre étude tous les patients ayant une infection bactériennes dues à des germes autres que les *Enterobacteriaceae* ou n'ayant pas fait l'objet d'un antibiogramme .

4. Echantillonnage :

Nous avons recueilli systématiquement toutes les entérobactéries isolées au JRM de Février 2005 à Février 2010.

4.1. Technique de collecte :

Elle consistait à la lecture des fiches d'antibiogramme dont le questionnaire comportait outre le numéro d'identification, les souches isolées, la nature des prélèvements, l'âge des patients, leur sexe ainsi que les antibiotiques testés.

5. Culture :

Les produits pathologiques ont été systématiquement examinés au microscope optique à l'état frais ou après coloration de Gram pour évaluer la flore bactérienne. Ces produits pathologiques ont été ensemencés dans différents milieux selon le type de prélèvements comme indiqué à l'annexe n°II.

6. Isolements des *Enterobacteriaceae* :

Les *Enterobacteriaceae* ont été principalement isolés sur le milieu Drigalski et Hektoen.

6.1. La gélose Drigalski :

Numéro de lot : 7M2140, référence : 64664 bioMérieux[®] SA. Marcy l'étoile, France.

- Usage :

Isolement des bacilles et colibacilles à Gram- de culture facile (*Enterobacteriaceae*).

- Composition :

- Peptone 15,0 g
- extrait de viande 3,0 g
- extrait de levure 3,0 g
- lactose 15,0 g
- désoxycholate de sodium 1,0 g
- cristal violet 0,005 g
- bleu de bromothymol 0,080 g
- thiosulfate de sodium 1,0 g
- agar-agar 11,0 g
- pH = 7,4 - 7,5.

La Gélose Drigalski est sélective grâce au cristal violet et au sel biliaire qui est le désoxycolate de sodium.

- Préparation :

Mettre en suspension 50 grammes de poudre dans un litre d'eau distillée. Bien mélanger et chauffer en agitant fréquemment jusqu'à ce que le milieu soit en ébullition. Faire bouillir pendant une minute. Distribuer dans des contenaires appropriés et stériliser à 115°C pendant 20 minutes. Couler dans des boîtes de pétri.

- **Lecture :**

Colonies jaunes : fermentent le lactose (lactose +)

Colonies vertes ou bleues : ne fermentent pas le lactose (lactose -).

L'épaisseur de la gélose est de 4mm. Le milieu de culture est utilisé dans les deux semaines après sa préparation.

6.2. Le milieu Hektoen :

Numéro de lot : 826727701, référence : 51050 bioMérieux[®] SA. Marcy l'étoile, France.

- **Usage :**

C'est un milieu de culture servant à isoler les *Salmonella*, *Shigella* et *Yersinia*.

- **Composition :**

- Peptone 12,0 g
- extrait de levure 3,0 g
- lactose 12,0 g
- saccharose 12,0 g
- salicine 2,0 g
- citrate de fer III et d'ammonium 1,5 g
- sels biliaires 9,0 g
- fuchsine acide 0,1 g
- bleu de bromothymol 0,065 g
- chlorure de sodium 5,0 g
- thiosulfate de sodium 5,0 g
- agar 14,0 g.
- pH \approx 7,6.

- **Préparation :**

Mettre en suspension 75 grammes de poudre dans 1 litre d'eau purifiée ou déminéralisée. Mélanger soigneusement. Chauffer jusqu'à ébullition. Répartir en flacons. Ne pas autoclaver. Transférer dans un bain d'eau thermostatée à environ 45-50°C. Maintenir les flacons à cette température jusqu'au moment de l'utilisation. Répartir en boîtes de pétri. Utiliser les boîtes après reprise et refroidissement

de la gélose. La gélose a une épaisseur de 4mm. Ce milieu est utilisé deux semaines après sa préparation.

- **Lecture :**

Les colonies sont normalement des colonies de bacilles à Gram négatif. Les colonies à centre noir sont H_2S^+ . Les colonies bleues ou vertes n'utilisent aucun des glucides du milieu.

Elles sont donc saccharose, salicine et lactose négatives. La couleur bleue peut être due à l'utilisation du citrate. Les colonies jaunes utilisent un ou plusieurs des glucides. Elles sont donc saccharose et/ou lactose et/ou salicine positives. Un précipité de sels biliaires peut apparaître pour les souches acidifiantes.

-Colonies jaune saumon: *E.coli*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia*

-Colonies jaune saumon à centre gris: *P. vulgaris*

-Colonies vertes à centre noir: *P. mirabilis*, *Salmonella*

-Colonies vertes ou bleuâtres: *Shigella*, *Morganella morganii*, *Providencia*

-Colonies bleuâtres oxydase+: *Pseudomonas*

7. Identification :

Après la culture, une colonie bien isolée est identifiée par ses caractères biochimiques et l'aspect des colonies à l'aide des milieux et tests suivants :

- Le test à l'oxydase,
- Le milieu urée- indole,
- Le milieu Uri select,
- La galerie d'identification API 20 E.

7.1. Le test à l'oxydase :

- Déposer un morceau de papier filtre sur la paillasse
- Déposer une goutte du réactif OX (bio Mérieux[®] SA, Réf. 55635, Lot 6887122010/0811, Marcy l'étoile, France).
- Etaler la colonie choisie avec une oese.

Une couleur violette apparaissant entre une à deux minutes indique une réaction positive.

7.2. Milieu urée-indole : mode opératoire :

- Mettre 1 (un) ml de réactif Urée-Indole dans un tube à hémolyse avec une pipette stérile,
- Emulsionner 2 (deux) colonies lactoses (-) dans le milieu,
- Placer le tube à l'étuve 2 à 4 heures.

Lecture :

Si virage au rouge violet : Uréase (+).

Repartir le liquide incubé entre 2 (deux) tubes différents et y ajouter une goutte du réactif Indole dans l'un et une goutte du réactif TDA (tryptophane désaminase) dans l'autre.

- o Pour le test à l'indole, un virage au bleu indique la positivité du test.
- o Pour le test TDA, une coloration brun indique la présence d'un tryptophane désaminase chez la bactérie.

7.3. Milieu Uri select :

Numéro de lot : 8K2025, référence : 64694 Bio-Rad® SA Marnes-la-coquette, France. Les colonies donnent différentes colorations en fonction des espèces.

□ Usage :

Il est surtout utilisé pour l'ensemencement des urines. C'est un milieu chromogène et non sélectif. Il permet l'identification directe de certains germes. Par contre, l'identification de certaines bactéries, nécessite d'effectuer d'autres caractères biochimiques.

□ Composition :

- les enzymes utilisées :
 - β -glucosidase
 - β -D galactosidase
 - Tryptophane désaminase (test complémentaire).
- Substances nutritives :

Elles sont fournies par des peptones sélectionnées, des sources d'électrolytes qui permettent la réduction du nombre d'espèces de *Proteus*:

□ Préparation :

Mettre en suspension 58,4 g de poudre dans 1 L d'eau. Mélanger soigneusement. Chauffer la solution jusqu'à ébullition. Refroidir un peu et couler dans des boîtes de pétri.

□ Identification :

Colonies rose : β -D-glucuronidase ou β -D-galactosidase spécifique pour *Escherichia coli*.

Colonic bleue : β -D-glucosidases, spécifiques d'*Enterococcus spp.* Et au groupe KES-C (*Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Citrobacter spp.*).

Pigmentation beige de la gélose : TDA (Tryptophane déaminase), spécifique du groupe PMP (*Proteus*, *Morganella*, *Providencia*).

□ **Limite :**

- Ne permet pas la croissance d'organismes exigeants (*Neisseria*, *Haemophilus*, *Mycoplasma*).
- Ne permet pas l'identification directe des autres bactéries à Gram négatif
- Quelques souches de staphylocoques peuvent être inhibés
- Quelques souches de levures ne se développent pas.

□ **Tests de confirmation :**

- Le test de confirmation est indispensable pour différencier *Enterococcus sp* et *Strepto.agalactiae*
- Pour le groupe PMP et *E.coli*, il faut confirmer par le test de la production d'indole. *Aeromonas hydrophila* peut produire des colonies roses similaires à *E.coli*, ceci nécessite la confirmation par le test de la production d'indole).

7.4. La galerie Api 20E :

Lot 839720201, Réf. 20160, bioMérieux[®] SA, Marcy l'étoile, France.

Cette galerie est basée sur les caractères biochimiques et permet l'identification des entérobactéries.

Le coffret API 20 E permet 25 identifications. Il se compose de :

- 25 galeries API 20 E
- 25 boîtes d'incubation
- 25 fiches de résultat
- 1 barrette de fermeture
- 1 notice technique

Pour utiliser API 20 E il faut en outre disposer de :

- Suspension medium, 5ml
- Kits réactifs (réactifs de Kovac, Nit 1, Nit 2, VP 1 + VP 2, TDA, James)
- Réactif ZN (poudre de zince)
- Huile de paraffine
- Pipettes
- Catalogue analytique API 20 E

- Portoirs pour ampoules
- Etuve à 35-37°C, réfrigérateur, bec Bunsen, marqueur.

7.4.1. Principe de la galerie API 20 E :

La galerie API 20 E comporte 20 cupules contenant des substrats sous forme déshydratée. Les cupules sont inoculées avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux.

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. Voir annexe n°2.

7.4.2. Mode opératoire de la galerie API 20 E :

➤ **Préparation de la galerie**

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et y déposer un papier buvard imprégné d'eau pour créer une atmosphère humide.
- Inscrive la référence de la souche sur la languette latérale de la galerie.
- Déposer la galerie dans la boîte d'incubation.

➤ **Préparation de l'inoculum**

- Ouvrir une ampoule de suspension medium (ou eau physiologique stérile sans additif)
- Prélever à l'aide d'une oese une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé
- Réaliser une suspension bactérienne de 0,5 McFarland en homogénéisant soigneusement.

➤ **Inoculation de la galerie**

- Remplir les tubes et cupules des tests : CIT, VP, GEL avec la suspension bactérienne en utilisant la pipette ayant servi au prélèvement. Remplir uniquement les tubes et non les cupules des autres tests.
- Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URI, I₁S en remplissant leurs cupules d'huile de paraffine.

Refermer la boîte d'incubation et la placer à l'étuve à 35-37°C pendant 18 à 24 heures.

➤ **Lecture de la galerie :**

- Après 18-24 heures à 35-37 °C, la lecture de la galerie est réalisée à l'aide du Mini Api. bioMérieux SA Marcy l'Etoile France, Ref. 69280.
- Noter sur la fiche de résultat toutes les réactions spontanées.
- Si le glucose est positif, révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs.
- Noter les résultats de la galerie et les résultats des tests complémentaires sur la fiche. des résultats.

➤ **Identification :**

On enregistre les résultats de chaque test de la galerie dans le Mini Api et celui-ci identifie automatiquement le germe.

8. Sensibilité des *Enterobacteriaceae* aux antibiotiques :

La galerie ATB G- a été utilisée pour déterminer la sensibilité de ces bactéries. La technique de diffusion des disques sur gélose a permis la mise en évidence des BLSE.

8.1. La galerie ATB G- :

Elle a été conçue suivant les recommandations du CASFM (comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie) 2003¹⁰⁰.

Numéro de lot : 838049201, référence : 14319, bioMérieux® SA, Marcy l'étoile, France.

8.1.1. Réactif et matériels :

- ✓ API suspension Medium (Réf. 70700 ou 70640 ou 720150) ou API NaCl 0,85 % Medium (Ref. 20070 ou 20040 ou 20230)
- ✓ ATB Medium (Réf. 14960 ou 14920)
- ✓ DENSIMAT (Réf. 99234)
- ✓ Pipette
- ✓ Mini API.
- ✓ Oseses calibrés de 10 μ l ou pipette
- ✓ Protège ampoules
- ✓ Portoirs pour ampoules
- ✓ Embouts stériles.

8.1.2. Principe :

La galerie ATB G- comporte 16 paires de cupules. La première, sans antibiotique, sert de témoins de croissance. Les 15 suivantes contiennent des antibiotiques à une seule ou deux concentrations (c et C).

La bactérie à tester est mise en suspension puis transférée dans le milieu de culture et inoculée dans la galerie. Après incubation, la lecture de la croissance se fait soit visuellement soit à l'aide du mini API®. Le résultat obtenu permet de catégoriser la souche sensible, intermédiaire ou résistante.

8.1.3. Mode opératoire :

- **Préparation de la galerie :**
 - Sortir la galerie de son emballage

-Noter l'identifiant de la bactérie à tester sur la languette latérale de la galerie.

• **Préparation de l'inoculum :**

Préparer une suspension bactérienne d'opacité équivalente à l'étalon 0,5 de McFarland en utilisant le DENSIMAT. La mise en suspension se fait avec une à plusieurs colonies fraîchement isolées que l'on met dans une ampoule d'API suspension Medium ou d'API NaCl 0,85% Medium.

Il est conseillé de contrôler la pureté de l'inoculum.

-Transférer 10 μ l de cette suspension dans une ampoule d'ATB Medium à l'aide d'une oese calibrée ou d'une pipette.

• **Inoculation de la galerie :**

- ✓ Homogénéiser l'ATB Medium avec la pipette en évitant la formation de bulles,
- ✓ Inoculer la galerie en transférant 135 μ l d'ATB Medium par cupule avec la pipette,
- ✓ Mettre un couvercle sur la galerie.
- ✓ Incuber 18-24 heures à 35-37°C en aérobiose.

8.1.4. Lecture et interprétation :

La lecture était faite automatique par le mini API.

Lors de la lecture automatique, vérifier la propreté de la partie centrale de la galerie afin de permettre la reconnaissance du code de la galerie par le lecteur. Vérifier la concordance entre l'intitulé imprimé sur la galerie et l'intitulé proposé par le logiciel.

Tableau VI : Pour les antibiotiques contrôlés à une seule concentration :

Aspect des cupules	Résultats	Sensibilité
clair	-	S SENSIBLE
trouble	+	R RESISTANTE

Tableau VII : Pour les antibiotiques contrôlés à deux concentrations :

Aspect des cupules		Résultats		Sensibilité
c	C	c	C	
clair	clair	-	-	S SENSIBLE
trouble	clair	+	-	I INTERMEDIARE
trouble	trouble	+	+	R RESISTANTE

Les antibiotiques testés ont été :

Tableau VIII :

Antibiotiques	Concentration (mg /l)
Amoxicilline	4-16
Amoxicilline-Acide clavulanique	4/2-16/2
Ticarcilline	16
Ticarcilline-Acide clavulanique	16/2
Imipénème	4
Cefalotine	8
Cefoxitine	8
Cefotaxime	4-32
Ceftazidime	4-32
Fosfomycine	32
Cefepime	4-32
Gentamycine	4
Amikacine	8
Cotrimoxazole (sulfaméthoxazole/ triméthoprime)	2/38
Acide nalidixique	8
Ciprofloxacine	1-2

8.1.5. Limites du test :

- Un temps d'attente entre les différentes étapes de la manipulation (de la préparation de l'inoculum à l'incubation de la galerie) peut affecter les résultats.
- Seules les cultures pures contenant un seul type de micro-organisme doivent être utilisées. Des cultures mixtes ou contaminées peuvent affecter le résultat.

8.2. Recherche de BLSE (β -lactamases à spectre élargi) :

Pour la détection des BLSE, nous avons utilisé la technique de diffusion des disques.

8.2.1. Les disques d'antibiotiques :

Les disques utilisés étaient les suivants :

- Amoxicilline + acide clavulanique (lot : 814605601, Réf.54632 bioMérieux[®] SA, Marcy l'étoile, France).

Et une céphalosporine de troisième génération qui pouvait être le ceftriaxone, la ceftazidime ou le cefotaxime.

- Ceftriaxone (lot: 7M3111, Réf.66188, Bio-Rad[®] SA Marnez-la-coquette, France).
- Cefotaxime 30 μ g (lot: 809243001, Réf.54382, bioMérieux[®] SA, Marcy l'étoile, France).
- Ceftazidime (lot : 7A3200, Réf.880326, bioMérieux[®] SA, Marcy l'étoile, France).

8.2.2. Milieu de culture :

Le milieu de culture utilisé pour la recherche de BLSE était la gélose de Mueller-Hinton.

Numéro de lot : 829977101, Réf. : 51075, bioMérieux[®] SA. Marcy l'étoile, France.

- Usage :

La gélose Mueller-Hinton est une gélose riche pour la réalisation de l'antibiogramme standard.

- Sa composition est la suivante :

- infusion de viande de bœuf : 300,0 ml
- peptone de caséine : 17,5 g
- amidon de maïs : 1,5 g
- agar : 17,0 g
- pH = 7,4.

- Préparation :

Peser 38g de poudre et la mélanger dans 1L d'eau distillée. Homogénéiser puis chauffer en agitant. Porter à ébullition pendant environ une minute. Ensuite il faut stériliser la gélose à l'autoclave durant 15 minutes à 116°C.

Cette gélose standardisée est la gélose permettant de tester l'action des antibiotiques sur les bactéries. Elle peut être additionnée de sang (pour les *Streptococcus*), d'extrait globulaire (pour *Haemophilus*). La gélose doit être coulée en boîte de façon à obtenir une épaisseur de 4 mm.

L'épaisseur de la gélose doit être strictement de 4 mm, quelque soit les dimensions et la forme de la boîte de pétri utilisée. Les boîtes ont été séchées à 37°C avant leur emploi.

8.2.3. La méthode de recherche des BLSE:

8.2.3.1. Principe :

En présence d'une BLSE, il y a une synergie entre 2 (deux) disques d'antibiotiques qui sont : un disque d'amoxicilline + acide clavulanique et un disque d'une céphalosporine de 3^{ème} génération comme par exemple la ceftazidime.

Le disque d'amoxicilline + acide clavulanique va inhiber la BLSE et la céphalosporine de 3^{ème} génération va pouvoir agir sur les bactéries.

8.2.3.2. Mode opératoire :

Il est impératif de travailler sur une souche pure. Effectuer une suspension du germe en eau distillée d'environ 0,5 Mcfarland comme pour un antibiogramme.

Inonder une gélose Mueller Hinton coulée en boîte de pétri de la suspension ; rejeter l'excédent de suspension et laisser sécher la boîte pendant une quinzaine de minutes à l'étuve à 37°C.

Déposer ensuite un disque d'amoxicilline + acide clavulanique au centre de la boîte et un disque de céfotaxime à côté ; On peut également déposer en plus un disque de ceftazidime ou une autre Céphalosporine de 3^{ème} génération pour vérification. Incuber la boîte 24 heures à 37°C.

8.2.3.3. Lecture :

Après observation le lendemain, l'image en bouchon de champagne indique la présence d'une BLSE.

9. Aspect éthique :

- **Confidentialité :**

L'anonymat et la confidentialité étaient de rigueur. Le triage des dossiers a été effectué dans la salle d'informatique du centre Charles Mérieux.

- **Consentiment du patient :**

Une partie de notre étude étant retrospective, il nous était difficile d'avoir le consentement de chaque patient. Nous avons plutôt demandé l'accord des responsables qui nous ont permis d'accéder aux dossiers des patients.

10. Chronogramme des activités :

- ✓ **Recherche bibliographique**
- ✓ **Rédaction**
- ✓ **Collecte des données**

Les données ont été recueillies à partir des dossiers des patients. Dans ces dossiers, on pouvait trouver des informations telles que le numéro du patient, l'âge, le sexe, l'espèce bactérienne responsable de l'infection et la sensibilité aux antibiotiques.

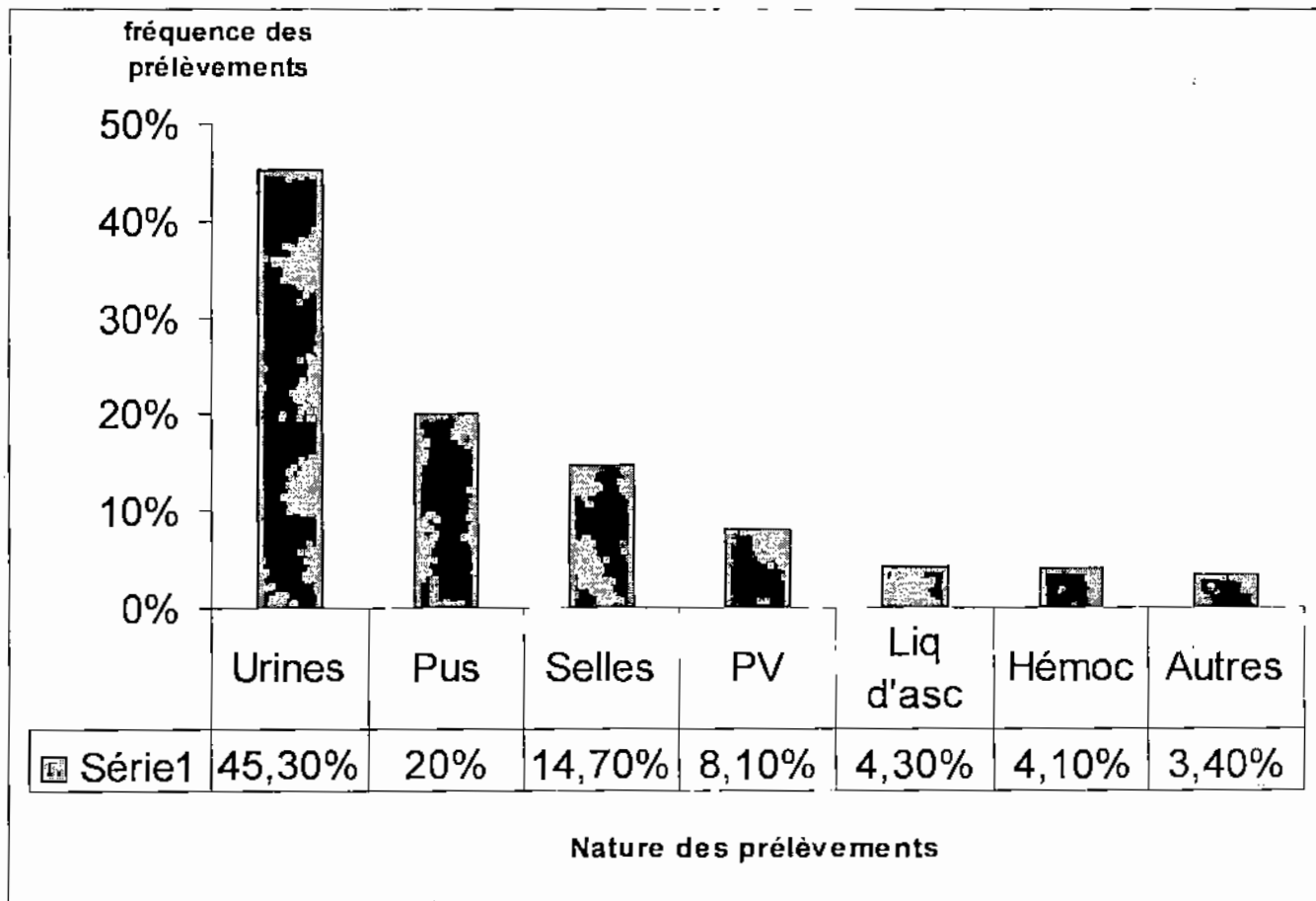
✓ **Analyse des données**

La saisie du document a été faite sur le logiciel Word. Nous avons saisi et analysé nos données sur le logiciel SPSS. Les figures ont été élaborées à l'aide du logiciel EXCEL.

V.
RESULTATS

1. Nature des prélèvements :

Figure 11 : Répartition des souches d'*Enterobacteriaceae* en fonction de la nature du prélèvement.



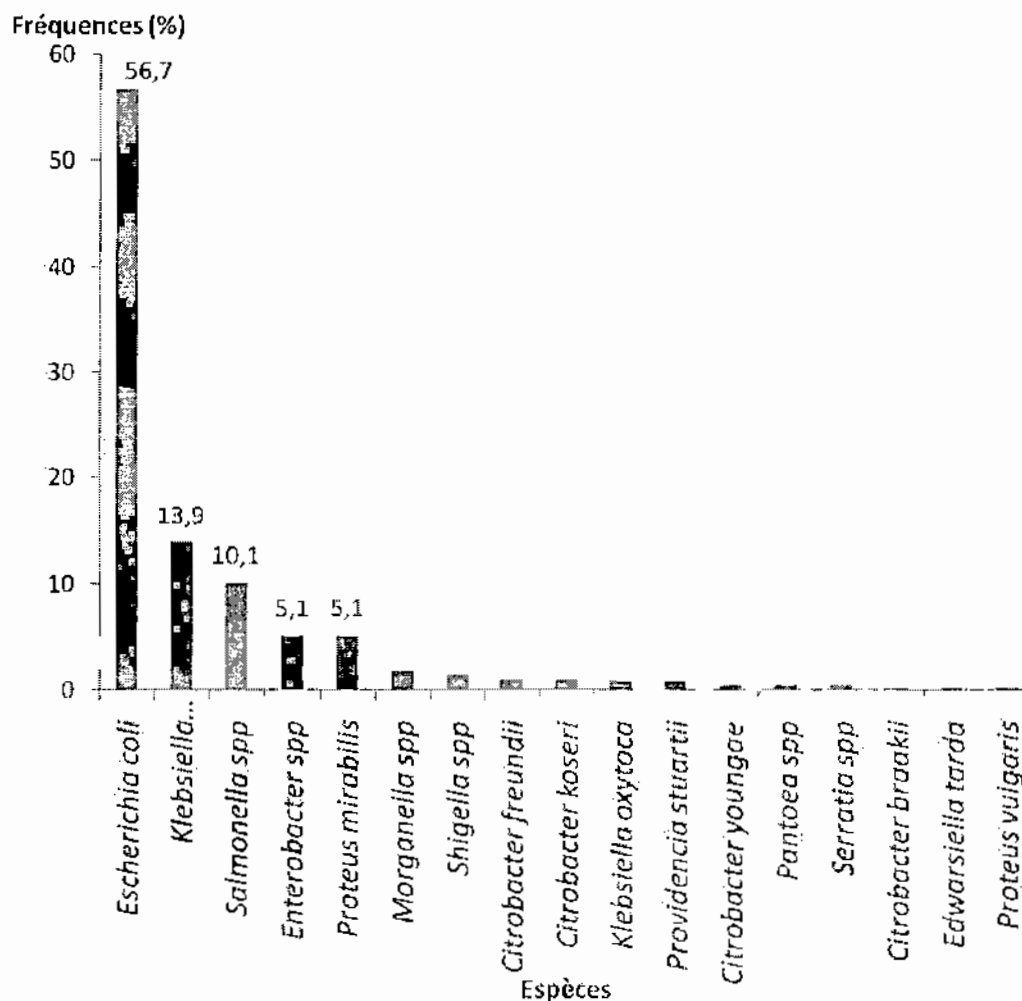
Au cours de cette étude, 395 souches d'*Enterobacteriaceae* ont été isolées. La majorité des souches isolées provenaient principalement des prélèvements d'urines (45,3%), de pus (20%) et de selles (14,70%).

NB :

Autres = prélèvement de gorge, liquide céphalorachidien, prélèvement urétral, liquide bronchique, prélèvement auriculaire, liquide prostatique, crachat (expectorations), sperme, liquide hépatique.

3. Répartition des *Enterobacteriaceae* selon l'espèce :

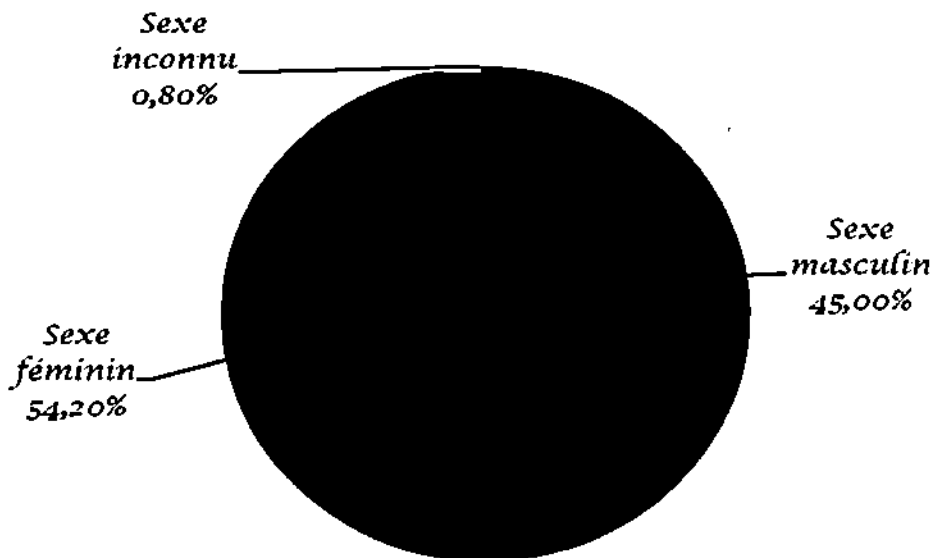
Figure 12 : Répartition des souches d'*Entérobacteriaceae* selon l'espèce.



Escherichia coli a été l'espèce la plus fréquemment isolée (56,70%) suivie par *Klebsiella pneumoniae* (13,90%) et *Salmonella spp.* (10,10%).

3. Répartition des patients porteurs d'*Enterobacteriaceae* selon le sexe :

Figure 13 : Répartition des patients ayant une infection à *Enterobacteriaceae* selon le sexe.

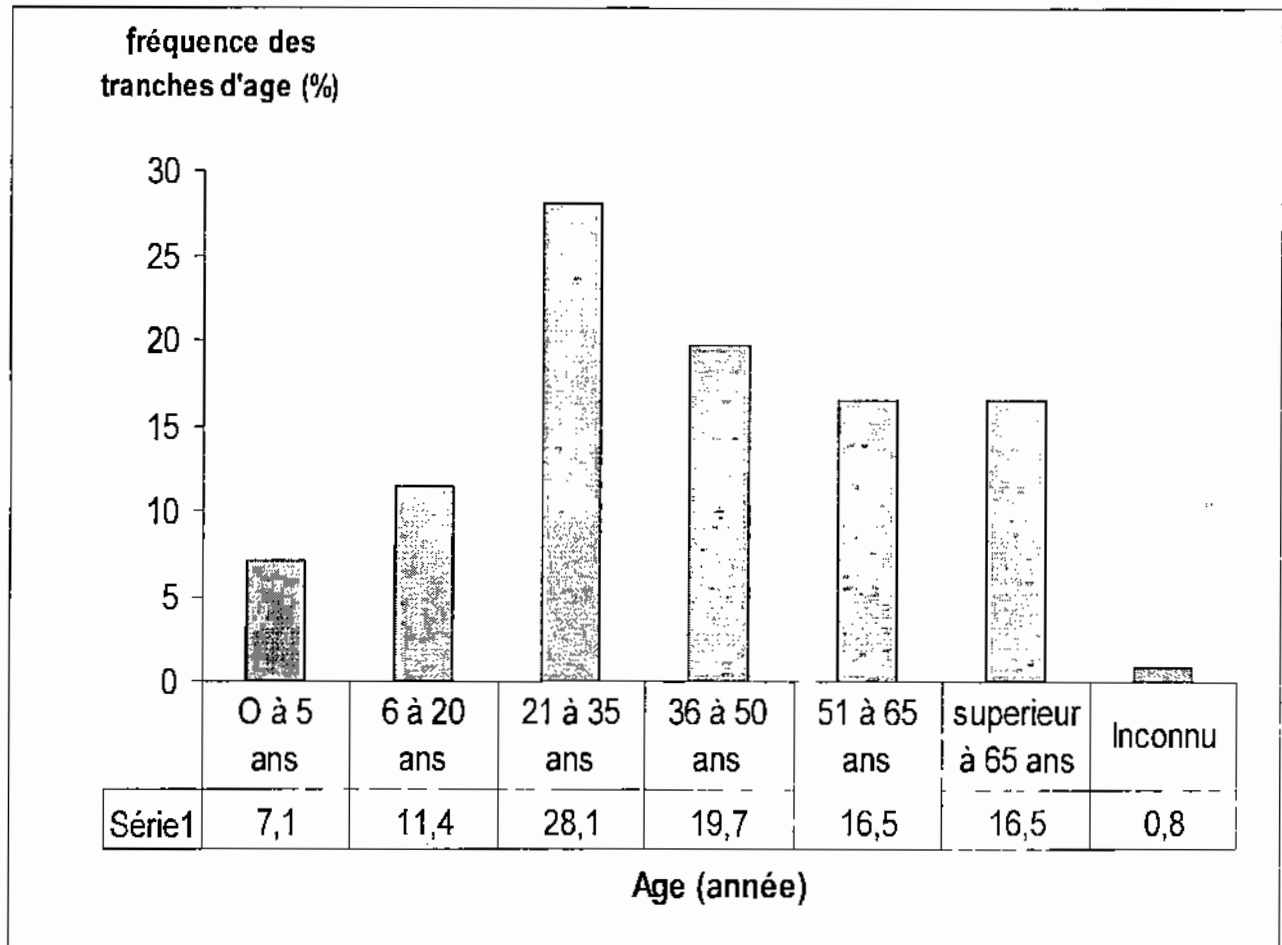


Les sujets de sexe féminin étaient plus touchés par les infections à *Enterobacteriaceae* que ceux du sexe opposé.

Le sexe n'a pas pu être déterminé chez 3 porteurs d'*Enterobacteriaceae*

4. Répartition des patients par tranche d'âge :

Figure 14 : Répartition par tranche d'âge des patients ayant une infection à *Enterobacteriaceae*.



La moyenne d'âge des patients dans notre étude était de 39 ans avec des extrêmes allant de 0 à 93 ans. L'effectif le plus élevé des patients se rencontrait dans la tranche d'âge de 21 à 35 ans.

Au delà de 51 ans, les infections à *Enterobacteriaceae* étaient encore plus fréquentes (33%).

5. Répartition des *Enterobacteriaceae* selon l'espèce et la nature des prélèvements :

Tableau VIV : Répartition des souches d'*Enterobacteriaceae* selon l'espèce et la nature des prélèvements.

Espèces	Urines	Pus	Selles	Prélèvements vaginaux	Liquide d'ascite	Hémoc	Autres	Total
<i>E. coli</i>	135(60,3%)	33(14,7%)	13(5,8%)	22(9,8%)	10(4,5%)	6(2,7%)	5(2,2%)	224(100%)
<i>Kleb p</i>	27(49,1%)	10(18,2%)	0	5(9,1%)	5(9,1%)	7(12,7%)	1(1,8%)	55(100%)
<i>S. enterica</i>	2(5%)	1(2,5%)	34(85%)	0	0	3(7,5%)	0	40(100%)
<i>Enterobacter spp</i>	3(15%)	7(35%)	1(5%)	2(10%)	2(10%)	0	5(25%)	20(100%)
<i>P. mirabilis</i>	1(5%)	17(85%)	0	0	0	0	2(10%)	20(100%)
<i>M. morganii</i>	3(42,9%)	3(42,9%)	1(14,3%)	0	0	0	0	7(100%)
<i>Shigella spp</i>	0	0	5(83,3%)	1(16,7%)	0	0	0	6(100%)
<i>C. freundii</i>	2	0	2	0	0	0	0	4
<i>C. koseri</i>	1	1	1	1	0	0	0	4
<i>K. oxytoca</i>	2	0	0	1	0	0	0	3
<i>P. stuartii</i>	0	3	0	0	0	0	0	3
<i>C. youngae</i>	1	0	1	0	0	0	0	2
<i>Pantoe spp</i>	2	0	0	0	0	0	0	2
<i>Serratia spp</i>	0	1	0	0	0	0	1	2
<i>C. brackii</i>	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>E. tarda</i>	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>P. vulgaris</i>	0	1	0	0	0	0	0	1
Total	179(45,3%)	79(20%)	58(14,7%)	32(8,1%)	17(4,3%)	16(4,1%)	14(3,5%)	395(100%)

Escherichia coli a été surtout isolé dans les urines (60,3%) et les pus (14,7%). *Klebsiella pneumoniae* étaient aussi fréquemment rencontrés dans les urines (49,1%) et les pus (18,2%). L'espèce *Salmonella enterica* étaient majoritairement isolée des selles (85%). *Proteus mirabilis* a été isolé surtout dans les pus (85%).

6. Phénotypes de résistance des *Enterobacteriaceae* par production de β -lactamases :

Tableau X : Répartition des souches d'*Enterobacteriaceae* selon la production de β -lactamases.

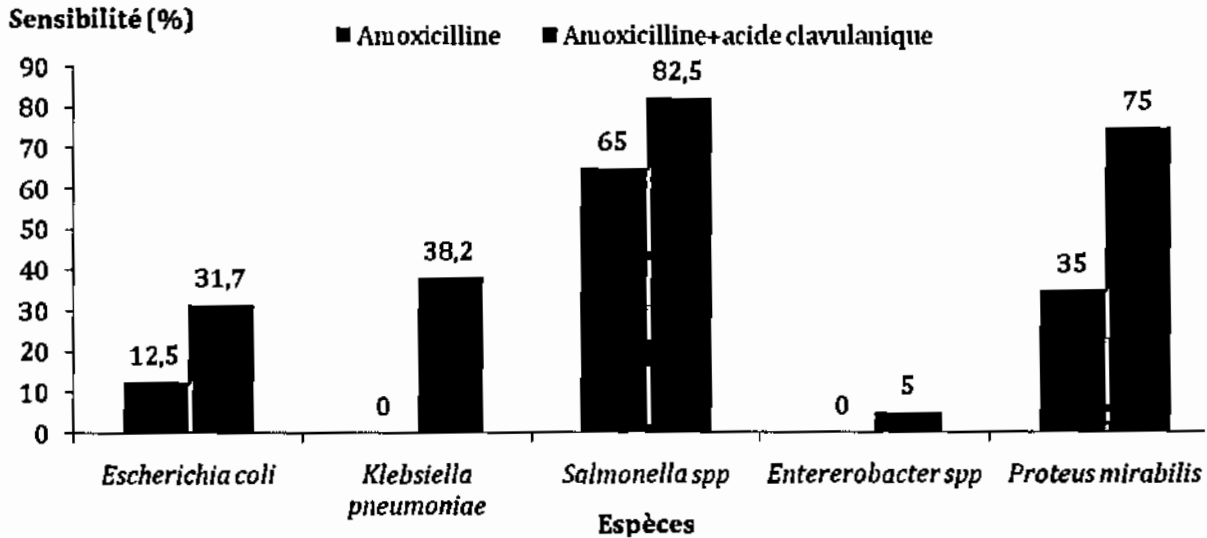
Phénotype	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella spp</i>	<i>Enterobacter spp</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	Total
Sensible	24(10,7%)	0	27(67,5%)	0	8(40%)	59(16,6%)
PBN	34(15,2%)	21(38,2%)	3(7,5%)	0	0	58(16,4%)
PHN	78(34,8%)	2(3,6%)	3(7,5%)	1(5%)	9(45%)	93(26,2%)
BLSE	56(25%)	31(56,4%)	3(7,5%)	1(5%)	0	91(25,6%)
Case	7(3,1%)	0	1(2,5%)	0	0	8(2,25%)
Pase+Case	14(6,3%)	0	3(7,5%)	0	0	17(4,78%)
Case inductible	0	0	0	14(70%)	0	14(3,94%)
Case déreprimée	0	0	0	4(20%)	3(15%)	7(1,98%)
TRI	8(3,6%)	0	0	0	0	8(2,25%)
Total	221(100%)	54(100%)	40(100%)	20(100%)	20(100%)	355 (100%)

L'espèce qui a été la moins productrice de β -lactamases était *Salmonella spp* avec 67% de phénotypes sensibles. La production de PHN a été importante chez *Proteus mirabilis* (45%) et *Escherichia coli* (34,8%). La production de PBN a été la plus élevée chez *Klebsiella pneumoniae* (38,2%). Les deux espèces chez lesquelles la production de BLSE a été importante étaient *Klebsiella pneumoniae* (56,4%) et *Escherichia coli* (25%). Chez *Enterobacter spp*, la production de céphalosporinases inductibles (70%) et de céphalosporinases déreprimées (20%) n'étaient pas négligeables.

7. Sensibilité des *Enterobacteriaceae* aux Pénicillines et à leur association aux inhibiteurs de β -lactamases :

7.1. Amoxicilline et l'association amoxicilline+acide clavulanique :

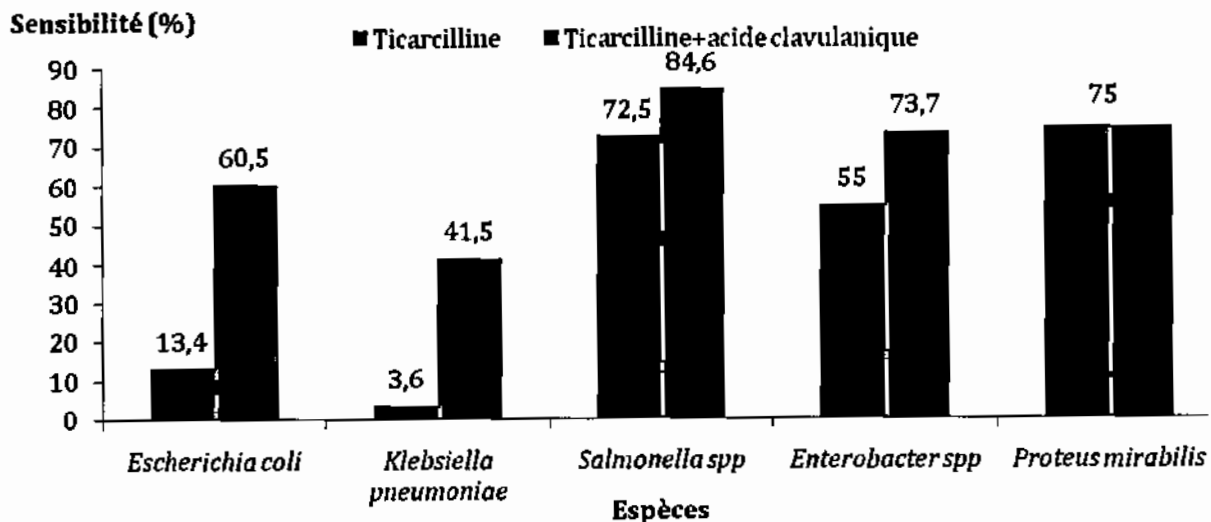
Figure 15 : Sensibilité des souches d'*Enterobacteriaceae* à l'amoxicilline et à l'association amoxicilline+acide clavulanique



Deux de nos souches que sont *Klebsiella pneumoniae* et *Proteus mirabilis* se sont montrées totalement insensibles à l'amoxicilline seule.

7.2. Ticarcilline et l'association ticarcilline+acide clavulanique.

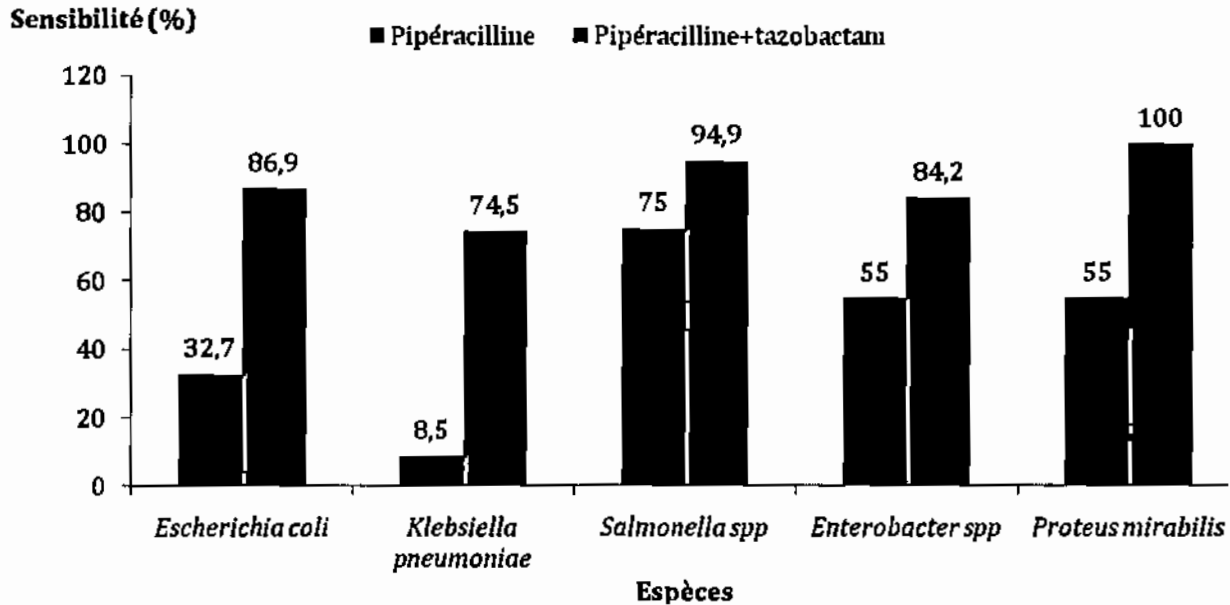
Figure 16 : Sensibilité des souches d'*Enterobacteriaceae* à la ticarcilline et ticarcilline+acide clavulanique.



Klebsiella pneumoniae et *Escherichia coli* ont montré très peu de sensibilité à la ticarcilline utilisée seule.

7.3. Pipéracilline et Pipéracilline+tazobactam :

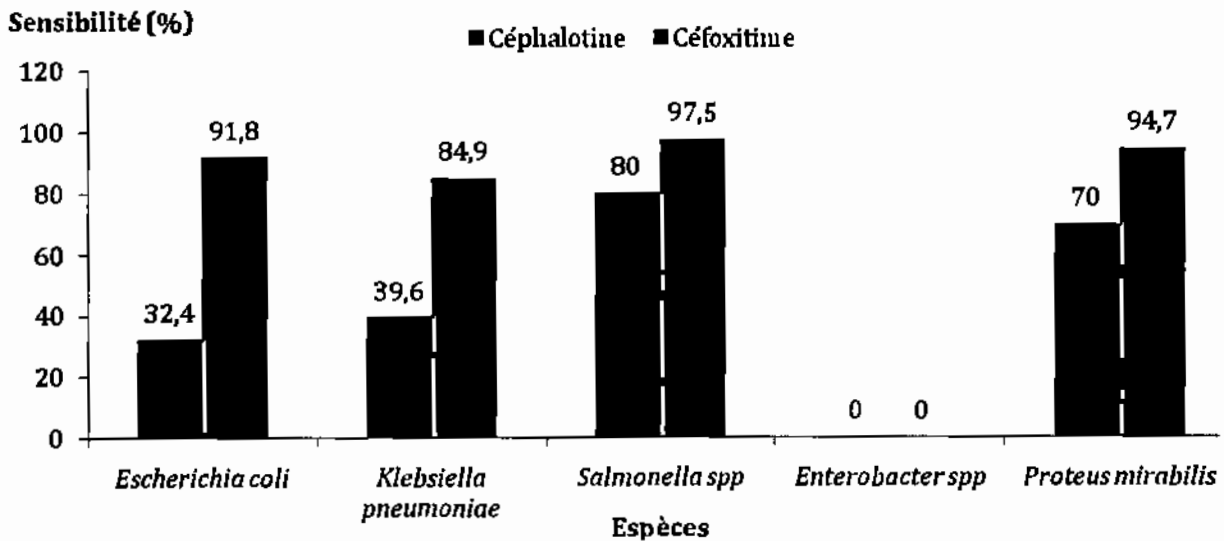
Figure 17 : Sensibilité des souches d'*Enterobacteriaceae* à la Pipéracilline et à l'association pipéracilline+tazobactam.



L'association pipéracilline+tazobactam a donné les fréquences de sensibilité les plus élevées pour nos souches. Les deux espèces *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* ont montré ici aussi une faible sensibilité à la pipéracilline utilisée seule par rapport aux autres espèces.

8. Sensibilité des *Enterobacteriaceae* aux C1G (céphalotine) et aux C2G (céfoxitime) :

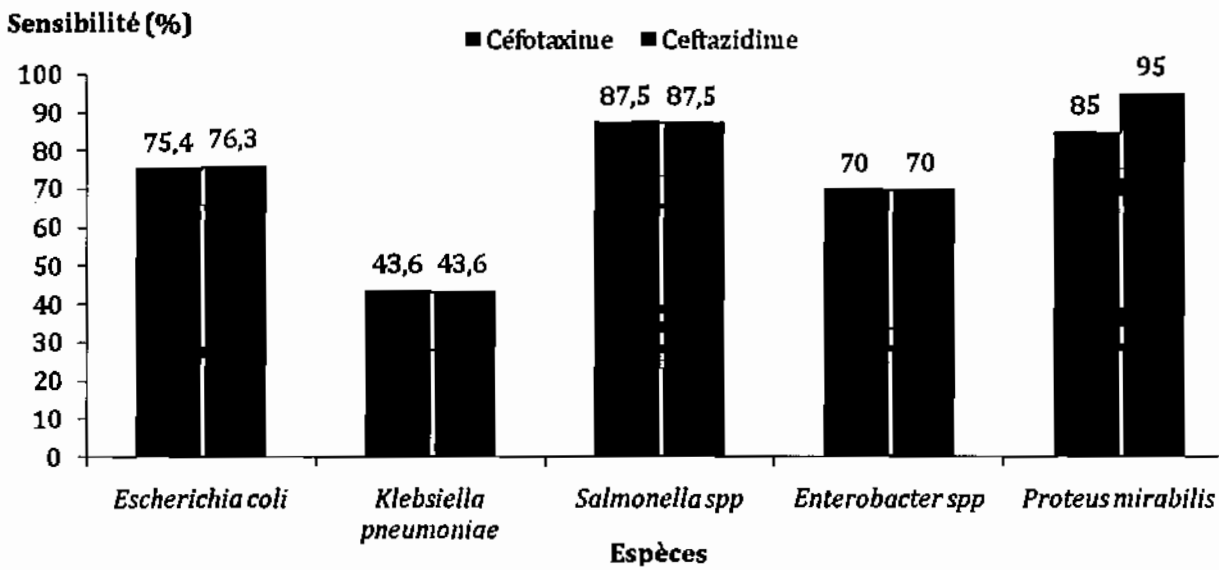
Figure 18 : Sensibilité des souches d'*Enterobacteriaceae* à la céphalotine et à la céfoxitime.



Les souches d'*Enterobacter spp* étaient totalement insensibles à la céphalotine et à la céfoxitime. On peut noter ici une grande efficacité de la céfoxitime sur les autres espèces.

9. Sensibilité des *Enterobacteriaceae* aux C3G (ceftazidime et céfotaxime) :

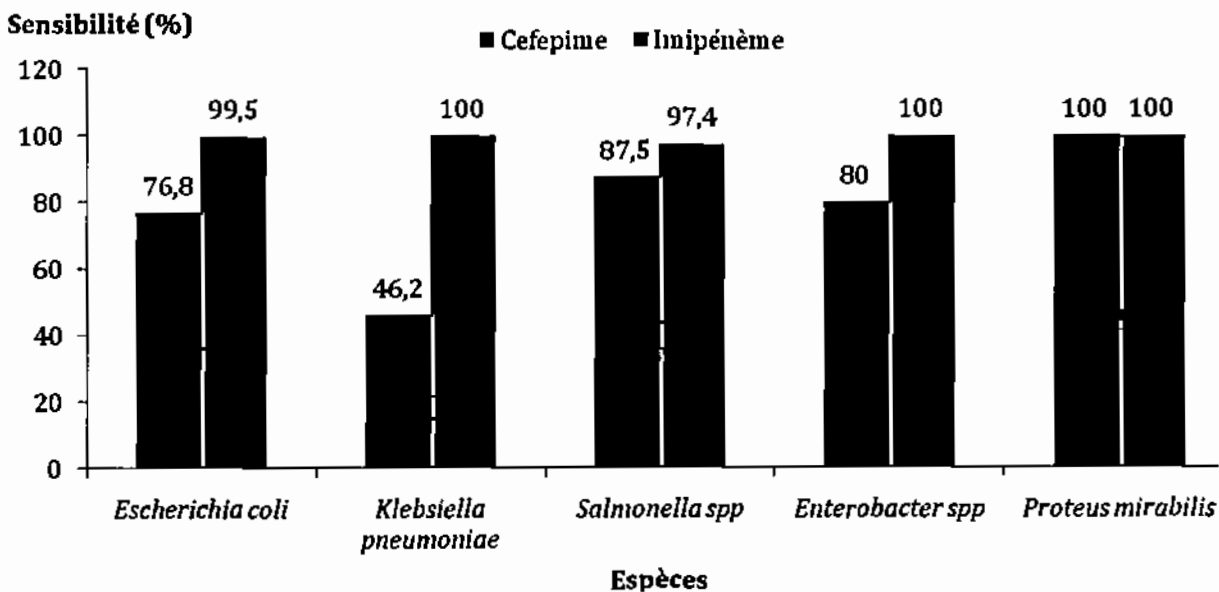
Figure 19 : Sensibilité des souches d'*Enterobacteriaceae* aux C3G.



L'activité de la ceftazidime a été presque identique à celle du céfotaxime, par contre leur activité sur nos souches a varié. Les souches de *Klebsiella pneumoniae* ont été peu sensibles (43,6%) à ces deux C3G contrairement aux autres espèces testées.

10. Sensibilité des *Enterobacteriaceae* aux C4G (céfépime) et aux carbapénèmes (imipénème) :

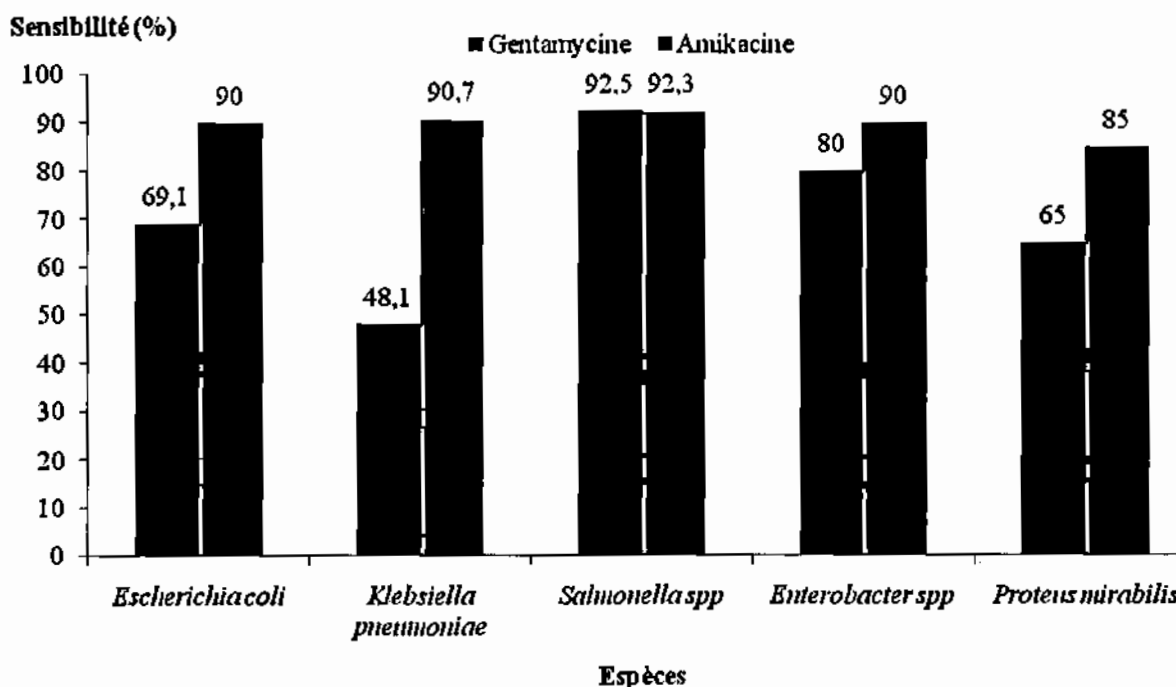
Figure 20 : Sensibilité des souches d'*Enterobacteriaceae* à la céfépime et à l'imipénème.



L'imipénème a été l'antibiotique le plus efficace sur nos souches d'*Enterobacteriaceae* avec 100% de souches sensibles pour les espèces *Proteus mirabilis*, *Enterobacter spp* et *Klebsiella pneumoniae*. Le céfépime a eu à son tour une très bonne activité sur les souches isolées. Cependant, *Klebsiella pneumoniae* a montré peu de sensibilité (46,2) vis-à-vis de cette C4G.

11. Sensibilité des *Enterobacteriaceae* aux aminosides (amikacine et gentamycine) :

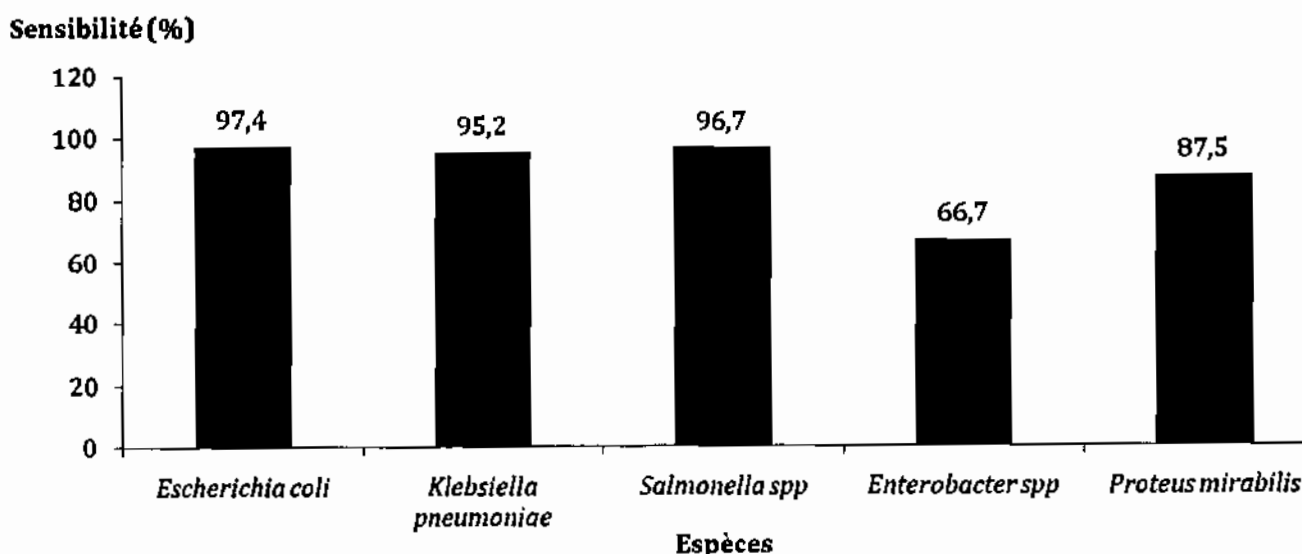
Figure 21: Sensibilité des souches d'*Enterobacteriaceae* à l'amikacine et à la gentamycine.



L'amikacine a été très efficace sur nos souches d'*Enterobacteriaceae*. Pour la gentamycine, on note une faible activité sur *Proteus mirabili* (65%) et une sensibilité très diminuée sur *Klebsiella pneumoniae*. (48,1%).

12. Sensibilité des *Enterobacteriaceae* à la fosfomycine :

Figure 22 : Sensibilité des *Enterobacteriaceae* à la fosfomycine.

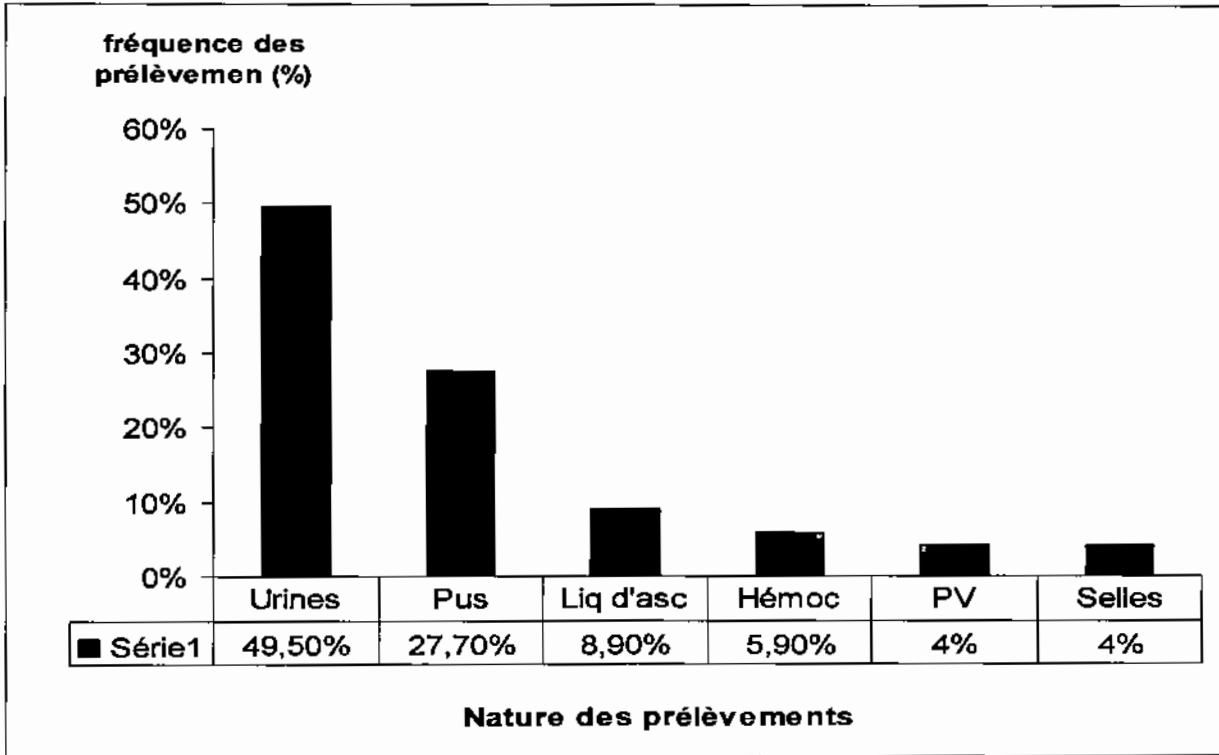


La fosfomycine a eu une très bonne activité sur les *Enterobacteriaceae* isolés avec cependant une légère diminution d'activité sur les souches d'*Enterobacter spp* (66,70% de sensibilité).

13. Le phénotype β -lactamase à spectre élargi (BLSE):

13.1. Répartition des *Enterobacteriaceae* producteurs de BLSE selon la nature des prélèvements :

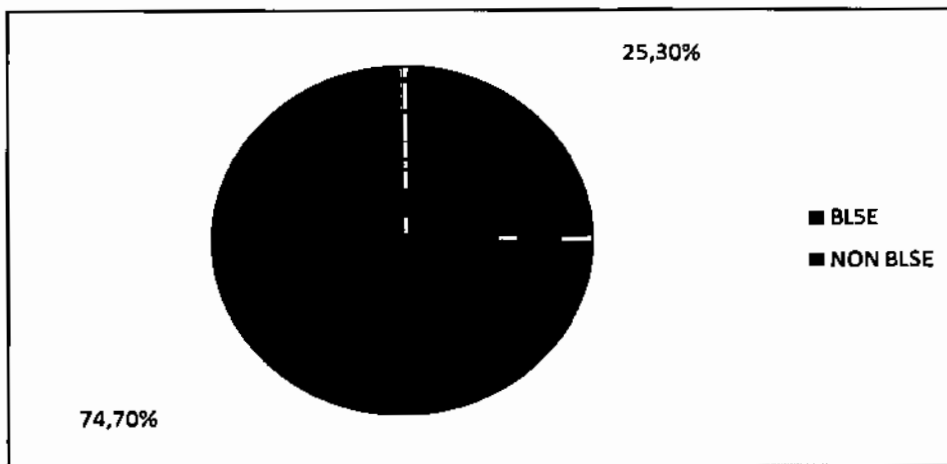
Figure 23 : Répartition des souches d'*Enterobacteriaceae* en fonction de la nature des prélèvements.



Les souches productrices de BLSE étaient principalement isolées à partir d'urines (49,50%) et de pus (27,70%).

13.2. Répartition des *Enterobacteriaceae* selon la production de BLSE :

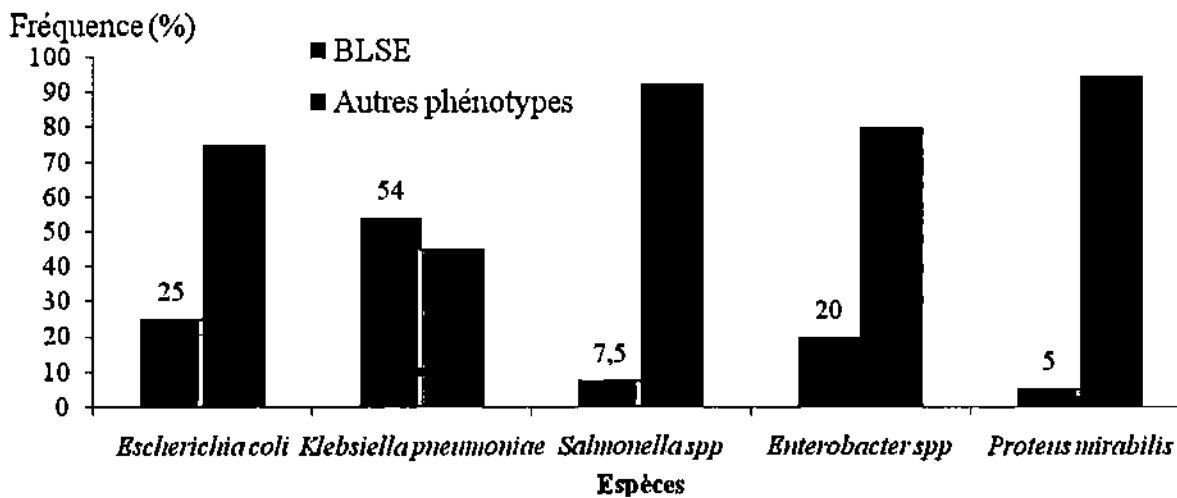
Figure 24 : Répartition des souches d'*Enterobacteriaceae* selon la production de BLSE.



Parmi nos souches d'*Enterobacteriaceae* isolées, 25,3% d'entre elles produisaient une BLSE.

13.3. Répartition par espèces des souches d'*Enterobacteriaceae* selon la production de BLSE :

Figure 25 : Répartition par espèces des souches d'*Enterobacteriaceae* selon la production de BLSE.

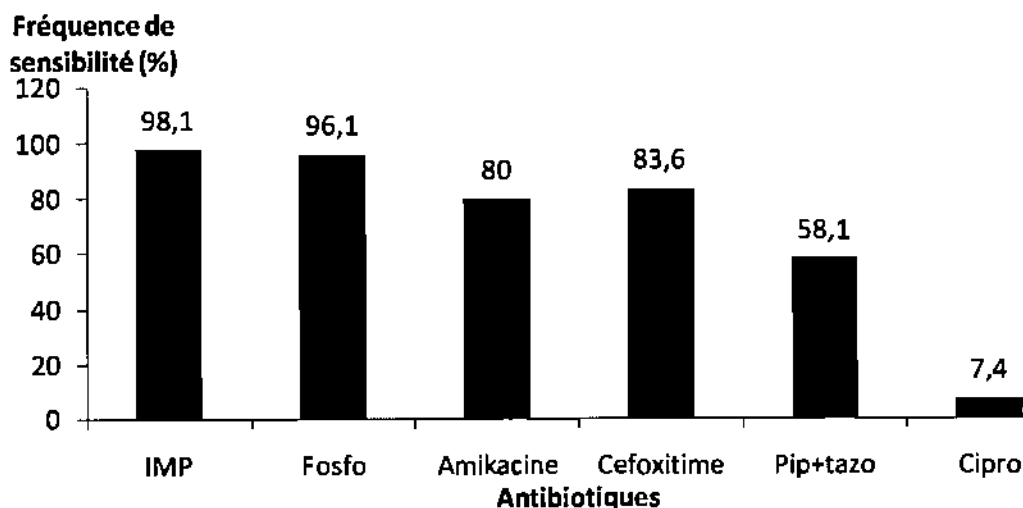


La fréquence de production de BLSE la plus importante était observée chez *Klebsiella pneumoniae* (54%). *Escherichia coli* a été la 2^{ème} espèce productrice de BLSE (25%) suivie par *Enterobacter spp* (20%).

13.4. Sensibilité des souches d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae* productrices de BLSE :

- *Escherichia coli* :

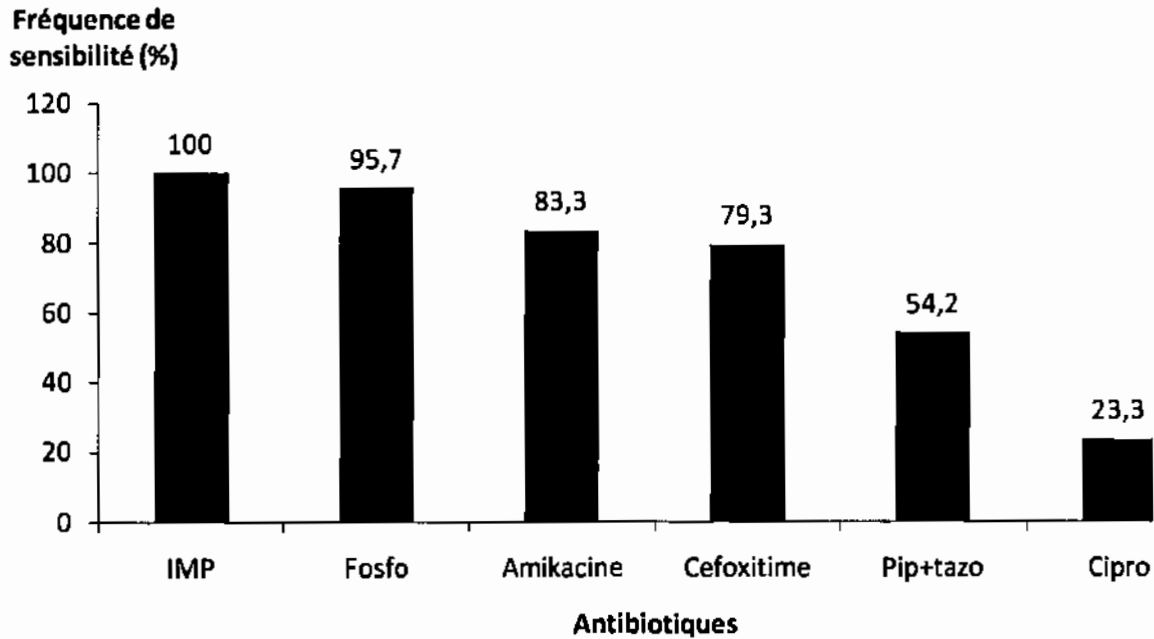
Figure 26 : Sensibilité des souches d'*Escherichia coli* productrices de BLSE.



Les souches d'*Escherichia coli* BLSE ont été très sensibles à l'imipénème, la fosfomycine, l'amikacine et à la céfoxitime. Cependant, on note une grande diminution de sensibilité pour l'association Pipéracilline+tazobactam (58,10%) et une sensibilité presque négligeable pour la ciprofloxacine (7,5%).

- ***Klebsiella pneumoniae*** :

Figure 27 : Sensibilité des souches de *Klebsiella pneumoniae* productrices de BLSE.



La sensibilité des souches de *Klebsiella pneumoniae* productrices de BLSE était très proche de celles des souches d'*Escherichia coli*. L'association pipéracilline+tazobactam est active sur seulement 54,2% des souches tandis que la sensibilité à la ciprofloxacine était très faible (23,3%).

VI.
COMMENTAIRES
ET
DISCUSSION

1. Interpretation :

Nos souches d'*Enterobacteriaceae* ont été identifiées sur la base de leurs caractères morphologiques et biochimiques¹⁵. La galeric Api 20E a été utilisé.

La sensibilité des souches a été déterminée par la galeric ATB G-.

La recherche des BLSE s'est faite par la mise en évidence de synergie entre le disque de l'association amoxicilline+acide clavulanique et un C3G par la méthode de diffusion. Pour cela, la gélose de Mueller Hinton a été utilisée.

L'interprétation en sensible, intermédiaire et résistant a été faite conformément aux recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie⁹⁹.

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

2. Résultats globaux :

La plupart de nos souches étaient isolées à partir de prélèvements d'urines (45,3%), de pus (20%) et de selles (14,7%).

Notre étude a révélé une prédominance d'*Escherichia coli* qui a représenté 56,7 % des souches isolées.

Ce résultat est proche de celui de Niandou qui, au cours d'une étude sur la résistance des entérobactéries à l'hôpital national du POINT G a trouvé qu'*Escherichia coli* représentait 61% des souches¹⁰¹.

L'espèce *Klebsiella spp* était la 2^{ème} espèce la plus représentée après *Escherichia coli* avec 13,9%. Cette espèce a représenté 14% des souches chez Niandou¹¹⁵. *Salmonella spp* a représenté 10,1% de la population d'entérobactéries.

La tranche d'âge la plus fréquente était celle allant de 25 à 35 ans.

En ce qui concerne les β -lactamases, les phénotypes les plus importants ont été les PHN (26,2%), les BLSE (25,6%), les phénotypes sensibles (16,6%) et les PBN (16,4%).

3. La production de β -lactamases chez les entérobactéries :

3.1. *Escherichia coli* :

Dans notre étude, chez l'espèce *Escherichia coli*, le phénotype pénicillinase de haut niveau a été prédominant (34,8%). Ce chiffre est plus bas que celui de la France où 40 à 55% des souches de *Escherichia coli* et *Proteus mirabilis* présentent un phénotype de résistance de type pénicillinase de haut niveau⁸⁶. Puis suivent les β -lactamases à spectre élargi (BLSE) avec 25%. Le phénotype pénicillinase de bas niveau représentait 15,2% des souches. Chez Niandou, ce taux était de 11%¹⁰⁰.

Chardon et coll. ont trouvé plus de pénicillinases de bas niveau (39,3 %) que nous¹⁰². Au cours de notre étude, les souches sensibles à toutes les β -lactamines c'est-à-dire le phénotype sensible était de 10%. Le phénotype Pse+Case représentait chez *Escherichia coli* 6,3% et les TEM résistants aux inhibiteurs (TRI) ont représenté 3,6% des souches.

Concernant les BLSE, notre résultat se rapproche de celui d'une étude menée en Turquie de 2004 à 2005 qui a montré que 21% des souches d'*Escherichia coli* produisaient une BLSE¹⁰³. Ce pourcentage était supérieur aux 5,2% observés dans une étude multicentrique espagnole couvrant 15 laboratoires de microbiologie en 2006¹⁰⁴. Une étude faite dans un orphelinat de Bamako (Mali) a montré que parmi 118 souches d'entérobactéries BLSE les souches d'*Escherichia coli* représentaient plus de la moitié de l'échantillon (56%)¹⁰⁵.

Chez Niandou, le phénotype PHN a été également prédominant avec cependant une production plus importante que celle observée dans la présente étude (49%). Dans cette même étude, le phénotype sensible à toutes les bêta-lactamines était de 15 % et les pénicillinases de bas niveau à 11 %¹⁰¹.

3.2. *Klebsiella pneumoniae* :

Klebsiella pneumoniae a été l'espèce chez laquelle la production de BLSE était la plus importante avec 56,7% de souches productrices. *Klebsiella pneumoniae* est également l'espèce la plus fréquente dans la productrice de BLSE en Hongrie et en Russie et en plus une augmentation de la fréquence de productrices de BLSE chez cette espèce a été rapportée en Pologne, en Turquie, la bulgarie et la Roumanie. Le phénotype PBN était le plus important chez cette espèce (38,2%). Seulement 3,6% des souches étaient productrices d'une β -lactamase de type pénicillinase de haut niveau (PHN).

Nos résultats montrent une augmentation de la production de BLSE (56,7%) comparativement à d'autres études menées au Mali. Ainsi Keïta et Niandou avaient obtenu respectivement 28 % et 43,3%^{101, 105}. Dans les unités de soins intensif au Brésil, au Venezuela et en Colombie 32 à 60% des souches de *Klebsiella pneumoniae* produisaient une BLSE^{106, 107}. En Afrique du Sud, la production de BLSE chez cette espèce est plus basse. Une étude dans un hôpital d'Afrique du Sud a montré que 36,1% des souches de *klebsiella pneumoniae* étaient productrices d'une BLSE¹⁰⁸.

Aux Etats Unis, la production de BLSE était également moins importante. Une étude de la surveillance nationale des infections nosocomiales (NNIS) a montré que seulement 6,1% des souches de *Klebsiella pneumoniae* dans les unités de soins intensifs étaient productrices de BLSE⁹. Au Japon, la production de BLSE chez *Klebsiella pneumoniae* est seulement de 5%¹⁰⁹.

En 1997 à Nagpur (Inde), 17 des 66 souches de *Klebsiella pneumoniae* étaient productrices de BLSE¹¹⁰. En 2004 deux études à New Delhi (Inde) ont montré respectivement que 70,6% et 12,6 % des souches de *Klebsiella pneumoniae* étaient productrices de BLSE^{111, 112}.

3.3. *Salmonella spp* :

Salmonella spp a été l'espèce chez qui la production de β -lactamase était la plus faible. Le phénotype sensible à toutes les β -lactamines a été prédominant avec 67%.

Dans notre étude, chez cette espèce, les phénotypes de résistance par production de β -lactamases étaient les suivantes : 7,5% de PBN et de PHN et de BLSE ; 2,5% céphalosporinases. Comparativement à notre étude, Niandou a obtenu plus de phénotypes sensibles que nous (72,7%). Chez ce dernier, la production de PBN et de PHN qui était de 13,6% chacune¹¹³ a été également plus importante que dans notre étude.

Par contre, les souches de Niandou ont été plus résistantes que les nôtres avec seulement 21% de phénotype sensible et jusqu'à 62% de PHN¹⁰¹.

Les souches de Niandou et Coulibaly ne montraient pas de production de BLSE mais une étude menée par Bauernfeind A, Casellas JM *et al.* A rapporté la production d'une BLSE de type cefotaximase chez *Salmonella typhimurium*¹¹⁴.

En France, la fréquence du phénotype sauvage chez *Salmonella* est d'environ 90% mais avec une grande disparité selon les sérogroupes. Ainsi, en 1998, La fréquence du phénotype sauvage chez *Salmonella typhimurium* était seulement de 25% dans ce pays¹¹⁵.

3.4. *Enterobacter spp* :

Les phénotypes de résistance aux bêta-lactamines retrouvés chez cette espèce ont été la céphalosporinase inductible (70%), la céphalosporinase déréprimée (20%), la PHN (5%) et la BLSE (5%). Nos souches ont été plus sensibles que celles de NIANDOU qui a obtenu 47,5% de céphalosporinase hyperproduite, 32,5% céphalosporinase inductible et 7,5% de BLSE. Par contre, les souches de Kounta paraissent moins résistantes avec seulement 3% de céphalosporinases hyperproduites et 97% de céphalosporinases inductibles¹¹⁶. Dans notre étude, les souches d'*Enterobacter* n'ont pas été très résistantes, cependant, cette espèce peut se montrer très résistante dans certaines localités. Une étude menée à l'Est de la France, a montré que 30,2% des souches d'*Enterobacter* étaient productrices de BLSE¹¹⁷.

En effet, *Enterobacter* (surtout *Enterobacter cloacae* et *Enterobacter aerogenes*) fait partie des entérobactéries les plus concernées par ce phénotype céphalosporinase de haut niveau. En milieu hospitalier, sa fréquence est d'environ 30% chez *Enterobacter cloacae* et *Enterobacter aerogenes*¹³². La fréquence élevée de cette enzyme pourra s'expliquer par le fait que les entérobactéries du groupe 3 dont fait partie *Enterobacter cloacae* et *Enterobacter aerogenes*, possèdent naturellement une céphalosporinase de classe C appelée AmpC qui est inductible⁸⁵. Lorsque la production de cette enzyme est induite elle est alors appelée céphalosporinase hyperproduite ou déréprimée.

3.5. *Proteus mirabilis* :

Les phénotypes de résistances aux β -lactamines retrouvés chez cette espèce ont été la PHN (45%), la céphalosporinase hyperproduite (15%). Le phénotype sensible représentait 40% des souches isolées. On n'a noté aucune production de BLSE chez nos souches de *Proteus mirabilis*. Ces résultats diffèrent de ceux de Niandou qui a trouvé 42% de PBN et 34% de PFIN¹⁰¹. Même si la production de BLSE a été observée chez les souches de Niandou, elle n'était que de 3%.

En France, le phénotype sensible chez *Proteus mirabilis* est plus important que dans notre étude avec 50%⁸⁶.

4. Relation entre sensibilité des entérobactéries et production de β -lactamases :

4.1. Amoxicilline et association Amoxicilline+acide clavulanique :

Lorsque l'amoxicilline est utilisée seule, la plupart des souches d'entérobactéries étaient résistantes. La sensibilité à cette molécule a été très faible chez *Escherichia coli* (12,5%) et *Proteus mirabilis* (35%) tandis qu'aucune souche de *Klebsiella pneumoniae* ni d'*Enterobacter spp* ne s'est montrée sensible. La sensibilité de *Salmonella spp* était diminuée (65%).

En utilisant l'association amoxicilline+acide clavulanique, on obtenait une sensibilité considérable des souches de *Salmonella spp* (82,5%) et de *Proteus mirabilis* (75%).

L'utilisation de cette association n'a pas apporté un changement considérable à la sensibilité des souches d'*Enterobacter* (5%) ni d'*Escherichia coli* (31,7%) et de *Klebsiella pneumoniae* (38,2%).

La résistance importante d'*Enterobacter spp* à l'amoxicilline et l'association amoxicilline+acide clavulanique peut s'expliquer par la présence d'enzyme de type AmpC chez cette espèce qui est insensible aux inhibiteurs de β -lactamases⁸⁹.

Chez Niandou, cette espèce a été également très résistante à l'amoxicilline et l'association amoxicilline+acide clavulanique¹⁰¹.

4.2. Ticarcilline et association Ticarcilline+acide clavulanique :

Les souches d'entérobactéries étudiées ont été plus sensibles à la ticarcilline qu'à l'amoxicilline et la deuxième association c'est-à-dire ticarcilline+acide clavulanique plus efficace que la précédente association.

La sensibilité à la ticarcilline a été très faible chez les souches d'*Escherichia coli* (13,4%) et de *Klebsiella pneumoniae* (3,6%). Mais cette sensibilité augmente lorsqu'on utilisait l'association ticarcilline+acide clavulanique avec 60,5% pour *Escherichia coli* et 41,5% pour *Klebsiella pneumoniae*. La sensibilité de *Klebsiella pneumoniae* était considérablement augmentée lorsqu'on utilise un inhibiteur de β -lactamase. Cela peut s'expliquer par la présence de pénicillinase naturelle chez cette espèce.

Les autres espèces ont été sensibles. Pour *Salmonella spp*, 72,5% des souches ont été sensibles à la ticarcilline et 84,6% à l'association ticarcilline+acide clavulanique. Chez *Enterobacter spp*, la sensibilité a augmenté de 55% à 73,7% tandis qu'il n'y a eu aucune évolution de sensibilité pour l'espèce *Proteus mirabilis*. Cela pourra s'expliquer par la faiblesse de l'expression de la pénicillinase de *Proteus mirabilis* qui se montre alors plus sensible à la ticarcilline que les autres espèces productrices de pénicillinases.

Niandou, a rapporté une grande résistance d'*Escherichia coli* à la ticarcilline (81%) alors que la résistance de *Klebsiella pneumoniae* à cette molécule a été accrue. chez Niandou, les souches de *Salmonella spp* étaient moins sensibles (17%) que les nôtres.

Cela peut être dû à la provenance des souches de ce dernier qui était majoritairement hospitalière. Dans l'étude menée par Niandou dans laquelle 65% des souches d'*Enterobacter spp* provenaient des hôpitaux, seulement 30% de ces souches étaient sensibles²⁷.

4.3. Pipéracilline et association pipéracilline+tazobactam :

Parmi les différentes associations entre les pénicillines et leurs associations avec les inhibiteurs de β -lactamases, l'association entre la pipéracilline et le tazobactam a été la plus efficace sur les entérobactéries. Lorsqu'elle est utilisée seule, la pipéracilline a montré peu d'efficacité sur la plus part de nos souches. Ainsi, 32,7% des souches d'*Escherichia coli* s'étaient montrés sensibles, seulement 8,5% des souches de *Klebsiella pneumoniae* tandis que 55% des souches d'*Enterobacter spp* et de *Proteus mirabilis* ont été sensibles. La sensibilité des souches isolées dans notre étude à l'association Pipéracilline+tazobactam se présentait de la façon suivante : *Escherichia coli* (86,9%), *Klebsiella pneumoniae* (74,5%), *Salmonella spp* (94,9%), *Enterobacter spp* (84,2%) et sur *Proteus mirabilis* (100%).

Chez Foua également, la pipéracilline s'est montrée plus sensible sur les entérobactéries que les autres pénicillines.

On note chez FOUA quelques résistances à cette molécule pour *Escherichia coli* (33,33%), *Klebsiella pneumoniae* (40%), pour *Enterobacter spp* (25%), par contre toutes les souches de *Proteus mirabilis* ont été sensibles à la pipéracilline chez Foua¹¹⁸.

Après les associations amoxicilline+acide clavulanique et ticarcilline+acide clavulanique, l'utilisation de l'association pipéracilline+tazobactam a montré à son tour une nette amélioration de la sensibilité des souches d'entérobactéries. Cette augmentation de sensibilité lorsqu'une association de pénicilline+inhibiteur de β -lactamase est utilisée témoigne de l'implication de la production de β -lactamases dans la résistance de ces bactéries.

5. Sensibilité des entérobactéries à la céphalotine (C1G) et à la céfoxitine (C2G) :

L'espèce *Enterobacter spp* produisant naturellement une céphalosporinase de type AmpC inductible était totalement insensible à la céphalotine et à la céfoxitine.

Les autres espèces ont montré peu de sensibilité avec la céphalotine. Quand à la céfoxitine, elle a eu une bonne activité sur les souches d'*Escherichia coli* (91,8%), de *Klebsiella pneumoniae* (84,9%), de *Salmonella spp* (97,5%), et de *Proteus mirabilis* (94,7%).

En effet, la céfoxitine possède une activité accrue sur les entérobactéries à part les espèces du groupe 3 qui produisent naturellement une enzyme de type AmpC chromosomique et inductible.

Ces résultats concordent avec ceux de Niandou chez la céfoxitine a été sensible aux souches d'*Escherichia coli* (78%), de *Klebsiella pneumoniae* (84%), de *Salmonella spp* (100%) et de *Proteus mirabilis* (64%). Chez Niandou également, aucune souche d'*Enterobacter spp* n'a été sensible à la céfoxitine¹⁰¹.

6. Sensibilité des souches d'entérobactéries aux céphalosporines de 3^{ème} génération (céfotaxime et ceftazidime) :

A part *Proteus mirabilis* chez qui on observe une légère augmentation de l'activité de la ceftazidime par rapport au cefotaxime, les C3G utilisés ont eu les mêmes activités sur les souches d'*Escherichia coli* (75,4%), de *Klebsiella pneumoniae* (43,6%), de *Salmonella spp* (87,5%) et d'*Enterobacter spp* (70%).

Les C3G ont été inefficaces sur seulement *Klebsiella pneumoniae*. Cela pourra s'expliquer par la fréquence élevée du phénotype BLSE (56,7%) chez cette espèce. A part *Klebsiella pneumoniae*, la 2^{ème} espèce la moins sensible aux C3G a été *Enterobacter spp*. La fréquence du phénotype céphalosporinase déréprimé (20%) chez cette espèce peut expliquer cette diminution de sensibilité par rapport aux autres espèces.

7. Sensibilité des entérobactéries au cefépime et à l'imipénème :

Le cefépime a donné une bonne activité sur les souches d'*Escherichia coli* (76,8%), de *Salmonella spp* (87,5%), d'*Enterobacter spp* (80%) et surtout de *Proteus mirabilis* (100%). Par contre *Klebsiella pneumoniae* a manifesté une résistance considérable à cette molécule avec seulement 46,2% de souches sensibles. Cette résistance de *Klebsiella pneumoniae* au cefépime peut s'expliquer par le phénotype BLSE qui est très fréquent chez cette espèce. La résistance de *Klebsiella pneumoniae* a été récupérée par l'imipénème car 100% des souches étaient sensibles à cette molécule.

L'imipénème a été la molécule la plus active sur nos souches. *Proteus mirabilis* et *Enterobacter spp* étaient sensibles à 100% à cette molécule tandis que *Escherichia coli* était sensible à 99,5% et *Salmonella spp* à 97,4%.

8. Sensibilité des entérobactéries à l'amikacine et à la gentamycine :

La gentamycine a eu une très bonne activité sur les souches d'*Enterobacter spp* (80%) et de *salmonella spp* (92,5%). L'activité de cette molécule était quelque peu diminuée sur les souches de *proteus Mirabilis* (65%) et d'*Escherichia coli* (69,1%) tandis que les souches de *Klebsiella pneumoniae* se sont montrées résistantes avec seulement 48,1% de souches sensibles.

L'amikacine a été plus active sur nos souches que la gentamycine.

Pour les souches d'*Escherichia coli*, la sensibilité a été de 90%, 90,7% concernant les souches de *Klebsiella pneumoniae*, 92,3% pour *Salmonella spp*, 90% pour les souches d'*Enterobacter spp* et 85% des souches de *Proteus mirabilis* étaient sensibles à l'amikacine.

9. Sensibilité des entérobactéries à La fosfomycine :

A part *Enterobacter spp* pour qui la sensibilité à la fosfomycine était de 66,7%, les autres espèces étaient très sensibles. La sensibilité à la fosfomycine était de 87,5% pour *Proteus mirabilis*, 95,2% *Klebsiella pneumoniae*, 97,4% pour *Escherichia coli* et 96,7% pour *Salmonella spp*.

10. Les BLSE :

Dans notre étude, 25,3% des souches d'entérobactéries produisaient une BLSE. Ce phénotype était beaucoup moins fréquent chez *Salmonella* et *Proteus mirabilis* dont la production de BLSE était respectivement de 7,5% et 5%. Parmi les Entérobactéries isolées, 20% des souches d'*Enterobacter spp* et 25% chez *Escherichia coli* étaient productrices de BLSE. *Klebsiella pneumoniae* était l'espèce chez laquelle le taux de production de BLSE était le plus important avec 54%.

En France la production de BLSE a considérablement diminué chez *Klebsiella pneumoniae* tandis qu'elle augmente pour *Escherichia coli*. De même, le phénotype BLSE est également en hausse chez *Enterobacter spp* dans ce pays.

Dans l'étude menée à l'orphélinat malien, parmi les phénotypes BLSE, *Escherichia coli* était l'espèce la plus représentée³¹.

10.1. Sensibilité des souches d'Escherichia coli et de Klebsiella pneumoniae productrices de BLSE aux antibiotiques :

Les souches d'*Escherichia coli* productrices de BLSE ont été sensibles à l'amikacine (80%), à la céfoxitine (83,6%), à la fosfomycine (96,1%) et surtout à l'imipénème (98,1%). Seulement 58,1% de ces souches étaient sensibles à l'association pipéracilline-tazobactam tandis que la ciprofloxacine s'est montrée très inefficaces avec seulement 7,4% de souches sensibles.

Les souches de *Klebsiella pneumoniae* ont eu un profil de résistance proche de celui d'*Escherichia coli*. Ainsi, les souches de *Klebsiella pneumoniae* productrices de BLSE ont été sensibles à la céfoxitine (79,3%), à l'amikacine (83,3%), à la fosfomycine (95,7%).

Chez cette espèce, l'imipénème a également été la molécule la plus efficace sur le phénotype BLSE (100%). Par contre, l'association pipéracilline+tazobactam était peu sensible (54,2%) et la ciprofloxacine a été sensible seulement à 23,3%. En effet, sur la base d'une enquête de la littérature clinique par Wong-Beringer, Les carbapénèmes, en particulier l'imipénème, ont montré un taux relativement élevé de succès clinique chez les patients atteints d'une bactériémie à *Escherichia coli* ou *Klebsiella pneumoniae* BLSE.

Sur les 80 patients ayant reçu un traitement avec un régime contenant de l'imipénème, tous excepté 3 ont eu une réponse favorable ou ont été guéris¹¹⁹. Des études épidémiologiques et de surveillance ont constaté que les carbapénèmes restent très actifs contre les céphalosporines des bactéries à Gram négatif^{120, 121}. Il a été montré que de 1997 à 2000, l'imipénème et le méropénème ont été très actifs sur les espèces importantes de bactéries à Gram négatif isolées en provenance des unités de soins intensifs de l'Europe et ont été beaucoup plus actifs que la ceftazidime. Cette différence est susceptible de refléter au moins en partie la présence de souches productrices de BLSE¹²².

À ce jour, aucun essai prospectif randomisé n'a examiné l'efficacité de l'association pipéracilline+tazobactam chez des patients infectés par des bactéries productrices de BLSE, mais plusieurs études de cas et des études de surveillance montrent que cette association peut avoir un rôle dans le traitement de ce type d'infection. Le Programme de surveillance des antibiotiques SENTRY 2773 a examiné les bactéries prélevées chez des patients atteints de pneumonie qui ont été traités dans 30 hôpitaux aux États-Unis D'Amérique et au Canada au cours de la saison 1998¹²³. Les phénotypes BLSE ont été identifiés parmi les isolats de *Klebsiella spp* dans 5 centres médicaux des États Unis D'Amérique (4,8% -6,0%). Les essais in vitro ont montré que plus de 90% des souches productrices de BLSE étaient sensibles à la pipéracilline+tazobactam, un taux qui était similaire au taux constaté pour la céfépime, l'imipénème, le méropénème, les aminosides et les fluoroquinolones. Par comparaison, seulement 77,6% et 79,6% des souches de *Klebsiella spp* productrices de BLSE ont été sensibles à la ceftazidime et au céfotaxime respectivement¹²⁴.

Une autre étude a examiné l'activité in vitro d'un large éventail d'antibiotiques, y compris la pipéracilline+tazobactam sur des souches bactériennes à partir d'un seul hôpital au Brésil. Dans l'ensemble, 20% des *Escherichia coli* et 40% des isolats de *Klebsiella pneumoniae* produisaient une BLSE. L'association pipéracilline+tazobactam a été le deuxième antibiotique le plus actif sur ces bactéries productrices de BLSE après l'imipénème, inhibant 84,4% des souches¹²⁵.

Les données existantes indiquent que l'association pipéracilline+tazobactam peut être un agent utile pour le traitement de certaines infections par des bactéries productrices de BLSE¹²⁵.

Toutefois, cette recommandation potentielle doit être interprétée avec prudence, car elle est fondée sur une base de données relativement faible. Il faut attendre de faire des études à grande échelle, prospective, randomisée et des essais cliniques.

Concernant les aminosides, nos résultats se rapprochent de ceux d'une étude menée aux États unis d'Amérique qui montrait que parmi les aminosides, l'amikacine a été la molécule la plus efficace¹²⁶. Avec des taux de résistance de 10% aux États unis d'Amérique, l'amikacine est même considérée comme étant une alternative thérapeutique lorsque d'autres antibiotiques ne peuvent pas être utilisés. Mais cependant, il n'y a pas de données cliniques publiées sur la monothérapie avec cette molécule. Toutefois, le succès des aminosides en général contre les bactériémies causées par des souches de *Klebsiella pneumoniae* productrices de BLSE a été bien démontré¹²⁷.

Dans notre étude, les quinolones n'ont pas eu une bonne efficacité sur les entérobactéries productrices de BLSE (pour la ciprofloxacine, 7,4% de souches sensibles chez *Escherichia coli* et 23,3% chez *Klebsiella pneumoniae*).

Dans une enquête nationale italienne, parmi les souches d'entérobactéries productrices de BLSE, seulement 58% étaient sensibles à la ciprofloxacine¹²⁸.

Bien vrai que ce pourcentage de sensibilité soit supérieur au notre, il montre toujours l'inefficacité de la ciprofloxacine sur les entérobactéries productrices de BLSE. Les taux de résistance à la ciprofloxacine seraient très élevés également parmi les souches productrices de BLSE isolées à partir des centres d'Asie¹²⁹. A Taiwan, les souches de *Klebsiella pneumoniae* productrices de BLSE étaient moins résistantes à la ciprofloxacine car seulement 20% de ces souches étaient résistantes¹³⁰.

En 1999, un groupe de 15 hôpitaux à Brooklyn, New York, a indiqué que 34% des souches de *Klebsiella pneumoniae* étaient productrices de BLSE, et, de ce nombre, seulement 42% étaient sensibles à la ciprofloxacine¹³¹.

Bien que conférant des concentrations minimales inhibitrices (CMI) parfois très faibles, les BLSE sont à l'origine de nombreux échecs thérapeutiques. A l'exception de l'imipénème, les β -lactamines ne doivent pas être rendues sensibles mais intermédiaires si le test de synergie est positif pour au moins une C3G^{132, 133}.

VII.
CONCLUSION
ET
RECOMMANDATIONS

Le présent travail avait pour objectif d'étudier la résistance des *Enterobacteriaceae* aux β -lactamines par production de β -lactamases.

Notre travail qui a fait appel à des techniques de laboratoire a permis :

- d'une part d'identifier les différentes espèces d'*Enterobacteriaceae* les plus fréquemment impliquées en pathologie humaine au Laboratoire Rodolphe Méricux de Bamako.
- d'autre part d'établir leur profil de résistance vis à vis des antibiotiques couramment utilisés et d'étudier la production de beta β -lactamase qui est un phénomène très important chez ces espèces.

Ainsi dans cette étude, on peut noter une prédominance de l'espèce *Escherichia coli* (56,7%) parmi les souches d'entérobactéries isolées. Les espèces les plus résistantes étaient *Klebsiella pneumoniae* chez laquelle le phénotype BLSE était le plus fréquent (54%), suivi par *Escherichia coli* avec 25% de phénotype BLSE. Le phénotype PHN a été le plus fréquent avec 26,2% suivi du phénotype BLSE avec 25,5%.

La tranche d'âge la plus touchée par les infections à entérobactéries était celle de 21 à 35 ans.

Cette étude montre que la production de β -lactamases chez les entérobactéries est un phénomène qui doit être suivi de près car entraîne de nombreux échecs thérapeutiques et réduit les choix thérapeutiques. Il serait intéressant d'étudier les nouvelles BLSE notamment les types CTX-M qui se montrent de plus en plus fréquentes.

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

Aux prescripteurs :

- Dans la mesure du possible (et si nécessaire), demander toujours un antibiogramme avant toute prescription d'antibiotiques afin d'éviter la sélection des bactéries résistantes.

Aux Laboratoires Rodolphe Méricux :

- Prendre d'avantage de renseignements sur les patients notamment leur hôpital et service si ces derniers sont hospitalisés.

Aux autorités sanitaires :

- Suivre régulièrement la production de β -lactamases chez les *Enterobacteriaceae* au Mali.
- Mettre en œuvre des moyens suffisants permettant la surveillance épidémiologique régulière de la résistance aux antibiotiques des souches bactériennes isolées au laboratoire.
- **A la population :**

Suivre scrupuleusement les prescriptions médicales surtout s'il s'agit des agents antibiotiques.

VIII.
REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

1. Janda, J. M., and S. L. Abbott. The family *Enterobacteriaceae*: taxonomic considerations. In: J. M. Janda and S. L. Abbot, dir. the enterobacteria. Washington D.C.: ASM press; 2006. p. 7-13.
2. Bradford PA. Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev* 2001;14:933- 51.
3. Bush, K., G. A. Jacoby, and A. A. Medeiros. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1995; 39:1211-1233.
4. Knothe H, Sbah P, Krcmery V, Antal M, Mitsuhashi S. Transferable resistance to cefotaxime, ceftiofex, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection* 1983; 11: 315-7.
5. Du Bois SK, Marriott MS, Amyes SG. TEM- and SHV-derived extended-spectrum beta-lactamases: relationship between selection, structure and function. *J Antimicrob Chemother* 1995;35:7-22
6. Sirot D, Sirot J, Labia R, Morand A, Courvalin P, Darfeuille-Michaud A, et al. Transferable resistance to third generation cephalosporins in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*: identification of CTX-1, a novel beta lactamase. *J Antimicrob Chemother* 1987; 20 : 323-334.
7. Philippon, A., R. Labia, and G. Jacoby. Extended-spectrum beta-lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1989;33:1131-1136.
8. Marty L, Jarlier V. Surveillance of multiresistant bacteria: justification, role of the laboratory, indicators, and recent French data. *Pathol Biol (Paris)* 1998; 46:217-26.
9. National Nosocomial Infections Surveillance. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 to June 2002, issued August 2002. *Am J Infect Control* 2002; 30: 458-75.
10. Yu Y, Zhou W, Chen Y, Ding Y, Ma Y. Epidemiological and antibiotic resistant study on extended-spectrum betalactamase- producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Zhejiang Province. *Chin Med J (Engl)* 2002; 115: 1479-82. 129.
11. Kariuki S, Corkill JE, Revathi G, Musoke R, Hart CA. Molecular characterization of a novel plasmid-encoded cefotaximase (CTX-M-12) found in clinical *Klebsiella pneumoniae* isolates from Kenya. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:2141-3.
12. Hanson ND, Smith Moland E, Pitout JD. Enzymatic characterization of TEM-63, a TEM-type extended spectrum beta-lactamase expressed in three different genera of *Enterobacteriaceae* from South Africa. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2001; 40: 199-201.

13. Pitout JD, Thomson KS, Hanson ND, Ehrhardt AF, Moland ES, Sanders CC. β -Lactamases responsible for resistance to expanded-spectrum cephalosporins in *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, and *Proteus mirabilis* isolates recovered in South Africa. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42: 1350-4.
14. Randrianirina F, Soares J, Carod J, Ratsima E, Thonnier V, Combe P, Grosjean P, Talarmin A. *Antimicrobial resistance among uropathogens that cause community-acquired urinary tract infections in Antananarivo, Madagascar. J Antimicrob Chemother* 2007;59:309-312
15. Randrianirina F, Vaillant L, Ramarokoto Cc, Rakotoarijaona A, Andriamanarivo MI, Razafimahandry Hc, Randrianomenjanahary J, Raveloson Jr, Ratsima Hariniaina F, Carod JF, Talarmin A, Richard V. *Antimicrobial resistance in pathogens causing nosocomial infections in surgery and intensive care wards of two hospitals in Antananarivo, Madagascar. JIDC* 2010, 4(2):74-82.
16. Touati A, Brasme L, Benallaoua S, et al. *First report of qnrB-producing Enterobacter cloacae and qnrA-producing Acinetobacter baumannii recovered from Algerian hospitals. Diagn Microbiol Infect Dis.* 2008; 60:287-90.
17. Frank T, Arlet G, Gautier V, Talarmin A, Bercion R. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*, Central African Republic. *Emerg Infect Dis.* 2006; 12:863-865.
18. Tande D, Jallot A N, Bougoudogo F, Montagnont T, Gouriou S and Sinzu J. Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae* in Malian Orphanage. *Emerg Infect Dis.* Bamako Mali. 2003 March; 15: 472-4.
19. Janda, J. M., and S. L. Abbott. Historical perspectives on the family *Enterobacteriaceae*. In: J. M. Janda and S. L. Abbot, dir the enterobacteria. Washington, D.C. ASM press; 2006. p.1-7.
20. Martinez-Murcia, A. J., S. Benlloch, and M. D. Collins. Phylogenetic interrelationships of members of the genera *Aeromonas* and *Plesiomonas* as determined by 16S ribosomal DNA sequencing: lack of congruence with results of DNA-DNA hybridizations. *Int J syst Bacteriol.* 1992; 42: 412-21.
21. Edwards, P. R., and W. H. Ewing. Identification of *Enterobacteriaceae*. Burgess, Mineapolis. 1972.
22. Richards, M. J., J. R. Edwards, D. H. Culver, and R. P. Gaynes. Nosocomial infections combined medical-surgical intensive care units in the United States. *Infect control Hosp Epidemiol.* 2000;21:510-5.
23. Fauchere JL. Bacteriofiches, Techniques en Bactériologie clinique. Paris : Ellipses, 1997 ; 174p.
24. Farmer JJ III, Davis BR, Hickman-Brenner FW, Mc Whorter A, Huntley-Carter GP, Asbury, MA, Riddle C, Whaten-Grady HG, Elias C, Fanning GR, Steigerwalt AG, O'hara CM , Morris, GK, Smith PB, Brenner DJ. Biochemical identification of new species and biogroups of *Enterobacteriaceae* isolated from clinical specimens. *J Clin Microbiol* 1985; 21: 77- 81.

25. Cornaglia G, Dainelli B, Berlutti F, Thaller MC. Commercial identification systems often fail to identify *Providencia stuartii* J clin Microbiol Serol 1988; 26:323-327.
26. Freney J, Gavini F, Ploton C, Leclerc H, Fleurette. Isolation of *Escherichia fergusonii* from a patient with septicemia in France. Eur J Clin Microbiol 1987; 6: 78.
27. Monnet D, Freney J, Brun Y, Boeutgras JM, Fleurette J. Difficulties in identifying *Klebsiella* strains of clinical origin. Zbl Bakt 1991; 274: 456-464.
28. A. FERRON et col. Bacteriologies à l'usage des étudiants en médecine, 3^{ème} édition, 1970. P 155-179.
29. Avril JL, Denis F, Dabernath et Montcil H. Bacteriologie clinique. 3^{ème} édition. Paris : Ellipses ; 2000. 602p.
30. Le Minor L, Sansonetti Ph, Richard Cl, Grimont F, Mollart H, Bercovier H *et al.* Entérobactéries. In : Le Minor L et Veron M, dir. Bactériologie Médicale. Paris : Flammarion ; 1989 : 389-472.
31. Valeria A, Joulin V, Fournier G. Prostatites. Encycl Med Chir, Néphrologie-Urologie, 1998.
32. Schappert, S. M. 1999. Ambulatory care visits to physician offices, hospital outpatient departments, and emergency departments: United States, 1997. Vital Health Stat. 13(143):i-iv.
33. Nataro, J. P and J. B. Kaper. Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clin. Microbiol. Rev. 1998;11:142-201.
34. Kaper J. B., J. P. Nataro and H. L. Mobley Pathogenic *Escherichia coli*. Nat. Rev. Microbiol. 2004; 2: 123-140.
35. Grenier, B. Diarrhées aiguës infectueuses. In J.C.Pechère, infections. Edizeru Inc. St Hyacinthe, Quebec, Paris: Maloine SA 1985; p. 289-310.
36. Fung, C. P., F. Y. Chang, S. C. Lee, B. S. Hu, B. I. Kuo, C. Y. Liu, M. Ho, and L. K. Siu. A global emerging disease of *Klebsiella pneumoniae* liver abscess: is serotype K1 an important factor for complicated endophthalmitis? Gut 2002; 50: 420-424.
37. Cheng, D. L., Y. C. Liu, M. Y. Yen, C. Y. Liu, and R. S. Wang. Septic metastatic lesions of pyogenic liver abscess. Their association with *Klebsiella pneumoniae* bacteremia in diabetic patients. Arch. Intern. Med. 1991; 151:1557-1559.
38. Hu, B. S., Y. J. Lau, Z. Y. Shi, and Y. H. Lin. Necrotizing fasciitis associated with *Klebsiella pneumoniae* liver abscess. Clin. Infect. Dis. 1999. 29:1360-1361.
39. Kuramochi, G., S. I. Takei, M. Sato, O. Isokawa, T. Takemac, and A. Takahashi. *Klebsiella pneumoniae* liver abscess associated with septic spinal epidural abscess. Hepatol. Res. 2005; 31:48-52.
40. Yang, P. W., H. D. Lin, and L. M. Wang. Pyogenic liver abscess associated with septic pulmonary embolism. J. Chin. Med. Assoc. 2008; 71:442-447

41. BRYSKIER A. Agents antibactériens et antifongiques, Paris : ellipses, 1999 ; 1216p.
42. Fleming A. On the antibacterial action of cultures of *Penicillium* with special reference to their use in the isolation of *B influenzae* *British Exp pathol* 1929; 10: 226-239.
43. M. Moulin, A. Coquerel. PHARMACOLOGIE., Paris: Masson 2002. ISBN: 2-294-00386-1.
immunoglobulin G as an antiendotoxin reagent. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 583-588.
44. Rolison, GN, Batchelor, FR, Butterworth, D, Cameronwood, J, Cole, M, & Eustace. G C Formation of 6-aminopenicillanic acid from penicillin by enzymatic hydrolysis *Nature*. 187, 1960; pp 236-237.
45. Mandell, G L, Petri, W A Hardman, J G, Limbird, L E, Molinoff, P B, Ruddon, R W, & Gilman, A G eds, 1996, Antimicrobial agents: Penicillins, Cephalosporins, and other β -lactam antibiotics *The pharmacological basis of therapeutics* pp 1073-1101 McGraw Hill.
46. Philippon A, Arlet G et Schlemmer B. Bêtalactamines (I). *Encycl Med Chir, Maladies Infectieuses*, 1993.
47. Philippon A, Arlet G et Schlemmer B. Bêtalactamines (II). *Encycl Med Chir, Maladies Infectieuses*, 1993.
48. Forge A, Schacht J. Aminoglycoside antibiotics. *Audiol Neurootol*. 2000;5:3-22. doi: 10.1159/000013861.)
49. Noller HF. Ribosomal RNA and translation. *Annu. Rev. Biochem.* 1991; 60:191-227.
50. Hotta, K., A. Sunada, J. Ischikawa, J. Mizuno, Y. Ikeda, and S. Kondo. The novel enzymatic 3'-N-acetylation of arbekacine by an aminoglycoside 3-N-acetyltransferase of strptomyces origin and the resulting activity. *J. Antibiot.* 1998;8:735-742.
51. Leshner, G.Y., E.D. Forelich, M.D. Gruet, J.H. Bailey and R.P Brundage. 1,8 - Naphthyridine derivatives. A new class of chemotherapeutic agents. *J. Med. Pharm. Chem.* 1962;5:1063-1068.
52. Drlica, K., and D. C. Hooper. mechanisme of quinolone action, In: D. C. Hooper. E. Rubinstein, dir. *Quinolone Antimicrobial Agents*. American society for microbiology, Washington D. C; 2003. p 18- 40.
53. Schwarz S, Kehrenberg C, Doublet B, Cloeckaert A. Molecular basis of bacterial resistance to chloramphenicol and florfenicol. *FEMS Microbiology Reviews*. 2004;28(5):519-542.
54. Shalit, I., and M.I. Marks. Chloramphenicol in the 1980 s. *Drugs* 1984; 28: 281- 291.
55. Wareham, D. W., and P. Wilson. Chloramphenicol in the 21 st Century . *Hosp. Med.* 2002.63: 157-161.
56. Schwarz, S., C. Kehrenberg, B. Doublet, and A. Cloeckaert. Molecular basis of bacterial resistance to Chloramphenicol and Florfenicol. *FEMS Microbiol. Rev.* 2004;28: 519- 542.

57. Agencia Española de Medicamentos y Productos sanitarios (AEMPS) y Dirección General de Farmacia y Productos Sanitarios (DGFP). Uso de antibióticos en España [consulté le 7/1/2010]. Disponible en: http://www.ageined.es/profHumana/observatorio/docs/Evo_uso_antibioticos96-06.pdf.
58. OMS. Medicamentos Esenciales 15 ed. Lista Modelo de la OMS. Marzo 2007 [consultado 7/1/2010]. Disponible en: http://www.who.int/medicines/publications/08_SPANISH_FINAL_EML15.pdf.
59. Chopra I, and M.C. Robert. Tetracycline antibiotics: mode of action, application molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2001; 65: 232- 260.
60. Schnappinger, D., and W. Hillen. Tetracycline: Antibiotic action uptake and resistance mechanisms. *Arch. Microbiol. Lett.* 1996;165: 359- 369.
61. Katz, E, Demain AL. The peptide antibiotics of *Bacillus*: chemistry, biogenesis, and possible functions. *Bacteriol Rev* 1997; 41: 449-474.
62. Hermsen ED, Sullivan CJ, Rotschafer JC. Polymyxins: pharmacology, pharmacokinetics, pharmacodynamics, and clinical applications. *Infect Dis Clin North Am* 2003; 17:545-562.
63. Evans ME, Feola DJ, Rapp RP. Polymyxin B sulfate and colistin: old antibiotics for emerging multiresistant Gram negative bacteria. *Ann Pharmacother* 1999; 33:960- 967.
64. Levin AS, Barone AA, Penco J et al. Intravenous colistin therapy for nosocomial infections caused by multidrugresistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. *Clin Infect Dis* 1999; 128: 1008-1011.
65. Newton BA. The properties and mode of action of polymyxins. *Bacteriol Rev* 1956; 20: 14- 17.
66. Drabick JJ, Bhattacharjee AK, Hoover DL et al. Covalent polymyxin B conjugate with human.
67. Davies, J.E. Aminoglycoside-aminocyclitol antibiotic and their modifying enzymes spp. 691-713. In V. Lorian (ed), *antibiotics in Laboratory Medicine*; The Williams: 1991;25:11-25.
68. Lortholary O, Tod M, Cohen Y, Petitjean O. Aminoglycosides. *Med Clin North Am* 1995;79:761-787.
69. Duval J et Soussy CJ. *Abrégés d'antibiothérapie*. Paris : Masson, 1985 ; 180p.
70. Singleton P. *Abrégés de bactériologie*. Paris : Masson, 1994 ; 247p.
71. FERON A. *Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine*. La Madeleine : C et R, 1989 ; 375p.
72. Synder, L., and W. Champness. Gens and genetic elements. In: L. Synder, and W. Champness dir. *Molecular genetics of bacteria*. American Society for Microbiology (2ed.), Washington, D.C. 2003. p 113-340.

73. Livermore, D. M. Bacterial resistance: origins, epidemiology, and impact. Clin. Infect. Dis. 36 (Suppl) 2003;1 : 11- 23.
74. Mazel, D., and J. Davies. Antibiotic in microbes. Cell. Mol. Life Sci. 1999;56:742-754.
75. Philippon, A., G. Arlet, and G. A. Jacoby. Plasmid determined AmpC-type β -lactamases. Antimicrob. Agent Chemother. 2002;46: 1-11.
76. Roy, P. H. Dissémination de la résistance aux antibiotiques : le génie génétique à l'œuvre chez les bactéries. Med. Sci. 1997;13:927-933.
77. Lorenz, M. G., and W. Wackernagel. Bacterial gene transfer by naturel genetic transformation in the environment. Microbiol. Rev. 58 : 1994;563-602.
78. Redfield, R. J., A.D.S. Cameron, Q. Qian, J. Hinds, T.R. Ali, J.S. Kroll, and P.R. Langford. A novel CRP-dependant regulon controls expression of competence genes in *Haemophilus influenzae*. J. Mol. Biol. 2005;347 : 735- 747.
79. Hamilton, H. L., N. M. Dominguez, K. J. Schwartz, K.T. Hackett, and J. P. Dillard. *Neisseria gonorrhoeae* secretes chromosomal DNA via a novel type IV secretion system. Mol. Microbiol. 2005;55 : 1704- 1721.
80. Grohmann, E., G. Muth, and M. Espinosa. Conjugative plasmid transfer, in Gram-positive bacteria. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2003;67 : 227- 301.
81. Courvalin P. Transfer of antibiotic resistance gene between Gram-positive and Gram- negative bacteria. Antimicrob. Agents chemother. 1994;38:1447-1451.
82. Davison, J. Genetic exchange between bacteria in the environment. Plasmid 1999;42:73-91.
83. Nikaido, H. Prevention of drug access to bacterial targets: permeability barriers and active efflux. Science 1994;264: 382-388.
84. Neuwirth, C., E. Sebor, J. M. Duez, A. Pechinot, and A. Kazmierczak. Imipenem resistance in clinical isolates of *Proteus mirabilis* associated with alteration in penicillin-binding proteins. J. Antimicrob. Chemover. 1995;36:335-342.
85. Bush, K., G. A. Jacoby, and A. A. Medeiros. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrob. Agents Chemother. 1995;39:1211-1233.
86. Chanal C, R. Bonnet, C. de Champs, D. Sirot, R. Labia, and J. Sirot. Prevalence of betalactamases among 1072 clinical strains of *Proteus mirabilis*: a 2-years survey in French hospital. Antimicrob. Agents Chemother. 2000;44:1930-1935.

87. Quentin, C., C. Arpin, V. Dubois, C. Andre, I. Lagrange, I. Fisher, J. P. Brochet, F. Grobost, J. Jullin, B. Dutilh, G. Larribet, and P. Noury. Antibiotic resistance rates and phenotypes among isolates of *Enterobacteriaceae* in French extra-hospital practice. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2004;23: 185-193.
88. Aren Bush, George A. Jacoby, and Aantone A. Medeiros. A Functional Classification Scheme for β -Lactamases and Its Correlation with Molecular Structure. *Antimicrobial agents and chemotherapy.* 1995; 39:1211-1233.
89. André Matagne, Josette Lamotte-Brasseur and Jean-Marie Preare. Catalytic properties of class A β -lactamases : efficiency and diversity. *Biochem. J.* 1998;330:581-598.
90. David M. Livermore. β -Lactamases in Laboratory and Clinical Resistance, *Clinical Microbiology Reviews.* 1995;8:557-584.
91. Kildie Barrial, Julie Scotet. Classification raisonnée des β -lactamases chez les bacilles à Gram négatif perspectives d'évolution. 2006;p18.
92. Y.Michel.Briand, Mécanismes moléculaires de l'action des antibiotiques, Ed., Paris : Masson ; 1986.
93. Ambler, R. P. 1980. The structure of β -lactamases. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. (Biol.)* 289:321-331.
94. H. Rodriguez-Villalobos, M.-J. Struelens. Résistance bactérienne par β -lactamases à spectre étendu : implications pour le réanimateur. *Réanimation.* 2006 ;15:205-213)
95. J. Gangoué-Piéboji, 2007. Caractérisation des β -lactamases et leur inhibition par les plantes médicinales. Université de Liège, centre d'ingénierie des protéines. 100p.
96. Galleni, M, Lamotte. Brasseur, J, Rossolini, G, M, SPENER, J ,Diderberg, O ,J ,M frère. The metallo β -lactamase working group. standard numbering scheme for class B β -lactamase. *Antimicrobial agents and chemotherapy.* 2001;600-663.
97. Philippon A, Arlet, G, G, A, Jacoby. Plasmid-determined AmpC- type β -lactamase. *Antimicrobial agents and chemotherapy,* 2002;46:1-11.
98. Livemore, D, M. β -lactamase mediated resistance: past, present and futur. *J, infection. Dis.soc,* 1995;6:75-83.
99. Feu Docteur Issouf ISSABRE. Présentation des activités de l'année 2007 du Centre Charles Mérieux. 100Carre G. Cavalo J.D., Chardon H. et coll. Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie- Communiqué 2003.
101. Moustapha Tahirou Niandou. 2005. Sensibilité et évolution de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques. Thèse pharm, Bamako, 2005.

102. Chardon H, Fosse T, Labia M R, Nicola MH, Poyart-Salmeron C, Sirot D *et al.* Analyse multifactorielle des phénotypes de résistance aux bêta-lactamines de 1044 souches *Escherichia coli*. *Path Biol*, 1993;41:337-42.
103. Yumuk Z, Afacan G, Nicolas-Chanoine MH, Sotto A, Lavigne JP. Turkey: A further country concerned by community-acquired *Escherichia coli* clone O25-ST131 producing CTX-M-15. *J Antimicrob Chemother*. 2008;62(2):284-8.
104. Andreu A, Planells I; Grupo Cooperativo Español para el Estudio de la Sensibilidad Antimicrobiana de los Patógenos Urinario. Etiology of community-acquired lower urinary infections and antimicrobial resistance of *Escherichia coli*: a national surveillance study. *Med Clin (Barc)*. 2008;130(13):481-6.
105. Keita A. Résistance aux antibiotiques des bactéries isolées chez les malades en consultation externe au service de Bactériologie de l'Institut National de Recherche en Santé Publique. Thèse Pharm, Bamako, 1999.
106. Mendes C, Hsiung A, Kiffer C, Oplustil C, Sinto S, Mimica I, *et al.* Evaluation of the *in vitro* activity of 9 antimicrobials against bacterial strains isolated from patients in intensive care units in Brazil: MYSTIC Antimicrobial Surveillance ProGram. *Braz J Infect Dis* 2000; 4 : 236-44.
107. Sader HS, Gales AC, Granacher TD, Pfaller MA, Jones RN. Prevalence of antimicrobial resistance among respiratory tract isolates in Latin America: results from SENTRY antimicrobialsurveillance program (1997-98). *Braz J Infect Dis* 2000;4:245-54.
108. Yigit, H., A. M. Queenan, G. J. Anderson, A. Domenech-Sanchez, J. W. Biddle, C. D. Steward, S. Alberti, K. Bush, and F. C. Tenover. Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2001;45:1151-1161.
109. Lewis MT, Yamaguchi K, Beidenbach DJ, Jones RN. *In vitro* evaluation of cefepime and other broad spectrum beta lactams in 22 medical centres in Japan: a Phase II trial comparing two annual organism samples. The Japan Antimicrobial Resistance Study Group. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999; 35: 307-15.
110. Hansotia JB, Agarwal V, Pathak AA, Saoji AM. Extended spectrum beta-lactamase mediated resistance to third generation cephalosporins in *Klebsiella pneumoniae* in Nagpur, central India. *Indian J Med Res* 1997;105:158-61.
111. Grover SS, Sharma M, Pasha ST, Singh G, Lal S. Antimicrobial susceptibility pattern and prevalence of extended spectrum beta-lactamase (ESBLs) producing strains of *Klebsiella pneumoniae* from a major hospital in New Delhi. *J Commun Dis* 2004;36:17-26.

112. Datta P, Thakur A, Mishra B, Gupta V. Prevalence of clinical strains resistant to various β -lactamases in a tertiary care hospital in India. *Jpn J Infect Dis* 2004;57:146-9.
113. Coulibaly F. Sensibilité des entérobactéries aux bêta-lactamines à l'Hôpital National du Point G. Thèse Pharm, Bamako, 1996.
114. Bauernfeind A, Casellas JM, Goldberg M, Holley M, Jungwirth R, Mangold P, *et al.* A new plasmidic cefotaximase from patients infected with *Salmonella typhimurium*. *Infection* 1992;20:158-63.
115. ONERBA. Base de données interprétatives des réseaux. 2005. [Consulté le 02/09/2010]. <http://www.onerba.org/bin/res/>.
116. Kounta L. Sensibilité et évolution de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques. Thèse Pharm, Bamako, 2000.
117. Albertini MT, Benoit C, Berardi L, Berrouane Y, Boisivon A, Cahen PC, *et al.* Surveillance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and *Enterobacteriaceae* producing extended spectrum beta-lactamase (ESBLE) in Northern France: a five-year multicentre incidence study. *J Hosp Infect* 2002; 52: 107-13.
118. Foua A. R. Profil antibiologique des bactéries responsables d'infection urinaire communautaire. Thèse Pharm, Bamako, 2006.
119. Wong-Beringer A. Therapeutic challenges associated with extended-spectrum, beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Pharmacotherapy* 2001;21:583-92.
120. Hoban DJ, Biedenbach DJ, Mutnick AH, Jones RN. Pathogen of occurrence and susceptibility patterns associated with pneumonia in hospitalized patients in North America: results of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Study (2000). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2003;45:279-85.
121. Goossens H. Mystic program: summary of European data from 1997 to 2000. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2001;41:183-9.
122. Garcia-Rodriguez JA, Jones RN. Antimicrobial resistance in gram-negative isolates from European intensive care units: data from the Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection (MYSTIC) programme. *J Chemother* 2002;14:25-32.
123. Mathai D, Lewis MT, Kugler KC, Pfaller MA, Jones RN. Antibacterial activity of 41 antimicrobials tested against over 2773 bacterial isolates from hospitalized patients with pneumonia. I. Results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (North America, 1998). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2001;39:105-16.

124. Mathai D, Lewis MT, Kugler KC, Pfaller MA, Jones RN. Antibacterial activity of 41 antimicrobials tested against over 2773 bacterial isolates from hospitalized patients with pneumonia. I. Results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (North America, 1998). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2001;39:105–16.
125. Roland RK, Mendes RE, Silbert S, Bolsoni AP, Sader HS. In vitro antimicrobial activity of piperacillin/tazobactam in comparison with other broad-spectrum beta-lactams. *Braz J Infect Dis* 2000;4:226–35.
126. Winokur PL, Canton R, Casellas JM, Legakis N. Variations in the prevalence of strains expressing an extended-spectrum β -lactamase phenotype and characterization of isolates from Europe, the Americas, and the Western Pacific region. *Clin Infect Dis* 2001;32(Suppl 2):S94–103.
127. Kim YK, Pai H, Lee HJ, et al. Bloodstream infections by extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in children: epidemiology and clinical outcome. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46:1481–91.
128. Spanu T, Luzzaro F, Perilli M, Amicosante G, Toniolo A, Fadda G. Occurrence of extended-spectrum β -lactamases in members of the family Enterobacteriaceae in Italy: implications for resistance to β -lactams and other antimicrobial drugs. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46:196–202.
129. Bell JM, Turnidge JD, Gales AC, Pfaller MA, Jones RN. Prevalence of extended spectrum β -lactamase (ESBL)-producing clinical isolates in the Asia-Pacific region and South Africa: regional results from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1998–99). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002;42:193–8.
130. Yu WL, Jones RN, Hollis RJ, et al. Molecular epidemiology of extended-spectrum β -lactamase-producing, fluoroquinolone-resistant isolates of *Klebsiella pneumoniae* in Taiwan. *J Clin Microbiol* 2002;40:4666–9.
131. Quale JM, Landman D, Bradford PA, et al. Molecular epidemiology of a citywide outbreak of extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* infection. *Clin Infect Dis* 2002;35:834–41.
132. Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. Communiqué 2006. <http://www.sfm.asso.fr>.
133. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2004. Performance standard for antimicrobial susceptibility testing. Approved standard M100-S14., Wayne, Pa.
134. Laboratoire Rodolphe Mérieux Mali. 2010

Fiche signalétique

Nom : KONATE

Prénom : Diakaria

E-mail : diakariakonate@ymail.com

Tel : 76 31 06 61, 65 14 22 64

Titre de la thèse : Contribution à l'étude de la résistance des *Enterobacteriaceae* aux antibiotiques par production de β -lactamases au centre Charles Mérieux de Bamako.

Année : 2005-2010.

Ville de soutenance : Bamako

Pays d'origine : Mali

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-stomatologie.

Secteur d'intérêt : Bactériologie

Résumé :

But :

Le but de notre étude était d'établir l'état sur la résistance des *Enterobacteriaceae* aux antibiotiques par production de β -lactamases au Centre Charles Mérieux de Bamako.

Méthodologie :

Nous avons recueilli systématiquement toutes les entérobactéries isolées de Février 2005 au Février 2010 jusqu'à l'obtention de 395 souches d'entérobactéries. Seules les entérobactéries ayant fait l'objet d'un antibiogramme étaient choisies. La méthode des disques d'antibiotiques a été utilisée. Le test du double disque incluant l'association amoxicilline + acide clavulanique a été utilisé pour identifier le phénotype β -lactamase à spectre élargi (BLSE).

Résultats :

Les principales espèces bactériennes isolées ont été *Escherichia coli* (56,7%), *Klebsiella pneumoniae* (13,9 %), *Salmonella spp* (10,1%), *Enterobacter spp* (5,1%), et *Proteus mirabilis* (5,1%). Parmi les souches d'*Escherichia coli* isolées, 25% produisaient une β -lactamase à spectre élargi (BLSE). L'espèce qui a été la première dans la production de cette enzyme, était *Klebsiella pneumoniae* avec 54% de souches productrices.

Conclusion :

La résistance par production d'enzyme a été irrégulière au sein de la famille des *Enterobacteriaceae* et entraîne une augmentation de la résistance aux β -lactamines.

Keywords : Resistance, enterobacteria, Charles Mérieux, Bamako, Mali.

ANNEXES

ANNEXE I : Ensemencement des milieux en fonction des types de prélèvements

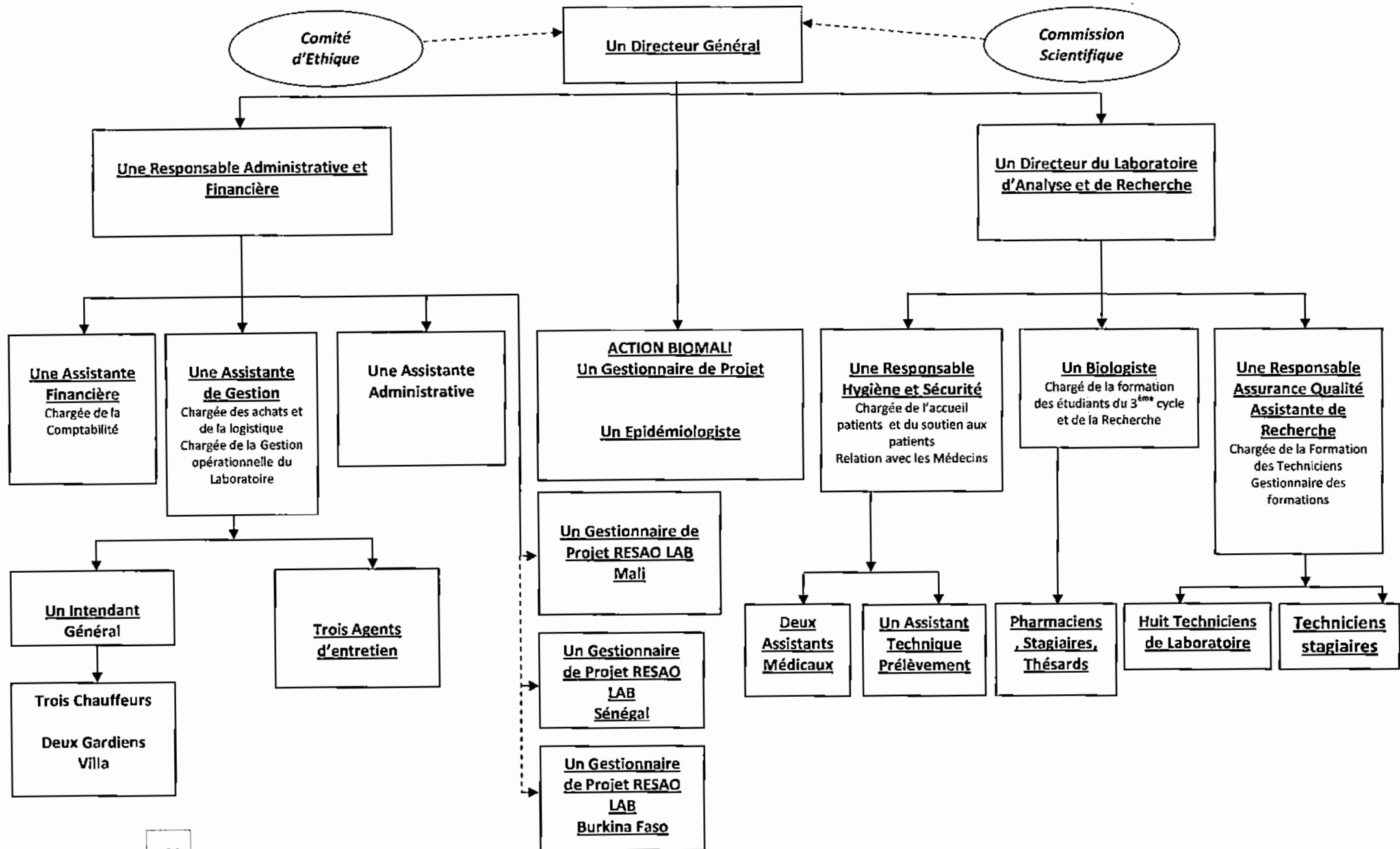
Prélèvements	Milieux de culture
Prélèvements vaginaux, urétraux et vulvaires	<ul style="list-style-type: none"> - gélose au sang cuit - gélose au sang frais - Sabouraud - Drigalsky - gélose au chocolat VCN
Urines	<ul style="list-style-type: none"> - Uri select - Sabouraut si levure à l'examen direct
Pus	<ul style="list-style-type: none"> - gélose au sang cuit - gélose au sang frais - Drigalsky - Chapman - Bouillon si le pus est profond - Sabouraud si levure à l'examen direct
Les liquides de ponction (liquide d'ascite, pleural, synovial)	<ul style="list-style-type: none"> - gélose au sang cuit - gélose au sang frais - Sabouraut si levure à l'examen direct - Gélose au sang anaérobie si liquide purulent - Bouillon Schaedler si liquide purulent - Bouillon cœur-cervelle si liquide purulent
Liquide céphalo-rachidien (LCR)	<ul style="list-style-type: none"> - gélose au sang cuit - gélose au sang frais + disque d'Optochine - Bouillon cœur-cervelle - Gélose au sang anaérobie si liquide purulent - Bouillon Schaedler si liquide purulent
Le sperme	<ul style="list-style-type: none"> - gélose au sang cuit - gélose au sang frais
Gorge	<ul style="list-style-type: none"> - gélose au sang cuit - gélose au sang frais - Sabouraut si levure à l'examen direct
Oreilles	<ul style="list-style-type: none"> - gélose au sang cuit - gélose au sang frais - Drigalsky - Sabouraud chloramphenicol

Prélèvements	Milieux de culture
Expectorations	<ul style="list-style-type: none">- gélose CNA+Optochine- gélose au sang cuit- Drigalsky- Sabouraut (à garder pendant 5 jours)
Hémoculture	<ul style="list-style-type: none">- Gélose au sang cuit- Gélose anaérobie- Sabouraud si levure au Gram
Coproculture solide	<ul style="list-style-type: none">- Hektoën- Bouillon Rappaport- Sabouraud (si la quantité de levures est > 10%)
Coproculture liquide ou glaireuse	<ul style="list-style-type: none">- Hektoën- Bouillon Rappaport- Chapman (si contexte de toxi-infection alimentaire)
Coproculture de bébés et enfants de moins de 2 ans	<ul style="list-style-type: none">- Hektoën- Bouillon Rappaport- EMB

ANNEXE II : Kit du système d'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux, Biomérieux (Inc Box 15969, Durham, CN 27704-0969/USA Tel : (1) 919 620 20 00. Fax : (1) 919 620 22 11. France).

Tests	Composants actifs	Réactions/Enzymes	Résultats	
			Négatif	Positif
ONPG	2-nitrophényl- β D galactopyranoside	β -galactosidase	incolore	Jaune
ADH	L-arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orangé
LDC	L-lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
ODC	L-ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
CIT	trisodium citrate	utilisation du citrate	Vert pâle/jaune	Bleu-vert/bleu
H ₂ S	Sodium thiosulphate	Production de H ₂ S	Incolore/grisâtre	Dépôt noir/fin liseré
URE	Urée	urease	Jaune	Rouge/orangé
TDA	L-tryptophane	Tryptophane DésAminase	Jaune	Marron-rougâtre
IND	L-tryptophane	Production d'indole	incolore	Rose
VP	Sodium pyruvate	Production d'acetone	Incolore/rose pâle	Rose/rouge
GEL	Gélatine (origine bovine)	Gélatinase	Non diffusion	Pigment noir
GLU	D-glucose	Utilisation du glucose	Bleu/bleu-vert	Jaune/jaune-gris
MAN	D-mannitol	Utilisation du mannitol	Bleu/bleu	Jaune
INO	Inositol	Utilisation de l'inositol	Bleu/bleu	Jaune
SOR	D-sorbitol	Utilisation du sorbitol	Bleu/bleu	Jaune
RHA	L-rhamnose	Utilisation du rhamnose	Bleu/bleu	Jaune
SAC	D-saccharose	Utilisation du saccharose	Bleu/bleu	Jaune
MEL	D-melibiose	Utilisation du mélobiose	Bleu/bleu	Jaune
AMY	Amygdaline	Utilisation de l'amygdaline	Bleu/bleu	Jaune
ARA	L-arabinose	Utilisation de l'arabinose	Bleu/bleu	Jaune
Réduction des nitrates (tube GLU)	Potassium nitrate	Production de NO ₂	jaune	Rouge
		Réduction du stade N ₂	Orange-rouge	jaune

ANNEXE III : Organigramme du Centre Charles Mérieux



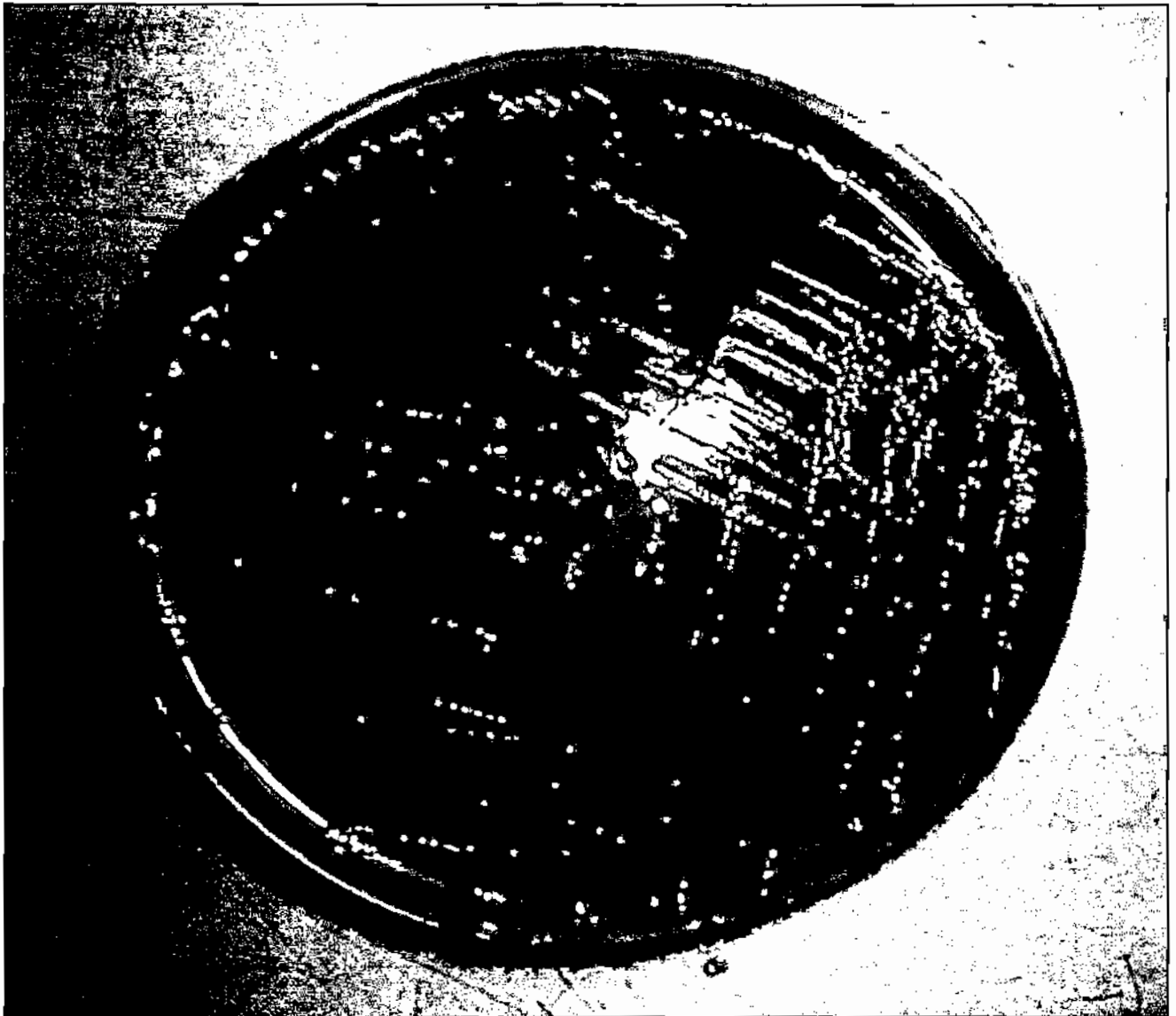
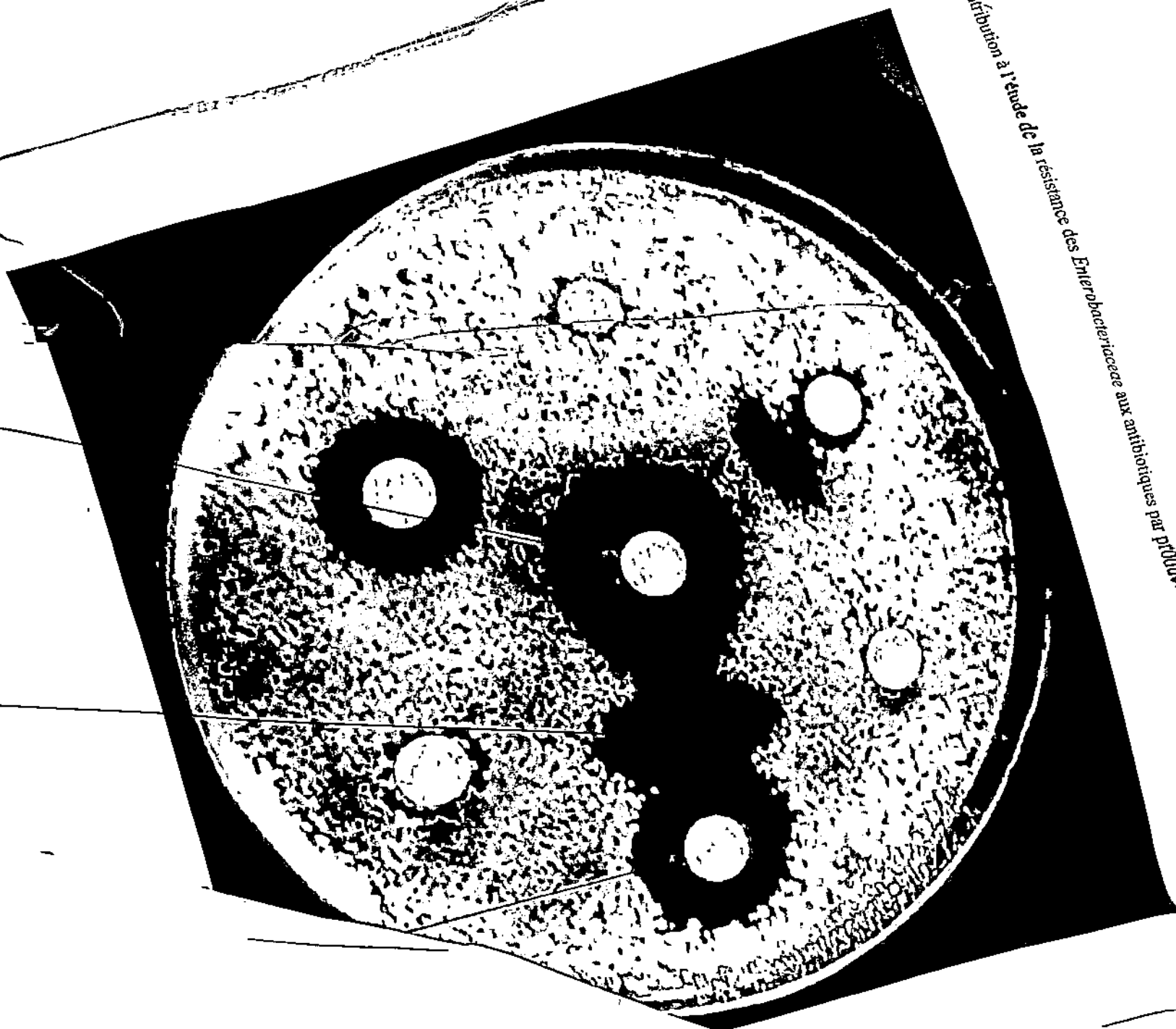
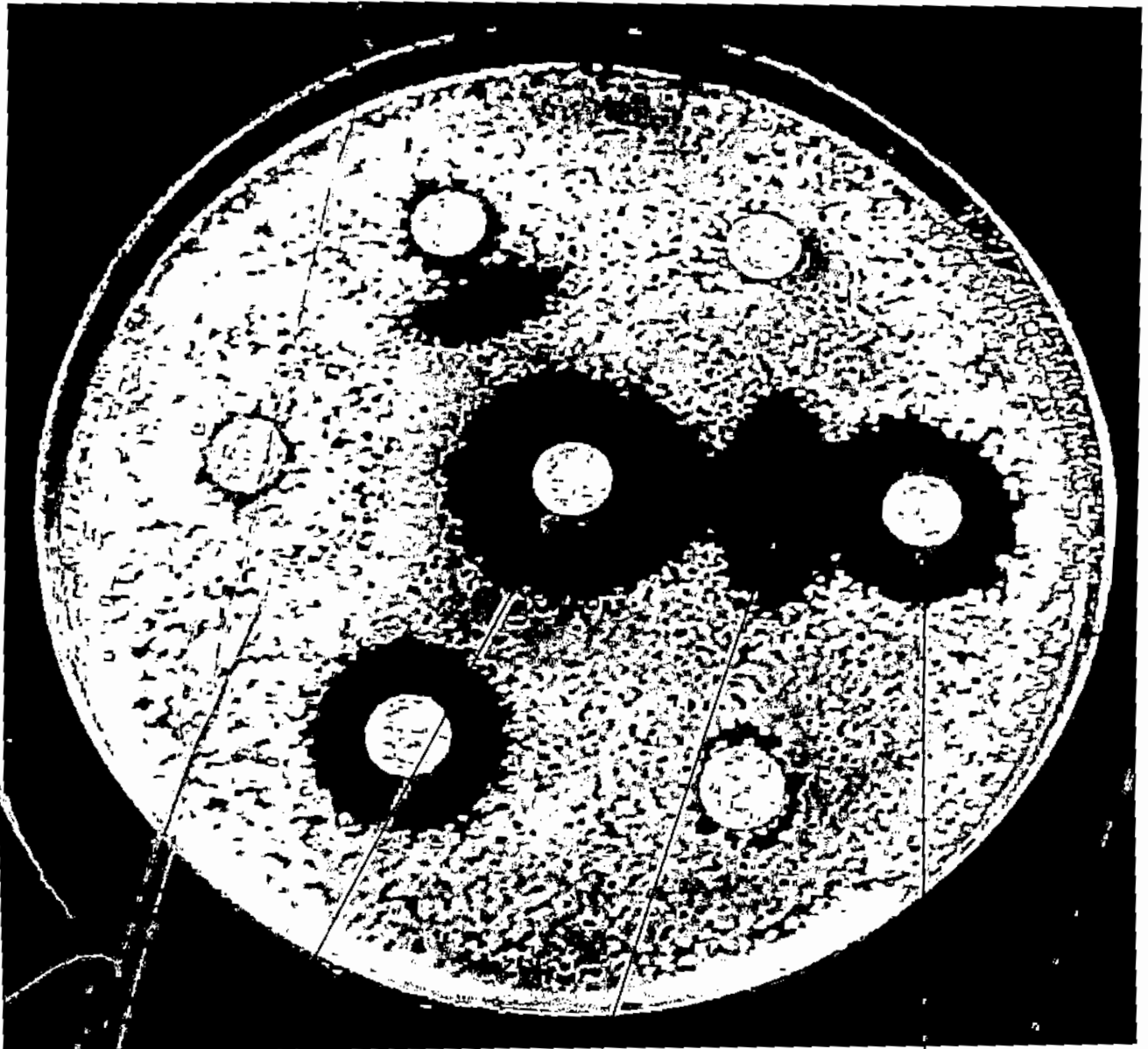


Figure 31 : *Escherichia coli* sur UriSelect¹³⁴

Figure 33: Recherche de Production de BLSE¹³⁴
Amoxicilline+acide clavulanique
Image de bouchon de champagne



Contribution à l'étude de la résistance des Enterobacteriaceae aux antibiotiques par production de β -lactamases au CCM de Bamako



Amoxicilline+acide clavulanique

Céphalosporine de 3^{ème} génération

Image de bouchon de champagne

Figure 33 : Recherche de Production de BLSE¹³⁴