



UNIVERSITE DES SCIENCES DES TECHNIQUES ET DES TECHNOLOGIES DE BAMAKO

FACULTE DE PHARMACIE

Année Universitaire 2021-2022

N° _____/

Profils de résistance aux antibiotiques des souches *Escherichia coli* et *Salmonella spp* isolées dans des infections entériques chez les enfants de 0 à 15 ans en milieu communautaire : cas du CSCom de Yirimadjo, Bamako.

THESE

Présentée et soutenue publiquement le /..... /..... devant la faculté de pharmacie pour obtenir le grade de :

M. BOÏ KONE

JURY

Président du jury :	Pr Abdoulaye DJIMDE
Membres du jury :	Dr Mohamed AG BARAIKA Dr Lassina GADI TIMBINE
Directeur de thèse :	Pr Ibréhima GUINDO
Co-directeur :	Pr Antoine DARA

LISTE DES MEMBRES DE L'ADMINISTRATION ET DU CORPS ENSEIGNANT A LA FACULTE DE PHARMACIE ANNEE UNISERSITAIRE 2021-2022

ADMINISTRATION

DOYEN : M. Boubacar TRAORE, Professeur

VICE-DOYEN : M. Sékou BAH, Professeur

SECRETAIRE PRINCIPAL : M. Seydou COULIBALY, Administrateur civil

AGENT COMPTABLE : M. Ismaël CISSE, Inspecteur des finances.

PROFESSEURS HONORAIRES

PRENOMS	NOM	SPECIALITE
Flabou	BOUGOUDOGO	Bactériologie - Virologie
Boubacar Sidiki	CISSE	Toxicologie
Bakary Mamadou	CISSE	Biochimie
Abdoulaye	DABO	Malacologie - Biologie animale
Daouda	DIALLO	Chimie Générale et Minérale
Mouctar	DIALLO	Parasitologie - Mycologie
Souleymane	DIALLO	Bactériologie - Virologie
Kaourou	DOUCOURE	Physiologie humaine
Ousmane	DOUMBIA	Chimie thérapeutique
Boukassoum	HAÏDARA	Législation
Gaoussou	KANOUTE	Chimie analytique
Alou A.	KEÏTA	Galénique
Mamadou	KONE	Physiologie
Brehima	KOUMARE	Bactériologie - Virologie
Abdourahamane S.	MAÏGA	Parasitologie
Saïbou	MAÏGA	Législation
Elimane	MARIKO	Pharmacologie
Mahamadou	TRAORE	Génétique
Sékou Fantamady	TRAORE	Zoologie

PROFESSEURS DECEDES

Mahamadou	CISSE	Biologie
Drissa	DIALLO	Pharmacognosie
Moussa	HARAMA	Chimie organique
Mamadou	KOUMARE	Pharmacognosie

DER : SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES

PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE

Mounirou	BABY	Hématologie
Mahamadou	DIKITE	Immunologie/Génétique
Alassane	DICKO	Santé Publique
Abdoulaye	DJIMDE	Parasitologie - Mycologie

Amagana	DOLO	Parasitologie - Mycologie
Akory Ag	IKNANE	Santé Publique/Nutrition
Ousmane	KOITA	Biologie - Moléculaire
Boubacar	TRAORE	Parasitologie - Mycologie
MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE		
Souleymane	DAMA	Parasitologie - Mycologie
Antoine	DARA	Biologie Moléculaire
Laurent	DEMBELE	Biotechnologie Microbienne
Aldjouma	GUINDO	Hématologie
Ibréhima	GUINDO	Bactériologie - Virologie
Kassoum	KAYENTAO	Santé Publique/Biostatistique
Bourèma	KOURIBA	Immunologie CHEF de DER
Almoustapha Issiaka	MAIGA	Bactériologie-Virologie
Amadou Birama	NIANGALY	Parasitologie - Mycologie
Issaka	SAGARA	Bio-statistique
Mahamadou Soumana	SISSOKO	Bio-statistique
Ousmane	TOURE	Santé Publique/Santé environnement
MAITRE ASSISTANT/CHARGE DE RECHERCHE		
Mohamed	AG BARAIKA	Bactériologie - Virologie
Charles	ARAMA	Immunologie
Boubacar Tiétiè	BISSAN	Biologie clinique
Djibril Mamadou	COULIBALY	Biochimie clinique
Seydou Sassou	COULIBALY	Biochimie clinique
Djénéba Koumba	DABITAO	Biologie moléculaire
Klétigui Casimir	DEMBELE	Biochimie Clinique
Seydina S.A.	DIAKITE	Immunologie
Yaya	GOÏTA	Biochimie Clinique
Aminatou	KONE	Biologie moléculaire
Birama Apho	LY	Santé Publique
Dinkorma	OULOGUEM	Biologie Cellulaire
Fanta	SANGHO	Santé Publique/Santé communautaire
Oumar	SANGHO	Epidémiologie
ASSISTANT/ATTACHE DE RECHERCHE		
Djénéba	COULIBALY	Nutrition/Diététique
Issa	DIARRA	Immunologie
Fatou	DIWARA	Epidémiologie
Merepen dite Agnès	GUINDO	Immunologie
Falaye	KEÏTA	Santé publique/Santé Environnement
N'Deye Lallah Nina	KOITA	Nutrition
Djakaridia	TRAORE	Hématologie
DER : SCIENCES PHARMACEUTIQUES		
PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE		
Rokia	SANOGO	Pharmacognosie CHEF de DER

MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

Mahamane	HAÏDARA	-	Pharmacognosie	-
MAITRE ASSISTANT/CHARGE DE RECHERCHE				
Loséni	BENGALY		Pharmacie hospitalière	
Bakary Moussa	CISSE		Galénique	
Yaya	COULIBALY		Législation	
Issa	COULIBALY		Gestion	
Balla Fatogoma	COULIBALY		Pharmacie hospitalière	
Hamma Boubacar	MAÏGA		Galénique	
Adiaratou	TOGOLA		Pharmacognosie	
ASSISTANT/ATTACHE DE RECHERCHE				
Seydou Lahaye	COULIBALY		Gestion pharmaceutique	
Daouda Lassine	DEMBELE		Pharmacognosie	
Adama	DENOU		Pharmacognosie	
Sékou	DOUMBIA		Pharmacognosie	
Assitan	KALOGA		Législation	
Ahmed	MAÏGA		Législation	
Aïchata Ben Adam	MARIKO		Galénique	
Aboubacar	SANGHO		Législation	
Bourama	TRAORE		Législation	
Sylvestre	TRAORE		Gestion pharmaceutique	
Aminata Tièba	TRAORE		Pharmacie hospitalière	
Mohamed dit Sarmoye	TRAORE		Pharmacie hospitalière	
DER : SCIENCES DU MEDICAMENT				
PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE				
Benoît Yaranga	KOUMARE		Chimie Analytique	CHEF de DER
Ababacar I.	MAÏGA		Toxicologie	
MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE				
Sékou	BAH		Pharmacologie	
Tidiane	DIALLO		Toxicologie	
MAITRE ASSISTANT/CHARGE DE RECHERCHE				
Dominique Patomo	ARAMA		Pharmacie Chimique	
Mody	CISSE		Chimie Thérapeutique	
Ousmane	DEMBELE		Chimie Thérapeutique	
Madani	MARIKO		Chimie Analytique	
Hamadoun Abba	TOURE		Bromatologie	
ASSISTANT/ATTACHE DE RECHERCHE				
Mahamadou	BALLO		Pharmacologie	
Dalaye Bernadette	COULIBALY		Chimie Analytique	
Blaise	DACKOOU		Chimie Analytique	
Fatoumata	DAOU		Pharmacologie	
Abdourahamane	DIARRA		Toxicologie	
Aiguerou dit Abdoulaye	GUINDO		Pharmacologie	

Mohamed El Béchir	NACO	Chimie Analytique
Mahamadou	TANDIA	Chimie Analytique
Dougoutigui	TANGARA	Chimie Analytique
Karim	TRAORE	Pharmacologie

DER : SCIENCES FONDAMENTALES

PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE

NEANT

MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

Lassana	DOUMBIA	Chimie Appliquée
Boubacar	YALCOUYE	Chimie Organique

MAITRE ASSISTANT/CHARGE DE RECHERCHE

Mamadou Lamine	DIARRA	Botanique-Biologie végétale
Abdoulaye	KANTE	Anatomie
Boureima	KELLY	Physiologie Médicale

ASSISTANT/ATTACHE DE RECHERCHE

Seydou Simbo	DIAKITE	Chimie Organique
Modibo	DIALLO	Génétique
Moussa	KONE	Chimie Organique
Massiriba	KONE	Biologie Entomologie

CHARGES DE COURS (VACATAIRES)

Cheick Oumar	BAGAYOGO	Informatique
Babou	BAH	Anatomie
Souleymane	COULIBALY	Psychologie
Yacouba M,	COULIBALY	Droit Commercial
Moussa I,	DIARRA	Biophysique
Satigui	SIDIBE	Pharmacie Vétérinaire
Sidi Boula	SISSOKO	Histologie-Embryologie
Fana	TANGARA	Mathématiques
Djénébou	TRAORE	Sémiologie et Pathologie Médicale
Mamadou	TRAORE	Génétique
Boubacar	ZIBEÏROU	Physique

DEDICACE

Je rends grâce à « Allah subhanahu wa ta'ala », le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux, le Créateur des Cieux et de la Terre et au *Prophète Mohamed (PSL)*.

Je dédie ce travail

A mes Parents

- Mère et Père (Mariétou Diabaté et Karim Koné)

Merci pour toutes les valeurs sociétales inculquées en nous, surtout l'amour et le soutien parental que vous nous avez apporté depuis toujours. « Qu'Allah subhanahu wa ta'ala », vous accorde une longue vie dans la santé, la sérénité, l'union et la joie 😊 dans un Mali apaisé. Cette thèse est le fruit de vos soutiens permanents. J'espère ne jamais à vous décevoir.

- Sœurs et Frères

Merci pour vos soutiens multi formes et ces moments de joie et d'insouciance avec vous. Qu'Allah fortifie nos liens fraternels. Il faut faire mieux *Adam, Safi, Mohamed, Marian (Ina), Seydou (grand-père)* et *Youba (Dugutigui)* 😊.

- Mes Mamans : Sali Coulibaly, Fatou Koné, N'Gnayi Diarra, Kadiatou Diakitté, Kadiatou Sow

Les mots me manquent pour vous qualifier. Merci pour tous les sacrifices consentis. Puisse ce travail témoigner l'expression de ma profonde affection et de ma sincère reconnaissance envers vous.

- Tantes : Kadiatou Koné, Kadiatou Coulibaly, **Bintou Coulibaly**, Diofing Mariame Coulibaly, Abby Koné, Fatouma Koné, Ami Diabaté, *je suis au garde à vous* Sali Koné 😊, Assanatou
- Oncles : Souleymane Diallo, Cheick Oumar Coulibaly, Harouna Bamba, Diakaridia Koné, Amadou Koné, Abdoulaye Bamba, Moussa Coulibaly, Seydou Keba Coulibaly, Drissa Koné (grand-père),

Vos soutiens multiformes ont contribué à la finalisation de ce travail. Un remerciement particulier au Prof Souleymane, cher Oncle merci pour tout l'effort et soutien. Chèr(es) Tantes et Oncles veuillez trouver ici l'expression de ma profonde gratitude et de toute ma reconnaissance. Que le bon DIEU vous accorde encore longue vie et bonne santé auprès de nous.

- Cousines et Cousins

Awa Diarra, Bakary N'tji Diallo, Salimata Diarra, Rokia Diallo, Mohamed Diallo, Sali koné No2, Adja Diakassan Coulibaily, Djelika Koné, Abdoulaye koné, Manimou Koné, Assanatou koné, Oulematou et Djeneba kouyaté, Bintou Bih, Fatoumata C Coulibaly, Kadiatou Koné Cheick N'Gnamato Coulibaly, tous les Boï, Bafa Coulibaly, Souleymane Coulibaly, Assitan Coulibaly...

Recevez par ce travail le signe de mes sentiments affectueux et fraternels. La fraternité n'a pas de prix et j'espère et souhaite qu'elle reste toujours un lien sacré pour nous. Que Dieu renforce nos liens.

- A mes belles-sœurs :
- A mes beaux-frères :
- A mes neveux et nièces :

Je ne saurai citer tous les noms sans en oublier. Merci pour votre attention soutenue et votre affection ; retrouvez ici ma profonde reconnaissance.

REMERCIEMENTS

Tous mes Maîtres de la Faculté de Pharmacie, merci pour la qualité des enseignements que vous nous prodiguez tout au long de notre formation. Et une pensée pieuse à l'endroit de nos Maîtres disparus Prof Moussa ARAMA et Prof Drissa Diallo et tous les autres.

- A ma grande Sœur Awa, merci pour tout, *Qu'Allah subhanahu wa ta'ala* t'accorde une longue vie avec la santé, et plein de bonheur.
- A mes grand frères Abdoulaye et Bakary N'Tji, merci d'avoir été là pour moi, Qu'Allah vous accorde une longue et prospère vie.
- Mon ami de toujours, mon frère Dr Yaya Traoré, Qu'Allah t'accorde une longue et vie prospère.
- A mon beau-frère Dramane Dembélé, merci pour tout le soutien moral et conseils surtout.

A ma famille de Point G, Dr Sidiki Konaré *Ladji*, Dr Lassina Kéita, Dr Sidi Diarra, Dr Bourama Keita *son Excellence*, Dr Yacouba Diarra, Dr Mariko, Dr Sylla Bakary dit Mr de la Ville, Dr Oumar Traoré, Dr Monzon Coulibaly, Dr Doucouré Oumar, merci pour tous les moments de joie, de soutien car la famille n'est pas que lien de sang.

- Les familles Coulibaly et Fofana du point G, merci pour vos soutiens respectifs et pour tous les moments de joie et sérénité.

A mes amis du lycée (Lamine Traoré *philosophe*, Lt. Balla Zié Traoré, Tiemoko Goita *Bill*, Kalifa Sangaré *le dernier*, Lassina Camara *dit Tomb* ☺), Seydou Traoré, Sidiki Coulibaly, Amadou Koné *dit Capy*) Merci les guys et nos 100 ans ☺.

De la Faculté de Pharmacie : Dr Lassina Sogoba, Dr Jérôme Mounkoro merci jeune docteur ☺, Dr Seydou Traoré, Dr Sekou Diaby, Dr Seydina Oumar Diallo, Dr Yacouba Alpha Coulibaly, Dr Idrissa Traoré merci pour tout, Dr Abdoul K Samaké, Dr Demba Dembélé, Dr Abdoulaye Maiga, Dr Kany Sidibé, Dr Kadiatou M Cissé, Dr Alassane Koné, et à toute la promotion ELIMANE MARIKO (12^{ème} promotion du numerus clausus)

- Ibrahima Tangara, **you know "Aladjo is a big area"**, Amadou Berthé *le chef cuisinier*, Sidibé Madou merci pour tout qu'Allah fortifie nos liens amicaux.
- Au personnel de la Pharmacie de Koulouba pour votre franche collaboration,
- Au personnel de la Pharmacie hospitalière et du laboratoire de l'hôpital du point G,

Au personnel de MRTC-Parasito,

- Mes chers maîtres

Professeur Abdoulaye Djimdé, Dr Tekété Mahamadou, Dr Dama Souleymane, Dr Dara Antoine, Dr Ouleguem Dinkorma, Dr Fofana, Dr Niangaly Amadou, Aliou Traoré, Dr Dembélé Laurent, Dr Diallo Nouhoum, Dr Dara Jacob, Dr Aminatou Koné, merci pour vos conseils et enseignement reçu.

Pr Antoine Dara, votre abord facile, votre calme et votre sourire en tout le temps suscité notre admiration. Votre amour pour le travail bien fait, votre disponibilité permanente et votre rigueur scientifique font de vous un Maître exemplaire. Recevez cher maître nos sincères remerciements et notre attachement.

- Toute l'équipe des laboratoires MRTC-Parasito et collaborateurs.

Amadou Dao, Abdoul Karim Samaké, Souleymane Koné, Djénéba Diallo, Bakoroba Diarra, Fanta Sogoré, Bilal Traoré, Bassirou Diakité, Ibrahim Kamaté et Fané du IT.

- **A l'Equipe d'AARAM,**

Prof Djimdé Abdoulaye, Pr Guindo Ibréhima, Dr Timbiné Lassina Gadi, Dr Oumou Maiga, Pr Maiga Almoustapha, Dr Diarra Bintou, Dr Dembélé Maïmouna, dont les contributions sont inestimables dans ce travail, merci pour vos apports et aide.

- **A l'ensemble du personnel du laboratoire bactériologique de l'INSP**

Pr Guindo Ibréhima, Dr Mohamed Ag Baraïka, Dr Dembélé Maimouna, Dr Diallo, Mr Zerbo et tout son équipe, merci pour l'accueille et votre disponibilité.

Dr Mohamed Ag Baraïka, ce travail est le fruit de votre volonté de parfaire, de votre disponibilité et surtout de votre savoir-faire. Votre caractère sociable toujours à l'écoute des autres. Les mots me manquent pour vous remercier de votre encadrement. Plus qu'un Maître, vous êtes pour nous un aîné adorable.

ASACROYIR (*Prompt rétablissement aux malades*)

- Aux membres du bureau de l'ASACROYIR, plus particulièrement le Président, Dr Lassina Gadi Timbiné.
- Dr Cissé Ibrahim (le DTC de ASACROYIR), Dr Sow Nouhoum, Dr Fofana, Dr Koumaré Tiemoko, Dr Sanou Clémence, Dr Thiam Souleymane et son équipe (Kadidia Kamaté, Mariam Troaré, Sow Ismaël, Fatoumata Diallo, Rokiatou Cenou, Niagnalé Traoré, Régina Dembélé, Soungalo Diarra), interne Oumar Wony,
- Tous les personnels du ASACROYIR et les Agents de Santé Communautaires (ASCs).
- Au personnel du laboratoire du CSCoM : Adama Cissouma, Ibrahim Sogoré, Mme Koumaré Oumou Diabaté, Mme Yattara Adam Traoré, Ramata Traoré, Awa Drabo, Abdrahame Bah,...

HOMMAGES AUX HONORABLES MEMBRES DU JURY

A notre Maître et Président du jury, Professeur Abdoulaye DJIMDE ;

- Professeur titulaire en Parasitologie-Mycologie à la Faculté de Pharmacie ;
- Directeur du MRTC Parasitologie ;
- Chef de l'Unité d'Epidémiologie Moléculaire et de la Chimiorésistance (MEDRU/MRTC) ;
- Directeur du Programme DELGEME ;
- Membre de l'Académie Africaine des Sciences (AAS) ;
- Membre de l'Association Américaine de Médecine Tropicale et Hygiène (ASTMH) ;
- Président de L'Association Africaine de lutter contre la Résistance Antimicrobienne (AARAM).

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury de thèse malgré vos multiples occupations. Votre rigueur et votre amour du travail bien fait font de vous une référence dans le domaine de la recherche biomédicale, respecté et apprécié de tous.

Qu'Allah le Tout Puissant vous accorde une longue vie et pleine santé pour qu'on puisse continuer à bénéficier vos sagesses scientifiques.

Nous vous prions de retrouver ici cher Maître, l'expression de notre reconnaissance et de notre profond respect.

HOMMAGES AUX HONORABLES MEMBRES DU JURY

A notre Maître et juge, Docteur Mohamed AG BARAIKA ;

- Pharmacien Microbiologiste,
- Maître-Assistant en Bactériologie -Virologie à la Faculté de Pharmacie,
- Enseignant-chercheur à l'Institut National de Santé Publique (INSP) ;
- Membre de l'Association Africaine de lutte contre la Résistance Antimicrobienne AARAM.

Cher maître,

Nous ne saurons jamais trouver assez de mots pour témoigner notre reconnaissance, non seulement pour l'intérêt que vous portez à ce travail, mais aussi la disponibilité et la spontanéité avec laquelle vous nous avez reçu et accepté de juger cette thèse, pour l'amélioration de ce travail

Veillez accepter cher Maître, le témoignage de notre profond respect et de notre gratitude.

HOMMAGES AUX HONORABLES MEMBRES DU JURY

A notre Maître et juge, Docteur Lassina Gadi TIMBINE ;

- Pharmacien Microbiologiste,
- Directeur du Laboratoire Rodolphe MERIEUX (LRM),
- Chercheur au Centre d'Infectiologie Charles MERIEUX (CICM) ;
- Membre de l'Association Africaine de lutte contre la Résistance Antimicrobienne AARAM.

Cher maître,

Nous sommes honorés de vous compter parmi les membres de ce jury malgré vos multiples occupations. Ces valeurs professionnelles et humaines que vous portez, justifient toute l'estime que nous avons pour vous. Les mots seraient bien faibles pour qualifier notre gratitude pour l'amélioration de ce travail.

Veillez recevoir ici cher Maître, nos sentiments d'estime et de reconnaissance.

HOMMAGES AUX HONORABLES MEMBRES DU JURY

A notre Maître et Directeur de thèse Professeur Ibréhima GUINDO ;

- Pharmacien Microbiologiste ;
- Maître de conférences agrégé de Bactériologie Virologie à la FAPH ;
- Chef de Département laboratoire et recherche biomédicale à l'INSP ;
- Responsable du laboratoire IST/VIH de l'INSP ;
- Membre de la Société Africaine de Pathologies Infectieuses (SAPI) ;
- Membre de l'Association Africaine de lutte contre la Résistance Antimicrobienne AARAM.

Cher maître,

Vous nous faites un réel plaisir en acceptant de diriger ce travail malgré vos multiples occupations. L'étendue de votre savoir, votre rigueur scientifique, vos qualités professionnelles humaines et sociales font de vous un maître accompli.

- Nous sommes très fiers d'être compté parmi vos disciples.
- Veuillez trouver ici cher Maître, l'expression de notre gratitude et notre profonde reconnaissance.

HOMMAGES AUX HONORABLES MEMBRES DU JURY

A notre Maître et co-directeur de thèse, Professeur Antoine DARA ;

- Docteur en Pharmacie ;
- PhD en Microbiologie moléculaire et Immunologie ;
- Maître de recherche de Biologie moléculaire à la FAPH ;
- Responsable du laboratoire du Génomique à MRTC-Parasitologie ;
- Membre de l'Association Américaine de Médecine Tropicale et Hygiène (ASTMH) ;
- Membre de l'Association Africaine de lutte contre la Résistance Antimicrobienne AARAM.

Cher maître,

Nous ne saurons plus trouver les mots, mais sachez que nous ne pouvons pas être plus fiers que de vous avoir comme co-directeur.

Vous nous avez accueillis les bras ouverts lorsque nous avons manifesté notre intérêt de travailler à vos côtés. Durant tout ce temps, nous avons apprécié en vous en plus de vos qualités scientifiques remarquables, votre spontanéité, votre disponibilité, votre souci de nous former, votre sens de l'écoute et votre bonne humeur, qui font de vous une référence inoubliable.

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

ABREVIATIONS

AAFs	Aggregative Adherence Fimbriae
AARAM	Association Africaine pour la recherche et le Contrôle de la Résistance aux Antimicrobiens,
ADN	acide désoxyribonucléique,
ADN gyrase	enzyme de la famille des ADN topoisomérases de classe II,
A/E	Attaching and Effacing lesion,
Agar SS	Milieux <i>Salmonella – Shigella</i>
AKN	Amikacine
AMC	Amoxicilline + Acide clavulanique
AMP	Ampicilline
AmpC	Bêta-lactamase de class C
AMX	Amoxicilline
ARN	Acide RiboNucléique
ARNm	ARN messenger
ARNr	ARN ribosomal
ARNt	ARN de transfert
ASACOYIR	Association de santé communautaire de Yirimadjo
ASC	Agent de Santé Communautaire
ATM	Aztreonam
B-	Bacille à Gram Négatif
B+/C+	Bacille et Cocci à Gram Positif
Bfp	Bundle Forming pili (Faisceau Formant des pili)
BGN	Bacille à Gram Négatif
BLSE	Bêtalactamase à spectre étendu
BMR	Bacille Multi-Résistant
C1G	Céphalosporine de 1 ^{ère} Génération
C2G	Céphalosporine de 2 ^{ème} Génération
C3G	Céphalosporine de 3 ^{ème} Génération
C4G	Céphalosporine de 4 ^{ème} Génération
CASE	Céphalosporinase

CA-SFM	Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
CFA	Colonizing Factor Antigen
CHERG	Groupe de référence sur la santé et l'épidémiologie de l'enfant
CHL	Chloramphénicol
CHN	Céphalosporinase de Haut Niveau
CIP	Ciprofloxacine
GEN	Gentamicine
CO ₂	Dioxyde de Carbone
CRO	Ceftriaxone (C3G)
CSCom	Centre de Santé Communautaire
CTX	Céfotaxime (C3G)
DHFS	Dihydrofolate Synthétase
DHRS	Dihydrofolate Réductase
EAEC	Enteroaggregative <i>Escherichia coli</i>
EAP	Effet Post Antibiotique
EDSM-V	La cinquième Enquête Démographique et de Santé au Mali
EHEC	EnteroHémorragic <i>Escherichia coli</i>
EIEC	EnteroInvasif <i>Escherichia coli</i>
EPEC	EnteroPathogène <i>Escherichia coli</i>
ERC	Entérobactérie Résistance aux Carbapénèmes
EPC	Entérobactérie Productrices de Carbapénémases
Ery (Erm)	Méthyltransférases de la résistance à l'Erythromycine
EspS	<i>Escherichia coli</i> Secreted Proteins
ETEC	EnteroToxinogène <i>Escherichia coli</i>
FAPH	Faculté de Pharmacie
FEP	Céfépime (C4G)
FMOS	Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie
FOX/CXT	Céfoxitine (C2G)
Gélose MH	Gélose Mueller-Hinton
GyrA	DNA gyrase subunit A

GyrB	DNA gyrase subunit B
H ₂ S	Sulfure d'hydrogène (hydrogène sulfureux)
HE	Hektoen Enteric Agar
I	Intermédiaires
IE	Infections Entériques
IMP	Imipénème
Inflam	Inflammation
INSP	Institute National de Santé Publique
Inv	Invasion
Ipas	Invasion Protein Antigen
LPS	Lipopolysaccharide
LpxA	UDP- <i>N</i> -acetylglucosamine (UDP-GlcNAc) <i>O</i> -acyltransferase
LpxC	UDP-3- <i>O</i> -[3-hydroxymyristoyl] <i>N</i> -acetylglucosamine deacetylase
LpxD	UDP-3- <i>O</i> -acyl-glucosamine <i>N</i> -acyltransferase
LT	Labile Toxin
mcr	gène de résistance à la colistine mobilisé
MDR	Multi-Drugs Resistance
Mg ²⁺	ion Magnésium
MRTC	Malaria Research and Training Center
MST	Maladies Sexuellement Transmissibles
NaCl	Chlorure de Soduim
NDM-1	New Delhi Metallo-beta-lactamase 1
O157:H7	Shiga Toxine-producing <i>Escherichia coli</i>
O ₂	Dioxygène
OMS	Organisation mondiale de la Santé
PABA	acide para-amino-benzoïque
PAI	Pathogenicity Island
PBN	Pénicillinase de Bas Niveau
PHN	Pénicillinase de Haut Niveau
pH	Potentiel d'Hydrogène

PLP	Protéine liant les pénicillines.
R	Résistant
RAM	Résistance aux Antimicrobiens
RES	Reticuloendothelial System
S	Sensible
SHU/HUS	Syndromes Hémorragiques et Urémiques
SOP	Standard operating procedure
<i>spp</i>	Espèces
ST	Stable toxin (toxine stable)
Stx	Shigatoxines
SXT	Sulfaméthoxazole-Triméthoprim
TDS	Three Doses/ Daily
TRI/IRT	TEM Résistant aux Inhibiteurs
UPEC	Uropathogène <i>Escherichia coli</i>
USTTB	Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako
Vi polysaccharide	Antigène Capsulaire de <i>Salmonella Typhi</i>

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : évolution des dates d'apparitions de la résistance aux antibiotiques.	6
Figure 2 : schéma de l'enveloppe cellulaire des bactéries à Gram-positives (A) et à Gram-négatives (B).	8
Figure 3 : flagelle d'une Bactérie à Gram négative.	9
Figure 4 : graphique d'évolution de la croissance bactérienne	11
Figure 5 : diagramme schématique du système de classification d'Ambler.	16
Figure 6 : structures principales de différentes classes de β -lactamines antibiotiques.	22
Figure 7 : structure générale des Fluoroquinolones.	24
Figure 8 : structures principales des antibiotiques de la classe des Macrolides	26
Figure 9 : structures principales des antibiotiques de la classe des Aminoglycosides.	27
Figure 10 : structures principales des antibiotiques de la classe des Polymyxines.	28
Figure 11 : structures de la Tétracycline.....	30
Figure 12 : structures générales des antibiotiques de la classe des sulfonamides.	32
Figure 13: différentes étapes de la méthodologie selon les analyses effectuées.....	38
Figure 14 : <i>Salmonella</i> et <i>E. coli</i> sur gélose Hektoen.	39
Figure 15 : gélose <i>Salmonella-Shigella</i>	40
Figure 16 : colonies de <i>Salmonella spp</i> sur Hektoen, lactose (-), image du laboratoire INSP	40
Figure 17 : colonies d' <i>E coli</i> sur Hektoen, lactose (+), image du laboratoire INSP.....	41
Figure 18 : colonies rose d' <i>E coli</i> sur UriSelect4 TM , image du laboratoire AARAM, Point G.	41
Figure 19 : antibiogramme sur milieu MH, BLSE (formation des bouchons de champagne), image du laboratoire INSP.....	41
Figure 20 : galerie API 20 ^E de <i>E coli</i> à partir de colonie pure sur Hektoen, image du laboratoire AARAM, Point G.	42
Figure 21 : galerie API 20 ^E de <i>Salmonella spp</i> à partir de colonie pure sur Hektoen, image du laboratoire INSP.....	42
Figure 22 : test de synergie BLSE.	44
Figure 23 : proportion des germes dans la flore intestinale chez les patients avec les germes pathogènes.....	49
Figure 24 : répartition des échantillons de selles et isolats en fonction du mois ;.....	49
Figure 25 : répartition des échantillons de selles en fonction de la présence ou non des entérobactéries.	50
Figure 26 : distribution des germes isolés (<i>E. coli</i> et <i>Salmonella spp</i>) en fonction des mois.	50
Figure 27 : répartition des germes isolés en fonction du sexe.	51
Figure 28 : répartition du niveau de résistances bactériennes aux différents antibiotiques.....	53
Figure 29 : différents phénotypes des classes de bactéries multi-résistantes.....	53
Figure 30 : répartition des germes isolés en fonction des phénotypes de résistances.....	54

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : caractéristiques des <i>Enterobacteriaceae</i> sur les différents milieux de cultures. ...	11
Tableau II : caractéristiques des entérobactéries pathogènes	14
Tableau III : détection phénotypique de la résistance des entérobactéries.	16
Tableau IV : mécanisme de résistance bactérienne aux antibiotiques.	18
Tableau V : classifications des fluoroquinolones selon leur spectre d'activité.....	24
Tableau VI : liste des antibiotiques testés.....	43
Tableau VII : données socio-démographiques des patients inclus dans l'étude.....	47
Tableau VIII : âge moyen des patients.	47
Tableau IX : prise d'antibiotique avant la consultation,	48
Tableau X : aspect macroscopique des selles prélevées chez les enfants.....	48
Tableau XI : répartition des germes isolés en fonction de tranche d'âge.	51
Tableau XII : répartition des patients selon la notion d'antibiothérapie avant le prélèvement en fonction de la présence ou non de germes pathogènes dans les cultures.	51
Tableau XIII: niveau de résistance chez les patients ayant pris d'antibiotiques.....	52
Tableau XIV : résistance des germes isolés aux familles antibiotiques testés.	52
Tableau XV : phénotypes de résistances des germes isolés en fonction des tranches d'âge...	54

TABLE DE MATIERE

1. INTRODUCTION	1
2. OBJECTIFS	4
2.1 Objectif général	4
2.2 Objectifs spécifiques	4
3. GENERALITES	5
3.1 Définitions	5
3.1.1 Bactéries :	5
3.1.2 Entérobactéries :	5
3.1.3 Diarrhée :	5
3.2 Historique	5
3.3 Taxonomie	6
3.4 Habitat	7
3.5 Caractères bactériologiques	7
3.5.1 Caractères morphologiques	7
3.5.2 Coloration de Gram	7
3.5.3 Structures bactériennes	7
3.5.3.1 Capsule	8
3.5.3.2 Membrane cytoplasmique	8
3.5.3.3 Paroi cellulaire	9
3.5.3.4 Cytoplasme	9
3.5.3.5 Flagelles	9
3.5.3.6 Nucléoïde	10
3.5.3.7 Pili	10
3.6 Caractères cultureux	10
3.6.1 Caractères Biochimiques	12
3.6.2 Substances de Différentiation	12
3.6.2.1 Lactose	12
3.6.2.2 Uréase	12
3.6.2.3 Oxydase	12
3.6.2.4 Galerie Classique (Mannitol, Citrate de Simmons et Kligler-Hajna)	12
3.7 Facteurs de virulence et de pouvoir pathogène	13
3.7.1 Endotoxines	13
3.7.2 Exotoxines	13

3.8	<i>Enterobacteriaceae</i> et la résistance aux antibiotiques	15
3.8.1	Résistance clinique.....	15
3.8.2	Résistance naturelle.	15
3.8.3	Résistance acquise.	15
3.8.4	Résistance biochimique.	15
3.8.5	Beta-lactamases.....	16
3.8.6	Diffèrent mécanismes de résistances	17
3.8.6.1	Limitation de l'absorption d'un médicament	17
3.8.6.2	Modification de la cible d'un médicament	17
3.8.6.3	Inactivation d'un médicament	18
3.8.6.4	Efflux actif de médicaments.....	18
3.9	Antibiotiques	19
3.9.1	Antibiotiques.....	19
3.9.2	Resistance aux antimicrobiens	19
3.9.3	Phénotypes de résistances bactériennes	19
3.9.3.1	Phénotype « sensible »	19
3.9.3.2	Phénotype « pénicillinase de bas niveau » et « pénicillinase de haut niveau »..	20
3.9.3.3	Phénotype « céphalosporinase de bas niveau ».....	20
3.9.3.4	Phénotype « céphalosporinase de haut niveau »	21
3.9.3.5	Phénotype « bêta-lactamase à spectre étendu chromosomique ».....	21
3.9.3.6	Phénotype « bêta-lactamase à spectre étendu »	21
3.9.3.7	Résistance acquise et phénotypes de résistances.....	21
3.9.3.8	Phénotype de bactéries multi-résistantes.....	21
3.9.3.9	Phénotype « hyper OXY »	22
3.9.4	Bêta-Lactamines	22
3.9.4.1	Généralités sur les beta-lactamines	22
3.9.4.2	Mécanismes d'actions	22
3.9.4.3	Mécanismes de résistance	22
3.9.5	Fluoroquinolones	23
3.9.5.1	Généralités sur les fluoroquinolones	23
3.9.5.2	Mécanisme d'action des fluoroquinolones.....	25
3.9.5.3	Mécanisme de résistance	25
3.9.6	Macrolides.....	25
3.9.6.1	Généralités sur les macrolides.....	26

3.9.6.2	Mécanisme d'Action des macrolides	26
3.9.6.3	Mécanisme de résistance	26
3.9.7	Aminoglycosides.....	27
3.9.7.1	Généralités sur les aminoglycosides	27
3.9.7.2	Mécanisme d'action des aminoglycosides	27
3.9.7.3	Mécanisme de résistance	27
3.9.8	Polymyxines.....	28
3.9.8.1	Généralités sur les polymyxines.....	28
3.9.8.2	Mécanisme d'action des polymyxines	29
3.9.8.3	Mécanisme de résistance	29
3.9.9	Tétracyclines	30
3.9.9.1	Généralités sur les tétracyclines	30
3.9.9.2	Mécanisme d'action des tétracyclines.....	30
3.9.9.3	Mécanisme de résistance	31
3.9.10	Sulfonamides.....	31
3.9.10.1	Généralités sur les sulfonamides	31
3.9.10.2	Mécanisme d'action des sulfonamides	32
3.9.10.3	Mécanisme de résistance	32
3.9.11	Autres antibiotiques : résistance au chloramphénicol, nitroimidazole et la fosfomycine	33
4	METHODES ET MATERIEL	34
4.1	Cadre d'étude	34
4.2	Type et période d'étude.....	34
4.3	Population d'étude.....	34
4.4	Echantillonnage.....	34
4.5	Collecte des selles et données	35
4.6	Variables mesurées.....	35
4.7	Méthode d'isolement des <i>Enterobacteriaceae</i> au laboratoire.....	35
4.7.1	Phase pré-analytique	35
4.7.2	Phase analytique.....	36
4.7.2.1	Examen macroscopique.....	36
4.7.2.2	Examen microscopique	36
4.7.2.3	Culture et Identification préliminaire.....	36
4.7.2.4	Matériels.....	37

4.7.2.5	Image d'identification et l'évaluation du niveau de résistance des souches isolées.	39
4.7.3	Tests d'identifications	42
4.7.4	Tests de sensibilités aux antibiotiques	43
4.7.5	Phase post-analytique.....	44
4.7.5.1	Validation biologique	44
4.7.5.2	Rendu du résultat.....	45
4.7.5.3	Conservation des souches bactériennes.....	45
4.7.5.4	Gestions des déchets.....	45
4.7.5.5	Hygiène et sécurité	45
4.7.5.6	Saisies et analyse des données	45
4.8	Considérations éthiques.....	45
5.	RESULTATS	47
5.1	Résultats globaux	47
5.2	Résultats descriptifs.....	47
5.2.1	Données socio-démographiques des patients.....	47
5.2.2	Proportion des antibiotiques prescrits avant le prélèvement.....	48
5.2.3	Aspect macroscopique et microscopique des prélèvements.	48
5.2.4	Répartition des échantillons de selles et d'isolats selon la période du décembre 2021 au juin 2022	49
5.2.5	Répartition des <i>Escherichia coli</i> et <i>Salmonella spp</i> isolés selon le genre	51
5.2.6	Répartition des <i>E. coli</i> et <i>Salmonella spp</i> isolats en fonction des tranches d'âge.	51
5.2.7	Répartition des cas d'antibiothérapie selon les résultats de la culture.....	51
5.2.8	Résistance des <i>Enterobacteriaceae</i> aux différents antibiotiques.....	52
5.2.9	Phénotypes de résistance des <i>Enterobacteriaceae</i> aux antibiotiques	53
5.2.10	Phénotypes des souches isolés en fonction des tranches d'âge	54
6.	DISCUSSION	55
7.	CONCLUSION	62
8.	RECOMMANDATIONS	63
9.	REFERENCES	64
10.	ANNEXES	71

1. INTRODUCTION

Les maladies entériques sont des infections causées par des micro-organismes. Elles demeurent une des principales maladies infectieuses à fort taux de mortalité dans le monde, passant de 2,6 millions en 2000 à 1,5 million de victimes en 2019[1]. Les enfants de moins de cinq ans constituent la couche la plus vulnérable avec un tiers des décès soit un enfant malade sur neuf[2].

À l'échelle régionale, l'Asie du Sud et l'Afrique subsaharienne enregistrent 88 % des décès totaux dans la même tranche d'âge[3]. À l'égard de cette situation, les enfants souffrant de diarrhée seront confrontés à de nombreux problèmes, notamment une perte d'appétit, un déficit électrolytique, la malnutrition, un risque accru de développer d'autres maladies infectieuses et un retard de croissance physique et de développement mental[4].

Si, ces maladies diarrhéiques touchent principalement les enfants de moins de cinq (5) ans, les voies de contaminations restent principalement du contact oral avec de l'eau, des aliments ou d'autres véhicules contaminés par des agents pathogènes provenant de matières fécales humaines ou animales[5]. Elles résultent de la présence des microorganismes entre autres d'origines virales, bactériennes, parasitaires ou fongiques.

Une étude du Groupe de référence sur la santé et l'épidémiologie de l'enfant (CHERG) estime que la morbidité due à ces agents pathogènes entériques spécifiques était le suivant : ETEC (14 %), EPEC (9 %) et *G. lamblia* (10 %) ; en consultation externe, les rotavirus (18 %), *Campylobacter spp.* (12,6 %) et EPEC (9 %) étaient les plus fréquents ; et en milieu hospitalier, les rotavirus (25 %), EPEC (16 %) et ETEC (9 %) étaient les plus fréquents[6].

Parmi les bactéries les plus incriminées dans les entérites on retrouve les genres *Vibrio*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter* et *Yersinia*. Ainsi l'utilisation des antibiotiques représente une lueur d'espoir depuis le siècle dernier dans le traitement des infections d'origine bactérienne. Avec la découverte de la pénicilline dans les années 1920, par Alexander Fleming qui est considérée comme l'une des plus grandes découvertes du siècle dernier[7]. En suite des antibiotiques de plus en plus efficaces ont fait leurs apparitions. Cependant, un autre problème émerge ainsi-tôt "*la découverte du siècle est ainsi confrontée au dilemme du siècle*".

D'une part, le monde microbien est en constant mouvement « l'évolution et l'adaptation », sur la base des mutations et processus de transfert, ainsi que les mécanismes impliqués sont variés, mais ils impliquent le plus souvent une altération mutationnelle de l'enzyme, du site

ribosomal ou d'une autre cible contre laquelle l'antimicrobien est dirigé. Dans certains cas, les organismes acquièrent de nouvelles enzymes ou mécanisme bloquant l'entrée de l'antimicrobien dans la cellule bactérienne. De nombreuses bactéries produisent des enzymes qui inactivent directement les antibiotiques. Pour aggraver la situation, les gènes impliqués sont facilement diffusés par des mécanismes génétiques promiscues[8].

Le gène blaCTX-M code une β -lactamase à spectre étendu responsable de l'hydrolyse de la plupart des β -lactamines, à l'exception des céphamycines et des carbapénèmes qui constituent la dernière ligne contre les bactéries productrices de β -lactamase. Également la coexistence avec d'autres gènes confèrent une résistance à différentes classes antimicrobiennes telles que les aminoglycosides, les tétracyclines, les sulfamides et les fluoroquinolones[9]. D'où l'apparition des bactéries multirésistantes, constituant un problème majeur de santé publique. D'autre part, l'utilisation de masse des antibiotiques (incluant dans l'agriculture, et l'élevage) a provoqué un "*effet boomerang*" de résistance aux antimicrobiennes, accélérant ainsi l'avènement des souches de bactéries multirésistantes aux antibiotiques. De nouveaux agents initialement efficaces contre les souches résistantes ont été mis au point, mais la résistance par de nouveaux mécanismes suit généralement.

A cela s'ajoute les coûts économiques associés à la résistance microbienne. Selon un rapport de la banque mondiale intitulé "*Drug Resistant Infections : A Threat to Our Economic Future*", la résistance aux antibiotiques a le potentiel de causer un niveau de dommages économiques similaire - et probablement pire - à celui causé par la crise financière de 2008[10]. Selon l'OMS, au moins 700 000 personnes meurent chaque année à cause des germes résistants à tout antibiotique, et ce chiffre pourrait atteindre 10 millions de décès par an d'ici 2050[11]. Ainsi il y'a un réel risque que les pandémies deviennent plus courantes à mesure que les antibiotiques perdent leurs efficacités.

Malgré ces statistiques et prévisions alarmantes, d'énormes progrès ont été réalisés au cours de ces dernières décennies. En outre la vaccination contre le rotavirus, l'utilisation des antibiotiques et les mesures d'amélioration de l'hygiène et de l'assainissement. Le perfectionnement des méthodes de diagnostic pour un meilleur traitement des maladies infectieuses d'un côté et pour permettre une surveillance effective des antibiorésistances de l'autre côté. Cela permet de réduire les coûts du traitement, et les risques d'échec thérapeutique qui constituent un des facteurs majeurs de résistance aux antibiotiques.

Cela permettra également le suivi de l'évolution des germes pathogènes et de la résistance antimicrobienne par le biais de systèmes de surveillance constitue la pierre angulaire de tout réseau de lutte contre les épidémies et d'intervention. L'existence d'un système robuste et opportun garantira la propension d'un pays à gérer et à contenir rapidement une épidémie. Le temps, plus que tout, détermine le succès d'une réponse[12].

Justification

La morbidité et la mortalité liées aux maladies diarrhéiques chez les enfants sont encore importantes et persistantes dans les pays à faible revenu, notamment en Afrique subsaharienne, et constituent un problème de santé publique de longue date[13].

Au Mali, la diarrhée constitue le 3^{ème} motif de consultation des enfants de moins de 5ans et sa prévalence reste élevée ; en effet, 9% des enfants de moins de 5 ans avaient eu un épisode diarrhéique dans les 2 semaines précédant l'enquête EDSM-V[14]. Cette prévalence est particulièrement importante chez les nourrissons de 6-11 mois (12,8%) et de 12-23 mois (13%)[14].

En accord avec ces données, les maladies diarrhéiques constituent un problème de santé ainsi que l'apparition des échecs thérapeutiques. Mais à cet égard, il existe peu de données épidémiologiques exploitables sur l'origine microbienne de ces maladies, le niveau d'efficacité des traitements, le niveau de résistances aux antimicrobiens ainsi qu'un système fiable de collecte et de surveillance en cas d'émergence de nouveaux phénotypes de résistance.

C'est ainsi que nous nous sommes proposés d'évaluer les causes microbiennes et d'identifier des phénotypes de résistances afin de contribuer à la mise en place d'un système de surveillance de la résistance aux antimicrobiens. Ces objectifs permettront à terme d'estimer la distribution des cas de résistance au sein de la population et les changements affectant cette distribution, le choix de la population ciblée et du mécanisme de détermination des cas basés sur la représentativité des informations obtenues.

Cette étude permettra d'indiquer la nécessité d'améliorer les pratiques de prescription et de contrôle des infections d'une part, et permettre un apport en termes des données épidémiologiques pour une meilleure surveillance du niveau de résistance dans notre pays d'autre part.

2. OBJECTIFS

2.1 Objectif général

Evaluer le profil de résistances des souches de *Escherichia coli* et *Salmonella spp* isolées dans les infections entériques chez les enfants à Yirimadjo.

2.2 Objectifs spécifiques

1. Déterminer la fréquence d'isolément des souches de *E. coli* et de *Salmonella* dans la population d'étude au CSCoM de Yirimadjo.
2. Déterminer la résistance aux antibiotiques des souches de *E. coli* et de *Salmonella* impliquées dans les infections entériques chez les enfants.
3. Identifier des phénotypes de résistances des souches de *E. coli* et de *Salmonella* multi-résistantes impliqués dans les infections entériques.

3. GENERALITES

3.1 Définitions

3.1.1 Bactéries :

Les bactéries sont des organismes structurellement simples (unicellulaires) mais fonctionnellement complexes qui constituent la base de toute vie sur terre. Elles sont majoritairement bénéfiques pour leur environnement. Elles jouent un rôle important dans l'écosystème, comme la décomposition des composants toxiques, le recyclage des nutriments, la fixation de l'azote de l'air dans le sol, entre autres[15].

3.1.2 Entérobactéries :

Les Entérobactéries constituent une grande famille de bactéries, qui comprend un grand nombre des agents pathogènes les plus connus, comme *Salmonella*, *Shigella* et *Escherichia coli*.

3.1.3 Diarrhée :

La diarrhée est définie comme l'émission d'au moins trois selles liquides ou molles par jour (ou une émission plus fréquente que la normale pour l'individu) avec des signes de déshydratation, avec ou sans fièvre et maux de ventre[16].

3.2 Historique

Les épidémies de maladies diarrhéiques aiguës ont été identifiées comme des causes de maladies mortelles dès la littérature sanskrite et à l'époque d'Hippocrate. Les maladies diarrhéiques et dysentériques ont joué un rôle majeur dans l'issue des batailles militaires au cours de l'histoire[17]. Les premières théories sur les causes de la diarrhée ne ressemblent guère aux concepts modernes de pathogenèse des maladies infectieuses entériques. A cette époque, on pensait que la météo et le sevrage des nourrissons étaient associés à la diarrhée[17]. La reconnaissance d'une association saisonnière entre l'abondance des mouches et le pic d'apparition de la diarrhée a été créditée de cause à effet dans les années 1700. Dans son essai sur la diarrhée écrit en 1777, Benjamin Rush a souligné l'importance des mouches, de la chaleur et de l'hygiène comme facteurs d'apparition de la diarrhée [15]. Avec l'avènement des antibiotiques, de nombreuses infections ont été maîtrisées. L'ère des antibiotiques" avec les noms de Paul Ehrlich et Alexander Fleming. L'idée d'Ehrlich d'une "balle magique" ciblant sélectivement les microbes pathogènes et non l'hôte reposait sur l'observation que l'aniline et d'autres colorants synthétiques, disponibles à cette époque, pouvaient colorer certains microbes mais pas d'autres[18].

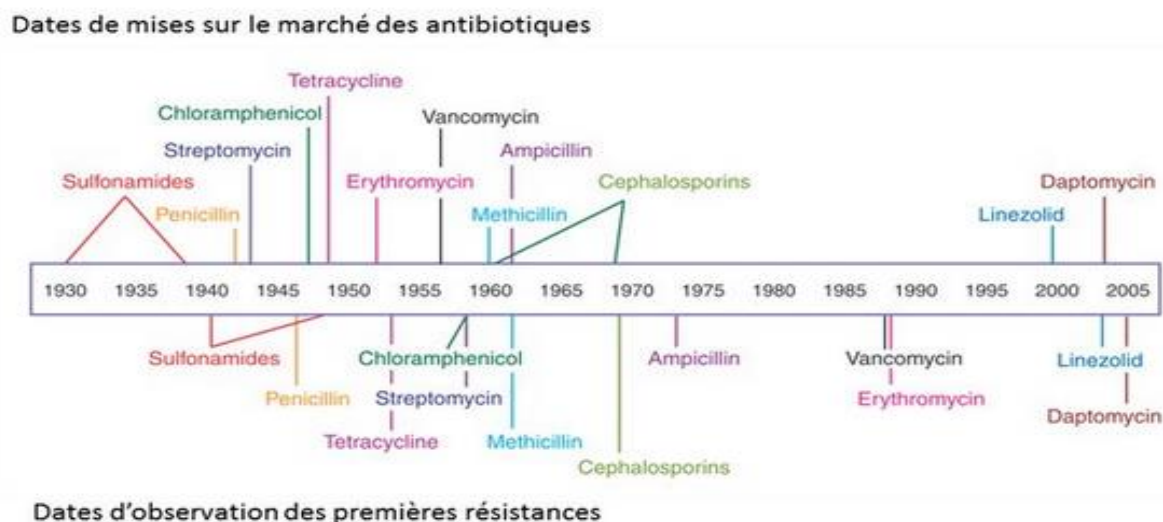


Figure 1: évolution des dates d'apparitions de la résistance aux antibiotiques[19].

3.3 Taxonomie

Dans leurs études sur les membres de la famille des Enterobacteriaceae, Edwards et Ewing ont établi les principes suivants pour caractériser, classer et identifier les organismes[20] :

La classification et l'identification d'un organisme doivent être basées sur son modèle morphologique et biochimique global. Une seule caractéristique (pathogénicité, gamme d'hôtes ou réaction biochimique), quelle que soit son importance, ne constitue pas une base suffisante pour classer ou identifier un organisme.

En parallèle, de nombreuses études montrent des manières de classer les organismes, et il y a un débat permanent, en partie controversé sur cette question, mais une majorité s'accorde sur l'établissement d'un système qui reflète le plus fidèlement possible "l'ordre de la nature"[21], qui est maintenant le plus souvent associé à "l'ordre évolutif" jusqu'à l'origine de la vie. Ainsi l'introduction des données relatives aux séquences d'ARNr **16S** dans la classification et l'identification moléculaires des procaryotes a constitué une étape importante.

Les entérobactéries constituent un groupe important et hétérogène de bâtonnets à Gram négatif. Les membres de la famille des *Enterobacteriaceae* sont classés en 52 genres et environ 290 espèces, comprenant entre autres (*Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus*, ...) [22].

Règne : *Bacteria*

Phylum : *Pseudomonadota*

Classe : *Gammaprotéobactéries*

Ordre : *Enterobacterales*

Famille : *Enterobacteriaceae*

3.4 Habitat

Les entérobactéries sont des germes ubiquitaires dans l'environnement et présentes dans le sol, l'eau, les plantes et le tractus gastro-intestinal des animaux et des humains. En raison de leur large distribution, ils peuvent facilement contaminer la chaîne alimentaire. Cette famille comprend un nombre important de pathogènes d'origine alimentaire tels que *Salmonella spp.*, *Yersinia enterocolitica* ; *Escherichia coli* pathogène[23].

3.5 Caractères bactériologiques

3.5.1 Caractères morphologiques

Les *Enterobacteriaceae* sont des bacilles (en forme de bâtonnets), et mesurent généralement entre 1 à 5 µm de long. Ils apparaissent généralement sous forme de colonies grises de taille moyenne à grande sur une gélose au sang, bien que certains puissent exprimer des pigments. La plupart possèdent de nombreux flagelles qui leur permettent de se déplacer, mais quelques genres sont non mobiles comme le *Klebsiella*.

3.5.2 Coloration de Gram

La coloration de Gram est la technique introduite en 1884 par le bactériologiste danois Hans Christian Gram[24]. Ce test permet de différencier les bactéries en bactéries à Gram positives et de Gram négatives, ce qui facilite la classification et la différenciation des micro-organismes. Les bactéries à Gram positif se colorent en violet en raison de la présence d'une épaisse couche de peptidoglycane dans leur paroi cellulaire, qui retient le cristal violet avec lequel ces cellules sont colorées. Par contre, les bactéries à Gram négatives apparaissent en coloration rouge de contraste avec la fuchsine basique, ce qui est attribué à une paroi de peptidoglycane plus mince, qui ne retient pas le cristal violet pendant le processus de décoloration.

3.5.3 Structures bactériennes

Il s'agit d'une matrice gélatineuse composée d'eau, d'enzymes, de nutriments, de déchets et de gaz, qui contient des structures cellulaires telles que des ribosomes, un chromosome et des plasmides. L'enveloppe cellulaire renferme le cytoplasme et tous ses composants.

Contrairement aux cellules eucaryotes (vraies), les bactéries n'ont pas de noyau fermé par une membrane.

3.5.3.1 Capsule

Certaines espèces possèdent une troisième enveloppe protectrice, une capsule composée de polysaccharides (glucides complexes). Les capsules jouent un rôle essentiel tel que la protection de la bactérie contre le dessèchement et la phagocytose. La capsule est un facteur de virulence majeur chez les principales bactéries pathogènes, comme *Escherichia coli*. Les mutants non encapsulés de ces organismes sont avirulents.

3.5.3.2 Membrane cytoplasmique

La membrane cytoplasmique constituée d'une couche de phospholipides et de protéines. Elle entoure l'intérieur de la bactérie, régulant le flux de matières entrant et sortant de la cellule. Il s'agit d'une caractéristique structurale que les bactéries partagent avec toutes les autres cellules vivantes, une barrière qui leur permet d'interagir de manière sélective avec leur environnement. Les membranes sont hautement organisées et asymétriques, avec deux côtés, chaque côté ayant une surface et des fonctions différentes[25]. Les membranes sont également dynamiques, s'adaptant constamment à différentes conditions.

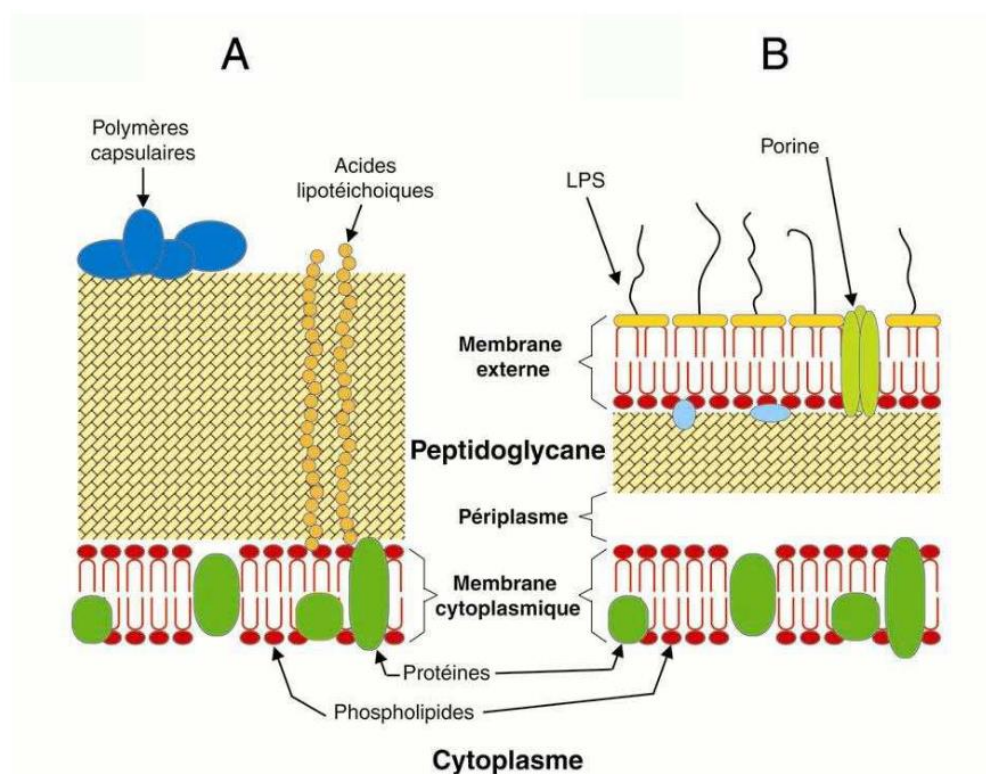


Figure 2: schéma de l'enveloppe cellulaire des bactéries Gram-positives (A) et Gram-négatives (B)[26].

3.5.3.3 Paroi cellulaire

Chez les bactéries, elle forme une structure rigide d'épaisseur uniforme autour de la cellule et est responsable de la forme caractéristique de la cellule (bâtonnet, coccus ou spirale). À l'intérieur de la paroi cellulaire (ou couche rigide de peptidoglycane) se trouve la membrane plasmique (cytoplasmique), qui est généralement très proche de la paroi[27]. La paroi donne sa forme à la cellule et entoure la membrane cytoplasmique, la protégeant ainsi de l'environnement. Elle permet également d'ancrer des appendices comme les pili et les flagelles, qui prennent naissance dans la membrane cytoplasmique et font saillie à travers la paroi vers l'extérieur[28,29].

3.5.3.4 Cytoplasme

C'est l'endroit où s'effectuent les fonctions de croissance, de métabolisme et de réplication des cellules. Il s'agit d'une matrice gélatineuse composée d'eau, d'enzymes, de nutriments, de déchets et de gaz, qui contient des structures cellulaires telles que des ribosomes, un chromosome et des plasmides. L'enveloppe cellulaire renferme le cytoplasme et tous ses composants.

3.5.3.5 Flagelles

Les flagelles constituent un moyen de locomotion pour les bactéries qui en sont dotées. Retrouver aux extrémités d'une bactérie, ou sur toute sa surface. Les flagelles battent dans un mouvement d'hélice pour aider la bactérie à se déplacer vers les nutriments, à s'éloigner des produits chimiques toxiques ou, dans le cas des cyanobactéries photosynthétiques, vers la lumière[30].

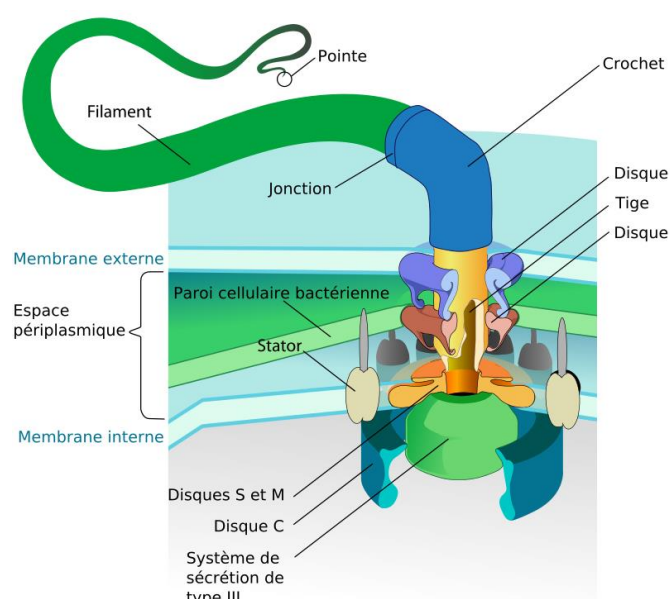


Figure 3 : flagelle d'une Bactérie à Gram négative[31].

3.5.3.6 Nucléoïde

Le nucléoïde est une région du cytoplasme où se trouve l'ADN chromosomique. Il ne s'agit pas d'un noyau lié à une membrane, mais simplement d'une zone du cytoplasme où se trouvent les brins d'ADN. La plupart des bactéries ont un seul chromosome circulaire qui est responsable de la réplication, bien que quelques espèces en aient deux ou plus[32]. Des brins d'ADN auxiliaires circulaires plus petits, appelés plasmides, se trouvent également dans le cytoplasme.

3.5.3.7 Pili

De nombreuses espèces de bactéries en possèdent (des pili ou un pilus), ces excroissances aident la bactérie à se fixer à d'autres cellules et surfaces, comme les dents, les intestins et les rochers. Sans pili, de nombreuses bactéries pathogènes perdent leur capacité d'infection car elles sont incapables de se fixer aux tissus de l'hôte. Ils sont utilisés dans la conjugaison, au cours de laquelle deux bactéries échangent des fragments d'ADN plasmidique[33].

3.6 Caractères culturels

La culture bactérienne fait référence à la prolifération de bactéries avec un substrat nutritif approprié. Un milieu nutritif dans lequel on veut cultiver des chimio-organotrophes doit comporter des sources d'énergie organiques. Parmi les autres besoins, on trouve des sources de carbone et d'azote pour la synthèse de composés bactériens spécifiques ainsi que des minéraux tels que le soufre, le phosphore, le calcium, le magnésium et les oligo-éléments comme activateurs d'enzymes. Certaines bactéries ont également besoin de "facteurs de croissance", c'est-à-dire de composés organiques qu'elles sont incapables de synthétiser elles-mêmes. Selon l'espèce bactérienne concernée, le milieu nutritif doit contenir certaines quantités d'O₂ et de CO₂ et avoir certains niveaux de pH et de pression osmotique[34]. Ces caractéristiques culturelles sont mises en évidence selon le choix du milieu de culture. Ainsi chaque milieu à ces caractères spécifiques qui permettent une orientation sur les potentielles colonies, (voir le tableau ci-dessous. Tableau I).

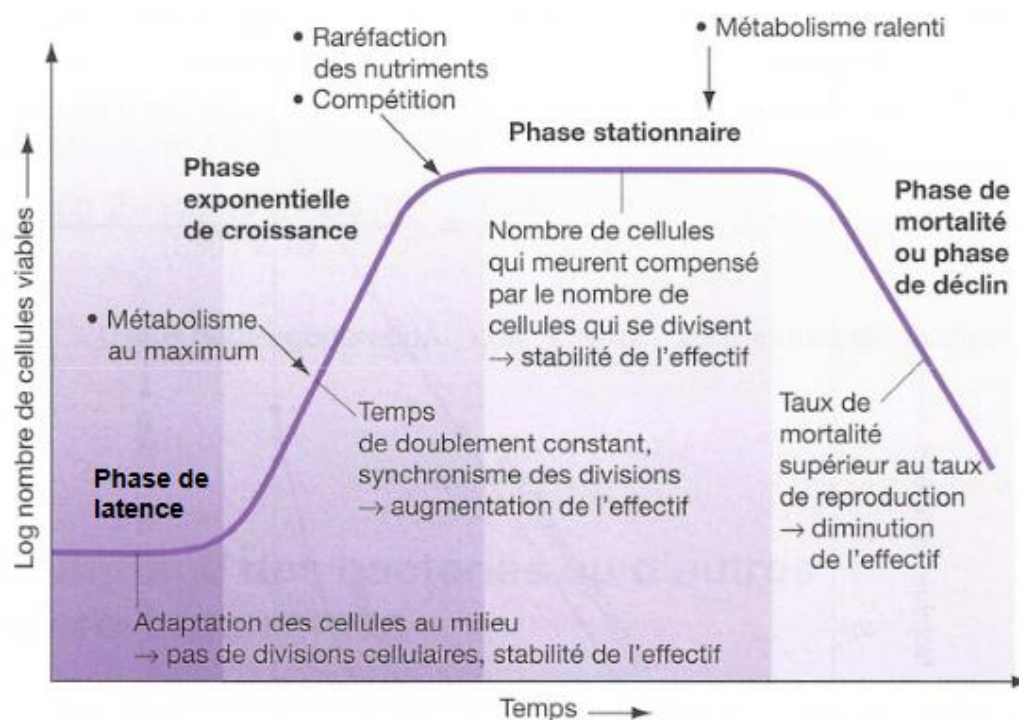


Figure 4 : graphique d'évolution de la croissance bactérienne (Raven et al.,2007)[35].

Tableau I : caractéristiques des *Enterobacteriaceae* sur les différents milieux de cultures.

<i>Enterobacteriaceae</i>	Croissance et Couleur sur Hektoen
<i>Escherichia coli</i>	Grande taille, de couleur jaune à saumon, inhibition possible de certaines souches.
<i>Salmonella spp.</i> ,	De couleur bleu-vert à bleue, la plupart des souches étant de couleur noire au centre ou sur toute leur surface. Tous les sérotypes de <i>Salmonella</i> ont cet aspect sur gélose HE à l'exception du sérotype Typhi, qui est un faible producteur de H ₂ S, et de rares souches de <i>Salmonella</i> fermentant le lactose.
<i>Shigella spp.</i> ,	Couleur verte, humides et convexes.
<i>Enterobacteriaceae</i>	Croissance et Couleur sur gélose <i>Salmonella-Shigella</i> .
<i>Shigella spp.</i> et <i>Salmonella spp.</i> Non productrices de H ₂ S	Colonie incolore.
<i>Salmonella spp.</i> ,	Colonies à grands centres noirs à périmètre clair.
<i>Klebsiella spp.</i> ,	Colonie rose à rouge avec ou sans zone de bile précipitée.

3.6.1 Caractères Biochimiques

Les caractéristiques biochimiques sont primordiales pour la description d'un genre ou d'une espèce en bactériologie. La famille des *Enterobacteriaceae* contient un grand nombre de genres qui sont biochimiquement et génétiquement apparentés, génétiquement proches les uns des autres. C'est ainsi que l'exploitation de leurs caractéristiques biochimiques permettent essentiellement de les identifier.

3.6.2 Substances de Différentiation

Il existe d'une grande part d'interdépendance dans la famille des entérobactéries, qui présentent presque toutes les combinaisons imaginables de caractéristiques biochimiques compatibles avec la définition de la famille[36].

3.6.2.1 Lactose

Les entérobactéries sont souvent isolées à partir de matières fécales sur une gélose contenant du lactose et un indicateur de pH. Les colonies qui fermentent le lactose produisent suffisamment d'acide pour provoquer un changement de couleur (rose pour *E. coli*) de l'indicateur. Par exemple, *Escherichia coli* est un fermenteur du lactose, tandis que *Shigella*, *Salmonella* et *Yersinia* sont des non-fermenteurs[37].

3.6.2.2 Uréase

Le test de l'uréase identifie les organismes capables d'hydrolyser l'urée pour produire de l'ammoniac et du dioxyde de carbone. Il est principalement utilisé pour distinguer les *Proteae* uréase-positifs (couleur rose) des autres *Enterobacteriaceae*, tel que (*Escherichia coli*, *Salmonella* et *Shigella*).

3.6.2.3 Oxydase

Ce test est utilisé pour identifier les micro-organismes contenant l'enzyme cytochrome oxydase (importante dans la chaîne de transport des électrons). Il est généralement utilisé pour distinguer les *Enterobacteriaceae* négatifs à l'oxydase des autres bactéries à Gram négative comme les *Pseudomonaceae*, *Neisseria*, *Campylobacter* positifs à l'oxydase.

3.6.2.4 Galerie Classique (Mannitol, Citrate de Simmons et Kligler-Hajna)

Agar au sel de mannitol contient (environ 7,5 à 10 % NaCl) qui inhibe la plupart des bactéries, ce qui le rend sélective contre la plupart des bactéries à Gram-négatives et sélective pour certaines bactéries à Gram-positives.

La gélose au citrate de Simmons utilise le citrate comme seule source de carbone capable de différencier les membres des *Enterobacteriaceae*. *Klebsiella pneumoniae* et *Proteus mirabilis* sont des exemples d'organismes positifs au citrate en vert. *Escherichia coli* et *Shigella*

dysenteriae sont des organismes négatifs au citrate en bleu. La gélose Kligler-Hajna est utilisée pour l'identification présomptive des entérobactéries basée sur la fermentation du glucose, lactose, saccharose et sur la production de gaz et d'H₂S.

3.7 Facteurs de virulence et de pouvoir pathogène

Les facteurs de virulence sont les molécules qui aident la bactérie à coloniser l'hôte au niveau cellulaire. Il s'agit par exemple de toxines, de revêtements de surface qui inhibent la phagocytose et de récepteurs de surface qui se lient aux cellules de l'hôte. Les facteurs de virulence des bactéries sont les structures antigéniques des entérobactéries, les antigènes O, H et K et les capsules de polysaccharides.

3.7.1 Endotoxines

Les endotoxines furent découvertes à la fin du 19^e siècle. Elles sont des composés complexes potentiellement toxiques couramment produits par les bactéries à Gram-négatives. Également connues sous le nom de lipopolysaccharides (LPS), les endotoxines font partie des pyrogènes (substances susceptibles de provoquer de la fièvre) les plus courants. Elles comprennent un polysaccharide hydrophile et un composant hydrophobe (lipide A)[38]. Elles font partie de la membrane externe de la paroi cellulaire des bactéries à Gram-négatives. L'endotoxine est invariablement associée aux bactéries à Gram-négatives. Ce sont des bactéries qui ont une paroi cellulaire fine et une membrane externe (par exemple *Escherichia coli* et *Salmonella enterica*).

Ce LPS est composé de deux composants majeurs importants, le lipide hydrophile A et le polysaccharide hydrophile (région O). Tous deux sont importants pour l'activité biologique de l'endotoxine. La toxicité est associée au composant lipidique (lipide A) et l'immunogénicité est associée aux composants polysaccharidiques. Les antigènes de la paroi cellulaire (antigènes O) des bactéries à Gram-négatives sont des composants du LPS. Le LPS déclenche diverses réponses inflammatoires chez l'animal et son activation est complétée par la voie alternative (properdine) ; il pourrait donc faire partie de la pathologie des infections bactériennes à Gram négatif[39].

3.7.2 Exotoxines

Les exotoxines sont un groupe de protéines solubles, sécrétées par la bactérie. Elles pénètrent dans les cellules hôtes altérant ainsi leurs physiologies. Les bactéries à Gram-négatives et à Gram-positives produisent toutes deux des exotoxines.

Tableau II : caractéristiques des entérobactéries pathogènes [40]

	DIAGNOSTIC ANTIGÈNES	PILI	ADHESINE ou CAPSULE	EXOTOXINE	PATHOGÈNE LESIONS	PROTEINES SECRÉTÉS ^a	GÉNÉTIQUE	TRANSMISSION	MALADIE
<i>Escherichia coli</i>	<i>O, H, K</i>								
Commun	>150	Type 1 ^b	K1 polysaccharide	α-Hemolysine	Inflammation			Flore adjacente	Opportuniste
Uropathogène UPEC		Type 1 ^b , P (Gal-Gal)		α-Hemolysine	Inflammation			La flore fécale, ascendante	Infection des voies urinaires
Entérotoxique ETEC		CFs		LT, ST	Hypersécrétion		Plasmid (CF, LT, ST)	Fécal-oral	Diarrhée aqueuse (voyageurs)
Entéropathogène EPEC		Bfp	Intimin		A/E, intestin grêle	Esp	PAI	Fécal-oral	Diarrhée aqueuse
Entéro-Invasif EIEC			Ipas		Invasion, inflammation, ulcères	Ipas	Large plasmid, PAI	Fécal-oral	Dysenterie
Entérohemorrhagique EHEC	<i>O157:H7</i>	Lpf	Intimin	Stx	A/E, colon, hémorragie	Esp	PAI	Fécal-oral direct, faible dose, bovins	Diarrhée sanglante, HUS
Enteroaggregative EAEC		AAFs		Stx	Biofilm adhérent				Diarrhée aqueuse ou sanglante ^d , SHU ^d
<i>Salmonella enterica</i>	<i>O, H1, H2, K</i>								
Serotypes	>2000 serovars	Type1 ^b			Ruffles, invasion, inflammation	Inv, Spa, others	PAI	Fécal-oral, animaux, et humains	Gastro-entérite, septicémie
Typhi	O groupe D	Type1 ^b	Vi polysaccharide		Macrophage survie, RES croissance	Comme pour les sérotypes ^c	PAI	Fécal-oral, dose modérée, humains seulement	Fièvre entérique (typhoïde)
<i>Shigella</i>	<i>Sérogroupe O</i>								
<i>S dysenterias</i>	<i>A (10 types)</i>		Ipas	Stx (A1 potent)	Invasion, inflam, ulcères coliques	Ipas	Large plasmid, PAI	Fécal-oral, direct, faible dose	Dysenterie (sévère), SHU
<i>S flexneri</i>	<i>B (6 types)</i>		Ipas	Stx (variable)	Invasion, inflam, ulcères coliques	Ipas	Large plasmid, PAI	Fécal-oral, direct, faible dose	Dysenterie, SHU
<i>S boydii</i>	<i>C (15 types)</i>		Ipas	Stx (variable)	Invasion, inflam, ulcères coliques	Ipas	Large plasmid, PAI	Fécal-oral, direct, faible dose	Dysenterie, SHU
<i>S sonnei</i>	<i>D</i>		Ipas	Stx (variable)	Inva, inflam, ulcères coliques	Ipas	Large plasmid, PAI	Fécal-oral, direct, faible dose	Dysenterie, SHU

^aDéjà par injection (type III) système de sécrétion. ^bLiée au mannose. ^cPas de modèle animal, présumé similaire aux sérotypes de sérotypes de *S enterica*. ^dDeux épidémies connues (2007, 2011).

3.8 *Enterobacteriaceae* et la résistance aux antibiotiques

La résistance bactérienne aux antibiotiques a souvent été rapportée dès l'usage d'un nouvel antibiotique en clinique comme indiqué ci-dessous pour les β -lactamines, principale famille. La résistance bactérienne est donc une pandémie silencieuse mais d'importance variable selon le pays, l'espèce bactérienne et l'antibiotique, victime de son succès.

3.8.1 Résistance clinique.

Elle est définie comme une résistance des bactéries à la concentration d'agents anti-infectieux maintenue au site de l'infection dans le macro-organisme. Elle se traduit par un échec thérapeutique impliquant plusieurs facteurs tels que :

- L'environnementaux (protéines inhibitrices, cations, etc.) ;
- La pharmacocinétique ;
- Le choix approprié de l'antibiotique.

3.8.2 Résistance naturelle.

L'existence d'un ou plusieurs mécanismes de résistances naturelles est caractéristique d'une espèce, genre ou une famille de bactéries. Elle permet de définir le spectre clinique d'un antibiotique.

3.8.3 Résistance acquise.

Les souches des taxons sensibles peuvent acquérir une résistance par le biais des modifications de leur matériel génétique. Ainsi, elle présente certaines caractéristiques comme le potentiel évolutif d'un gène de résistance bactérien. La découverte dans les années 1985, des β -lactamases à spectre élargi ou étendu (BLSE) et, celles TRI/IRT quelques années après en sont de beaux exemples de résistance acquise[41]. La résistance acquise peut être ainsi modulée, permettant au monde bactérien une adaptation possible aux thérapeutiques, mêmes les plus récentes.

3.8.4 Résistance biochimique.

Il s'agit d'une résistance détectable par voie biochimique observée chez des souches de taxons sensibles. La résistance biochimique correspond souvent à la résistance cliniquement pertinente. Les souches résistantes biochimiquement présentent parfois de faibles niveaux de résistance en dessous de la limite définie cliniquement entre les souches résistantes et sensibles. Ces souches peuvent être médicalement sensibles. Préciser le déterminisme biochimique de la résistance amène à comprendre la résistance croisée entre antibiotiques de la même famille ou encore à imaginer de nouvelles molécules plus actives, car plus

hydrophiles, donc ayant une meilleure diffusion à travers les porines chez une bactérie à Gram-négatif ou une meilleure affinité sur ses cibles telles certaines protéines du ribosome (macrolides)[41].

3.8.5 Beta-lactamases

Les β -lactamases bactériennes sont des membres d'une famille d'enzymes (EC 3.5.2.6) qui désactivent l'effet des β -lactamines telles que les pénicillines, les monobactames et les carbapénèmes en attaquant leurs cycles β -lactame[42].

Ainsi on distingue quatre (4) classes de β -lactamases selon le schéma d'Ambler

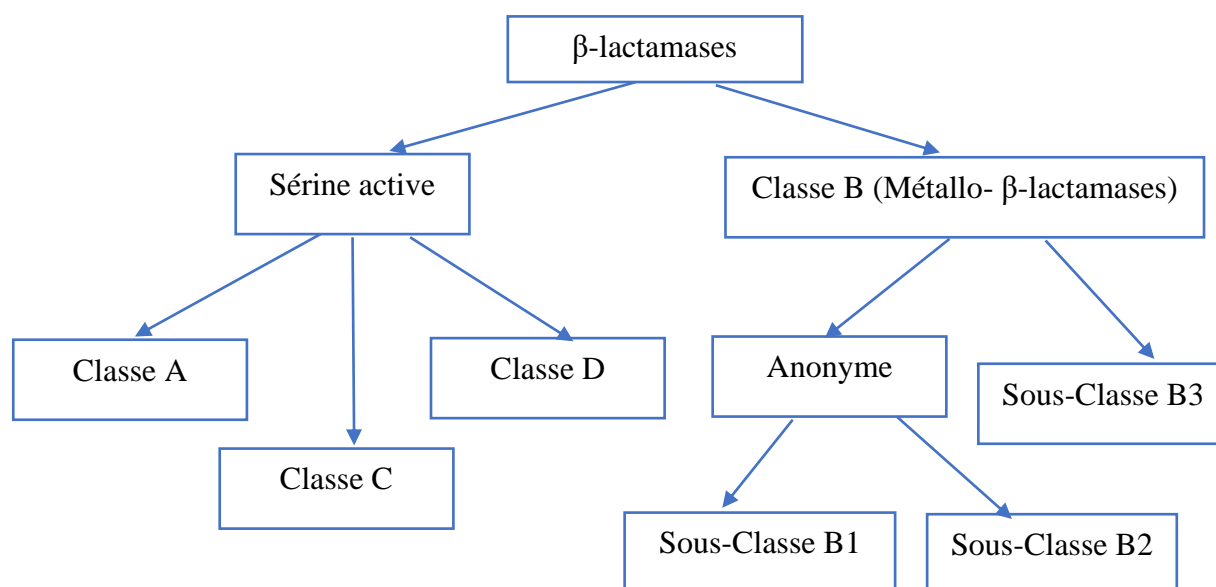


Figure 5 : diagramme schématisé du système de classification d'Ambler[43].

Tableau III : détection phénotypique de la résistance des entérobactéries.

Antibiotiques	Phénotype sauvage	Pénicillinase de BN	Pénicillinase de HN	Céphalosporinase	BLSE	ERC
Aminopénicilline	S	R	R	R	R	R
AMP+AC	S	S	I/R	R	R	R
Carboxypénicilline	S	R	R	S	R	R
C1G	S	I	I/R	R	R	I/R
C2G (FOX)	S	S	S	R	S	I/R
C3G	S	S	S	R	R	I/R
C4G	S	S	S	R	R	I/R
Carbapénèmes	S	S	S	S	S	R

Aminopénicilline : Amoxicilline, AMP+AC : Aminopénicilline + acide clavulanique
 Carboxypénicilline : Ticarcilline, C1G : Cefalotine, C2G : Cefotaxime, C3G : Ceftazidime
 Carbapénème : Imipénème, S : Sensible, R : Résistant, I : Intermédiaire.

3.8.6 Différents mécanismes de résistances

En raison des différences de structure, les types de mécanismes utilisés par les bactéries à Gram négatif et les bactéries à Gram positif varient[44]. Les bactéries à Gram négatif utilisent les mécanismes de résistance antimicrobienne suivants :

3.8.6.1 Limitation de l'absorption d'un médicament

Il existe une différence naturelle dans la capacité des bactéries à limiter l'absorption des agents antimicrobiens. La structure et les fonctions de la couche lipopolysaccharides (LPS) des bactéries à Gram négatives constituent une barrière à certains types de molécules[45]. Cela confère à ces bactéries une résistance naturelle à certains groupes d'antibiotiques. Chez les bactéries à Gram négatives, les substances pénètrent souvent dans la cellule par les porines. Les canaux de porine de ces bactéries permettent généralement l'accès aux molécules hydrophiles[45]. Les modifications des porines peuvent limiter l'absorption des médicaments de deux manières principales : une diminution du nombre de porines présentes et les mutations qui modifient la sélectivité du canal de la porine. Les membres de la famille des Enterobacteriaceae sont connus pour devenir résistants en réduisant le nombre de porines (et parfois en arrêtant complètement la production de certaines porines). En tant que groupe, ces bactéries réduisent le nombre de porines comme mécanisme de résistance aux carbapénèmes[44].

3.8.6.2 Modification de la cible d'un médicament

Les variations naturelles ou acquises dans les cibles des antimicrobiens empêchent la liaison des médicaments et constituent un mécanisme courant de résistance. Les modifications du site ciblé résultent souvent de la mutation spontanée d'un gène bactérien sur le chromosome.

Altération de la sous-unité 30S ou de la sous-unité 50S du ribosome entraîne une résistance aux médicaments qui affectent la synthèse des protéines, c'est-à-dire les macrolides, la tétracycline, le chloramphénicol et les aminoglycosides. Les aminoglycosides se lient à la sous-unité ribosomale 30S, tandis que le chloramphénicol, les macrolides, les lincosamides et la streptogramine B se lient à la sous-unité ribosomale 50S pour supprimer la synthèse des protéines[46].

Mécanismes de protection ribosomale conférant une résistance aux tétracyclines. Et une mutation de l'ARN polymérase conférant une résistance à la rifampicine.

3.8.6.3 Inactivation d'un médicament

Il existe trois enzymes principales qui inactivent les antibiotiques, à savoir les β -lactamases, les enzymes modifiant les aminoglycosides et les chloramphénicol acétyltransférases (AAC).

3.8.6.4 Efflux actif de médicaments

Les protéines membranaires qui exportent les antibiotiques hors de la cellule et maintiennent leurs faibles concentrations intracellulaires sont appelées pompes d'efflux. À la même vitesse, où ces antimicrobiens entrent dans la cellule, les mécanismes d'efflux les pompent à nouveau, avant qu'ils n'atteignent leur cible[47]. Ces pompes sont présentes dans la membrane cytoplasmique, contrairement aux porines qui sont présentes dans la membrane externe.

Les antibiotiques de toutes les classes, à l'exception de la polymyxine, sont sensibles à l'activation des systèmes d'efflux. Les pompes d'efflux peuvent être spécifiques aux antibiotiques[46]. La plupart d'entre elles sont des transporteurs multi-drogues capables de pomper une large gamme d'antibiotiques non apparentés - macrolides, tétracyclines et fluoroquinolones et contribuent ainsi de manière significative aux organismes multirésistants.

Tableau IV : mécanisme de résistance bactérienne aux antibiotiques[48].

Antibiotiques	Cible bactérienne	Mécanismes de résistances			
		Inactivation Enzymatique	Modification de Cible	Imperméabilité Cellulaire	Efflux Actif
Inhibition de la synthèse de la paroi (peptidoglycane)					
β-lactamines	PLP	+++	++	++	++
Glycopeptides	Précurseurs D-Ala-D-Ala		+++		
Inhibition de la synthèse protéique					
Aminosides	ARN ribosomal 30S	+++	++	+	+
Macrolides	ARN ribosomal 50S	+	+++		++
Tétracyclines	ARN ribosomal 30S		++		+++
Phénicolés	ARN ribosomal 50S	++			++
Oxazolidinones	ARN ribosomal 50S		++		
Inhibition de la synthèse ou de fonctionnement de l'ADN					
Fluoroquinolones	Topoisomérase		+++		++
Rifamycines	ARN polymérase		+++		+
Sulfamides	DHFS		++		+
Triméthoprimes	DHFR		++		+

3.9 Antibiotiques

3.9.1 Antibiotiques

La découverte de la pénicilline en 1928 par Alexander Fleming, a été suivie par la découverte et la production commerciale de nombreux autres substances ayant des activités inhibitrices de la croissance bactérienne[49]. Ainsi toute substance qui inhibe la croissance et la réplication d'une bactérie ou la tue carrément peut être appelée un antibiotique. Les antibiotiques sont un type d'antimicrobien conçu pour cibler les infections bactériennes dans (ou sur) l'organisme.

3.9.2 Résistance aux antimicrobiens

La résistance aux antimicrobiens (RAM) est le résultat d'un phénomène d'inefficacité évolutive au fil du temps et elle survient lorsque les microorganismes ne répondent plus aux médicaments (antimicrobiens), rendant ainsi les infections plus difficiles à traiter et augmentant le risque de propagation de la maladie[50].

3.9.3 Phénotypes de résistances bactériennes

Résistance naturelle et phénotypes « sauvages »

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

3.9.3.1 Phénotype « sensible »

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

Les espèces produisant naturellement une céphalosporinase de classe C. comme les espèces précédentes. *E. coli* et *Shigella spp.* sont naturellement sensibles aux amino-pénicillines, carboxy-pénicillines, uréïdopénicillines, à l'aztréonam, aux céphalosporines et aux carbapénèmes.

Cependant, elles produisent à très bas niveau une céphalosporinase chromosomique non inductible de type AmpC (groupe fonctionnel 1) qui peut entraîner, chez certaines souches, une réduction de sensibilité aux amino-pénicillines, à leurs associations au clavulanate et/ou aux C1G.

3.9.3.2 Phénotype « pénicillinase de bas niveau » et « pénicillinase de haut niveau »

Le phénotype « pénicillinase de bas niveau » confère une résistance patente aux aminopénicillines et aux carboxypénicillines et souvent inapparente aux uréïdopénicillines. Ce phénotype de résistance, appelé « pénicillinase de bas niveau », se caractérise par la persistance d'un diamètre d'inhibition autour des disques d'aminopénicillines (contrairement au phénotype « pénicillinase de haut niveau ou pénicillinase acquise » caractérisé par l'absence de diamètre d'inhibition autour de ces disques). Les associations pénicilline-inhibiteur sont actives. Règles de lecture interprétative : La résistance aux pénicillines et tout particulièrement aux uréïdopénicillines, peut être de bas niveau. Tous les résultats « sensibles » doivent être interprétés « intermédiaires » pour ces molécules chez les espèces appartenant au groupe 2.

Le phénotype « pénicillinase de haut niveau » est d'expression variable selon la nature du promoteur du gène de structure, du nombre de copies du gène et de l'espèce bactérienne hôte. Le phénotype de résistance se présente donc sous différentes formes qui évoluent entre deux extrêmes :

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

Une diminution de la sensibilité est communément observée pour les associations ticarcilline-clavulanate et pipéracilline-tazobactam. La résistance peut s'étendre aux C2G, principalement chez *Klebsiella spp.* *Enterobacter spp.* et *C. freundii*.

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

3.9.3.3 Phénotype « céphalosporinase de bas niveau »

Les entérobactéries appartenant à ce groupe réunissent des espèces productrices de céphalosporinases de classe C (AmpC, groupe fonctionnel 1) chromosomiques et inducibles par les Bêta-lactamines (molécules fortement inductrices : céfoxitine, imipénème, clavulanate).

Le phénotype « sauvage » de ces espèces, souvent appelé « céphalosporinase de bas niveau » comprend une résistance aux amino-pénicillines, à leurs associations aux Bêta-lactamines inhibitrices et aux C1G.

Le phénotype se caractérise par une résistance aux aminopénicillines, aux C1G, aux C2G (céfuroxime, céfamandole) à l'exception des céphamycines (céfoxitine) et une sensibilité aux associations pénicillines-bêtalactamines inhibitrices.

3.9.3.4 Phénotype « céphalosporinase de haut niveau »

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

3.9.3.5 Phénotype « bêta-lactamase à spectre étendu chromosomique »

Ces BLSE souvent exprimées à bas niveau confèrent une diminution de sensibilité ou une résistance aux aminopénicillines, aux carboxypénicillines, aux C1G et aux C2G, à l'exception des céphamycines. La résistance aux uréidopénicillines et aux C3G est souvent inapparente. Aucune règle de lecture interprétative n'a été proposée à ce jour pour ces espèces.

3.9.3.6 Phénotype « bêta-lactamase à spectre étendu »

Le phénotype « bêta-lactamase à spectre étendu » (BLSE) comprend une résistance aux pénicillines et aux céphalosporines, à l'exception des céphamycines. Cependant, la résistance aux C3G, C4G et à l'aztréonam est plus ou moins marquée selon les enzymes et les souches.

3.9.3.7 Résistance acquise et phénotypes de résistances

A la résistance naturelle aux bêtalactamines peuvent s'ajouter un ou plusieurs mécanismes de résistance acquise. La résistance acquise par production de bêta-lactamase est le mécanisme prépondérant.

Cependant, la fréquence des autres mécanismes de résistance, souvent exprimés à bas niveau, pourrait être sous-estimée faute d'études épidémiologiques.

3.9.3.8 Phénotype de bactéries multi-résistantes

Les phénotypes cités initialement sont tous des phénotypes multi-résistants, résistants aux moins deux classes d'antibiotiques différents.

3.9.3.9 Phénotype « hyper OXY »

Des souches de *K. oxytoca* sont résistantes à haut niveau à l'ensemble des pénicillines, aux C1G, aux C2G, à l'exception des céphamycines, et à bas ou haut niveau à l'aztréonam. Le test de synergie avec le clavulanate est positif avec le céfotaxime, rarement positif avec les C4G et la ceftazidime.

Le niveau de résistance, toujours plus élevé pour l'aztréonam que pour les C3G et les C4G, permet de différencier le phénotype « hyperoxy » du phénotype « BLSE ».

3.9.4 Bêta-Lactamines

3.9.4.1 Généralités sur les beta-lactamines

Ils furent les premiers antibiotiques utilisés, mais sans doute les β -lactamines sont l'une des classes d'agents antibactériens les plus importantes au monde. La découverte et la mise sur le marché du premier antibiotique β -lactame (la pénicilline G) est un jalon symbolique de la chimiothérapie moderne. Depuis lors, plusieurs autres β -lactamines ont été introduites dans la thérapie, révolutionnant le traitement des infections bactériennes. Divisés en quatre (4) classes avec un large spectre d'activité :

- Pénicillines (pénicilline G, Oxacilline, Méticilline, Cloxacilline, ...)
- Céphalosporine (Céfalexine, Céfuroxime, Ceftriaxone, Céfépime, ...)
- Carbapénèmes (Imipénème, Méropénème, et Ertopénème)
- Monobactames (Aztréonam)

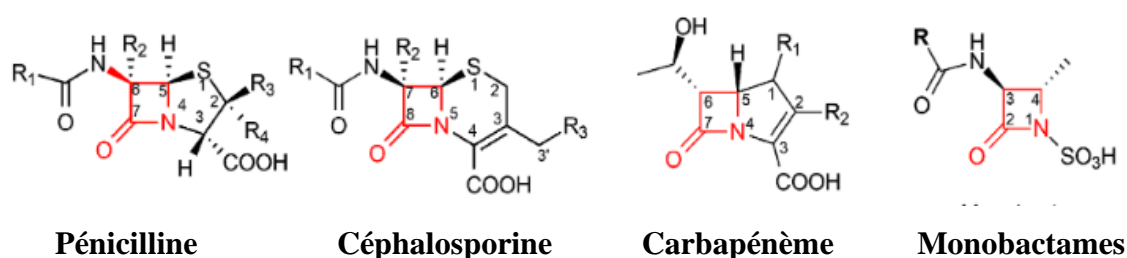


Figure 6 : structures principales de différentes classes de β -lactamines antibiotiques[51].

3.9.4.2 Mécanismes d'actions

Les β -lactamines sont bactéricides, et agissent en inhibant la synthèse de la couche de peptidoglycane des parois cellulaires bactériennes. La couche de peptidoglycane est importante pour l'intégrité structurelle de la paroi cellulaire.

3.9.4.3 Mécanismes de résistance

Leur efficacité antibactérienne a été freinée par l'émergence de résistances bactériennes. Bien qu'il existe trois mécanismes moléculaires majeurs, tels que la production d'enzymes, la surexpression des pompes d'efflux et la modification des porines, par lesquels les

Enterobacteriaceae (et d'autres bactéries à Gram-négatives) développent une résistance aux agents antibactériens contenant des β -lactamines, l'inactivation enzymatique est prédominante[52] et, seule ou combinée aux autres, est associée aux phénotypes multirésistants observés dans les isolats cliniques. La résistance aux β -lactamines peut se produire lorsque ces protéines de porine sont modifiées de telle sorte qu'elles ne sont pas produites sous une forme pleinement active. Certaines bactéries à Gram-négatives présentent une résistance aux carbapénèmes basée sur la perte et/ou la réduction de ces protéines de la membrane externe, comme la perte d'OprD, qui est associée à la résistance à l'imipénème et à une sensibilité réduite au méropénème chez *Pseudomonas aeruginosa*[53].

Au cours des années 1990, la plupart des rapports sur les gènes BLSE concernaient les types blaTEM/SHV, qui étaient liés aux infections croisées dans les hôpitaux. Toutefois, la récente augmentation mondiale a été causée principalement par les gènes de type blaCTX-M. L'épidémiologie des gènes BLSE évolue rapidement et montre des différences géographiques marquées dans la distribution des génotypes de β -lactamases blaCTX-M (5). Aux États-Unis, le gène de résistance aux médicaments le plus répandu chez l'homme est actuellement le blaCTX-M-15, qui est souvent associé à une variante largement distribuée d'*Escherichia coli* O:25b, type de séquence 131 (ST131). Les bactéries contenant des gènes BLSE sont actuellement une cause fréquente d'infections provenant de personnes vivant en communauté sans antécédents d'hospitalisation, et ces organismes peuvent ensuite être introduits dans les hôpitaux[54].

Le transport fécal des gènes BLSE a été identifié comme étant le principal réservoir dans l'environnement, mais la source originale de cette colonisation n'a pas été clairement identifiée. Les espèces bactériennes porteuses de gènes BLSE étant des habitants normaux du tractus gastro-intestinal, les aliments en sont une source potentielle. La présence de gènes BLSE a été clairement documentée chez les animaux destinés à l'alimentation, notamment les poulets[55]. Les gènes des BLSE sont situés sur des plasmides qui peuvent être facilement transférés entre et au sein des espèces bactériennes. Certains gènes BLSE sont des dérivés mutants de β -lactamases plasmidiques établies (par exemple, blaTEM/SHV), et d'autres sont mobilisés à partir de bactéries environnementales (par exemple, blaCTX-M).

3.9.5 Fluoroquinolones

3.9.5.1 Généralités sur les fluoroquinolones

En 1962, l'acide nalidixique, première quinolone cliniquement utile, a été découvert par Leshner et al.[56]. En 1980, un analogue de l'acide nalidixique, l'énoxacine, a été dérivé avec

un spectre d'activité accru contre les bactéries à Gram-négatives ou à Gram-positives. En 1986, une autre fluoroquinolone, la ciprofloxacine, a été mise sur le marché en raison de ses propriétés pharmacocinétiques et de sa puissante activité contre divers agents pathogènes[57]. Les fluoroquinolones sont une classe d'agents antimicrobiens à large spectre, c'est-à-dire qu'elles sont très actives contre les organismes aérobies à Gram positif et à Gram négatif. Les organismes à Gram positif comprennent les *staphylocoques* producteurs de pénicillinase et de non-pénicillinase, *Streptococcus pneumoniae*. Les Gram-négatifs comprennent *Neisseria spp* et la plupart des espèces importantes d'Enterobacteriaceae.

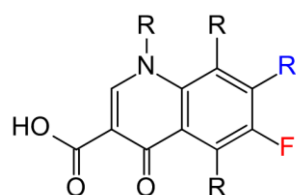


Figure 7 : structure générale des Fluoroquinolones.

Tableau V : classifications des fluoroquinolones selon leur spectre d'activité[57].

Origine	Nom du Médicaments	Schéma posologique	Spectrum activity	Usages
Première génération	Acide Nalidixique, Cinoxacine	0.5–1 g TDS à 500 mg BD oral	Gram-négatif excepté <i>Pseudomonas</i>	Infections urinaires non compliquées.
Deuxième génération	Norfloxacine Lomefloxacine Enoxacine Ofloxacine Ciprofloxacine	400 mg à 750 mg BD oral	Gram-négatif et espèces <i>Pseudomonas</i> , certains Gram-positif comme <i>Staphylococcus aureus</i> excepté <i>Streptococcus pneumoniae</i>	Infections urinaires simples et compliquées, pyélonéphrite, MST, prostatite, infections de la peau et des tissus mous.
Troisième génération	Levofloxacine Sparfloxacine Gatifloxacine Moxifloxacine	200mg à 500 mg OD oral	Gram négatif et Gram positif, ainsi que <i>Streptococcus pneumoniae</i> sensible à la pénicilline et résistant à la pénicilline,	Exacerbations aiguës de la bronchite chronique, pneumonie communautaire

Quatrième génération	Trovafloxacin	100–200 mg OD oral	Gram négatif et <i>Streptococcus pneumoniae</i> à Gram positif, sensible à la pénicilline et résistant à la pénicilline,	Identique aux agents de première, deuxième et troisième génération (à l'exception des infections urinaires compliquées et de la pyélonéphrite) plus les infections intra-abdominales.
-----------------------------	---------------	-----------------------	--	---

3.9.5.2 Mécanisme d'action des fluoroquinolones

Les fluoroquinolones montrent leur action en inhibant la réplication et la transcription de l'ADN bactérien qui est responsable du bon fonctionnement de la cellule. Au cours de la réplication et de la transcription de l'ADN, l'ADN double brin va se dérouler en une structure simple brin par des enzymes appelées ADN gyrase ou ADN topoisomérase. L'ADN gyrase est une enzyme essentielle de la topoisomérase II, hydrolysant l'adénosine triphosphate, qui empêche le détachement de la gyrase de l'ADN. Elle est constituée de deux sous-unités A (gyrA) et de deux sous-unités B (gyrB). L'ADN gyrase établit des torsions super hélicoïdales négatives dans l'ADN bactérien[58].

Les quinolones et les fluoroquinolones inhibent cette enzyme en se liant à la sous-unité A de l'enzyme, ce qui empêche les bactéries de se répliquer ou même de synthétiser des protéines. Il existe un sillon de liaison à l'ADN entre les sous-unités A et B, de sorte que la liaison des fluoroquinolones à ce sillon peut modifier la conformation de la molécule d'ADN gyrase. Ensuite, l'ADN devient lui-même un autre site de liaison, de sorte que les fluoroquinolones se lient à la fois à l'ADN et à l'ADN gyrase. Chez de nombreuses bactéries, l'ADN gyrase constitue le principal site d'action des fluoroquinolones, y compris chez *E. coli*[59].

3.9.5.3 Mécanisme de résistance

La résistance aux fluoroquinolones se produit principalement par deux mécanismes qui sont des mutations dans les deux enzymes cibles, l'ADN gyrase chez les bactéries à Gram-négatives et la topoisomérase IV chez les bactéries à Gram-positives. La deuxième façon de réduire l'accumulation des fluoroquinolones est de recourir à un système d'efflux. La résistance est due à une augmentation de l'expression d'un gène chromosomique conduisant à un efflux accru des fluoroquinolones[57].

3.9.6 Macrolides

3.9.6.1 Généralités sur les macrolides

Les macrolides sont des antibiotiques bactériostatiques ayant un large spectre d'activité contre de nombreuses bactéries à Gram-positives. Ils sont principalement utilisés comme alternative aux β -lactamines, notamment en ambulatoire. Cependant, certaines indications primaires demeurent pour les macrolides, telles que la diphtérie, les infections pathogènes atypiques et intracellulaires telles que les *Chlamydia* et les *Legionella spp.*

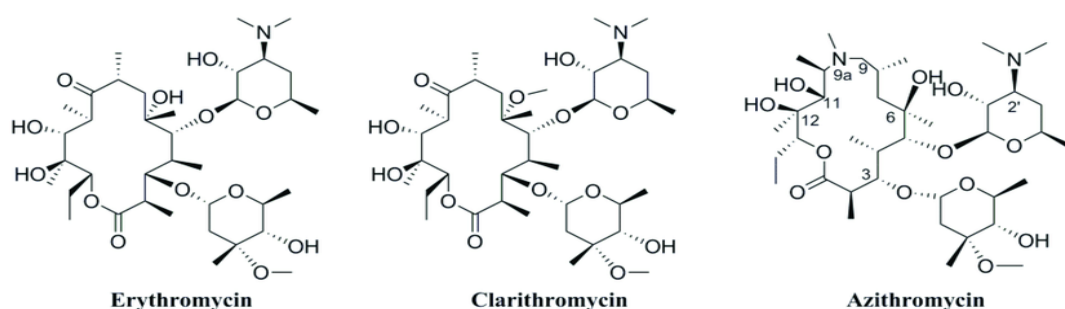


Figure 8 : structures principales des antibiotiques de la classe des Macrolides

3.9.6.2 Mécanisme d'Action des macrolides

Le mécanisme d'action des macrolides repose sur leur capacité à se lier à la sous-unité ribosomale 50S des bactéries, ce qui entraîne l'arrêt de la synthèse des protéines bactériennes. Une fois lié, le médicament empêche la traduction de l'ARNm, en particulier la chaîne peptidique en croissance, en empêchant l'ajout de l'acide aminé suivant par l'ARNt. Étant donné que la structure ribosomale bactérienne est hautement conservée dans la plupart, sinon la totalité, des espèces bactériennes, elle est considérée comme étant à large spectre[60]. Les macrolides sont considérés comme étant bactériostatiques, car ils ne font qu'inhiber la synthèse des protéines, bien qu'à des doses élevées, ils puissent être bactéricides.

3.9.6.3 Mécanisme de résistance

Le mécanisme est basé sur l'arrêt programmé de la traduction, réduit le coût de la résistance en permettant l'activation des gènes correspondants uniquement lorsque les cellules sont sous la menace d'un antibiotique. L'un des plus importants mécanismes de résistance aux antibiotiques macrolides est la modification d'un résidu adénine de l'ARNr 23S (A2058 chez *E. coli*). La méthylation de ce nucléotide, catalysée par les méthyltransférases de la résistance Ery (Erm), empêche la fixation de l'antibiotique[60]. Cependant, la résistance conférée par la méthylation de l'A2058 a un coût : elle affecte la traduction de certaines protéines, déséquilibre le protéome cellulaire et entraîne une diminution de l'aptitude cellulaire.

Les modifications des sites de liaison au ribosome, des mutations au niveau du site de fixation des aminoglycosides peuvent interférer avec la liaison ribosomique. La résistance à la streptomycine peut se produire par ce mécanisme puisque cet agent se lie à un seul site sur la sous-unité 30S du ribosome. La résistance aux autres aminoglycosides par ce mécanisme est rare car ils se lient à des sites multiples sur les deux sous-unités ribosomiques et une résistance de haut niveau ne peut être sélectionnée par une seule étape[61].

La modification enzymatique est le plus courant de résistance aux aminoglycosides. Plus de 50 enzymes différentes ont été identifiées. La modification enzymatique entraîne une résistance de haut niveau. Les gènes codant pour les enzymes de modification des aminoglycosides se trouvent généralement sur des plasmides et des transposons. La plupart des résistances à médiation enzymatique chez les bacilles à Gram-négatifs sont dues à des gènes multiples[61].

3.9.8 Polymyxines

3.9.8.1 Généralités sur les polymyxines

Les polymyxines sont des produits de fermentation de la bactérie *Bacillus polymyxa* et leur activité antimicrobienne a été reconnue pour la première fois dans les années 1940. Parmi les cinq polymyxines initialement découvertes (polymyxines A-E), seules la polymyxine B et la polymyxine E (colistine) ont été utilisées en clinique, car elles se sont avérées les moins néphrotoxiques[62]. Cependant, lorsque de nouveaux agents antibactériens à Gram négatif, perçus comme moins toxiques, ont été mis sur le marché, les polymyxines ont perdu la faveur des cliniciens. Malheureusement, avec l'émergence de bactéries à Gram-négatives résistantes à presque toutes les autres classes d'agents antimicrobiens, les polymyxines sont de plus en plus utilisées comme agents de dernier recours.

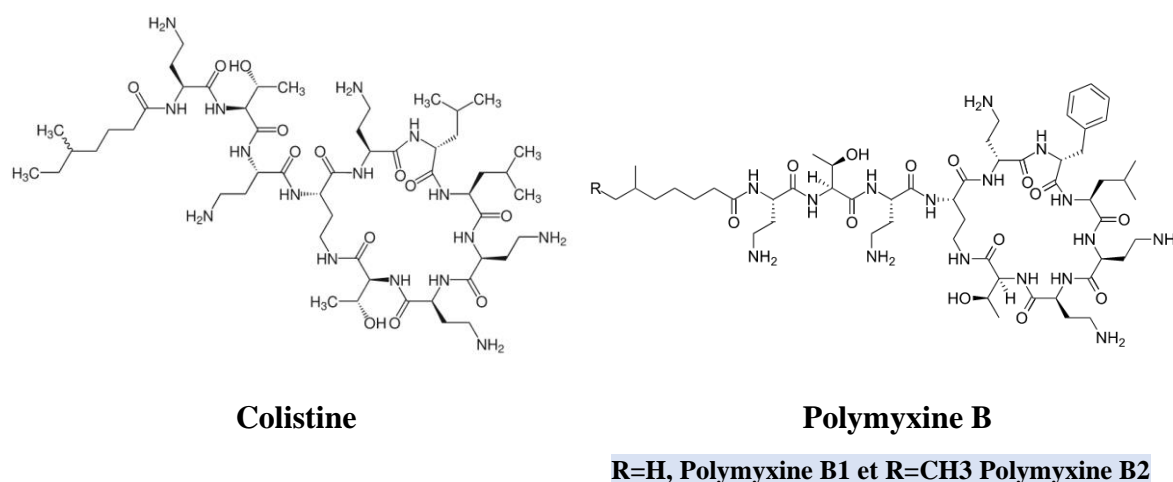


Figure 10 : structures principales des antibiotiques de la classe des Polymyxines.

3.9.8.2 Mécanisme d'action des polymyxines

Les polymyxines sont des molécules amphipathiques tensioactives contenant des fragments lipophobes et lipophiles. Le ou les mécanismes exacts par lesquels les polymyxines entraînent la mort des cellules bactériennes ne sont pas clairs. Le mécanisme le plus fréquemment décrit est le déplacement compétitif des cations divalents (Mg^{2+} et Ca^{2+}) à partir des groupes phosphate des lipides membranaires, ce qui entraîne la rupture de la membrane cellulaire externe et cytoplasmique, la fuite du contenu intracellulaire et la mort bactérienne. Ceci est mis en évidence par des études au microscope électronique démontrant que la membrane cytoplasmique bactérienne est partiellement endommagée lors de l'exposition à la polymyxine et que des composants de la membrane cytoplasmique sont libérés sous forme à travers les fissures. En se liant au composant lipide A du lipopolysaccharide (LPS, ou endotoxine) de la paroi cellulaire bactérienne, les polymyxines peuvent également interférer avec la fonction biologique du LPS. D'autres résultats suggèrent que les polymyxines exercent leur effet par la production de radicaux hydroxyles, en plus ou au lieu de la perturbation des membranes cellulaires bactériennes. Indépendamment du mécanisme le plus important, les polymyxines se sont révélées rapidement bactéricides et ont démontré un effet post antibiotique (EAP) significatif contre *Pseudomonas aeruginosa*, avec une absence d'EAP ou un EAP modeste contre *Acinetobacter baumannii* et *Klebsiella pneumoniae*.

3.9.8.3 Mécanisme de résistance

Au cours de ces dernières années, des isolats cliniques résistants à la colistine sont apparus. Cette résistance à la colistine se produit par deux mécanismes, dont l'hydrolyse médiée par le plasmide et les mutations chromosomiques. En outre, des études récentes ont fourni un mécanisme unique pour la résistance des bactéries à la colistine par la présence des gènes *mcr-1-mcr-4*, qui a été introduit comme membre de la famille des phosphor-éthanolamine transférases et catalyse le transfert du lipide A dans le LPS bactérien. Récemment, le gène *MCR-1* a été détecté dans au moins cinq espèces d'*Enterobacteriaceae* : *E. coli*, *Enterobacter spp.*, *Salmonella spp.*, *K. pneumoniae* et *K. oxytoca*. La plupart des bactéries productrices de *NDM-1* sont sensibles à la colistine et sont résistantes à la plupart des antibiotiques. Les espèces *Proteus*, *Morganella* et *Providencia* sont intrinsèquement résistantes à la colistine. Certaines souches de bactéries productrices de *NDM-1* sont résistantes à presque tous les antibiotiques, y compris la colistine, et il n'existe actuellement aucune thérapie de choix pour son traitement[63].

La transmission par plasmide a facilité la propagation des bactéries résistantes. En outre, la résistance à la colistine par le biais d'une mutation chromosomique dans l'un des trois gènes impliqués dans la biosynthèse des composants de la paroi cellulaire LipA, LpxA, LpxC et LpxD ou par le biais d'éléments extra-chromosomiques (gènes *mcr* à médiation plasmidique) a récemment été signalée chez certaines espèces dans le monde. Les souches MDR et ultrarésistantes sont devenues insensibles aux antibiotiques de dernière ligne.

3.9.9 Tétracyclines

3.9.9.1 Généralités sur les tétracyclines

Découverts dans les années 1940, les tétracyclines ont présenté une activité contre un large éventail de micro-organismes, notamment les bactéries à Gram-positives et à Gram-négatives, les chlamydiae, les mycoplasmes, les rickettsies et les parasites protozoaires. Ce sont des antibiotiques peu coûteux, qui ont été largement utilisés dans la prophylaxie et la thérapie des infections humaines et animales, ainsi qu'à des niveaux sub-thérapeutiques dans les aliments pour animaux comme facteurs de croissance.

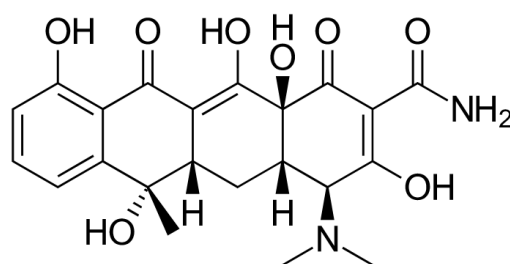


Figure 11 : structures de la Tétracycline

3.9.9.2 Mécanisme d'action des tétracyclines

La synthèse des protéines est un besoin essentiel de toute cellule. Elle implique l'utilisation de ribosomes, dont le rôle est de traduire un code d'ARNm en protéines fonctionnelles. Chez les eucaryotes, cette opération s'effectue sur des ribosomes dotés des sous-unités 40S et 60S. Chez les procaryotes, comme les bactéries, la synthèse des protéines se fait à l'aide de ribosomes dotés des sous-unités 30S et 50S. À ces endroits, l'ARN de transfert (ARNt) du ribosome, qui est chargé d'un acide aminé, se lie à la matrice d'ARNm. La liaison ultérieure de chaque ARNt chargé d'un acide aminé contribue à la formation et à l'élongation des protéines cellulaires. Les tétracyclines inhibent spécifiquement la sous-unité ribosomale 30S, empêchant la liaison de l'aminocyl-ARNt au site accepteur du complexe ARNm-ribosome[64]. Lorsque ce processus s'interrompt, une cellule ne peut plus assurer son bon fonctionnement et sera incapable de croître ou de se répliquer. Ce type d'altération par les tétracyclines les rend "bactériostatiques".

3.9.9.3 Mécanisme de résistance

La première bactérie résistante à la tétracycline, *Shigella dysenteriae*, a été isolée en 1953. La résistance à la tétracycline se manifeste maintenant dans un nombre croissant de bactéries pathogènes, opportunistes et commensales. La présence d'agents pathogènes résistants à la tétracycline limite l'utilisation de ces agents dans le traitement des maladies. La résistance aux tétracyclines est souvent due à l'acquisition de nouveaux gènes, qui codent pour un efflux des tétracyclines dépendant de l'énergie ou pour une protéine qui protège les ribosomes bactériens de l'action des tétracyclines[65].

Les gènes résistants aux tétracyclines sont souvent codés sur des plasmides ou des éléments transférables comme les transposons. Il existe deux mécanismes de résistance bien documentés, qui comprennent l'altération des protéines de protection des ribosomes ou des pompes d'efflux. Le premier mécanisme permet aux ribosomes de poursuivre la synthèse des protéines indépendamment des niveaux intracellulaires élevés du médicament. Le second mécanisme consiste en divers sous-types de pompes transmembranaires qui expulsent les solutés, en l'occurrence les antimicrobiens, hors de la cellule pour empêcher la mort cellulaire. Il existe une documentation sur un troisième mécanisme de résistance, moins étudié, qui est celui de la modification de la tétracycline. Tous ces mécanismes réduisent l'efficacité des tétracyclines, appelant à une diligence accrue lorsque les cliniciens prescrivent ces médicaments[64].

3.9.10 Sulfonamides

3.9.10.1 Généralités sur les sulfonamides

Le sulfonamide a été noté pour la première fois comme un antibactérien dans les années 1900 par Gerhard Domagk, lauréat du prix Nobel en 1939. Dans sa tentative de sauver sa fille d'une infection mortelle à streptocoques, il a observé que le prontosil, un colorant sulfonamide, était capable de retenir sélectivement les cellules bactériennes infectieuses[66].

Les sulfamides sont des agents antimicrobiens à large spectre qui inhibent la croissance des bactéries à Gram-positives et à Gram-négatives, des actinomycètes, des chlamydiae et de certains protozoaires. La résistance aux sulfamides a augmenté chez beaucoup de ces organismes. Alors que la plupart des *cocci* et des *bacilles* à Gram positif sont encore sensibles aux sulfamides, les entérocoques sont résistants. Les bactéries à Gram négatif telles que *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella* et *Shigella* sont sensibles aux sulfamides.

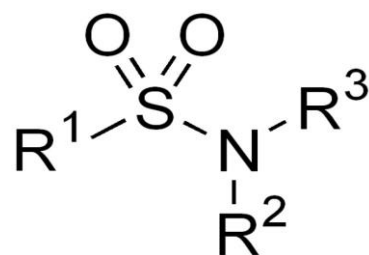


Figure 12 : structures générales des antibiotiques de la classe des sulfonamides.

3.9.10.2 Mécanisme d'action des sulfonamides

Les sulfamides sont des composés synthétiques simples apparentés à l'acide para-amino-benzoïque (PABA). De nombreuses bactéries absorbent le p-aminobenzoate, le transforment en dihydrofolate et en tétrahydrofolate, puis l'utilisent finalement pour synthétiser les purines nécessaires à la synthèse des acides nucléiques. En vertu de leur ressemblance chimique avec le p-aminobenzoate, les sulfamides inhibent la synthèse des folates en bloquant la conversion du PABA en acide dihydrofolique. Le triméthoprime et la pyriméthamine sont des dérivés de la diamino-pyrimidine qui inhibent la conversion de la dihydrofolate en tétrahydrofolate par les formes bactériennes de la dihydrofolate réductase.

Les sulfamides (bactériostatiques) et le triméthoprime (bactéricides) sont couramment utilisés en association lorsqu'ils sont bactéricides, car :

- Ils inhibent deux réactions différentes sur la même voie métabolique et présentent donc une activité synergique et ;
- L'association réduit la probabilité de développement d'une résistance. Les sulfamides ont été utilisés chez les volailles pour la prévention et le traitement de la coccidiose. Les sulfonamides potentialisés ont un spectre d'activité assez large.

3.9.10.3 Mécanisme de résistance

De nombreux organismes autrefois sensibles sont maintenant résistants aux sulfamides, souvent en raison de mutations en une seule étape de l'enzyme cible. La résistance aux sulfamides et au triméthoprime est très répandue et s'opère par divers mécanismes (mutation chromosomique de l'enzyme cible, acquisition par voie plasmidique de formes alternatives des enzymes cibles, réduction de la perméabilité de la membrane cellulaire et modification des moyens d'utilisation du PABA).

3.9.11 Autres antibiotiques : résistance au chloramphénicol, nitroimidazole et la fosfomycine

Le chloramphénicol est un agent antibactérien à large spectre d'activité contre les bactéries à Gram-positives et à Gram-négatives. Son mécanisme d'action consiste à inhiber la synthèse des protéines bactériennes en se liant à la sous-unité ribosomale 50S et en empêchant directement la formation de protéines bactériennes.

Les antibactériens de la classe des nitroimidazoles comprennent le métronidazole et le tinidazole. Ils agissent en perturbant l'ADN des bactéries sensibles et en inhibant la synthèse des protéines de la paroi cellulaire, ce qui entraîne la mort des cellules ; ils agissent comme des agents bactéricides et antimicrobiens.

La fosfomycine est un antibiotique bactéricide qui interfère avec la synthèse de la paroi cellulaire des bactéries à Gram-positives et à Gram-négatives en inhibant l'étape initiale impliquant la phosphoénolpyruvate synthétase.

4 METHODES ET MATERIEL

4.1 Cadre d'étude

Le Centre de Santé Communautaire (CSCCom) de Yirimadjo a servi de site de collecte des échantillons pour notre étude. Les examens de laboratoire ont été réalisés en partie au laboratoire de Bactériologie de l'Institut National de Santé Publique (INSP) et au laboratoire de microbiologie de l'AARAM est situé au Point G dans l'enceinte de la Faculté de Médecine et d'Odonto-Stomatologie.

Yirimadjo est situé à l'extrémité Est de la commune VI du district de Bamako, il est l'un des dix (10) quartiers de cette commune. Le CSCCom de Yirimadjo est situé à côté de l'échangeur de Yirimadjo sur la route nationale numéro 7 (RN7).

4.2 Type et période d'étude

Il s'agit d'une étude prospective et descriptive portant sur des échantillons de selles, en provenance du CSCCom de Yirimadjo et les germes incriminés dans des infections diarrhéiques ont été isolées au Laboratoire, de décembre 2021 à juin 2022.

4.3 Population d'étude

Notre étude s'est intéressée uniquement aux enfants âgés de 0 à 15 ans reçus en consultation pour des épisodes de diarrhées (au moins trois selles en 24 Heures selon la définition d'un cas de diarrhée) au CSCCom de Yirimadjo.

Critères d'inclusion

- Patient ayant été consulté au CSCCom de Yirimadjo,
- Patient de 0 à 15 ans avec symptomatologie diarrhéique,
- Patients ou parents ayant donné leur assentiment éclairé,

Critères de non inclusion

- Patients présentant des signes de dangers ou des urgences,
- Les prélèvements de selle non conformes,
- Patients ayant reconsidéré leur participation à l'étude,

4.4 Echantillonnage

L'étude a porté sur les échantillons de selles collectés au CSCCom de Yirimadjo, tout au long de la période d'étude chez les patients souffrant de diarrhée. Et la taille porte sur l'ensemble des échantillons collectés durant la période de l'étude.

4.5 Collecte des selles et données

L'inclusion des patients et le recueil des données ont été réalisés sous la supervision d'un médecin. Les échantillons de selles ont été collectés dans des pots stériles et conservés dans des glacières à 4°C et acheminés au laboratoire. Une fiche de renseignement pour recueillir les données comportant les informations complémentaires, de l'acheminement des prélèvements dans les conditions requises au laboratoire de l'AARAM chargé d'effectuer les analyses.

4.6 Variables mesurées

Variables socio-démographiques :

- Age des patients,
- Sexe des patients,
- Provenance des patients,
- Usage des antibiotiques,

Variables biologiques:

- Aspect des selles,
- Consistance des selles,
- Les entérobactéries isolées,
- Les résistances observées aux antibiotiques.

4.7 Méthode d'isolement des *Enterobacteriaceae* au laboratoire

Le diagnostic repose principalement sur la mise en évidence des caractères bactériologiques et biochimiques propres à chaque espèce bactérienne de la famille des entérobactéries d'intérêt médical.

4.7.1 Phase pré-analytique

L'étude porte sur l'ensemble des prélèvements destinés aux analyses bactériologiques en vue de déterminer les germes entériques responsables des maladies diarrhéiques. Les prélèvements de selles provenaient du CSCoM de Yirimadjo.

Certains prélèvements ont été réalisés par des ASC (Agent de Santé Communautaire) sur le terrain ainsi que les informations nécessaires sur les fiches de renseignements puis acheminer au niveau du CSCoM. Une fois collecté, un numéro d'identification est attribué à chaque échantillon.

4.7.2 Phase analytique

Il s'agit de la série d'examen au laboratoire permettant l'obtention d'un résultat pouvant confirmer la présence ou non de germes pathogènes après l'analyse de l'échantillon. Chaque échantillon est traité selon un schéma de diagnostic préétabli. Le schéma suivant correspond aux procédures adoptées pour le diagnostic bactériologique.

4.7.2.1 Examen macroscopique

Il s'agit d'évaluer la conformité de l'échantillon et de noter les caractères macroscopiques des prélèvements. Il consiste à déterminer l'aspect (couleur), présence de mucus, pus ou sang et la consistance des selles à l'œil nu.

4.7.2.2 Examen microscopique

Il s'agit d'une étude cytologique et bactériologique.

La partie cytologie est effectuée par une observation directe à l'état frais au microscope (au grossissement x10 et x40) des éléments comme (leucocytes, levures, hématies, les cellules épithéliales et des cellules monocristallines). Cet examen est important car la présence des leucocytes qui, en quantité supérieure à 5 par champ, est le signe d'une diarrhée à germe invasif, de même que la présence d'hématies.

L'étude bactériologique consiste en une observation au microscope après coloration de Gram ([Mode opératoire de la coloration de Gram cf. annexe N°1.](#)). Cet examen permet de donner une orientation aux étapes suivantes y compris le choix du milieu de culture. Il permet de différencier la flore bactérienne selon les couleurs et d'établir une proportion entre bactéries à Gram positif et à Gram négatif dans l'échantillon.

Pour les selles liquides, nous avons travaillé directement sur la selle.

Pour les selles moulées, il faudra faire une suspension à 10 % dans du soluté de NaCl.

La coloration de Gram, nous a permis d'apprécier la flore qui devrait être composée de Bacilles à Gram +/- et des Cocci à Gram - d'une manière générale.

4.7.2.3 Culture et Identification préliminaire

Selon la procédure spécifique à l'échantillon, il a été déterminé le type de milieu qui convient à chaque prélèvement. Les bactéries ont été isolées et ont été identifiées par la méthode de coproculture classique (*Salmonella*, *Campylobacter*, *Shigella*, *E. coli*, *Yersinia* et autres).

4.7.2.4 Matériels

Equipements du laboratoire type P2

1. Hotte à flux laminaire
2. Incubateur
3. Microscope (grossissement x10, x40 et x100)
4. Réfrigérateur (+2°C à +8°C)
5. Congélateur de -80°C
6. Applicateur de disques d'antibiotiques
7. Bac de coloration
8. Système API 20^E
9. Registres du laboratoire
10. Ordinateur avec le logiciel Word et Excel pour la saisie et le traitement des données
11. Poubelles diverses pour la gestion des déchets biomédicaux

Matériels spécifiques de bactériologie, consommables et divers

1. Blouse,
2. Gants,
3. Désinfectants,
4. Anses,
5. Pipettes pasteur,
6. Milieux de culture et bouillons d'enrichissement (Hektoen, Müller-Hinton, milieux SS, UriSelect, bouillon Sélénite, Bouillon cœur cervelle, Bouillon Rappa-port),
7. Réactifs (uréase, galeries classiques, API 20^E,
8. Glaceur + chaîne de froids,
9. Lames et lamelles,
10. Kit de coloration de Gram,
11. Classeur de lames,
12. Papiers hygiéniques et sachets plastics
13. Plaque chauffante,
14. Tubes secs pour l'échantillonnages,
15. Pot stérile de collecte des échantillons de selles,
16. Pot pour enfants,
17. Box (stockage des selles),
18. Questionnaires,

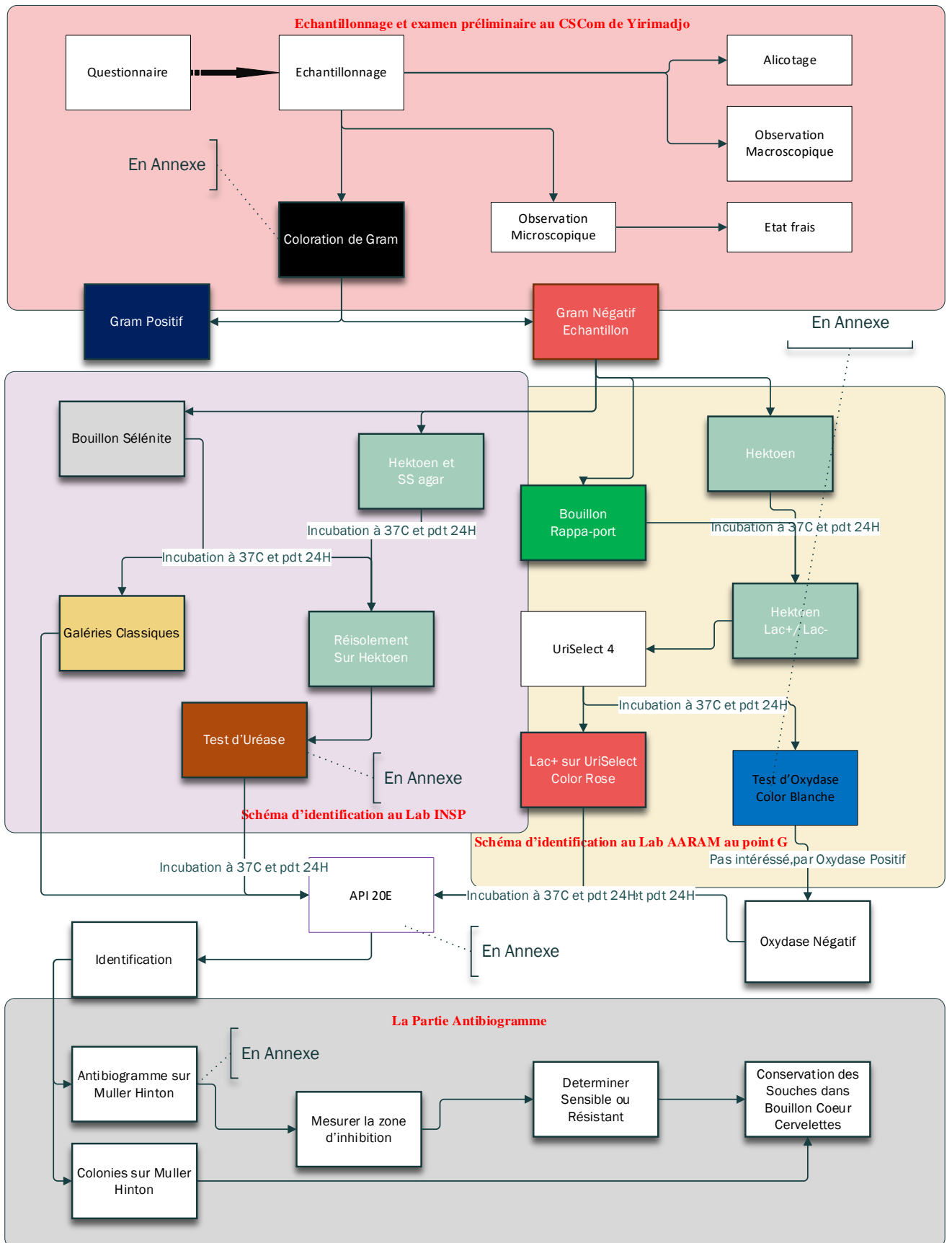


Figure 13: différentes étapes de la méthodologie selon les analyses effectuées.

4.7.2.5 Image d'identification et l'évaluation du niveau de résistance des souches isolées.

Les *Enterobacteriaceae* selon les espèces, peuvent croître sur les milieux de culture suivants :

- Gélose Hektoen :

La gélose Hektoen est un milieu différentiel modérément sélectif servant à l'isolement et à la culture de microorganismes entériques à Gram négatif, en particulier à l'isolement des espèces *Shigella* et *Salmonella* issues d'échantillons fécaux (flore mixte). Il repose sur l'utilisation de sels biliaires pour l'inhibition sélective et de deux systèmes indicateurs (système indicateur de pH) :

- Le bleu de bromothymol et la fuchsine acide comme indicateurs de la dissimilation des glucides (lactose, saccharose, salicine)
- Le fer ferrique comme indicateur de la formation d'hydrogène sulfureux (H_2S) à partir du thiosulfate.

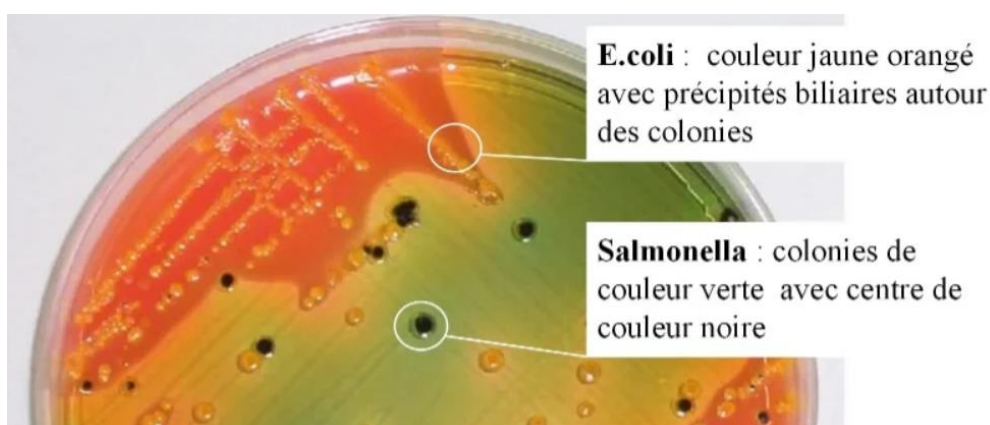


Figure 14 : *Salmonella* et *E. coli* sur gélose Hektoen[67].

- Gélose *Salmonella-Shigella*,

La gélose SS est un milieu sélectif et différentiel pour l'isolement des bacilles entériques pathogènes, en particulier *Salmonella* et *Shigella*. Son action est due à :

- L'utilisation de sel biliaire, le citrate de sodium et le vert brillant pour l'inhibition des bactéries à Gram-positives.
- La fermentation de lactose et la production de sulfure d'hydrogène (H_2S) pour la différenciation des organismes

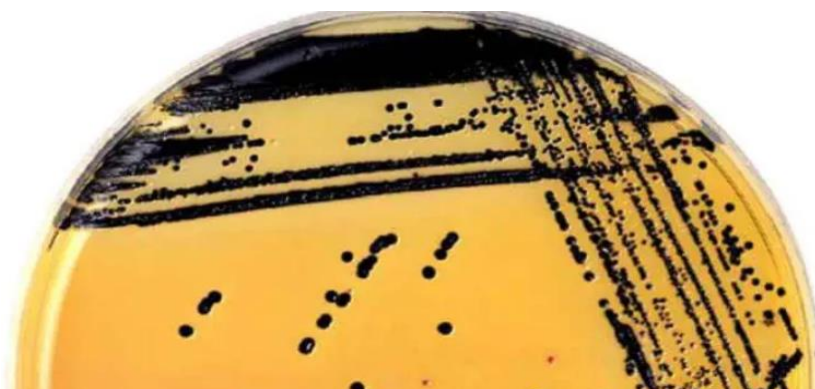


Figure 15 : gélose *Salmonella-Shigella*[68].

- Gélose UriSelect™ 4,

UriSelect™ 4 est un milieu chromogène non sélectif, pour l'isolement, la différenciation des germes pathogènes. Il est constitué d'une base nutritive riche associant différentes peptones, du tryptophane et un mélange de substrats chromogènes pour la détection des activités enzymatiques spécifiques permettant la différenciation de certaines espèces ou de certains groupes d'organismes, tout en limitant le nombre de tests de confirmation. La concentration élevée en agar évite l'envahissement de la gélose par les *Proteus*.

- Bouillon Sélénite (milieu d'enrichissement).
- Bouillon Rappa-port (enrichissement *Salmonella, Shigella*),
- Bouillon Cœur cervelle,

Les images du laboratoire :

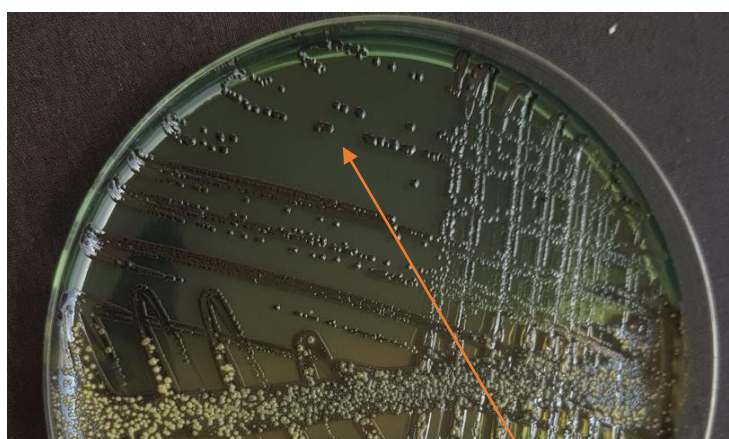


Figure 16 : colonies de *Salmonella spp.* sur Hektoen, lactose (-), image du laboratoire INSP

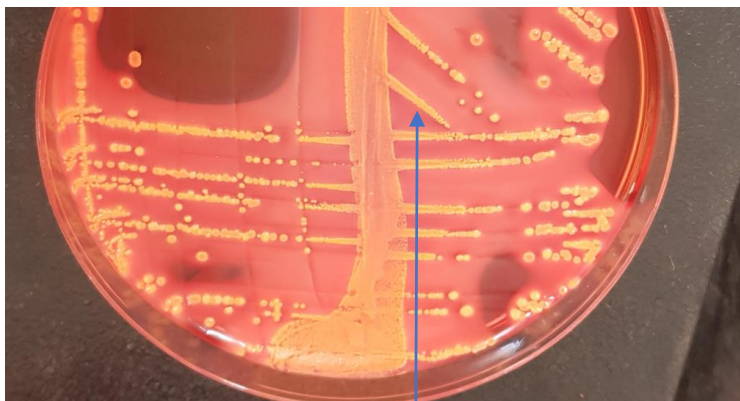


Figure 17 : colonies d'*E coli* sur Hektoen, lactose (+), image du laboratoire INSP



Figure 18 : colonies rose d'*E coli* sur UriSelect4™, image du laboratoire AARAM, Point G.

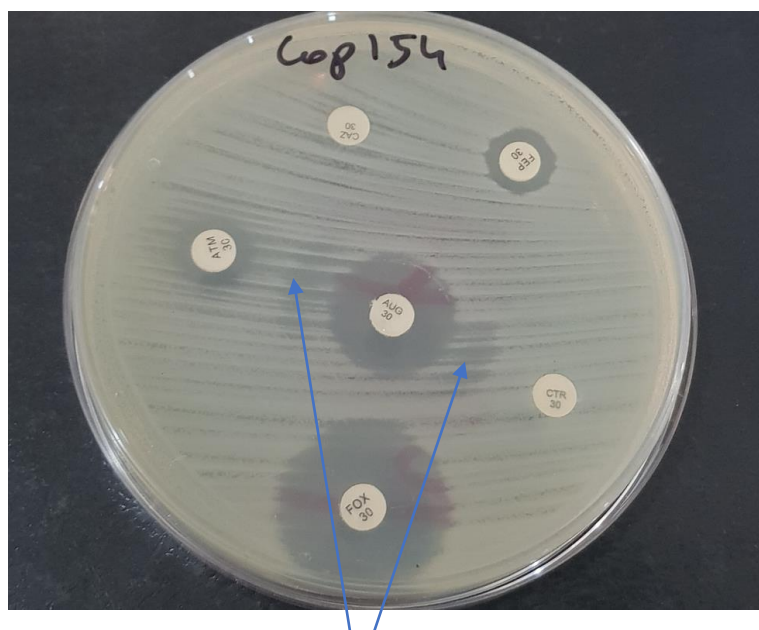


Figure 19 : antibiogramme sur milieu MH, BLSE (formation des bouchons de champagne), image du laboratoire INSP.

4.7.3 Tests d'identifications

- Galeries classiques (Annexe 2)

L'identification du genre et de l'espèce d'une souche bactérienne se poursuit par la recherche de caractères biochimiques et métabolique (glucidique et protidique), une galerie d'identification : une "galerie classique" est un ensemble de milieux de culture, pouvant se présenter en tubes (macro-galerie) tel que : Kligler-Hajna, Citrate de Simmons, Mannitol Mobilité.

- Test d'Oxydase (Annexe 3)

Le test de l'oxydase est un test de détection de l'enzyme cytochrome oxydase chez les bactéries à Gram négative qui produisent cette enzyme, telles que *Neisseria* ou *Pseudomonas*. Et les espèces comme *Escherichia coli* et *Salmonella spp* sont oxydase négative.

- Test API 20^E (Annexe 4)

API 20 E est un système d'identification standardisé pour les entérobactéries et autres bâtonnets à Gram-négatifs non fastidieux qui utilise 20 tests biochimiques miniaturisés et une base de données. La liste complète des organismes qu'il est possible d'identifier avec ce système est donnée dans le tableau d'identification à la fin de ce dossier.



Figure 20 : galerie API 20^E de *E coli* à partir de colonie pure sur Hektoen, image du laboratoire AARAM, Point G.



Figure 21 : galerie API 20^E de *Salmonella spp* à partir de colonie pure sur Hektoen, image du laboratoire INSP.

4.7.4 Tests de sensibilités aux antibiotiques

Après identification les différentes souches seront soumises au test de sensibilité aux antibiotiques par la méthode de diffusion en milieu gélosé de Muller Hinton, selon les recommandations 2020 du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) ; l'Antibiogramme Norme EUCAST (Annexe5), et la stratégie nationale de surveillance de la lutte contre la résistance antimicrobienne (RAM). Avec l'utilisation des antibiotiques traceurs qui nous permet de suivre l'évolution de la résistance aux différents familles et groupes d'antibiotiques.

Les procédures de l'antibiogrammes sont systématiquement accompagnées d'une nouvelle culture sur gélose en fonction du germe suspecté. L'intérêt de cette nouvelle culture est d'avoir à disposition des souches bactériennes jeunes dans le cas où la bactérie serait multirésistante (bactéries multi-résistantes, bêta-lactamase à spectre étendu résistants...) pour la conservation des « souches » ou si l'analyse devrait être reprise.

Tableau VI : liste des antibiotiques testés

Bactéries	Antibiotiques et charges du Disque en µg	Diamètre en (mm)
<i>Escherichia coli</i>	Ampicilline 2µg (AMP) ou Amoxicilline 20µg (AML)	>14
	Amoxicilline + Acide clavulanique 20/10µg (AUG/AMC)	>19
	Aztreonam 30µg (ATM)	>26
	Cefalotine 18µ (C1G ou KF)	
	Céfoxitine 30µg (C2G, ou (CXT, FOX)	>19
	Ceftriaxone 30µg ou Céfotaxime 30µg (C3G, ou (CRO, CTR)	>25
	Céfépime 30µg (C4G, ou (FEP)	>27
	Imipénème 10µg (IMP)	>22
	Gentamicine 10UI et Amikacine 18UI (GEN, GTN/AKN)	>17
	Cotrimoxazole 125/75µg (SXT)	>14
Ciprofloxacine 5µg (CPR)	>25	
<i>Salmonella spp.</i>	Ampicilline 2µg (AMP) ou Amoxicilline 20µg (AML)	
	Ceftriaxone 30µg (C3G)	
	Chloramphénicol 30µg (CHL)	>17
	Cotrimoxazole 125/75µg (SXT)	
	Acide Nalidixique 30µg (NAL)	
Ciprofloxacine 30µg (CPR)		

Test de synergie BLSE :

Le test de synergie est un test permettant de confirmer la présence de BLSE. On les détecte in vitro en plaçant entre deux céphalosporines un inhibiteur de bêta-lactamase (amoxicilline + acide clavulanique) sur la gélose de Müeller-Hinton. Après une nuit dans une étuve, le

résultat est positif si on assiste à une augmentation de la zone d'inhibition autour du disque contenant la ceftazidime, en direction du disque porteur d'acide clavulanique. En d'autres termes, c'est l'augmentation de la zone d'inhibition obtenue pour une céphalosporine de 3^{ème} génération en présence d'acide clavulanique, par rapport à la zone d'inhibition d'une céphalosporine seule, qui indique la présence de BLSE. On obtient donc une image caractéristique de synergie d'action en formant un **Bouchon de champagne**.

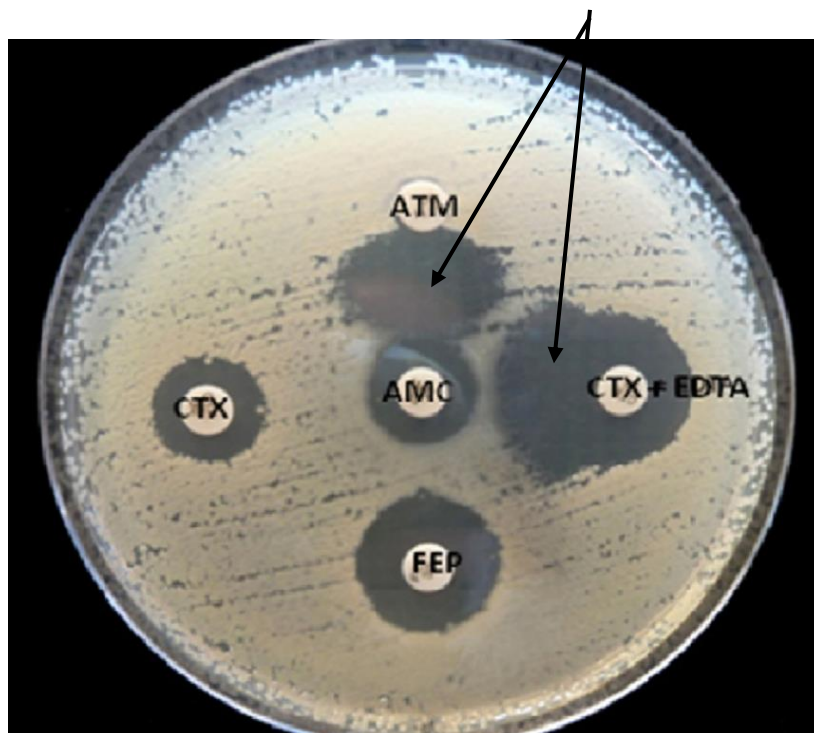


Figure 22 : test de synergie BLSE[69].

- Gélose MH,

La gélose Mueller Hinton est un milieu solide standardisé recommandé pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux agents antimicrobiens par la méthode de diffusion (méthode de Kirby-Bauer) ou de dilution en gélose.

Ces milieux de culture ont été incubés pendant 24h à 37°C. Après l'incubation, le bouillon troublé est ensemencé sur un milieu solide approprié.

4.7.5 Phase post-analytique

4.7.5.1 Validation biologique

Elle se fait en conformité avec l'ensemble des paramètres incluant les éléments cliniques apportés avec le questionnaire, le protocole et plan d'étude, le SOP ainsi que les références

standards. Elle est assurée par les Biologistes selon la précision (reproductibilité) et l'exactitude (Matériaux de référence ou échantillon de contrôle et récupération).

4.7.5.2 Rendu du résultat

Tous les renseignements pré-analytiques et analytiques sont recueillis dans les registres du laboratoire et ont été saisis sur une fiche « Excel 2019 ». Les résultats sont communiqués aux responsables locaux du CCom (les cliniciens) pour une meilleure prise en charge des malades.

4.7.5.3 Conservation des souches bactériennes

Après l'identification et la réalisation de l'antibiogramme, les souches ont été collectées dans des milieux de conservation comme les bouillons cœur cervelet avec glycérol à 99% avant d'être stockés à -80°C au sein du laboratoire de AARAM au point G.

4.7.5.4 Gestions des déchets

Dans un souci d'éviter tout risque de contamination les boîtes de Pétri utilisées datant de plus de trois jours sont vidées à chaque fin de journée de travail dans les sachets poubelles qui doivent être bien scotchés et déportés pour l'incinération.

4.7.5.5 Hygiène et sécurité

Avant et après les manipulations à la paillasse de bactériologie, nettoyer la paillasse avec de l'eau de javel ;

- Toutes les préparations sont faites dans des conditions stériles ;
- Porter systématiquement la blouse (uniquement au laboratoire) ;
- Toujours porter des gants, des chaussures fermées et si possible un masque de protection ;
- Eviter de toucher les portes, les appareils et les microscopes avec les gants ;
- Ne jamais manger ni boire lors des manipulations en laboratoire.

4.7.5.6 Saisies et analyse des données

Une base de données a été créée sur Excel au laboratoire de l'AARAM pour la saisie des données et qui ont été analysées avec le logiciel R. Le traitement de texte a été fait à l'aide du logiciel Word 2019.

4.8 Considérations éthiques

Le protocole de recherche a été approuvé par le comité d'éthique de l'USTTB du Mali sous le numéro **2021/207/ USTTB**. L'assentiment éclairé des parents et le consentement des enfants étaient demandés avant l'inclusion de l'enfant dans l'étude. Le formulaire d'assentiment est en annexe.

La participation à cette étude est presque sans risque pour le volontaire. Les risques sont minimes et se rapportent aux procédures habituelles de collecte de selles. L'application de bonnes pratiques cliniques et de laboratoire réduit au minimum les risques.

Ces bonnes pratiques incluent l'utilisation d'équipements stériles disponibles pour l'échantillonnage. Les noms des volontaires ne sont pas utilisés dans les rapports et les informations spécifiques obtenues ne sont pas partagées avec des tiers, à l'exception des investigateurs de l'étude. La confidentialité des participants est stricte et élargie pour couvrir les échantillons biologiques testés et les informations cliniques relatives aux participants.

5. RESULTATS

5.1 Résultats globaux

Au cours de notre étude d'évaluation de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques, sur un total de 308 échantillons analysés, 94 souches d'*Enterobacteriaceae* (85 *Escherichia coli* et 9 *Salmonella spp.*) ont été isolées aux laboratoires de bactériologiques de l'INSP et de l'AARAM du point G. Tous les prélèvements provenaient du CSCoM de Yirimadjo. L'âge des patients variaient du jour de naissance à 15 ans, avec une prédominance des enfants de moins de 2 ans.

5.2 Résultats descriptifs

5.2.1 Données socio-démographiques des patients.

Tableau VII : données socio-démographiques des patients inclus dans l'étude.

SEXE	PROPORTION % (NOMBRE)	
	Echantillons Totaux	Echantillons Positifs
Féminin	47,4 (146)	44,68 (42)
Masculin	52,6 (162)	55,32 (52)
Total	100 (308)	100 (94)
PROVENANCE		
Baguinéda	0,32 (1)	1,06 (1)
Moussabougou	1,3 (4)	2,14 (2)
Niamana	0,32 (1)	1,06 (1)
Sirakoro	0,32 (1)	1,06 (1)
Yirimadjo	97,74 (301)	94,68 (89)
Total	100 (308)	94

L'analyse de ce tableau montre que la majorité des patients provenaient de Yirimadjo, avec une prédominance masculine.

Tableau VIII : âge moyen des patients.

Age (en mois)	Echantillons Totaux	Echantillons Positifs
Deviation standard (s)	23,23	11,40
Variance (s ²)	539,65	129,99
Moyenne (x)	18,15	12,57
Median	10	9
Min	1	1
Max	180	84

Une distribution anormale a été observée en termes d'âge des patients, la moyenne d'âge était de 18,15 mois dans la population totale contre 12,57 mois dans la population d'étude.

5.2.2 Proportion des antibiotiques prescrits avant le prélèvement.

Tableau IX : prise d'antibiotique avant la consultation,

ANTIBIOTIQUES	PROPORTION % (NOMBRE)	
	Patients Totaux	Patients Positifs
OUI (NON IDENTIFIE)	1,27 (4)	1,03 (1)
AMOXICILLINE	3,16 (10)	4,12 (4)
CEFTRIAZONE	3,48 (11)	4,12 (4)
COTRIMOXAZOLE	0,95 (3)	1,03 (1)
ERYTHROMYCINE	0,95 (3)	1,03 (1)
METRONIDAZOLE	6,96 (22)	7,22 (7)
NON (PAS D'ANTIBIOTIQUE)	83,23 (263)	81,45 (79)

L'analyse de ce tableau montre que la majorité des patients n'ont pas pris d'antibiotiques avant la consultation.

5.2.3 Aspect macroscopique et microscopique des prélèvements.

Tableau X : aspect macroscopique des selles prélevées chez les enfants

SELLES	ASPECT	PROPORTION % (NOMBRE)	
		Echantillons Totaux	Echantillons Positifs
CONSISTANCE	Liquide	87,99 (271)	89,36 (84)
	Pâteuse ou Molle	12,01 (37)	10,64 (10)
	SANG		
	Oui	1,3 (4)	0 (0)
	Non	98,7 (304)	100 (94)
MUCUS			
	Oui	18,18 (56)	19,15 (18)
	Non	81,81 (252)	80,85 (76)

L'observation macroscopique a permis d'établir que la majorité des échantillons de selles avait une consistance liquide. Une faible proportion de sang et/ou de mucus était associée à la consistance de selles.

L'observation à l'état frais et la coloration de Gram indique une proportion assez élevée des bacilles à Gram négative par rapport aux autres éléments de la flore intestinale. Bien qu'on parle des variables qualitatives, nous avons estimés en proportion la composition de la flore.

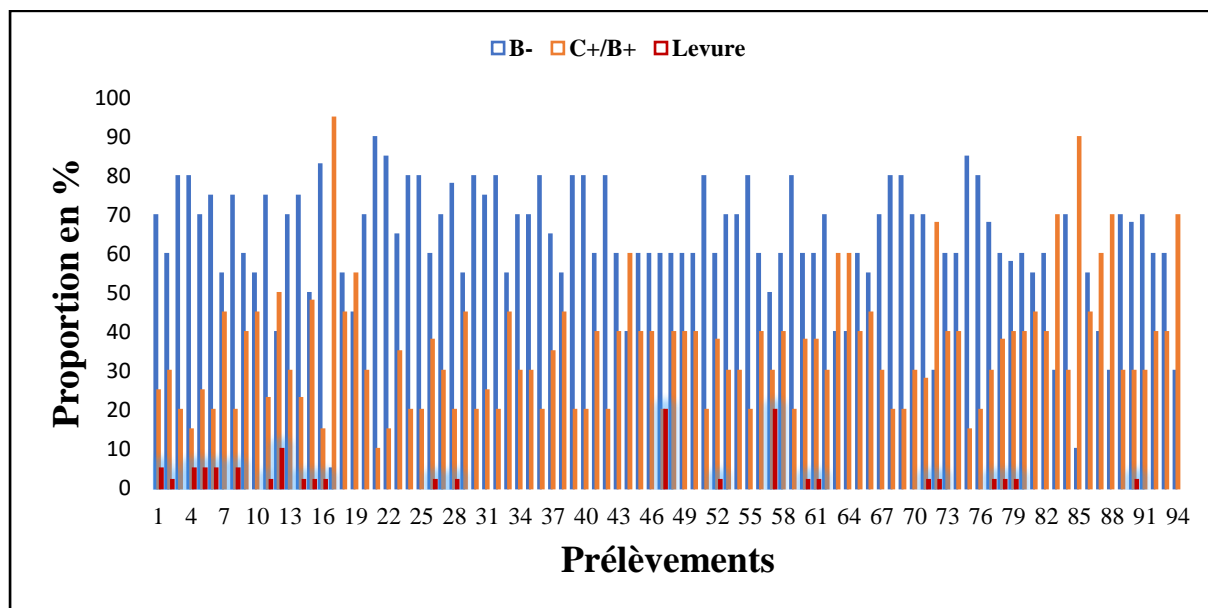


Figure 23 : proportion des germes dans la flore intestinale chez les patients avec les germes pathogènes.

5.2.4 Répartition des échantillons de selles et d'isolats selon la période du décembre 2021 au juin 2022

Distribution des germes isolés à la culture selon la période. On observe une croissance du nombre d'isolement par rapport aux prélèvements mensuels pour atteindre un pic en Avril.

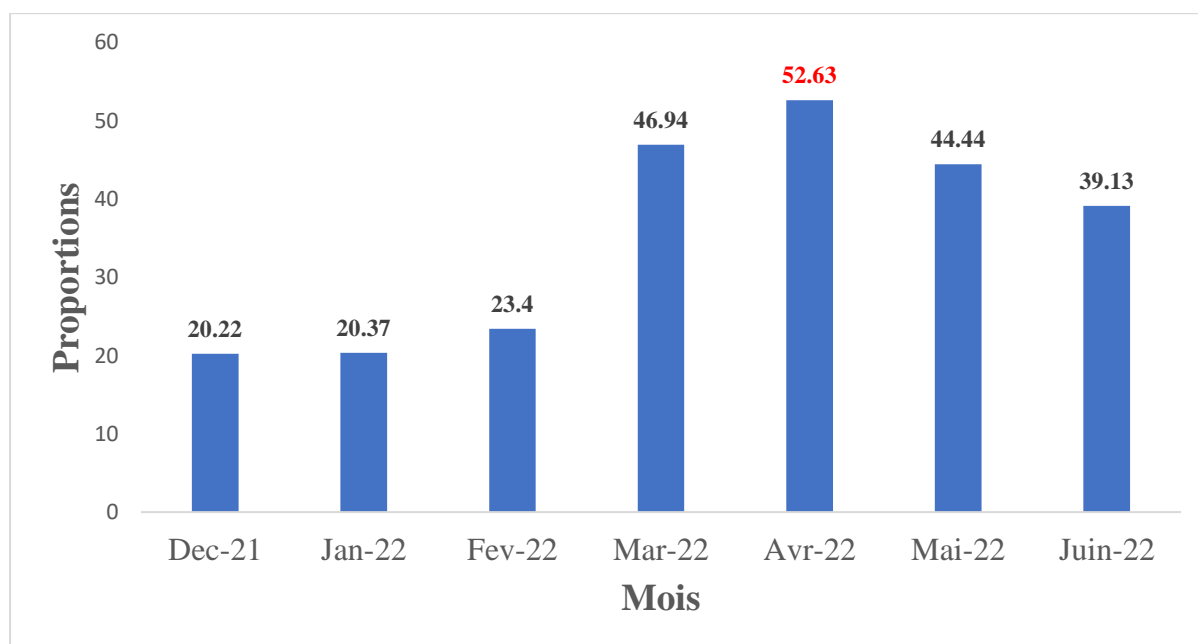


Figure 24 : répartition des échantillons de selles et isolats en fonction du mois ;

Une coproculture standard a été réalisée sur l'ensemble des échantillons. La recherche des entérobactéries a permis isolée les bactéries *Salmonella spp.* et *E. coli*. Au total 94 échantillons ressortent positifs soit (30,5%) avec une forte dominance de *E. coli*.

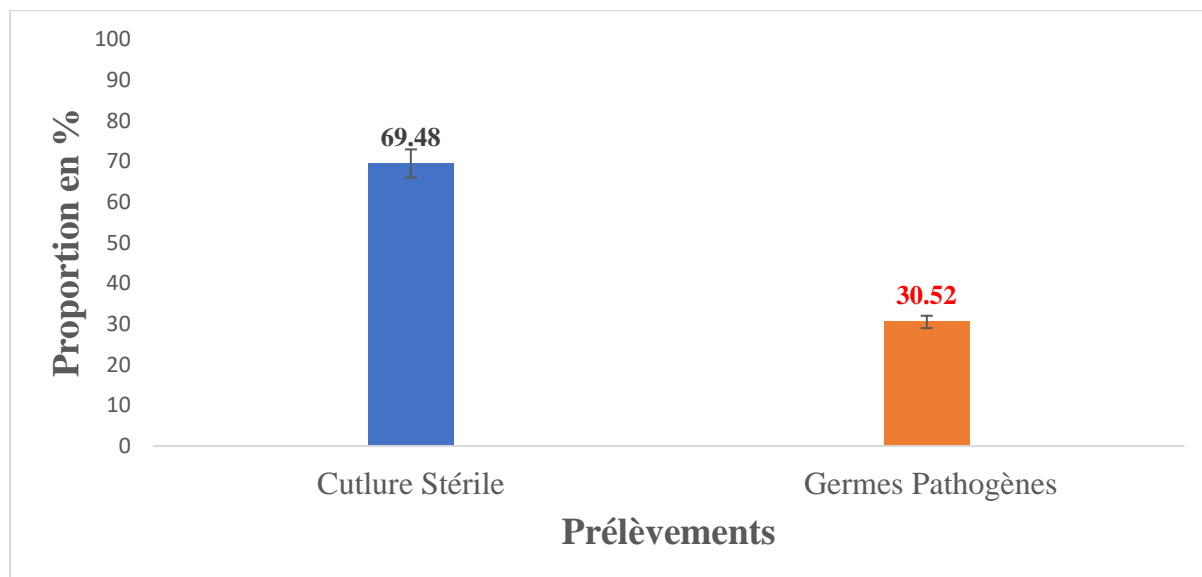


Figure 25 : répartition des échantillons de selles en fonction de la présence ou non des entérobactéries.

La proportion des entérobactéries isolées varie significativement en fonction du mois [de 23 à 8 entérobactéries par mois].

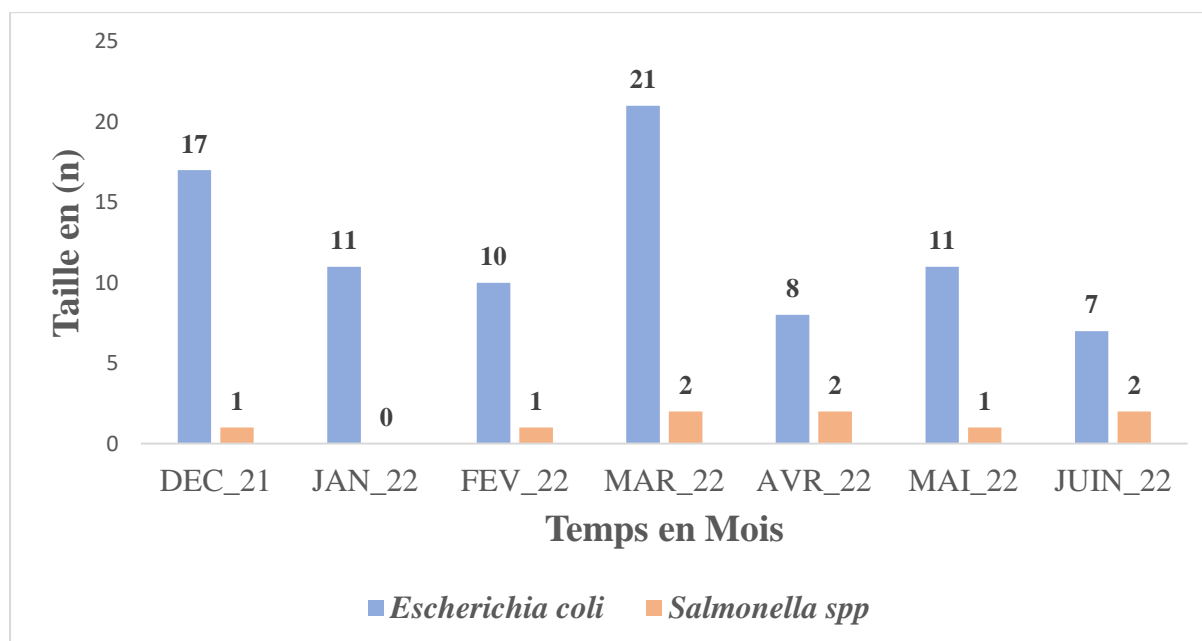


Figure 26 : distribution des germes isolés (*E. coli* et *Salmonella spp*) en fonction des mois.

5.2.5 Répartition des *Escherichia coli* et *Salmonella spp* isolés selon le genre

La majorité des isolats ont été isolés chez les enfants de sexe masculins.

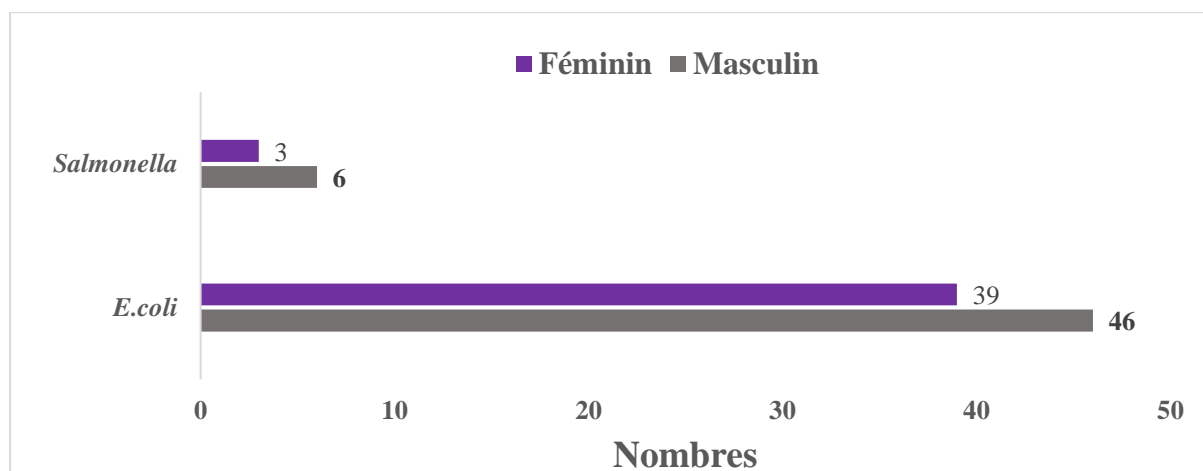


Figure 27 : répartition des germes isolés en fonction du sexe.

5.2.6 Répartition des *E. coli* et *Salmonella spp* isolats en fonction des tranches d'âge.

Tableau XI : répartition des germes isolées en fonction de tranche d'âge.

AGE (en année) (n=94)	<i>Escherichia coli</i> % (n)	<i>Salmonella spp</i> % (n)
De 0 à 2	94,12 (80)	77,78 (7)
De 2 à 5	5,88 (5)	11,11 (1)
De 5 à 10	0	11,11 (1)
De 10 à 15	0	0

L'analyse du tableau montre que la majorité des patients ont moins de 2 ans, environ 92,55% des échantillonnages totaux. L'ensemble des *E. coli* ont été isolées chez les enfants moins de trois ans.

5.2.7 Répartition des cas d'antibiothérapie selon les résultats de la culture

Tableau XII : répartition des patients selon la notion d'antibiothérapie avant le prélèvement en fonction de la présence ou non de germes pathogènes dans les cultures.

	Antibiothérapie		Total
	Oui	Non	
Culture positive	15	79	94
Culture Stérile	30	184	214
Total	45	263	308

L'analyse du tableau montre que la majorité des patients n'ont pas pris d'antibiotiques avant la consultation. Ainsi toutes les bactéries isolées des prélèvements de patients ayant pris d'antibiotiques avant la consultation sont multi résistantes avec les différents niveaux de résistance aux molécules testées.

Tableau XIII: niveau de résistance chez les patients ayant pris d'antibiotiques.

AMP	AMC	CTX	CRO	FEP	IMP	ATM	GEN	SXT	CIP
100%	86,7%	26,7%	73,3%	86,7%	13,3%	73,3%	26,7%	93,3%	66,7%

Ce tableau montre le niveau de résistance des bactéries aux antibiotiques chez les quinze (15) patients ayant pris d'antibiotiques.

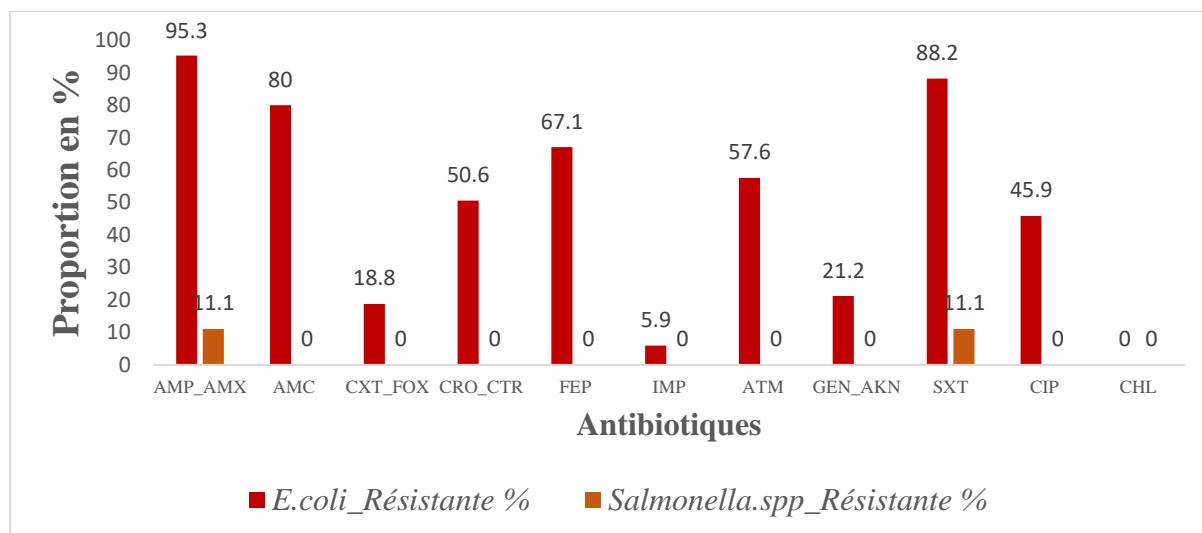
5.2.8 Résistance des *Enterobacteriaceae* aux différents antibiotiques

Tableau XIV : résistance des germes isolés aux familles antibiotiques testés.

Familles	Antibiotiques testées	<i>Enterobacteriaceae</i> isolés	
		<i>Escherichia coli</i> %(n)	<i>Salmonella spp.</i> %(n)
β-lactamines	AMP_AMX	95,3 (81)	11,1 (1)
	AMC	80 (68)	-
	CTX	18,8 (16)	-
	CRO	50,6 (43)	0
	FEP	67,1 (57)	-
	ATM	57,6 (49)	-
	IMP	5,9 (5)	-
Aminosides	GEN	21,2 (18)	-
Sulfonamides	SXT	88,2 (75)	11,1 (1)
Fluoroquinolones	CIP	45,9 (39)	0
Chloramphénicol	CHL	-	0

Ce tableau montre une variation importante du niveau de résistance selon les familles d'antibiotiques utilisés. Aucune résistance n'a été observée avec le chloramphénicol, bien qu'il n'ait été testé que chez l'espèce *Salmonella spp.*

On observe un niveau de résistance croissante dans la plupart des familles d'antibiotiques : Beta-lactamines, les sulfonamides, et les monobactames avec l'*E. coli*. Aucune résistance des ciprofloxacine et chloramphénicol n'ont été observées avec sur les *Salmonella spp.*



AMP_AMX : Ampicilline_Amoxicilline, AMC : Amoxicilline + Acide clavulanique, CXT_FOX : Céfoxitine, CRO_CTR : Ceftriaxone_Céfotaxime, FEP : Céfépime, IMP : Imipénème, ATM : Aztreonam, GEN_AKN : Gentamicine_Amikacine, SXT : Cotrimoxazole, CIP : Ciprofloxacine, CHL : Chloramphénicol.

Figure 28 : répartition du niveau de résistances bactériennes aux différents antibiotiques.

Le Chloramphénicol a été testé uniquement sur l'espèce *Salmonella*,

5.2.9 Phénotypes de résistance des *Enterobacteriaceae* aux antibiotiques

Selon le degré de résistance, on constate qu'une large proportion des *E. coli* sont résistants entre 2 à 7 classes d'antibiotiques. Il n'y a pas de *Salmonella spp* multi-résistante.

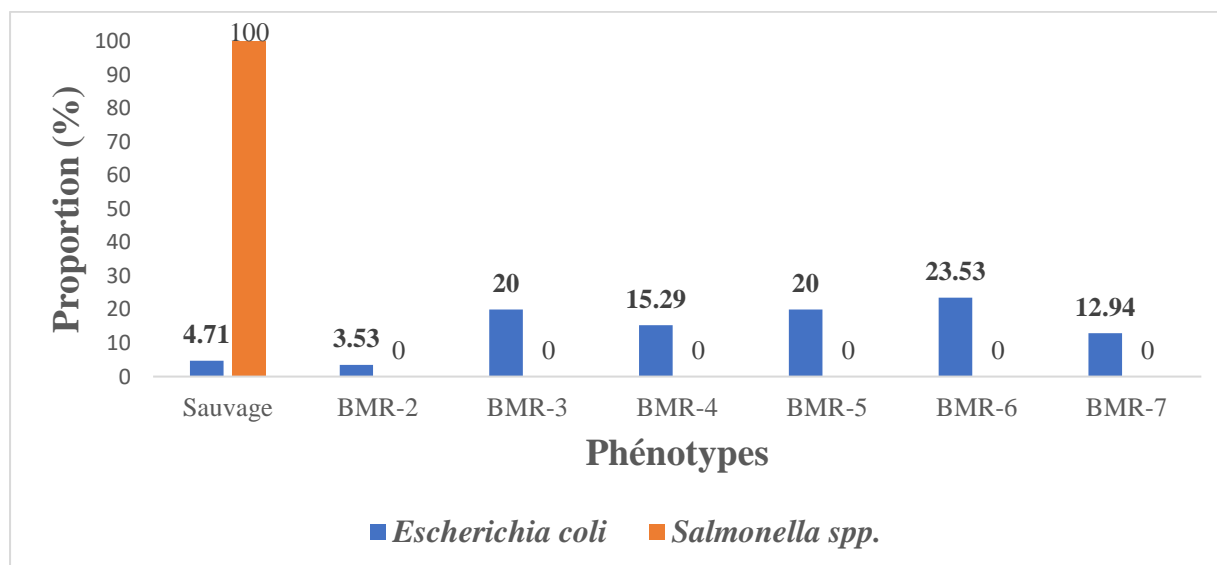


Figure 29 : différents phénotypes des classes de bactéries multi-résistantes.

Cette figure nous indique que trois (3) phénotypes de résistances ont été identifiés : bactéries multi-résistante 90,29%, Bêta-lactamase à Spectre Elargi 49,41% et les Entérobactéries productrices de Carbapénèmes 5,89% toutes des *Escherichia coli* Isolés.

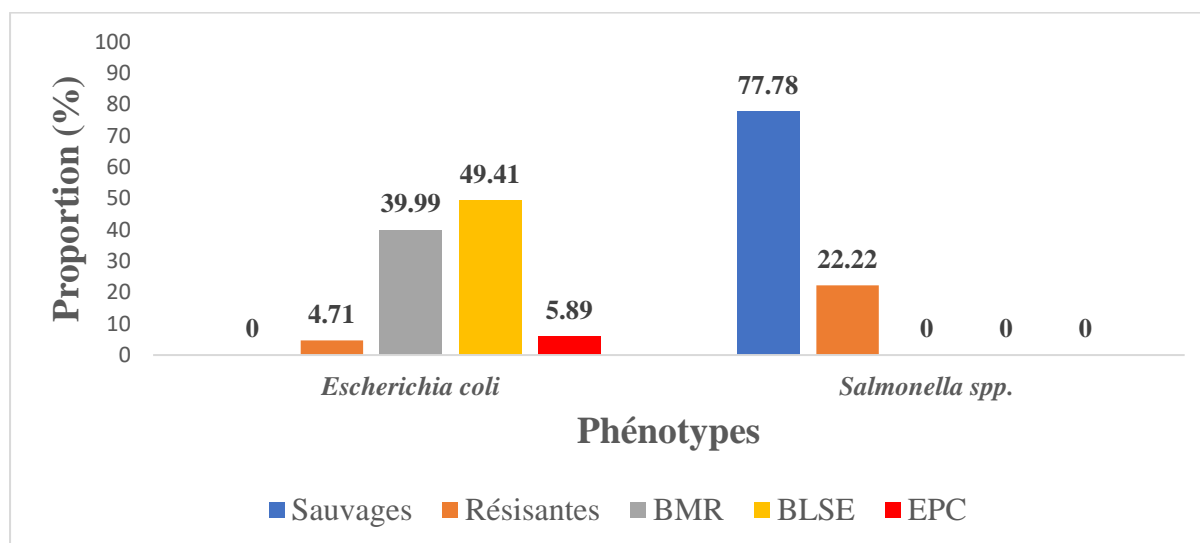


Figure 30 : répartition des germes isolés en fonction des phénotypes de résistances.

5.2.10 Phénotypes des souches isolés en fonction des tranches d'âge

Tableau XV : phénotypes de résistances des germes isolés en fonction des tranches d'âge.

AGE (en année)	Proportion % (n)	BLSE % (n)	BMR % (n)	EPC % (n)
0 à 2	92,5 (87)	92,86 (39)	89,41 (76)	100 (5)
2 à 5	6,4 (6)	7,14 (3)	6,17 (5)	0
5 à 10	1,1 (1)	0	0	0
10 à 15	0	0	0	0
Total	100 (94)	100 (42)	100 (81)	100 (5)

Ce tableau nous montre les proportions des différents profils de résistances des bactéries multi-résistantes selon les tranches d'âges.

6. DISCUSSION

Le Centre de Santé Communautaire de Yirimadjo de décembre 2021 à juin 2022, a servi de lieu pour l'enrôlement et la collecte des échantillons de selles. Le Laboratoire de bactériologie de l'INSP et l'unité de recherche sur la résistance aux antimicrobiens de l'AARAM au point G ont servi de lieu pour l'identification bactérienne et la réalisation des tests de sensibilité aux antibiotiques. Cette étude a permis d'enrôler au total 308 enfants âgés de 0 à 15 ans, chez qui des prélèvements de selles ont été réalisés sur la base des critères bien définies selon la symptomatologie de la diarrhée avec ou sans autres symptômes associés. Après ensemencement, à la recherche des entérobactéries sur des milieux de culture spécifiques, nous avons obtenu des germes chez 94 enfants soit 30,19% de l'ensemble de la population enrôlée.

Cependant certaines difficultés associées aux prélèvements des selles ont été observées comme le consentement des accompagnants ainsi que les renseignements dans certains cas (tel que l'âge exact des patients et l'indication d'un usage antibiotique avant la consultation) ont été un véritable défi. La collecte d'échantillon était compliquée souvent dans la mesure où l'enfant n'avait pas envie de faire de selles ainsi que certains patients souffrant d'une déshydratation avancée. A cela s'ajoute l'usage dans certain cas des médicaments traditionnels dont l'effet thérapeutiques n'ont pas été évalués pouvant contenir une activité antimicrobienne.

Sur le plan socio-démographique, nous avons rapporté dans notre étude un sexe ratio de 1,11 en faveur du sexe masculin. Cette valeur est proche de celle rapportée par Mbuthia en 2019 au Kenya portant sur les corrélats diarrhéiques associés aux infections bactériennes entériques chez les enfants de moins de cinq ans dans le comté de Murang'a qui a rapporté un sexe ratio de 0,9[70]. Cependant, nos valeurs sont inférieures à celle rapportée par Guindo et al., en 2019 à Bamako qui ont retrouvé un sexe ratio de 1,72 dans une étude portant sur les facteurs de pathogénicité et résistance aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli* isolées d'enfants âgés de 0 à 59 mois atteints de diarrhée en milieu communautaire à Bamako[71]. Cela pourra s'expliquer par des différences méthodologiques.

La tranche d'âge de 0 à 24 mois représentait 85,71% la population d'étude. Cela pourrait s'expliquer par le fait que cette couche reste la plus vulnérable face aux infections entériques,

indiqués par ailleurs d'autres études antérieures[70,71]. Durant cette période, le système immunitaire de l'enfant se renforce ainsi que la diversification des aliments.

Par rapport à l'observation macroscopique des selles, il ressort qu'une proportion de 88,1% des prélèvements étaient de selles liquides, avec une faible proportion des prélèvements d'aspect sanglants et de présences de mucus étaient respectivement de 1,3% et 18,18% pour l'ensemble de nos échantillons. Ces résultats concordent aux proportions rapportées par Guindo et al.[71].

L'identification des germes incriminés (*Enterobacteriaceae*) a été faite par l'étude des caractères bactériologiques et biochimiques, avec les galeries API 20^E. Le seuil de probabilité des espèces identifiés étaient entre 85% (identification bonne) et 99,9% (excellente détection).

Les souches isolées dans les cultures nous ont permis d'identifier deux espèces d'*Enterobacteriaceae* (*E. coli* et *Salmonella spp.*), avec une prédominance de l'espèce *Escherichia colis*, sur *Salmonella spp.*, qui représentaient respectivement 90,43% et 9,57%. Ces résultats sont similaires en terme de prédominance à ceux rapportés par Soumaré, qui rapportait une prédominance des *E. coli* à hauteur de 87% contre 0,2% pour l'espèce *Salmonella spp.* dans les mêmes tranche d'âge pour une étude réalisée à Bamako[72]. Ce qui correspondait aux données dans la littérature qui prédisent un tel résultat pour des prélèvements de cette nature. Les échantillons comportaient majoritairement des prélèvements mono-microbiens, mais également un cas de germes mixte a été confirmé dans le prélèvement de selles.

En ce qui concerne l'étude de la résistance aux antibiotiques, nous avons observé un niveau de résistance assez élevé avec la majorité des familles d'antibiotiques. Notamment les bêtalactamines qui constituent la plus grande famille et de loin des antibiotiques des plus utilisés[73]. Nos résultats suggéraient un niveau plus ou moins élevé de résistance à l'ensemble des antibiotiques de cette famille selon l'espèce bactérienne. Avec les aminopénicillines nos résultats obtenus ont suggéré ainsi un niveau de résistance élevé des *E. coli* de l'ordre de 95,3%, et 11,1% pour *Salmonella spp.* Ces résultats ont été confirmés par les données de la littérature où les taux de résistances variaient de (76% à 100%) pour *E. coli*. Ainsi la proportion était de 85,94% de résistances chez *E. coli* dans l'étude de Timbine et al., en 2020[74] et de 100% de résistance avec l'*E. coli* à la même année dans l'étude de Goro et al[75]. D'autres études menées ont rapporté des résultats supérieurs à nos données comme

celle de 2001 au Mali par Boisramé-Gastrin et al., dans l'étude du portage de *Salmonella* chez des enfants adoptés au Mali avec un taux de résistance aux aminopénicillines de l'ordre de 80,7% pour *Salmonella spp.*[76]. Une autre étude menée en 2018 par Malle et al., portant sur la surveillance de la résistance aux antimicrobiens des souches de *Salmonella spp* isolées au LRM montrait une proportion de 18,51%, assez proche de notre résultat[77]. Ces résultats ont été plus ou moins concordants avec nos résultats et suggèrent ainsi un niveau toujours très élevé de résistance des *Escherichia coli* aux aminopénicillines d'une manière générale, par ailleurs, on observe une grande variation du niveau de résistance avec des *Salmonella spp* selon les lieux d'étude.

L'inefficacité croissante des associations avec les inhibiteurs de bêta-lactamase constituaient une source d'inquiétude dans le traitement des infections bactériennes, ils avaient un niveau de résistance très élevés d'ordre de 80% pour *E. coli*. Nous avons observé une résistance croissante aux différentes classes des céphalosporines, de la seconde génération, au quatrième génération, 18,8% pour Céfotaxime, 50,6% pour Céfotaxime et 67,1% pour Céfépime uniquement pour l'espèce *E. coli*. Les résultats de Timbine et al., étaient en dessus des nôtres avec une proportion de 54,5% pour Céfotaxime ainsi que la proportion des céphalosporines de troisièmes générations qui était de 55,12% pour le Céfotaxime[74]. Par ailleurs, d'autres études plus récentes ont montré un niveau de résistance assez similaire chez le céfépime (C4G) testé sur *E. coli*, de l'ordre de 62% (IC 95% 57-67%)[78] dans la revue de Oldenkamp portant sur comment combler les lacunes de la carte de prévalence mondiale de la résistance antimicrobienne clinique en 2021. Selon une autre étude menée en 2016 par Protic et al., la moyenne observée du taux de résistance des souches d'*Enterobacteriaceae* varierait entre les céphalosporines de troisième et de quatrième génération pour atteindre 40% et 70% respectivement[79]. Ces résultats sont proches de ceux obtenus et démontreraient clairement la pression médicamenteuse qu'exerce les céphalosporines de dernières générations sur ces bactéries. Avec un abandon progressif des céphalosporines de classes antérieures aux profits des troisièmes et quatrièmes générations. On pourrait assister à un regain de fonction de ces céphalosporines de classes antérieures (seconde génération). Les *Salmonella spp* n'ont montré aucune résistance aux céphalosporines de troisième génération testés.

Un niveau élevé de résistance a été observé avec Aztreonam 57,6% et un taux de résistance de 5,9% a été observé chez les *E. coli* pour Imipénèmes.

Le niveau de résistance observé avec les aminoglycosides (gentamicine) était de 21,2% pour les *E. coli*, celui de Sulfonamides (Sulfaméthoxazole-triméthoprim) et fluoroquinolone (ciprofloxacine) étaient respectivement de 88,2% et 45,9%. Ces proportions montrent que la gentamicine est restée une molécule assez bien active sur l'ensemble des souches d'*E. coli*, comparativement aux cotrimoxazole et ciprofloxacine, ainsi Timbine et al, ont obtenu des proportions de 30,23% à la gentamicine, de 88,19% à la Sulfaméthoxazole-triméthoprim et de 54,76% à la ciprofloxacine[74]. Ces résultats concordent en ordre de grandeurs avec le niveau de résistance observé dans nos résultats. La Sulfaméthoxazole-triméthoprim est restée la molécule la moins active après les pénicillines.

La prévalence des souches de *Escherichia coli* résistantes aux gentamicines était de 21,2% pour l'ensemble des souches *E. coli* testé, ce résultat sont inférieur à ceux obtenus par ailleurs comme celui de Timbiné et al, qui ont obtenu des valeurs variables de 30,23% à la gentamicine, à 7,48% à l'Amikacine pour *E. coli*[74]. Autre étude montrait une proportion de 34,08% à la gentamicine, à 14,92% à l'Amikacine pour *E. coli*. Nous avons observé une activité assez élevée chez les aminosides tel que la gentamicine, qui correspondant à la molécule standard dans évaluation de la résistance chez les bacilles et plus efficace dans les infections sévères en néonatalogie.

Les autres familles d'antibiotiques ont également donné des niveaux de résistances variés. Nous avons observé un haut niveau de résistance aux sulfonamides (cotrimoxazole) avec une proportion de 88,2% pour *E. coli* contre 11,1% pour *Salmonella*. Les résultats obtenus par Timbiné et al., concordent avec les nôtres, avec un taux de résistances élevées qui atteignaient 88,19% pour cotrimoxazole[74]. Selon la revue de Pavelquesi et al., sur la présence de gènes de résistance à la tétracycline et aux sulfamides chez *Salmonella spp*, le pourcentage d'isolats résistants par rapport à l'ensemble des souches de *Salmonella spp* variait de 5,2 à 100% (moyenne des isolats résistants aux sulfonamide était de 57,4%). Et d'autre études ont suggéré un niveau de résistance plus élevé aux sulfonamides soit 70,3%[80]. Zeng et al., ont déterminé la résistance antimicrobienne de *Salmonella spp.* dans les poulets provenant de marchés de détail en Chine, et la résistance la plus élevée était celle au triméthoprim-Sulfaméthoxazole 94,5 %[81]. La majorité des résultats étaient en dessus de nos valeurs. L'étude de Zeng et al., nous permet de se faire une idée sur comment les constances extérieures pourraient impacter fortement le niveau de résistance.

Le ciprofloxacine avait une activité relativement intermédiaire sur l'ensemble de nos souches de *E. coli* avec 45,9% de résistance et sans résistance observée chez les souches de *Salmonella spp.* Selon le rapport de l'OMS en 2021, sur la résistance global aux antibiotiques, les taux globaux de *E. coli* résistante aux ciprofloxacines variaient entre 8,4% et 92,9%[82]. Toutes les souches de *Salmonella* dans notre étude ont gardé une forte sensibilité au Chloramphénicol 100%.

Ainsi nous avons observé la présence des souches bactériennes multirésistantes. L'utilisation abusive des antibiotiques tels que les inhibiteurs de bêta-lactamase et les céphalosporines de dernières générations constitueraient un véritable problème pour la santé publique et un atout permanent dans l'émergence des bactéries multi-résistantes.

L'existence de souches productrices de BLSE dans les infections communautaires est inquiétante, et déjà signalée dans d'autres travaux. Selon Guindo et al., le taux de résistance des souches de *E. coli* productrices de BLSE en milieu communautaire était de 12% en 2004 contre 15,4% en 2005 et 19,3% en 2006 à Bamako[71]. Ce qui montre une nette progression du niveau de résistance pour atteindre une proportion de 49,41% dans notre étude. Ce résultat était en dessous de la proportion obtenues par Kalambry qui était sur un ensemble de 72 bactéries isolées, 83,0% étaient productrices de bêta-lactamase dans une étude menée en 2019 à l'hôpital du Mali[83] ; Selon la même étude, entre 2011 et 2015, ce taux de résistance des entérobactéries productrice de pénicillinase a fluctué de 71,2% à 96,6% avec des souches résistantes aux inhibiteurs de beta lactamase sur l'ensemble des souches isolées[83]. Ainsi nous assistons à une évolution croissante du niveau de résistances des BLSE.

En Afrique, ce taux varierait selon le pays. Dans une étude Gambienne menée sur 48 *Enterobacteriaceae* 50% étaient productrices de BLSE. Sur des prélèvements de selles, la fréquence de *E. coli* était de 28,6% dont 3,6% étaient productrices de Carbapénèmases[84]. Selon une étude menée au Kenya en 2022 par Tornberg-Belanger et al., la présence d'*E. coli* producteurs de BLSE représentait 44% des bactéries isolées et avaient un niveau de résistance à l'ampicilline (95%), à la ceftriaxone (46%)[85]. Ainsi nos taux restent nettement supérieurs à ceux derniers pour les BLSE. Elles représentaient 44,68% de l'ensemble des *Enterobacteriaceae* isolés dans nos prélèvements de selles. Et cette proportion a été revu à la hausse dans une étude menée par Konaté et al., au Burkina en 2017 avec une proportion de 67,7% des isolats[86]. Selon la revue de Onduru, en 2021 sur les déterminants génétiques de la résistance chez les entérobactéries productrices de BLSE dans les communautés et les

hôpitaux d'Afrique de l'Est, Centrale et Australe, 63 % était d'*E. coli*, constituant l'isolat dominant parmi les BLSE-E récupérés dans des échantillons cliniques. La prévalence de BLSE était de 38 %, selon la même étude, une forte prévalence a été observée au Congo, 92 %, et la plus faible au Zimbabwe, 14 % avec un niveau de résistance plus élevé chez les patients hospitalisés que dans la communauté[87]. L'utilisation d'antibiotiques et l'admission à l'hôpital ont augmenté le portage de BLSE. En Afrique ce taux a connu une nette augmentation d'une manière générale, et en particulier les phénotypes de résistances tels que les BLSE.

En évaluant les différents phénotypes de résistance des *Enterobacteriaceae* isolées, les résultats ainsi obtenus ont montré l'apparition des phénotypes de résistance, appartenant majoritairement aux souches d'*E. coli*. Les bactéries multi-résistant, résistantes à deux ou plusieurs classes et/ou familles antibiotiques telles que bêtalactamines, aminosides, fluoroquinolones sulfonamides. Les résultats obtenus ont suggéré un taux de 86,17% des *Enterobacteriaceae* isolés étaient des *Enterobacteriaceae* multi-résistant.

Nos résultats indiquaient que 19,15% des *Enterobacteriaceae* étaient résistantes aux aminoglycosides (gentamicine), 80,85% résistants aux cotrimoxazoles (sulfonamide), et 41,49% résistants aux fluoroquinolones (ciprofloxacine). Ce résultat est similaire à celui dans l'étude réalisée au Burkina par Konaté et al., pour le phénotype aminoglycoside de type sauvage (83,9%) , par contre inférieur au 80,6% du phénotype quinolone de même étude[86]. Cela nous permet de prédire un niveau de résistance très élevé aux différentes familles des aminosides, fluoroquinolones.

Nos résultats ont montré que 5,88% des bactéries isolées étaient productrices de Carbapénèmase ce qui sont inférieurs aux valeurs obtenues par l'étude au Burkina de Konaté et al., présentaient un phénotype de bactéries productrices Carbapénèmase (16,1 %)[86]. Des études menés en Afrique de l'Est ont montré des proportions de 12% de résistance pour *E. coli* et 1% de résistance pour *Salmonella spp.* Au Mali, la majorité des études ont données des proportions de 0% à 1,75% résistance selon les études plus récentes[71,74,75]. Comme dans le cas des entérobactéries productrices de BLSE et d'AmpC, les rapports de différents pays ont montré que la résistance aux carbapénèmes n'a cessé d'augmenter au cours des dernières années, devenant ainsi une source d'alerte. En Europe, 11 pays ont signalé une augmentation du nombre d'infections causées par des entérobactéries productrices de Carbapénèmase entre 2015 et 2018 and un rapport intitulé aggravation de la situation épidémiologique des

entérobactéries productrices de carbapénèmase en Europe dans Euro-surveillance en 2019[88] et en Chine, Tian et al. ont signalé une augmentation de la prévalence des *E. coli* producteurs de Carbapénèmase, qui est passée de 0 % en 2011 à 1,9 % en 2017[89]. Ainsi notre étude indique une augmentation du niveau de résistance lié aux carbapénèmes, bien qu'elles ne soient pas habituellement utilisées dans l'arsenal thérapeutiques de tous les jours. Seulement dans les infections graves au niveau des établissements hospitaliers et sont inhabituellement utilisées au niveau communautaire. La pertinence des données axées sur la détection des phénotypes reste importante dans la mesure où la résistance bactérienne est par ailleurs évolutive dans le temps et l'espace.

À la limite de notre étude, certaines difficultés qui sont de manière générale d'ordre matériels ne nous ont pas permis d'apporter plus de précision concernant les différents phénotypes pouvant découler de cette étude comme l'incapacité de tester les antibiotiques comme le Carboxypénicilline et les céphalosporines de premières générations (tel que le Cefalotine), amikacine, et autre ne nous ont pas permis de distinguer plusieurs autres phénotypes.

Nous n'avons pas à notre disposition de sérums pour le sérotypage des souches d'entérobactéries (*E. coli* et *Salmonella spp.*) identifiés, ce qui nous a empêché d'avoir un typage avec plus de précision et aussi un pourcentage élevé de souches non groupables. Notre série a porté sur les enfants de 0 à 15 ans, cela en raison de la fréquence des infections entériques au sein de cette population et d'évaluer le niveau des résistances des entérobactéries ainsi que la pathogénicité des *E. coli* sur cette tranche d'âge.

On admet généralement que ces colibacilles sont pathogènes mais c'est surtout chez les nouveaux nés et les prématurés que ces germes se manifestent de la façon la plus sévère. Il serait intéressant d'évaluer l'incidence des infections par *EHEC* qui est variable selon les classes d'âge. Elle atteint son maximum chez les enfants de moins de 3 ans. Généralement *E. coli* est considéré comme systématiquement pathogène lors qu'il est isolé chez les enfants de 0-2 ans ; par contre chez ceux de 3 ans et plus la pathogénicité est à démontrer en tenant compte d'autres facteurs comme l'état du système immunitaire du patient.

7. CONCLUSION

Cette étude nous a permis de mettre en évidence une augmentation du niveau de résistances notamment avec les molécules comme la ceftriaxone et céfépime, avec les souches de *E.coli* aux antibiotiques, plus accentuée encore chez les souches de profils BLSE et BMR, une augmentation du taux de résistances à l'imipénème et un niveau très élevé de résistance des souches isolées aux céphalosporines de troisièmes et de quatrièmes générations.

8. RECOMMANDATIONS

○ **Aux autorités sanitaires**

Mettre en place un programme de surveillance global de résistances bactériennes aux antibiotiques ;

Réglementer la prescription et la dispensation des antibiotiques au Mali.

○ **Au Laboratoire AARAM**

Continuer cette étude en augmentant la taille l'échantillon et en incorporant des souches de contrôle ;

Maintenir et étendre cette capacité de surveillance des pathogènes multi-résistants aux antibiotiques.

Renforcer la surveillance des souches de bactéries multi résistantes en intégrant des outils moléculaires plus performants et rapides de diagnostics.

○ **Aux Médecins et Pharmaciens**

Respecter les règles de bonnes pratiques médicales en évitant la prescription et les dispensations inadaptées d'antibiotiques aux patients.

Perspectives :

Comme perspective, il serait intéressante de :

- Evaluer la pathogénicité des germes isolés (*voir Tableau II, Page 14*).
- Explorer les autres causes étiologiques des infections entériques.
- Utiliser des outils moléculaires pour élucider les mécanismes de résistance des germes pathogènes aux antibiotiques.

9. REFERENCES

1. OMS. Les 10 principales causes de mortalité [Internet]. [cited 2022 Apr 16]. Available from: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
2. Dadonaite B. More than half a million children die from diarrhea each year. How do we prevent this? [Internet]. Our World in Data. [cited 2022 May 29]. Available from: <https://ourworldindata.org/childhood-diarrheal-diseases>
3. UNICEF. One is Too Many: Ending child deaths from pneumonia and diarrhoea [Internet]. UNICEF DATA. 2016 [cited 2022 May 29]. Available from: <https://data.unicef.org/resources/one-many-ending-child-deaths-pneumonia-diarrhoea/>
4. Demissie GD, Yeshaw Y, Aleminew W, Akalu Y. Diarrhea and associated factors among under five children in sub-Saharan Africa: Evidence from demographic and health surveys of 34 sub-Saharan countries. PLOS ONE. 2021 20;16(9):e0257522.
5. van Seventer JM, Hochberg NS. Principles of Infectious Diseases: Transmission, Diagnosis, Prevention, and Control. Int Encycl Public Health. 2017;22–39.
6. Petri WA, Miller M, Binder HJ, Levine MM, Dillingham R, Guerrant RL. Enteric infections, diarrhea, and their impact on function and development. J Clin Invest. 2008 1;118(4):1277–90.
7. University of Portsmouth. Are we close to the greatest discovery since penicillin? [Internet]. [cited 2022 May 29]. Available from: <https://www.port.ac.uk/news-events-and-blogs/features/are-we-close-to-the-greatest-discovery-since-penicillin>
8. Dever LA, Dermody TS. Mechanisms of bacterial resistance to antibiotics. Arch Intern Med. 1991;151(5):886–95.
9. Cantón R, González-Alba JM, Galán JC. CTX-M Enzymes: Origin and Diffusion. Front Microbiol. 2012;3:110.
10. Worldbank. Drug-Resistant Infections: A Threat to Our Economic Future [Internet]. World Bank. [cited 2022 May 29]. Available from: <https://www.worldbank.org/en/topic/health/publication/drug-resistant-infections-a-threat-to-our-economic-future>
11. OMS. New report calls for urgent action to avert antimicrobial resistance crisis [Internet]. [cited 2022 May 29]. Available from: <https://www.who.int/news/item/29-04-2019-new-report-calls-for-urgent-action-to-avert-antimicrobial-resistance-crisis>
12. Natasha M.G, Philip C.O, Alash'le A, Christ M, Jeff T. The role of connected diagnostics in strengthening regional, national and continental African disease surveillance [Internet]. [cited 2022 May 29]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6295790/>

13. Bado AR, Susuman AS, Nebie EI. Trends and risk factors for childhood diarrhea in sub-Saharan countries (1990–2013): assessing the neighborhood inequalities. *Glob Health Action*. 2016 11;9:10.3402/gha.v9.30166.
14. Fif D. FACTEURS FAVORISANT LES MALADIES DIARRHEIQUES CHEZ LES ENFANTS DE 0 à 5 ANS EN COMMUNE II DU DISTRICT DE BAMAKO-MALI. *malimedical*. 2019;7.
15. Biologyonline. Bacteria - Definition and Examples - Biology Online Dictionary [Internet]. Biology Articles, Tutorials & Dictionary Online. 2020 [cited 2022 May 21]. Available from: <https://www.biologyonline.com/dictionary/bacteria>
16. Florez ID, Niño-Serna LF, Beltrán-Arroyave CP. Acute Infectious Diarrhea and Gastroenteritis in Children. *Curr Infect Dis Rep*. 2020 28;22(2):4.
17. McMahan ZH, Dupont HL. Review article: the history of acute infectious diarrhoea management – from poorly focused empiricism to fluid therapy and modern pharmacotherapy. *Aliment Pharmacol Ther*. 2007;25(7):759–69.
18. Aminov R. A Brief History of the Antibiotic Era: Lessons Learned and Challenges for the Future. *Front Microbiol* [Internet]. 2010 [cited 2022 Oct 18];1. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2010.00134>
19. Alexandre Y. Développement d’une application oropharyngée de lactobacilles pour lutter contre les infections respiratoires à *Pseudomonas aeruginosa* [Internet]. 2014. Available from: https://www.researchgate.net/publication/332696623_Developpement_d%27une_application_oropharyngee_de_lactobacilles_pour_lutter_contre_les_infections_respiratoires_a_Pseudomonas_aeruginosa
20. Baron EJ. Classification [Internet]. *Medical Microbiology*. 4th edition. University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996 [cited 2022 May 27]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8406/>
21. Kämpfer P. Systematics of prokaryotes: the state of the art. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2012 1;101(1):3–11.
22. Hata H, Natori T, Mizuno T, Kanazawa I, Eldesouky I, Hayashi M, et al. Phylogenetics of family Enterobacteriaceae and proposal to reclassify *Escherichia hermannii* and *Salmonella subterranea* as *Atlantibacter hermannii* and *Atlantibacter subterranea* gen. nov., comb. nov. *Microbiol Immunol*. 2016;60(5):303–11.
23. D’Agostino M, Cook N. Foodborne Pathogens. In: Caballero B, Finglas PM, Toldrá F, editors. *Encyclopedia of Food and Health* [Internet]. Oxford: Academic Press; 2016 [cited 2022 May 21]. p. 83–6. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123849472003263>
24. Tripathi N, Sapra A. Gram Staining [Internet]. *StatPearls* [Internet]. StatPearls Publishing; 2021 [cited 2022 May 23]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562156/>

25. Stebegg R, Schmetterer G, Rompel A. Transport of organic substances through the cytoplasmic membrane of cyanobacteria. *Phytochemistry*. 2019;157:206–18.
26. Cécile M. Etude structurale de PBP3 et localisation des six « Penicillin-Binding Proteins » de *Streptococcus pneumoniae* : implication dans la croissance et la division bactérienne. [cited 2022 Oct 2]. Available from: <https://theses.hal.science/tel-00349752>
27. Salton MRJ, Kim KS. Structure [Internet]. *Medical Microbiology*. 4th edition. University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996 [cited 2022 May 23]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8477/>
28. Sangermani M, Isabelle H, Sauter N, Thomas P, Urs J. Tad Pili Play a Dynamic Role in *Caulobacter crescentus* Surface Colonization [Internet]. [cited 2022 May 24]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6581867/>
29. Oteo J, Bou G, Chaves F, Oliver A. Microbiological methods for surveillance of carrier status of multiresistant bacteria. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2017;35(10):667–75.
30. Nakamura S, Minamino T. Flagella-Driven Motility of Bacteria. *Biomolecules*. 2019 14;9(7):E279.
31. Flagelle. In: Wikipédia [Internet]. 2022 [cited 2022 May 24]. Available from: <https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Flagelle&oldid=192400461>
32. Jha JK, Baek J, Venkova-Canova T, Chattoraj DK. Chromosome dynamics in multichromosome bacteria. *Biochim Biophys Acta*. 2012;1819(7):826–9.
33. Michael W. Davidson. *Molecular Expressions Cell Biology: Bacteria Cell Structure* [Internet]. [cited 2022 May 24]. Available from: <https://micro.magnet.fsu.edu/cells/bacteriacell.html>
34. Chronopoulou E, Harper JC. IVF culture media: past, present and future. *Hum Reprod Update*. 2015 1;21(1):39–55.
35. Jean T. Biologie cours et TP PDF - Prépa ATS Bio - Capes, Agrégation, BCPST [Internet]. SVT - Sciences de la Vie et de la Terre - T. Jean. Available from: <https://www.svt-tanguy-jean.com/ats-biologie-cours-tp-cpge.html>
36. Kauffmann F, Edwards PR, Ewing WHY 1956. The principles of group differentiation within the Enterobacteriaceae by biochemical methods. *Int J Syst Evol Microbiol*. 6(1):29–33.
37. Anand SK, Griffiths MW. ENTEROBACTERIACEAE IN DAIRYING. In: Roginski H, editor. *Encyclopedia of Dairy Sciences* [Internet]. Oxford: Elsevier; 2002. p. 900–4.
38. Augusto L, Bourgeois-Nicolaos N, Breton A, Barreault S, Alonso EH, Gera S, et al. Neonatal Enterobacter Cloacae Sepsis Mortality is Related to Presence of 2-Hydroxymyristate Moiety on Endotoxin Lipid A [Internet]. Rochester, NY: Social Science Research Network; 2021. Report No.: 3787010. Available from: <https://papers.ssrn.com/abstract=3787010>
39. Sampath V. Bacterial endotoxin-lipopolysaccharide; structure, function and its role in immunity in vertebrates and invertebrates. *Agric Nat Resour*. 2018 1;52(2):115–20.

40. Ryan KJ, Ray CG. Enterobacteriaceae. In: Sherris Medical Microbiology [Internet]. 6th ed. New York, NY; 2014. Available from: accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?aid=1101200547
41. PHILIPPON A. ANTIBIOTIQUES III. Université PARIS V. [Internet]. Available from: <http://www.microbes-edu.org/etudiant/antibio3.html>
42. Öztürk H, Ozkirimli E, Özgür A. Classification of Beta-Lactamases and Penicillin Binding Proteins Using Ligand-Centric Network Models. PLOS ONE. 2015 17;10(2):e0117874.
43. Hall BG, Barlow M. Revised Ambler classification of β -lactamases. J Antimicrob Chemother. 2005 1;55(6):1050–1.
44. Reygaert WC. An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. AIMS Microbiol. 2018 26;4(3):482–501.
45. Blair JMA, Richmond GE, Piddock LJV. Multidrug efflux pumps in Gram-negative bacteria and their role in antibiotic resistance. Future Microbiol. 2014;9(10):1165–77.
46. Kapoor G, Saigal S, Elongavan A. Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. J Anaesthesiol Clin Pharmacol. 2017;33(3):300–5.
47. Wise R. A review of the mechanisms of action and resistance of antimicrobial agents - PubMed [Internet]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10202228/>
48. Li XZ, Nikaido H. Efflux-mediated drug resistance in bacteria. Drugs. 2004;64(2):159–204.
49. Nikaido H. Multidrug Resistance in Bacteria. Annu Rev Biochem. 2009;78:119–46.
50. OMS. Antimicrobial resistance [Internet]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
51. De Rosa M, Verdino A, Soriente A, Marabotti A. The Odd Couple(s): An Overview of Beta-Lactam Antibiotics Bearing More Than One Pharmacophoric Group. Int J Mol Sci. 2021;22(2):617.
52. Bonomo RA. β -Lactamases: A Focus on Current Challenges. Cold Spring Harb Perspect Med. 2017;7(1):a025239.
53. Papp-Wallace KM, Endimiani A, Taracila MA, Bonomo RA. Carbapenems: Past, Present, and Future ∇ . Antimicrob Agents Chemother. 2011;55(11):4943–60.
54. Friedmann R, Raveh D, Zartzer E, Rudensky B, Broide E, Attias D, et al. Prospective evaluation of colonization with extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing enterobacteriaceae among patients at hospital admission and of subsequent colonization with ESBL-producing enterobacteriaceae among patients during hospitalization. Infect Control Hosp Epidemiol. 2009;30(6):534–42.
55. Overdeest I, Willemsen I, Rijnsburger M, Eustace A, Xu L, Hawkey P, et al. Extended-Spectrum β -Lactamase Genes of *Escherichia coli* in Chicken Meat and Humans, the Netherlands. Emerg Infect Dis. 2011;17(7):1216–22.

56. Appelbaum PC, Hunter PA. The fluoroquinolone antibacterials: past, present and future perspectives. *Int J Antimicrob Agents*. 2000 1;16(1):5–15.
57. Brar RK, Jyoti U, Patil RK, Patil HC. Fluoroquinolone antibiotics: An overview. *Adesh Univ J Med Sci Res*. 2020 23;2(1):26–30.
58. Schmitz FJ, Hofmann B, Hansen B, Scheuring S, Lückefahr M, Klootwijk M, et al. Relationship between ciprofloxacin, ofloxacin, levofloxacin, sparfloxacin and moxifloxacin (BAY 12-8039) MICs and mutations in *griA*, *griB*, *gyrA* and *gyrB* in 116 unrelated clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother*. 1998;41(4):481–4.
59. Yoshida H, Bogaki M, Nakamura M, Yamanaka LM, Nakamura S. Quinolone resistance-determining region in the DNA gyrase *gyrB* gene of *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1991;35(8):1647–50.
60. Vázquez-Laslop N, Mankin AS. How macrolide antibiotics work. *Trends Biochem Sci*. 2018;43(9):668–84.
61. PennMedicine. Aminoglycosides Mechanism of Resistance [Internet]. Available from: https://www.uphs.upenn.edu/bugdrug/antibiotic_manual/aminoglycosideresistance.htm
62. Satlin MJ, Jenkins SG. 151 - Polymyxins. In: Cohen J, Powderly WG, Opal SM, editors. *Infectious Diseases (Fourth Edition)*. Elsevier; 2017. p. 1285-1288.e2.
63. Ghasemian A, Shafiei M, Hasanvand F, Shokouhi Mostafavi SK. Carbapenem and colistin resistance in Enterobacteriaceae: worldwide spread and future perspectives. *Rev Res Med Microbiol*. 2018;29(4):173–6.
64. Shutter MC, Akhondi H. Tetracycline [Internet]. StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing; 2022. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK549905/>
65. Chopra I, Roberts M. Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2001;65(2):232–60.
66. Strom BL, Schinnar R, Apter AJ, Margolis DJ, Lautenbach E, Hennessy S, et al. Absence of Cross-Reactivity between Sulfonamide Antibiotics and Sulfonamide Nonantibiotics. *N Engl J Med*. 2003 23;349(17):1628–35.
67. Microbiologie Clinique. Hektoen Enteric Agar : Principle | Preparation | Interpretation [Internet]. Available from: <https://microbiologie-clinique.com/hektoen-enteric-agar.html>
68. MedicalExpo. SS Agar (for 4 L Vol.) - Réactif gel d'agar by HyServe GmbH & Co. KG | MedicalExpo [Internet]. Available from: <https://www.medicalexpo.fr/prod/hyserve-gmbh-co-kg/product-115180-777363.html>
69. Chevet K, Guyot K, Mellon G, Vidal B, et al Phenotypic detection of carbapenemase associated with extended-spectrum beta-lactamase in *Klebsiella pneumoniae* [Internet]. ScienceDirect. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0399077X11003568?via%3Dihub>
70. Mbuthia OW. Diarrheal correlates associated with enteric bacterial infections among children below five years in Murang'a County, Kenya. *Pan Afr Med J*. 2019 2;34:170.

71. Guindo I, Dicko AA, Konaté I, Sacko K, Abdou M, Dao S, et al. Pathogenicity Factors And Antibiotic Resistance Of *Escherichia coli* Strains Isolated From Diarrheal Children Aged 0 To 59 Months In Community Settings In Bamako: Facteurs de Pathogénicité et Résistance aux Antibiotiques des Souches d'*Escherichia coli* isolées chez les Enfants Diarrhéiques de 0 à 59 Mois en Milieu Communautaire à Bamako. *Health Sci Dis* [Internet]. 2022 28;23(5). Available from: <https://www.hsd-fmsb.org/index.php/hsd/article/view/3615>
72. Soumaré M. Génotypes et pathotypes d'*Echerichia coli* et autres bactéries responsables de diarrhées chez les enfants de moins de 5 ans à Bamako 2008-2010. [Internet]. USTTB; 2011.
73. Bush K, Bradford PA. β -Lactams and β -Lactamase Inhibitors: An Overview. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2016;6(8):a025247.
74. Timbine DLG, Kouriba AB, Sidibé M. CARACTERISATION PHENOTYPIQUE DE LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES SOUCHES D'*Escherichia coli* ET DE *Klebsiella spp* ISOLEES CHEZ LES HUMAINS, LES ANIMAUX ET DANS L'ENVIRONNEMENT. 2020;172.
75. Goro MAA. Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à Bamako de janvier 2020 à juin 2020. 2020;118.
76. Boisramé-Gastrin S, Tandé D, Münck MR, Gouriou S, Nordmann P, Naas T. *Salmonella* carriage in adopted children from Mali: 2001-08. *J Antimicrob Chemother*. 2011;66(10):2271–6.
77. Mallé A. Surveillance de la résistance aux antimicrobiens des souches de *Salmonella* isolées au LRM [Internet]. USTTB; 2018. Available from: <http://www.kenya.net/fmpos/theses/2018/pharma/pdf/18P77.pdf>
78. Oldenkamp R, Schultsz C, Mancini E, Cappuccio A. Filling the gaps in the global prevalence map of clinical antimicrobial resistance. *Proc Natl Acad Sci*. 2021 5;118(1):e2013515118.
79. Protic D, Pejovic A, Djukanovic N, Toskovic B, Zdravkovic M, Todorovic Z. Analysis of the third- and fourth-generation cephalosporin use for the treatment of infections caused by Gram-negative bacteria in hospital settings. *Int J Clin Pract*. 2016;70(12):1033–40.
80. Pavelquesi SLS, de Oliveira Ferreira ACA, Rodrigues ARM, de Souza Silva CM, Orsi DC, da Silva ICR. Presence of Tetracycline and Sulfonamide Resistance Genes in *Salmonella spp.*: Literature Review. *Antibiotics*. 2021 28;10(11):1314.
81. Zeng YB, Xiong LG, Tan MF, Li HQ, Yan H, Zhang L, et al. Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Salmonella* in Pork, Chicken, and Duck from Retail Markets of China. *Foodborne Pathog Dis*. 2019;16(5):339–45.
82. OMS. Antimicrobial resistance [Internet]. [cited 2022 Jun 19]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>

83. Kalambray A, Gaudré N. Antibiotic resistance profile of enterobacteria isolated from urinary samples at Hospital Mali. 2019; Available from: <https://revues.ml/index.php/remim/article/download/1363/938>
84. Sanneh B, Kebbeh A, Jallow HS, Camara Y, Mwamakamba LW, Ceesay IF, et al. Prevalence and risk factors for faecal carriage of Extended Spectrum β -lactamase producing Enterobacteriaceae among food handlers in lower basic schools in West Coast Region of The Gambia. PLoS ONE. 2018 13;13(8):e0200894.
85. Tornberg-Belanger SN, Rwigy D, Mugo M, Kitheka L, Onamu N, Ounga D, et al. Antimicrobial resistance including Extended Spectrum Beta Lactamases (ESBL) among *E. coli* isolated from kenyan children at hospital discharge. PLoS Negl Trop Dis. 2022;16(3):e0010283.
86. Konaté A, Dembélé R, Guessennd NK, Kouadio FK, Kouadio IK, Ouattara MB, et al. Epidemiology and Antibiotic Resistance Phenotypes of Diarrheagenic *Escherichia Coli* Responsible for Infantile Gastroenteritis in Ouagadougou, Burkina Faso. Eur J Microbiol Immunol. 2017 11;7(3):168–75.
87. Onduru OG, Mkakosya RS, Aboud S, Rumisha SF. Genetic Determinants of Resistance among ESBL-Producing Enterobacteriaceae in Community and Hospital Settings in East, Central, and Southern Africa: A Systematic Review and Meta-Analysis of Prevalence. Can J Infect Dis Med Microbiol. 2021 3;2021:e5153237.
88. Brolund A, Lagerqvist N, Byfors S, Struelens MJ, Monnet DL, Albiger B, et al. Worsening epidemiological situation of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Europe, assessment by national experts from 37 countries, July 2018. Eurosurveillance. 2019 28;24(9):1900123.
89. Tian X, Zheng X, Sun Y, Fang R, Zhang S, Zhang X, et al. Molecular Mechanisms and Epidemiology of Carbapenem-Resistant *Escherichia coli* Isolated from Chinese Patients During 2002-2017. Infect Drug Resist. 2020;13:501–12.

10. ANNEXES

FORMULAIRE D'ASSENTIMENT LIBRE ET ECLAIRE

TITRE DE L'ETUDE : Etiologies microbiennes des maladies diarrhéiques chez les enfants et adolescents au Centre de Santé Communautaire de Yirimadjo : caractérisation moléculaire de la résistance aux antibiotiques des bactéries isolées.

CHERCHEUR PRINCIPAL : Pr Abdoulaye DJIMDE

SITE : Faculté de Pharmacie de Bamako, Centre de Santé Communautaire de Yirimadjo

NOM DU PARTICIPANT :

NUMERO D'IDENTIFICATION _____ **AGE** _____

Je confirme que j'ai lu (ou que je me suis fait lire) et que j'ai compris pourquoi et comment cette étude sera réalisée. J'ai pu poser toutes les questions et j'ai reçu des réponses satisfaisantes.

Je dis que ma participation n'est pas forcée et je comprends que je suis libre de quitter l'étude sans être obligé de dire pourquoi et cela n'affectera pas ma prise en charge dans le laboratoire. Je permets que des informations personnelles et des données soient recueillies pendant l'étude, et qu'elles puissent être examinées par les personnes impliquées dans l'étude et/ou les collaborateurs de l'étude et/ou par les Autorités de Santé, mais de façon confidentielle et anonyme.

J'accepte de participer à cette étude.

Personnes à contacter pour des informations complémentaires :

- **Investigateur Principal :** Pr Abdoulaye DJIMDE
- **Président du Comité Ethique de l'USTTB :** Pr Marouf KEITA
- **Secrétaire Permanent du Comité Ethique de l'USTTB :** Pr Mahamadou DIAKITE

Si vous acceptez de participer à cette étude, veuillez signer/ou apposer votre empreinte digitale du pouce ou index gauche sur la partie appropriée de ces documents.

Vous garderez une copie de ces documents avec vous pour témoignage de votre acceptation à participer à cette étude.

Date : ___ / ___ / _____ -----jj/mm/aa

Signature ou empreinte digitale du participant

Nom du participant

Date : ___ / ___ / ___

Nom et Signature de l'Investigateur (jj/ mm/ aa)

A compléter si le participant, parent/tuteur du participant n'est pas alphabétisé en Français :

Témoignage de l'interview du consentement :

Je soussigné, témoin de l'assentiment ci-dessus pour l'étude Etiologies microbiennes des maladies diarrhéiques chez les enfants et adolescents au centre de santé communautaire de Yirimadjo :

Atteste qu'à la date indiquée à côté de ma signature, le contenu dudit formulaire a été clairement expliqué au parent/tuteur du participant et que l'intéressé a indiqué que ses questions et inquiétudes ont été répondues de façon appropriée.

Nom et Signature du témoin : _____

Date : ____/____/____

Témoignage de la signature par le parent/tuteur du participant :

Je soussigné, témoin de la signature (marque ou empreinte digitale) atteste qu'à la date indiquée à côté de ma signature, le parent/tuteur du participant a marqué de son empreinte digitale le

formulaire de consentement pour l'étude ci-dessus.

Nom et Signature du témoin : _____

Date : ____/____/____

QUESTIONNAIRE : Maladies diarrhéiques :

Etiologies microbiennes des maladies diarrhéiques chez les enfants et adolescents au Centre de Santé Communautaire de Yirimadio : caractérisation moléculaire de la résistance aux antibiotiques des bactéries isolées.

Q1 : N° d'identification / ___ / ___ / _____ / ___ /

Q2 : Date d'inclusion / _____ / _____ / _____ /

Q3 : Nom et Prénoms du

malade _____

Q4 : Sexe / ___ / 1= masculin 2= féminin

Q5 : Age / ___ / ___ /

Q6 : Adresse _____

Q7 : Antibiotique reçu 1= Oui 2= Non

Si oui lequel.....

Q8 : Evolution / ___ / 1= Décès 2= Transfert 3= Sortie domicile 4= autres

Q9 : Examens Bactériologiques

Examen direct

1= Présence de Cocci Gram + 2=Présence de Cocci Gram –

3=Présence de bacille Gram + 4=Présence de bacille Gram -

5=Absence de germes

Culture

1=Culture stérile

2=Culture positive Germes identifiés :

.....

Test de sensibilité aux antibiotiques

1=Peni-G 2=AMX 3=OXA 4=AMC 5=PTZ 6=CEF 7=FOX 8=CTX 9=CRO 10=CAZ 11=FEP 12=IMP 13=CS
14=TIC 15=PIP 16=ATM 17=GM18=TM19=AN 20=TET 21=D 22=CIP 23=NA 24=PEF 25=SSS 26=OFL
27=NOR 28=SXT 29=TMP30=E 31=L 32=SP 33=PI

Rendu des résultats de bactériologie

1=oui 2=non

OBSERVATIONS

Macroscopique Couleur
 Aspect

Etat Frais

ANNEXE 1 : PROCEDURE DE COLORATION DE GRAM

OBJECTIFS ET CHAMP D'APPLICATION

La technique de coloration de Gram est utilisée pour la coloration des bactéries. Ce mode opératoire normalisé s'applique à tout le personnel technique de la section de microbiologie qui a été formé à la réalisation de cette procédure et qui est compétent et autorisé à la réaliser.

INTRODUCTION

Les procédures de coloration jouent un rôle clé dans l'identification présumée et la classification des bactéries et autres micro-organismes. La coloration est une procédure importante dans l'interprétation des échantillons et donc dans le diagnostic des maladies ; elle est effectuée non seulement pour l'examen de routine des spécimens mais aussi pour les spécimens urgents où une identification rapide est essentielle. La composition chimique de la paroi cellulaire de l'organisme affecte le résultat de la procédure de coloration, qui peut être visualisée à l'aide d'un microscope. La coloration de Gram permet de différencier les bactéries gram positives des bactéries gram négatives, ce qui est utile pour l'identification des organismes.

PRINCIPE

La nature chimique de la paroi cellulaire des bactéries gram positives et gram négatives est différente. La paroi cellulaire des bactéries gram-positives retient le cristal violet en présence d'acétone, ce qui donne une apparence bleue au microscope optique. Les bactéries à Gram négatif apparaissent en couleur rouge.

MATÉRIEL

1. Cristal violet
2. Iode de Gram
3. Acétone/Ethanol 1 : 1
4. Carbofuchsine diluée
5. Papier buvard Lames de verre
6. Seringue avec aiguille (pour aliquoter les cultures sanguines)
7. Pipettes Pasteur (pour préparer les lames à partir du matériel clinique et des aliquotes d'hémoculture)
8. Boucle pour préparer des lames de colonies

9. Support de coloration

10. Plaque chauffante

PROCEDURE

Préparation des frottis à partir de l'hémoculture :

1. Prélever une aliquote d'échantillon (selles) dans un tube à essai stérile.
2. Utiliser une pipette Pasteur ou une anse pour prélever une petite partie aliquote et déposer une goutte ou une anse sur une lame de verre puis étaler de façon éclipique.
3. Laissez le frottis sécher à l'air libre.

A partir de colonies :

1. Placez une goutte d'eau distillée ou de solution saline stérile sur une lame de verre.
2. A l'aide d'une anse de 1ul, prélever une colonie et l'émulsionner dans la gouttelette.
3. Placer sur le chauffe-lame pour sécher et fixer la lame par la chaleur pendant environ 5 secondes.

Méthode de coloration

1. Faire un frottis fin du matériel de test sur une lame et le fixer à la chaleur.
2. Appliquez du cristal violet pendant une minute.
3. Laver le cristal violet avec de l'eau de robinet puis inonder la lame avec de l'iode de Gram pendant une minute.
4. Laver à l'eau de robinet.
5. Décolorer avec de l'acétone pendant environ quelques (3-5) secondes. L'alcool méthylique peut être utilisé pour décolorer le frottis s'il est lavé sur la lame jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de couleur bleue dans le frottis.
6. Lavez bien à l'eau courante.
7. Contre-coloration avec de la Carbolfuchisine ou la safranine diluée pendant une minute.
8. Laver à l'eau courante, sécher au buvard et essuyer le dos de la lame.
9. Laissez sécher avant d'examiner au microscope par immersion dans l'huile.

RÉSULTATS :

1. Placez une goutte d'huile d'immersion sur la lame.
2. Examiner en utilisant un objectif à immersion dans l'huile (100x).

3. Faites la mise au point en utilisant les boutons de réglage grossier et fin jusqu'à ce que les objets soient mis au point.

Gram positif : bleu-violet

Gram négatif : rouge-rose

NB : Si vous obtenez des résultats équivoques, placez un organisme à Gram positif (par exemple un staphylocoque) à une extrémité de la lame et un organisme à Gram négatif (par exemple *E. coli*) à l'autre extrémité, pour servir de témoins.

CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

Fréquence : Une fois par semaine

Contrôles : Lames préparées avec des organismes à gram positif et à gram négatif.

Gram positif : *Staphylococcus aureus*, **gram négatif** : *E. coli*

Résultats acceptables :

Gram positif : Cocci bleu-violet.

Gram négatif : bacilles rouges et roses

Actions correctives :

1. Recolorer la nouvelle lame de contrôle.
2. Si le résultat est toujours inacceptable, demandez à un autre technologue de reteindre la lame.
3. Remplacer les taches si les résultats obtenus sont inacceptables.

Documentation :

1. Enregistrer les résultats du CQ sur la feuille de CQ des taches de GRAM.
2. Documenter tous les résultats inacceptables de CQ sur le formulaire de DÉVIATION de CQ.

REFERENCE

- Chapin, KC, Lauderdale, T. 2003. Reagents, Stains and Media. In: Manual of Clinical Microbiology, 8th Ed. ASM Press, Washington, DC.
- Stain package inserts
- Mimms *et al.* Medical Microbiology.

ANNEXE 2 : TEST DE LA GALERIE CLASSIQUE

OBJECTIFS

Les tests biochimiques abordés dans le présent manuel correspondent à la galerie classique des bactéries Gram négatif. Il est à rappeler que cette liste n'est pas exhaustive et qu'elle a été choisie en fonction des tests disponibles au niveau du laboratoire pédagogique. Compte tenu des changements possibles de la disponibilité des tests biochimiques au niveau du laboratoire pédagogique, l'enseignant chargé des travaux pratiques peut développer d'autres tests non abordés dans le présent manuel ainsi que leur contexte de réalisation (coagulase, lipase, DNase, ...).

MILIEU POUR L'ETUDE DES METABOLISMES PROTEIQUE, GLUCIDIQUE ET ENERGETIQUE.

PRODUCTION D'UREASE (METABOLISMES PROTEIQUE)

Les milieux synthétiques les plus couramment utilisés "Urée-Indole" de Ferguson sont ensemencés avec des souches isolées sur milieux gélosés (ne jamais utiliser des souches cultivées sur géloses).

La culture est effectuée sur urée-indole (exempte d'indole) à partir d'une colonie de la souche à étudier et incubée par la suite 24-48h à 37°C.

Le milieu urée-indole est un milieu complexe qui fournit un ensemble de résultats utiles à l'identification de nombreux germes bactériens, notamment parmi les Enterobacteriaceae.

L'urée, enzyme hydrolysant l'urée, activité directement détectable par le suivi de l'alcalinisation (virage spontané). La coloration rouge traduit une alcalinisation du milieu, suite à l'hydrolyse de l'urée et formation de carbonate d'ammonium : uréase+.

Après la lecture de l'urée, on procède à la lecture de l'indole sur le même tube.

Certaines bactéries dégradent le tryptophane (présent dans la plupart des protéines) en indole grâce à une tryptophanase.

Tryptophane  **Indole + Pyruvate + NH₃**

L'indole produit est révélé par des réactifs divers (virage non spontané nécessitant l'addition de réactif), le plus utilisé est le réactif de Kovacs. La culture est additionnée de réactif de Kovacs (contenant le diméthyl-amino-4-benzaldéhyde qui réagit avec l'indole); si l'espèce bactérienne est indole (+), un anneau rouge apparaît

à la surface du milieu ; si au contraire elle est indole (-), il y a un anneau jaune ou le milieu demeure inchangée.

MILIEU KLIGLER HAJNA

Le milieu Kligler-Hajna permet de mettre en évidence la production d'H₂S (métabolisme protéique), la recherche de la β-galactosidase en 2ème jour et la fermentation des glucides (glucose et lactose).

C'est un milieu conditionné en tubes avec une pente et un culot. C'est un milieu complexe (cf. Tab.1), qui permet la recherche de plusieurs caractères biochimiques. Il est très utilisé dans l'identification des Enterobacteriaceae. Il estensemencé de la manière suivante :

Ensemencer abondamment la surface par stries serrées ou par inondation, puis le culot par simple piqûre, à l'aide de la même pipette boutonnée (pipette à bout fermée). Il est important de ne pas oublier de dévisser partiellement la capsule (le bouchon) afin de permettre les échanges gazeux. Mettre à l'étuve 18-24h à 37°C.

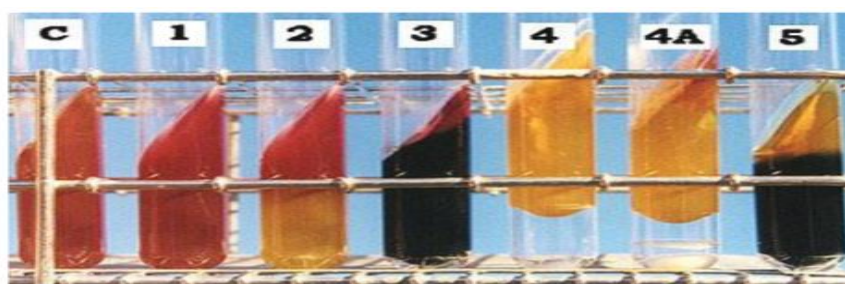


Figure 1 : Test Kligler Hajna.

- **Tube C** : Tube témoin négatif.
- **Tube n°1** : Bactérie de type oxydatif du glucose ou glucose - et lactose - : culot rouge et pente rouge.
- **Tube n°2** : Bactérie Glucose, lactose et H₂S négatifs.
- **Tube n°3** : Bactérie de type oxydatif du glucose ou glucose -, lactose - et H₂S+ : culot noir et pente rouge.
- **Tube n°4** : Bactérie de type fermentatif du glucose (+) et lactose + avec production de gaz : culot jaune et pente jaune.
- **Tube n°4A** : Bactérie de type fermentatif du glucose (+) avec production de gaz et lactose - : culot jaune et pente rouge.
- **Tube n°5** : Bactérie de type oxydatif du glucose (+), lactose + sans production de gaz et H₂S+ : culot noir et pente jaune

Dans le culot (anaérobiose)

Le glucose est dégradé par fermentation, d'où production importante d'acides et virage du rouge de phénol au jaune. L'utilisation ultérieure du lactose (si elle a lieu) ne modifiera pas la teinte du rouge de phénol.

On lit donc le caractère glucose dans le culot.

Sur la pente (aérobiose)

- Le glucose est attaqué par voie oxydative, d'où production faible d'acides (d'autant plus faible que la quantité de glucose présent est faible).
- Si la souche est lactose -, la faible acidité produite sera masquée par l'utilisation des acides aminés (alcalinisation).
- Si la souche est lactose +, il y aura acidification due à l'oxydation du lactose, présent en quantité importante : virage du rouge de phénol au jaune.

On lit donc le caractère lactose sur la pente.

Principe de la production d'H₂S

La mise en évidence de la production d'H₂S se fait grâce à la présence de thiosulfate de sodium et de citrate ferrique (fer III). En effet, chez une souche dite H₂S +:

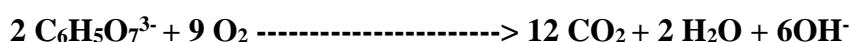
Le thiosulfate est réduit en anaérobiose en H₂S. L'H₂S ainsi formé se combine au citrate de fer présent pour former un précipité de sulfure de fer noir.

CITRATE DE SIMMONS

Ce milieu est un exemple de milieu synthétique, c'est à dire de milieu dont la composition, qui est complexe, est connue exactement tant qualitativement que quantitativement.

Dans ce milieu le citrate (C₆H₅O₇³⁻) est l'unique source de carbone. L'utilisation de ce substrat, pour la plupart des bactéries pouvant le cataboliser, est une utilisation aérobie, et se traduira par une alcalinisation du milieu.

L'équation de l'oxydation par respiration aérobie du citrate est :



Le milieu est présenté sous forme de gélose inclinée. La pente estensemencée par une strie longitudinale, réalisée à l'anse, à partir d'une suspension de la culture solide en eau distillée stérile. Il est important de ne pas apporter de substrats carbonés.

Ainsi l'ensemencement à partir d'une souche pure fournie en bouillon nutritif ou en eau peptonée est impossible. Ne pas visser le bouchon à fond, afin de permettre les échanges gazeux (en particulier élimination du dioxyde de carbone). Mettre à l'étuve 24 heures à 37°C.

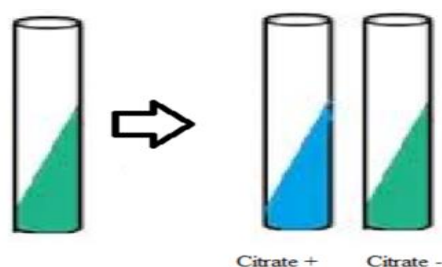


Figure 2 : Test du citrate de Simmons.

Pour la lecture du test, on procède comme suit : (cf. Fig. 2)

- Virage de l'indicateur de pH au bleu : il y a eu alcalinisation du milieu et la souche est citrate de Simmons +.
- Pas de virage de l'indicateur de pH : il n'y a pas eu alcalinisation et le milieu ne présente pas de culture. La souche est citrate de Simmons -.

Remarque :

Les causes possibles d'erreurs peuvent s'observer si : i) inoculum apportant une source de carbone et ii) bouchon mal dévissé

MANNITOL-MOBILITE

Ce milieu permet l'étude de la fermentation du mannitol (caractère biochimique) et la mobilité de la souche (caractère morphologique). Ce milieu est utilisable uniquement pour les bactéries fermentatives. La présence d'une faible teneur d'agar (gélose molle) rend possible le déplacement des bactéries mobiles autour de la piqûre centrale (le milieu estensemencé à l'aide d'un fil de platine ou une pipette Pasteur à bout fermée et incubé à 37°C pendant 18-24 heures). La lecture de l'utilisation du mannitol est possible grâce à la présence d'un indicateur de pH, le rouge de phénol. L'utilisation du mannitol acidifie le milieu qui peut ainsi être révélé par le virage de l'indicateur de pH à sa teinte acide (jaune).

Les bactéries mobiles diffusent à partir de la ligne d'ensemencement, créant un trouble dans le milieu alors que les bactéries immobiles poussent uniquement le long de la strie d'ensemencement. La présence de nitrate de potassium permet aussi la recherche du nitrate réductase grâce à ce milieu (en ajoutant à la surface, les réactifs de Griess (nitrite 1 et nitrite 2) (cf. test du nitrate réductase).

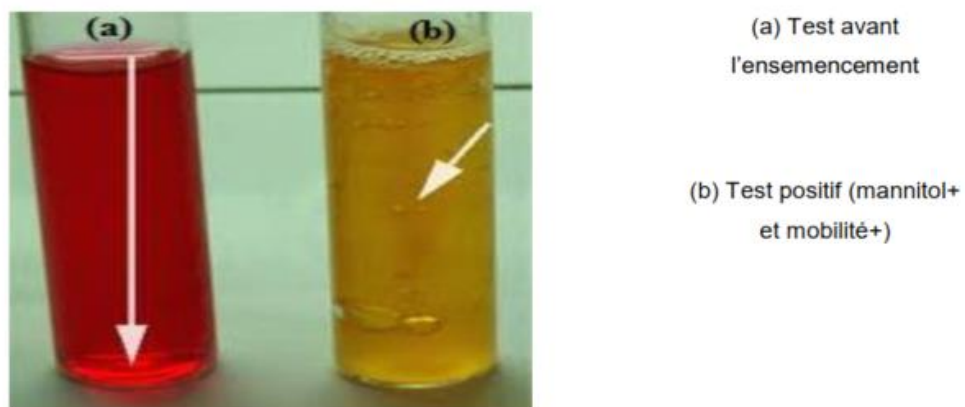


Figure 3 : Test mannitol mobilité

ANNEXE 3 : PROCEDURE DU TEST D'OXYDASE

INTRODUCTION

Les bactéries sont classées au niveau des espèces en fonction de leur forme, de leur réaction de Gram et de leurs capacités biochimiques. Une série de tests permet de détecter ces capacités, un organisme étant exposé à un substrat et le résultat de l'interaction étant observé. Le test de l'oxydase est l'un de ces tests utilisés dans l'identification et la différenciation des bactéries, qui sont soit positives soit négatives pour le cytochrome oxydase.

PRINCIPE

Le test de l'oxydase est un test clé pour différencier les familles des *Pseudomonaceae*, qui sont positives à l'oxydase, et des *Enterobacteriaceae*, qui sont négatives à l'oxydase. Ce test est également utilisé pour l'identification préliminaire de *Neisseria* et *Moraxella spp.* Qui sont toutes deux des diplocoques gram-négatifs.

L'enzyme cytochrome oxydase est impliquée dans la réduction de l'oxygène à la fin de la chaîne de transport des électrons.

Ce test détecte la possession du système cytochrome C oxydase par l'organisme testé. En présence d'oxygène, celui-ci transforme le réactif oxydase en indophénol bleu-violet.

CHAMP D'APPLICATION

Ce document est applicable à tout le personnel des laboratoires de microbiologie effectuant des tests d'oxydase.

MATÉRIEL

Réactif d'oxydase prêt à l'emploi (NNN'N' -tétraméthyl-p-phénylènediamine dihydrochloride).

Bâton applicateur en bois.

Papier buvard

Culture fraîche à tester

Contrôle positif - souche ATCC, *P. aeruginosa* #27853

Contrôle négatif - souche ATCC, *E. coli* #25922

DANGERS

Le réactif oxydase est un irritant ; il faut porter des gants lors de son utilisation.

PROCÉDURE

Pour effectuer le test, soit :

1. Humidifiez un bâtonnet applicateur en coton en le plongeant dans le réactif.

2. Touchez la colonie sur la plaque avec le bâtonnet ouaté et observez le développement de la couleur sur le bâtonnet.

Où

1. Déposer une tache de réactif sur un morceau de papier buvard.
2. Prélever une petite quantité de la colonie d'essai avec une boucle en plastique, la frotter sur la tâche et observer le développement de la couleur.

NB : L'utilisation de boucles métalliques peuvent donner des réactions faussement positives. Les milieux contenant des indicateurs, tels que CLED ou MacConkey, peuvent donner une couleur ressemblant à une réaction positive causée par l'indicateur et doivent être lus avec prudence.

CONTRÔLES ET RÉSULTATS

	Contrôle	Résultat
Positif	<i>P. aeruginosa</i> #27853	Indiqué par une couleur violette profonde qui doit apparaître dans les 10 secondes.
Négatif	<i>E. coli</i> #25922	Pas de changement de couleur, ou un changement très lent.

CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

Fréquence : Chaque expédition de chaque lot de réactif et de façon routinière une fois par mois.

Contrôles/Résultats acceptables :

P. aeruginosa #27853 - Oxydase positive/violette

E. coli #25922 - Oxydase négative/pas de changement de couleur

Mesures correctives pour les résultats inacceptables du CQ :

Répéter le test en utilisant des sous-cultures fraîches d'organismes de contrôle. Si les résultats sont toujours insatisfaisants, ne pas utiliser pour l'identification des isolats et prendre des dispositions pour les remplacer.

Documentation :

Enregistrer les résultats du CQ sur la fiche de CQ OXIDASE (ANNEXE A).

REFERENCE

Package Insert, BBL/BD DrySlide Oxidase, 2003. BD, Sparks, MD. Kimberle, CC, Lauderdale, T. 2003. Reagents, Stains and Media. In: Manual of Clinical Microbiology, 8th Ed., ASM Press, Washington, DC.

APPENDICE A - Feuille de contrôle de qualité du test d'oxydase

APPENDICE A

Contrôle de qualité du test de l'oxydase

Organismes de contrôle/Résultats acceptables :

P. aeruginosa - positif (Violet)

E. coli - négatif (Pas de changement de couleur)

ANNEE :

Date du CQ	CQ effectué par	LOT#	<i>P. aeruginosa</i> #27853 (+)	<i>E. coli</i> #25922 (-)	Observation

ANNEXE 4 : API 20E TEST

INTRODUCTION

Les méthodes à grand volume autrefois utilisées pour les tests de caractérisation microbienne ont été miniaturisées et présentées dans différents formats faciles à utiliser. Le test API 20E est l'un de ces formats utilisés pour l'identification des Enterobacteriaceae.

PRINCIPE

Chaque bandelette de test est constituée de 20 cupules contenant des substrats déshydratés de produits biochimiques. Une suspension saline ou d'eau distillée de bactéries est ajoutée et la bandelette est incubée pendant la nuit. Des réactifs indicateurs sont ajoutés aux cupules appropriées et toutes les réactions sont évaluées positives ou négatives. Des scores sont attribués aux résultats des tests de manière à ce que chaque combinaison de résultats produise un code unique. Ce code est recherché dans une base de données, la base de données Web API, pour donner une identification de l'organisme.

CHAMP D'APPLICATION

Ce mode opératoire normalisé s'applique à l'utilisation de la bandelette de test API 20E par le personnel technique du laboratoire de microbiologie, qui a été formé et est compétent pour effectuer cette procédure.

MATÉRIEL

Kit de test API 20E (25 tests/kit)

Bandelettes de test (1 par isolat)

Plateaux en plastique

Formulaires de résultats (fournis par l'entreprise)

Solution saline stérile - 4 ml/température ambiante

Boucle stérile

Pipettes Pasteur (en plastique)

Huile minérale/Température ambiante

Réactif de James

Chlorure ferrique (TDA)

KOH 4% (VP-1)

Alpha-Naphthylamine (VP-2)

Culture fraîche (18-24 heures) de l'organisme à tester.

SÉCURITÉ

- Les IPA sur les organismes de classe 3 (tels que *S. Typhi*) doivent être inoculés dans l'enceinte de sécurité et placés dans un sac en plastique minigrip avant l'incubation.
- Utilisez la protection lors de l'ouverture des ampoules de milieu de suspension ou de réactifs, afin d'éviter toute blessure.
- Ne mettez pas les supports chargés à plus de deux hauteurs lors de l'incubation afin de minimiser le risque de chute.

PROCÉDURE

Préparation de la suspension bactérienne

1. A l'aide d'une anse stérile, prélever une seule colonie bien isolée et l'ajouter à un tube de 2 ml de solution saline.
2. Émulsionner soigneusement pour obtenir une suspension homogène afin d'obtenir un standard de densité de 0,5 McFarland.

Préparation de la bandelette de test

1. Étiqueter le plateau de support de l'IPA avec le code-barres du patient et la date.
2. Ajouter 5 ml d'eau distillée stérile dans la barquette afin de créer une atmosphère humide, ce qui empêche le séchage de la bandelette.
3. Retirez les bandelettes d'IPA de l'enveloppe scellée et placez une bandelette dans le plateau d'incubation.

Inoculation des bandes

1. Chaque bande 20E contient 20 microtubules, chacun d'entre eux étant constitué d'une section tubulaire en bas et d'une section cupulaire en haut.
2. Inclinez légèrement la bande pour la remplir et distribuez la suspension le long du côté du tubule. Évitez la formation de bulles.
3. À l'aide d'une pipette capillaire stérile, remplir les microtubules avec la suspension saline préparée comme suit :
 - Remplir uniquement les sections tubulaires de tous les tubes, à l'exception de **CIT VP** et **GEL**, qui doivent être complètement remplis (sections tubulaires et cupulaires).
 - Remplir légèrement moins **ADH, LDC, ODC** et **URE**.
 - Remplissez la section cupule de **ADH, LDC, ODC, URE, H₂S** avec de l'huile minérale stérile.
4. Étaler une anse de cette suspension bactérienne sur une gélose UriSelect/Hektoen pour vérifier la pureté.
5. Incuber la bande et la plaque de pureté à 35-37°C en aérobiose pendant 18-24 heures.



Figure 1 : Galerie API 20E.

Remplir les tubules et les cupules des tests du type CIT		Remplissage des tubes : Pipette Pasteur Cupule Tubule
Remplir les tubules des tests du type ADH et remplir la cupule avec de l'huile de paraffine, pour créer l'anaérobiose.		
Remplir uniquement les tubules des tests restants		

Figure 2 : Ensemencement de la galerie API 20E.

RÉSULTATS

1. Examiner la plaque de pureté. Si la culture est mélangée ou ne se développe pas, le test API ne peut pas être interprété. Dans ce cas, répéter le test en utilisant une culture fraîche.
2. Si le tube GLU est négatif et qu'il y a 0-2 réactions positives, vérifier la plaque de pureté pour toute croissance. Si elle est viable, réincuber le plateau pendant 18-24 heures supplémentaires à 35-37°C dans un incubateur sans CO₂.
3. Ajouter les réactifs appropriés aux cupules comme suit :
 - **Test TDA** : ajouter 1 goutte de réactif TDA. Une couleur brun-rougeâtre indique une réaction positive à noter sur la feuille de résultats.
 - **Test IND** : ajouter 1 goutte de réactif JAMES. Une couleur rose développée dans toute la cupule indique une réaction positive à consigner sur la feuille de résultats.
 - **Test VP** : ajouter 1 goutte de chacun des réactifs VP1 et VP2. Attendre au moins 10 minutes. Une couleur rose ou rouge indique une réaction positive à noter sur la feuille de résultats. Si une couleur légèrement rose apparaît après 10 minutes, la réaction doit être considérée comme négative.

NOTE : Le test de production d'indole doit être effectué en dernier car cette réaction libère des produits gazeux qui interfèrent avec l'interprétation des autres tests de la bandelette. Le couvercle d'incubation en plastique ne doit pas être remis en place après l'ajout du réactif.

4. Saisissez le numéro du code-barres du patient et la date sur un formulaire de résultats API.
5. Évaluer le résultat de la réaction biochimique dans chaque cupule et enregistrer le résultat sur le formulaire API (voir le tableau d'interprétation en annexe A).
6. Calculer le numéro de profil à 7 chiffres en additionnant les numéros des valeurs de cupules des réactions positives dans chaque triplet de tests.
7. Rechercher l'identification dans la base de données APIWeb.

Accès à APIWeb

- a. Chargez le CD dans le lecteur de CD, ou un port USB
- b. Cliquez sur l'icône APIWeb pour vous connecter au site Web.
- c. Sélectionnez API 20E.
- d. Entrez le numéro de l'étude (REF).

- e. Entrez le code octal dans les espaces prévus à cet effet.
- f. Sélectionnez CONFIRMER.
- g. Imprimez une copie du rapport APIWeb et joignez-la au formulaire CULTURE POSITIVE.

RÉSULTATS DU RAPPORT

1. Si l'identification est EXCELLENTE OU TRES BONNE - Rapportez les résultats.
2. Si IDENTIFICATION ACCEPTABLE OU BONNE LIQUIDATION, FAIBLE SELECTIVITE - Effectuer des tests supplémentaires si possible et consulter le superviseur si l'identification n'est pas au moins "Très bonne".
3. Les organismes qui ne peuvent être identifiés seront réexaminés. Consulter le superviseur pour obtenir le verbiage de rapport approprié.
4. Inscrire le numéro de code et le nom de l'organisme sur le FORMULAIRE DE RAPPORT DE CULTURE POSITIVE.
5. Si le résultat provient d'une hémoculture, inscrire le nom et le numéro de code de l'organisme sur le formulaire de résultat d'hémoculture.
6. Congeler l'isolat à -80o C.

CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

Fréquence : Chaque lot/expédition de kits avant utilisation.

Contrôle : Organisme QC : E. coli ATCC 25922

Résultats acceptables : Réactions appropriées dans tous les produits biochimiques (voir fiche CQ API20E)

Actions correctives pour les résultats inacceptables du CQ :

1. Répéter le test avec une sous-culture fraîche d'une souche d'organisme congelée, réussie deux fois.
2. Si les résultats sont toujours inacceptables, contacter le fabricant pour un remplacement. Ne pas utiliser pour des tests sur des patients.

Documentation :

1. Enregistrer les résultats sur la feuille API20E QC.
2. Documenter les actions correctives de tous les résultats inacceptables sur le FORMULAIRE DE DÉVIATION CQ et le soumettre au superviseur.
3. Le superviseur révisera les résultats CQ mensuellement.

REFERENCES

Package Insert, 2004, API 20E, bioMerieux, Inc., Durham, NC.

Smith, P.B., et al. 1972. API System: A Multitube Method for Identification of Enterobacteriaceae. Appl. Microbiol. 24:449-452.

APPENDICE A - Tableau d'interprétation API 20E

ANNEXE B - Feuille de contrôle de l'API 20E (voir copie sur une page séparée)

TEST	RÉACTION	RÉACTIF	NEG	POS
ONPG	b-galactosidase	Aucun	Incolore	Jaune
ADH	Arginine Decarboxylase	Aucun	Jaune	Rouge/orange
LDC	Lysine Decarboxylase	Aucun	Jaune	Rouge /orange
ODC	Ornithine decarboxylase	Aucun	Jaune	Rouge /orange
CIT	Citrate	Aucun	Vert/Jaune	bleu
H2S	H2S production	Aucun	Incolre/ grisâtre	Noire
URE	Production uréase	Aucun	Jaune	Rouge/orange
TDA	Tryptophane deaminase	Réactif TDA (FeCl ₂) Réaction immédiate	Jaune	Brun rougeâtre
IND	Production d'indol	Réactif de James Réaction immédiate	Incolore	Rose
VP	Production d'acetoïne	VP-1 (KOH à 4 %), VP-2 (alpha-naphtalamine) Attendre 10 min pour interpréter	Incolore	Rose/rouge
GEL	Production de gélatinase	Aucun	Sans diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	Glucose ferm/oxid	Aucun	bleu/bleu vert	Jaune
MAN	Mannitol ferm/oxid	Aucun	bleu/bleu vert	Jaune
INO	Inositol ferm/oxid	Aucun	bleu/bleu vert	Jaune
SOR	Sorbitol ferm/oxid	Aucun	bleu/bleu vert	Jaune
RHA	Rhamnose ferm/oxid	Aucun	bleu/bleu vert	Jaune
SAC	Sucrose ferm/oxid	Aucun	bleu/bleu vert	Jaune
MEL	Mellibiose ferm/oxid	Aucun	bleu/bleu vert	Jaune
AMY	Amydalin ferm/oxid	Aucun	bleu/bleu vert	Jaune
ARA	Arabinose ferm/oxid	Aucun	bleu/bleu vert	Jaune

ANNEXE 5 : ANTIBIOGRAMME - NORME EUCAST

INTRODUCTION

L'antibiogramme in-vitro est l'une des fonctions les plus importantes d'un laboratoire de diagnostic. Les résultats ont une signification clinique dans le traitement de chaque patient. Dans un contexte plus large, les données combinées de ces tests sont utilisées pour surveiller les niveaux de résistance aux antibiotiques, qui influencent à leur tour les politiques de prescription et le développement futur de nouveaux agents.

DESCRIPTION DES MÉTHODES D'ESSAI

La base des méthodes phénotypiques est la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI). Les CMI sont des concentrations antimicrobiennes discriminantes utilisées dans l'interprétation des résultats des tests de sensibilité pour définir les isolats comme "sensibles" (S), "intermédiaires" (I) ou "résistants" (R). Les CMI sont définies comme les plus faibles concentrations d'antibiotiques inhibant la croissance visible d'un micro-organisme. Si la CMI d'une souche est supérieure au point de rupture, elle est classée comme "résistante", si elle est inférieure, comme "sensible" et comme intermédiaire (I) si la CMI se situe entre les points de rupture.

Techniquement, la CMI peut être déterminée par un test de dilution dans du bouillon ou de l'agar, par des systèmes automatisés et par la méthode E-test. Le résultat est toujours une concentration, qui ne peut être interprétée comme R, S ou I que si le point de rupture est connu.

Une méthode d'essai plus simple est le test de diffusion en gélose qui, du fait de sa normalisation, conduit directement au résultat R, I ou S. La technique d'essai appliquée est la méthode de Kirby Bauer modifiée, conformément aux normes du Comité européen pour l'étude de la sensibilité aux antimicrobiens (EUCAST), comme suit : un inoculum normalisé de suspension bactérienne est étalé sur une gélose spéciale pour l'étude de la sensibilité et un disque de papier avec un contenu antibiotique spécifié est appliqué sur le milieu. Après incubation dans des conditions normalisées, le diamètre de la zone d'inhibition de la croissance est enregistré. Les tailles des zones sont comparées aux tailles des zones dans le tableau d'interprétation fourni par EUCAST pour chaque antibiotique/organisme (groupe) et interprétées comme R, I et S. Les tailles des zones sont en corrélation avec les points de rupture des CMI cliniques. Une autre technique (détermination des CMI par la méthode de diffusion en gélose) est l'Etest utilisée dans des cas particuliers.

CHAMP D'APPLICATION

Ce document est applicable au personnel de laboratoire qui réalise des antibiogrammes au laboratoire.

MÉTHODE

Le test de diffusion en gélose est hautement normalisé par plusieurs directives, telles que le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), EUCAST et d'autres. Nous suivons la norme EUCAST.

EUCAST - Comité européen pour les tests de sensibilité aux antimicrobiens.

La méthode utilise de la gélose Müller Hinton avec et sans sang de cheval (4 mm (+/- 0,5 mm) de profondeur), un inoculum de 0,5 McFarland et les zones d'inhibition correspondantes avec les points d'arrêt CMI spécifiés par EUCAST pour interpréter la sensibilité.

Note : pour la méthode E-test, suivez les mêmes étapes que pour la diffusion en disque mais appliquez une bande E sur la gélose inoculée.

1. MILIEU GELOSE

Les milieux à utiliser pour chaque organisme sont les suivants :

Müller Hinton (MH)	MH + 5% de sang de cheval défibriné et 20mg/L de b β - NAD (MH-F)
-----------------------	--

<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Pseudomonas spp.</i>	D'autres <i>Streptococcus spp.</i>
<i>Staphylococcus spp.</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>
<i>Enterococcus spp.</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>
	<i>Haemophilus influenzae</i>
	<i>Campylobacter jejuni & coli</i>
	<i>Pasteurella multocida</i>
	<i>Corynebacterium spp.</i>
	<i>Aerococcus sanguinicola & urinae</i>
	<i>Kingella kingae</i>
	<i>Listeria monocytogenes</i>

2. INOCULUM

La densité de l'inoculum est l'un des facteurs les plus importants dans le test de diffusion du disque. Il est important que l'inoculum final donne une densité de 0,5 McFarland. Une comparaison de la suspension avec un standard de 0,5 McFarland doit être effectuée avant de réaliser le test sur la suspension.

Les méthodes suivantes ont donné de bons résultats (0,5 McFarland) :

Staphylocoques, Coliformes, <i>Pseudomonas spp.</i> , Bacilles non-fermentaires, Gram-négatifs et entérocoques.	Touchez 2-3 colonies d'une culture de nuit avec une anse stérile et émulsionnez-les dans 3 ml de solution saline stérile. Prélever cette suspension avec un écouvillon stérile et la répartir sur la plaque. À l'aide d'un nouvel écouvillon, étalez l'inoculum sur toute la plaque en effectuant des balayages latéraux se chevauchant de haut en bas. Répétez l'action d'étalement deux fois en formant un angle avec celle-ci.
Streptocoques bêta-hémolytiques - colonies non friables.	Transférer 2-3 colonies entières dans 1,0 ml de solution saline stérile. Essayez d'écraser les colonies contre le côté du récipient. Chargez un écouvillon stérile avec la suspension. Etalez directement avec le même écouvillon en utilisant l'action décrite ci-dessus.
Streptocoques bêta-hémolytiques - colonies friables et <i>Streptococcus pneumoniae</i>	Transférez 2-3 colonies dans 5 ml de solution saline stérile. Chargez un écouvillon stérile avec la suspension. Répandez directement avec le même écouvillon en utilisant l'action décrite ci-dessus.
<i>Haemophilus influenzae</i>	Transférez 2-3 colonies dans 5 ml d'eau stérile. Chargez un écouvillon stérile avec la suspension. Etalez directement avec le même écouvillon en utilisant l'action décrite ci-dessus.

3. Placement des disques et choix des antibiotiques

- Pour le choix des antibiotiques et le contenu des disques, voir l'ANNEXE 1. Pour éviter la perte d'activité, les disques doivent être conservés dans un récipient scellé avec un dessiccateur, dans l'obscurité, à 4-8°C ou à -20°C pour une conservation à long terme.
- Les cartouches à disques doivent toujours être disposées dans le distributeur dans le même ordre.
- Le disque doit être appliqué dans les 15 minutes suivant l'inoculation de la plaque. Placer le distributeur sur la plaque et appuyer sur le piston fermement mais sans force excessive. Les disques individuels peuvent être placés avec des pinces.
- Ne pas placer plus de 6 disques sur une plaque individuelle de 90 mm et réduire le nombre de disques par plaque lorsque des disques à forte concentration d'antibiotiques sont utilisés.
- Utilisez les concentrations des disques d'antibiotiques conformément aux directives de l'EUCAST.
- Note : si aucune valeur n'est donnée par EUCAST, les directives du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) sont utilisées pour la concentration des disques et l'interprétation.

4. Incubation

Les plaques doivent être incubées dans les 15 minutes qui suivent la mise en place des disques. Une série d'investigations complémentaires étant susceptible de prendre plus de temps que cela, les lots de travaux réalisés doivent être placés dans l'incubateur à intervalles réguliers.

Les plaques doivent être incubées comme suit :

- Tous les isolats sur Müller Hinton (MH) : 16-20 heures en aérobiose à 35 (+/- 1) °C
- Tous les isolats (sauf *Campylobacter*) sur Müller Hinton supplémenté en sang de cheval (MH-F) : 16-20 heures en aérobiose + 5% CO₂ à 35 (+/- 1) °C
- *Campylobacter spp.* : environnement microaérobie, 41±1°C, 24h. Les isolats dont la croissance est insuffisante après 24h d'incubation sont réincubés (total de 40-48h).

5. Lecture des résultats

Ils sont lus en comparant le diamètre de la zone avec le diamètre spécifié par EUCAST comme seuil de sensibilité. Utiliser une règle pour mesurer le diamètre (en mm). Indiquez si la zone est sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R), comme indiqué à l'ANNEXE A. Il y a très peu d'occasions où la méthode EUCAST ne fournit pas une interprétation intermédiaire, mais dans ces cas, elle est indiquée dans l'ANNEXE A.

RÉSISTANCE INTRINSÈQUE

Toutes les espèces de *Proteus* sont résistantes à la nitrofurantoïne.

Toutes les *Enterococcus spp.* sont résistantes aux céphalosporines.

Toutes les *Klebsiella spp.*, et les coliformes du groupe KES sont résistants à l'amoxicilline.

In vivo, <1% des *Klebsiella spp.* et 5-10% des *Enterobacter spp.* sont sensibles à l'amoxicilline, indépendamment des résultats in vitro, de sorte que, pour éviter la possibilité d'échecs de traitement, tous sont signalés comme des résistants.

Dans certains cas, la résistance aux antibiotiques est presque invariablement associée à une résistance aux autres.

LE CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

1. Sur une base mensuelle et pour chaque nouveau lot de MH agar, effectuer un contrôle de qualité
2. Effectuez toujours un CQ pour *E. Coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 29213 et *P. aeruginosa* ATCC 27853.
3. Effectuer un CQ pour *S. pneumoniae* ATCC 49619 et *H. influenzae* ATCC 49766 lorsqu'ils sont testés en laboratoire (isolat clinique)
4. Mesurez le diamètre de chaque zone antibiotique sur les plaques de contrôle et notez-les sur les feuilles fournies (ANNEXE 2).
5. Vérifiez que le résultat se situe dans la fourchette attendue spécifiée en haut de chaque colonne. Si ce n'est pas le cas, il faut en rechercher la cause.

ANNEXES :

Annexe a- Sensibilités standard Batteries, contenu des disques et taille des zones

Annexe b- Zones d'inhibition des souches de référence pour le contrôle de qualité

RÉFÉRENCES :

En ligne EUCAST

Annexe a - Sensibilités standard Batteries et tailles de zone

Normes d'interprétation du diamètre de la zone pour les *Enterobacteriaceae*

Enterobacteriaceae	Ligne directrice	Méthode	Teneur en disque (µg)	Point de rupture du diamètre de la zone (mm)		Point de rupture de la CMI (mg/L)	
				S ≥	R <	S ≤	R >
Ampicilline ; <i>E. coli</i>	EUCAST	Diffusion en disque	10	14	14		
Ampicilline/Sulbactam	EUCAST	Diffusion en disque	20	14	14		
Céfuroxime ; <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella spp.</i> , <i>P. mirabilis</i>	EUCAST	Diffusion en disque	30	19	19		
Ceftriaxone	EUCAST	Diffusion en disque	30	25	22		
Ceftazidime	EUCAST	Diffusion sur disque	10	17	17		
Céfépime	EUCAST	Diffusion en disque	30	27	24		
Meropenem	EUCAST	Diffusion en disque	10	22	16		
Tétracycline	CLSI	Diffusion en disque	30	15	12		
Gentamicine	EUCAST	Diffusion en disque	10	17	14		

Ciprofloxacine	EUCAST	Diffusion en disque	5	26	24		
Ciprofloxacine ; <i>Salmonella</i>	EUCAST	Etest	5			0.06	0.06
Cotrimoxazole	EUCAST	Diffusion en disque	25	14	11		
Chloramphénicol	EUCAST	Diffusion en disque	30	17	17		
Azithromycine ; <i>Shigella</i>	EUCAST	Etest				16	16
Colistine	EUCAST	*BMD				2	2

*BMD : microdilution en bouillon

Normes d'interprétation du diamètre de la zone pour *Enterococcus* spp.

Enterococcus spp	Ligne directrice	Méthode	Teneur en disque (µg)	Diamètre de la zone point de rupture (mm)	
				S ≥	R <
Ampicilline	EUCAST	Diffusion en disque	2	10	8
Erythromycine	CLSI	Diffusion en disque	15	23	14
Ciprofloxacine	EUCAST	Diffusion en disque	5	15	15
Tétracycline	CLSI	Diffusion sur disque	30	19	15
Chloramphénicol	CLSI	Diffusion en disque	30	18	13

Normes d'interprétation du diamètre de la zone pour *Campylobacter jejuni* & *coli*

Campylobacter	Ligne directrice	Méthode	Teneur en disque (µg)	Diamètre de la zone point de rupture (mm)	
				S ≥	R <
Ciprofloxacine	EUCAST	Diffusion en disque	5	26	26
Erythromycine	EUCAST	Diffusion en disque	15	20 (jejuni) 24 (coli)	20 (jejuni) 24 (coli)
Tétracycline	EUCAST	Diffusion en disque	10	30	30

Annexe b

Souche de référence : *Escherichia coli* ATCC 25922

Antibiotique	Teneur en disques (µg)	Plage de la zone d'inhibition par EUCAST (mm)	MHA lot	MHA lot	MHA lot	MH agar lot
			Zone d'inhibition mesurée			
Ampicilline	10	15-22				
Ampicilline/Sulbactam	20	19-24				

Céfuroxime	30	20-26				
Ceftriaxone	30	29-35				
Ceftazidime	10	23-29				
Céfépime	30	31-37				
Meropenem	10	28-35				
Tétracycline	30	18-25				
Gentamicine	10	19-26				
Ciprofloxacine	5	39-37				
Cotrimoxazole	25	23-29				
Chloramphénicol	30	21-27				
			Date			
			Technicien			
			Signe			

Gram-positive cocci			Gram-negative bacilli				Anaerobes
MRSA	MSSA	Streptococci	<i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i>	<i>Proteus</i>	<i>Pseudomonas</i>	Gram negatives with inducible beta-lactamase activity	
		Penicillin					
		Amoxicillin					
		Flucloxacillin					
		Cefazolin					
		Clindamycin					Clindamycin
		Rifampicin/ fusidic acid					Metronidazole
		Vancomycin/teicoplanin, linezolid, daptomycin					
			Trimethoprim				
			Ciprofloxacin				
			Gentamicin/tobramycin, aztreonam				
			Moxifloxacin			Moxifloxacin	
			Cefuroxime				
			Ceftriaxone				
			Ceftazidime				
			Cefepime				
			Amoxicillin-clavulanate				Amoxicillin-clavulanate
			Ticarcillin-clavulanate, piperacillin-tazobactam				Ticarcillin-clavulanate, piperacillin-tazobactam
			Meropenem, imipenem				
			Ertapenem			Ertapenem	

SIGNAL SHEET

Last name: Koné	City of defense: Bamako/Mali
First Name: Boï	Place of deposit: Library of the Faculty of Pharmacy
Nationality: Malian	E-Mail: koneboi@yahoo.fr
Section: Pharmacy	Telephone: (+223) 66 57 42 95
Title of the thesis: Resistance profiles of <i>Escherichia coli</i> and <i>Salmonella spp.</i> to antibiotics in enteric infections in children under 15 years old at the Yirimadjo Community Health Center, Bamako.	The sector of interest: Microbiology, Infectious diseases, Public health, Epidemiology
	Year: 2021 – 2022

Background. The emergence of multi-resistant bacterial strains is a major threat to the management of infectious diseases in general, with significant socio-economic repercussions. Moreover, the involvement of Enterobacteriaceae in enteric infections is a real public health problem in Mali as it is the third leading cause of death in children. This study aims to identify bacteria associated with enteric infections and measure the resistance profile of the isolated pathogens.

Methods. This was a prospective, descriptive study of stool samples collected from children with diarrhea from December 2021 to June 2022 at ASACOYIR. Identification and susceptibility testing was performed by classical bacteriological methods of Kirby Bauer.

Results. Out of a total of 308 stool samples analysed, 93 were culture-positive. Of the total number of the 93 enterobacteria isolated, 90.43% were *E. coli* and the remaining 9.57% were *Salmonella spp.* High levels of resistance were observed with the majority of the antibiotics tested. In general, the level of resistance of the isolated germs is relatively high for *E. coli*: AMP (95.3%), AMC (80%), FOX (18.8%), CTR (50.6%), FEP (67.1%), IMP (5.9%), ATM (57.6%), GEN (21.2%), SXT (88.2%), and CIP (45.9%). For *Salmonella*, the resistance to AMP and SXT was 11.1%.

Conclusion. This study has shown an increase in the resistance of *E. coli* strains to commonly used antibiotics, more pronounced in ESBL and BMR strains. An increasing rate of resistance to the last generation of cephalosporins and a possible efficacy of second-generation cephalosporins is observed.

FICHE SIGNALITIQUE

Nom : Koné

Prénom : Boï

Nationalité : Malienne

Section : Pharmacie

Titre de la thèse : Profils de résistance aux antibiotiques des souches *Escherichia coli* et *Salmonella spp.* isolées dans des infections entériques chez les enfants de 0 à 15 ans en milieu communautaire : cas du CSCoM de Yirimadjo, Bamako..

Ville de soutenance : Bamako/Mali

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la faculté de Pharmacie

E-Mail : koneboi@yahoo.fr

Téléphone : (+223) 66 57 42 95

Secteur d'intérêt : Microbiologies, Maladies infectieuses, Santé publique, Epidémiologie

Année : 2021 - 2022

L'émergence de souches bactériennes multi résistantes est une menace importante dans la prise en charge des maladies infectieuses en générale, avec une répercussion socio-économique conséquente. Par ailleurs, l'implication des *Enterobacteriaceae* dans les infections entériques constituent un réel problème de santé publique au Mali, puis qu'il constitue la 3^{ème} cause de décès chez les enfants. C'est ainsi que la présente étude se propose d'identifier, de mesurer le niveau de résistance ainsi que de déterminer les phénotypes des entérobactéries impliqués dans ces infections entériques chez les enfants de 0 à 15 ans au CSCoM de Yirimadjo.

Ce fut une étude transversale, prospective et descriptive portant sur des échantillons de selles prélevés chez les enfants lors de consultations au motif de diarrhée de Décembre 2021 au Juin 2022.

Identification et les tests de sensibilité ont été effectués par les méthodes classiques de la bactériologie.

Sur un total de 308 échantillons de selles analysés provenant tous du CSCoM de Yirimadjo, 93 ont été positives à la culture. Sur l'ensemble des entérobactéries isolées, 90,43% représentaient les *E. coli* et le reste 9,57% étaient des *Salmonella spp.* Outre les résistances naturelles confirmées dans notre étude, des niveaux de résistances très élevés ont été observés avec la majorité des antibiotiques testés.

D'une manière générale, le niveau de résistance des germes isolés sont relativement élevés pour *E. coli* : AMP 95,3%, AMC 80%, FOX 18,8%, CTR 50,6%, FEP 67,1%, IMP 5,9%, ATM 57,6%, GEN 21,2%, SXT 88,2%, et CIP 45,9%. Pour *Salmonella*, AMP 11,1%, CTR 0%, SXT 11,1%, CIP 0% et CHL 0%. Les phénotypes des *Enterobacteriaceae* résistants aux différents antibiotiques étaient à des proportions : 87,23% pénicillinase, 84,04% bacille multi-résistant, 12,77% céphalosporinase, 44,68% bêta-lactamase à spectre étendu, et 5,32% *Enterobacteriaceae* résistants au carbapénème.

Cette étude a ainsi permis de mettre en évidence une augmentation de la résistance des souches de *E. coli* aux antibiotiques, plus accentuée encore chez le BLSE et BMR, une augmentation du taux de résistances à l'imipénème et l'émergence des souches résistantes aux céphalosporines de troisièmes et de quatrièmes générations.

SERMENT DE GALIEN

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

- D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;
- D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.
- En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

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

Que je sois couverte d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Je le jure