$MINISTERE DE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple Un But Une Foi

UNIVERSITE DES SCIENCES DES TECHNIQUES
ET DES TECHNOLOGIES DE BAMAKO

FACULTE DE PHARMACIE

U.S.T.T-B

CRLD

Année universitaire 2020-2021
Numéro : ……2021

Profil de résistance aux antibiotiques des souches uropathogènes isolées dans une population drépanocytaire au Centre de Recherche et de Lutte Contre la drépanocytose, Mali

Thèse présentée et soutenue publiquement le …./…./…. Devant la Faculté de

Pharmacie par :

M. Sidi Mohamed KONE

Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie

Diplôme d'Etat

Jury

Président : Pr Sounkalo DAO

Membres : Dr Ibréhima GUINDO

Dr Boubacari Ali TOURE

Co-Directeur : Dr Mohamed AG BARAIKA

Directeur : Pr Mounirou BABY

ADMINISTRATION

Doyen : Boubacar TRAORE / Professeur

Vice-doyen : Sékou BAH / Maitre de Conférences

Secrétaire principal :

Seydou COULIBALY, Administrateur Civil

Agent comptable : Ismaël CISSE, Contrôleur des finances

- **PROFESSEURS HONORAIRES :**

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

- **DER : SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES**

Professeurs / Directeurs de recherche :

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

Maîtres de conférences / Maîtres de recherche

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

Maîtres assistants / Chargés de recherche

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
1	Mohamed	AG BARAIKA	Bactériologie-Virologie
2	Charles	ARAMA	Immunologie
3	Boubacar Tiétiè	BISSAN	Biologie Clinique
4	Djibril Mamadou	COULIBALY	Biochimie Clinique
5	Seydou Sassou	COULIBALY	Biochimie Clinique

6	Antoine	DARA	Biologie Moléculaire
7	Souleymane	DAMA	Parasitologie-Mycologie
8	Djénéba Koumba	DABITAO	Biologie Moléculaire
9	Laurent	DEMBELE	Biotechnologie Microbienne
10	Klétigui Casimir	DEMBELE	Biochimie Clinique
11	Seydina S. A.	DIAKITE	Immunologie
12	Yaya	GOÏTA	Biochimie Clinique
13	Ibrahima	GUINDO	Bactériologie-Virologie
14	Aminatou	KONE	Biologie Moléculaire
15	Birama apho	LY	Santé Publique
16	Almoustapha Issiaka	MAÏGA	Bactériologie-Virologie
17	Dinkorma	OUOLOGUEM	Biologie Cellulaire
18	Fanta	SANGHO	Santé Publique/Santé Communautaire
19	Oumar	SANGHO	Epidémiologie

Assistants / Attachés de recherche

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

- **DER : SCIENCES PHARMACEUTIQUES**

Professeurs / Directeurs de recherche

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
1	Drissa	DIALLO	Pharmacognosie
2	Rokia	SANOGO	Pharmacognosie **CHEF DE DER**

Maitres conférences / Maitres de recherche

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
-	Néant	-	-

Maîtres assistants / Chargés de recherche

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

Assistants / attachés de recherche

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
1	Seydou Lahaye	COULIBALY	Gestion Pharmaceutique
2	Daouda Lassine	DEMBELE	Pharmacognosie
3	Adama	DENOU	Pharmacognosie
4	Sékou	DOUMBIA	Pharmacognosie
5	Assitan	KALOGA	Législation
6	Ahmed	MAÏGA	Législation
7	Aïchata Ben Adam	MARIKO	Galénique
8	Aboubacar	SANGHO	Législation

9	Bourama	TRAORE	Législation
10	Karim	TRAORE	Sciences Pharmaceutiques
11	Sylvestre	TRAORE	Gestion Pharmaceutique
12	Aminata Tièba	TRAORE	Pharmacie Hospitalière
13	Mohamed Dit Sarmoye	TRAORE	Pharmacie Hospitalière

- **DER : SCIENCES DU MEDICAMENT**

Professeurs / Directeurs de recherche

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

Maîtres de conférences / Maîtres de recherche

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
1	Sékou	BAH	Pharmacologie **CHEF DE DER**

Maîtres assistants / Chargés de recherche

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

Assistants / Attachés de recherche

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
1	Mahamadou	BALLO	Pharmacologie
2	Dalaye Bernadette	COULIBALY	Chimie Analytique
3	Blaise	DACKOUO	Chimie Analytique
4	Fatoumata	DAOU	Pharmacologie
5	Abdourahamane	DIARRA	Toxicologie
6	Aiguerou Dit Abdoulaye	GUINDO	Pharmacologie
7	Mohamed El Béchir	NACO	Chimie Analytique
8	Mahamadou	TANDIA	Chimie Analytique
9	Dougoutigui	TANGARA	Chimie Analytique

- **DER : SCIENCES FONDAMENTALES**

Professeurs / Directeurs de recherche

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
1	Mouctar	DIALLO	Biologie **CHEF DE DER**
2	Mahamadou	TRAORE	Génétique / Retraite

Maîtres de conférences / Maîtres de recherche

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
1	Lassana	DOUMBIA	Chimie Appliquée

Maîtres assistants / Chargés de recherche

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

Assistants / Attachés de recherche

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

- **Chargés de cours (vacataires)**

N°	Prénoms	Nom	Spécialité
1	Cheick Oumar	BAGAYOKO	Informatique
2	Babou	BAH	Anatomie
3	Souleymane	COULIBALY	Psychologie
4	Yacouba	COULIBALY	Droit Commercial
5	Bouba	DIARRA	Bactériologie
6	Moussa I.	DIARRA	Biophysique
7	Babacar	DIOP	Chimie Organique
8	Aboubakary	MAÏGA	Chimie Organique
9	Massambou	SACKO	SCMP/SIM
10	Modibo	SANGARE	Anglais
11	Sidi Boula	SISSOKO	Histologie-Embryologie
12	Fana	TANGARA	Mathématiques
13	Djénébou	TRAORE	Sémiologie Et Pathologie Médicale
14	Mamadou B	TRAORE	Physiologie
15	Boubacar	ZIBEÏROU	Physique

DEDICACES ET REMERCIEMENTS

JE DEDIE CETTE THESE A

- **A mon très cher père feu Mohamed**

  C'est avec beaucoup d'émotion, d'affection et de respect que je vous écris ces quelques mots, tout en sachant que je ne pourrai vous remercier pour tout ce que vous avez sacrifié pour moi.

  Je vous dédie ce travail en témoignage de mon respect et ma gratitude pour votre soutien constant et sans limites qui ont fait de moi ce que je suis.

  Vous aurez aimé prendre pleinement part à ce moment mais Dieu a décidé autrement ; recevez ici cher père l'expression de mon serein attachement à vos principes de bonne conduite, qu'Allah vous accorde le Paradis al-firdaws.

- **A ma chère mère Madiara Sangaré**

  Pour le sacrifice et le dévouement dont vous avez toujours fait preuve.

  Pour l'affection, la tendresse et l'amour dont vous m'avez toujours entourée.

  Pour l'encouragement sans limite que vous ne cessez de manifester.

  Pour ma part, aucun mot, aucune phrase ne peut exprimer mes sentiments profonds d'amour, de respect et de reconnaissance.

  Que ce modeste travail s'inscrit dans la suite de mes récompenses envers vous.

  Puisse Dieu, le tout puissant, vous garder, vous couvre de sa bonté et vous accorder bonheur, santé, longévité et une bonne fin.

- **A ma chère mère Awa Traoré**

  Je ne saurais exprimer ma gratitude, ma reconnaissance envers vous.

  Merci pour votre amour, nous avons toujours bénéficié de votre soutien, conseils, encouragement et surtout vos invocations.

  Qu'Allah dans sa miséricorde vous accorde une longue vie remplie de bonheur et une bonne fin.

- **A ma chère grande sœur Kadidiatou et sa famille**

  Aucun mot, aucune dédicace ne saurait exprimer à sa juste valeur, l'ampleur de l'amour, l'attachement, la reconnaissance et l'admiration que j'éprouve pour vous.
  Vous avez été pour moi tout au long de mes études, l'un des plus grands symboles d'amour, d'abnégation qui n'ont ni cessé ni diminué.
  Je vous remercie pour tout le soutien exemplaire ; vos conseils seront toujours les bienvenus, qu'Allah vous assiste.

- **A mes chèr(e)s frères et sœurs**

  Aucune dédicace ne pourrait traduire ma gratitude envers vous, ce travail est le vôtre.
  Puisse Allah vous garder dans la santé, la prospérité, la joie du vivre ensemble.

- **A ma chère épouse Madina Cissouma**

  Merci pour ton accompagnement, ton soutien sans faille.

- **A la mémoire de mes grands-parents paternels et maternels**

  Puisse Dieu tout puissant vous accueillir dans son Paradis al-firdaws.

REMERCIEMENTS

- **ALLAH**

  Le tout miséricordieux, le très miséricordieux, point de divinité à part toi qui m'inspire toujours et me guide sur le droit chemin.

  Je vous dois tout ce que je suis devenu.

  Soumission, louange et remerciements pour votre clémence et votre miséricorde.

- **Au prophète Mohamed (SWS)**

  La meilleure des créatures, Qu'Allah nous accorde votre rencontre.

- **A mes tontons**

  Merci pour vos soutiens et vos conseils qui n'ont fait que me rendre fort dans les moments difficiles. Vous avez été un des pionniers de ce travail. Puisse Allah vous accorder longue vie couronnée de bonheur.

- **A mes tantes**

  Aucun mot ni phrase ne se saurait traduire ma gratitude, ce travail est le témoignage de vos efforts consentis.

  Que Dieu vous procure santé, joie et succès dans vos projets.

- **A ma très chère épouse Madina Cissouma**

  Merci pour les encouragements, la patience et les conseils, Qu'Allah nous donne une progéniture pieuse et nous guide sur la voie du salut.

- **A la famille Ouattara**

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

- **Au personnel du laboratoire du CRLD**

  Merci pour le sens élevé et la synergie dans le travail d'équipe que vous avez su nous inculquer.

- **A mes camarades de promotion « feu Moussa Harama »**

  Merci pour la nouvelle famille, les moments de joie et d'échelle montée ; je vous avoue que le chemin fut écourté par la convivialité, la solidarité que vous avez instaurée et nous voilà au terme de notre cursus ; Qu'Allah vous accorde une longue vie professionnelle couronnée de succès dans une santé de fer.

- **A mon cher groupe de travail**

  Solide et solidaire, sympathique, les mots ne suffisent pas pour vous exprimer le ressenti ; retrouver ici nos sincères remerciements. Qu'Allah vous procure joie et succès dans vos parcours.
  Je n'oublierai pas le mot **« référence »** dans mes propos.

- **A mes enseignants**

  Noble, premier maillon de développement d'une nation, votre métier ne pourrait être récompensé à sa juste valeur, merci pour votre rigueur et humilité. Qu'Allah vous accorde une longue vie et succès dans la suite de vos projets.

- **A mes aînés et cadets de la faculté**

  Merci pour vos conseils, disponibilité et considération, qu'Allah vous accorde plus que vous n'ayez donné.

- **A mes amis**

  Abdoul Wahid, Abdoul Ghany, A.Sangaré, Yahaya…
  Merci pour le temps accordé, les moments passés ensemble ; votre fraternité me marquera à jamais. Qu'Allah vous accorde la joie dans tous vos instants.

- **A mes camarades Thésard du CRLD**

  Merci pour vos remarques et subjection qui n'ont fait qu'améliorer la qualité de ce travail.

- **A la LIEEMA**

  Merci pour l'accueil, la considération et votre apport sans faille dans la réalisation de ce travail. Que nous soyons toujours unis par le lien d'Allah.

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DU JURY

Pr Sounkalo DAO

- ✓ **Professeur titulaire de maladies infectieuses et tropicales ;**
- ✓ **Responsable de l'enseignement des maladies infectieuses à la FMOS ;**
- ✓ **Coordinateur du diplôme d'études spécialisées de maladies infectieuses et tropicales ;**
- ✓ **Investigateur clinique au centre UCRC /SEREFO ;**
- ✓ **Président de la société Malienne de pathologies infectieuses et tropicales (SOMAPIT) ;**
- ✓ **Membre du collège Ouest Africain des Médecins ;**
- ✓ **Membre de la société Africaine de pathologies infectieuses ;**
- ✓ **Chef du service des maladies infectieuses et tropicales du CHU du Point G.**

Cher Maître,

C'est un grand honneur et un réel plaisir que vous nous faites en acceptant de présider ce jury de thèse malgré vos multiples occupations. Au-delà de l'éminent professeur que vous êtes, nous avons toujours admiré votre simplicité et votre rigueur scientifique. La spontanéité avec laquelle vous avez accepté de présider ce jury nous a profondément touché.

Recevez cher maître nos sincères remerciements.

Vos critiques seront les bienvenues et contribuerons, nous en sommes convaincus, à améliorer ce modeste travail.

Qu'AllAh vous assiste.

A NOTRE MAITRE ET MEMBRE DU JURY

Docteur Ibréhima GUINDO

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

Cher Maître,

Merci d'avoir accepté de juger ce travail malgré votre agenda chargé. Vous nous avez profondément marqué par votre personnalité humble. Vos qualités humaines, scientifiques et pédagogiques font de vous un maître exemplaire.

Merci pour votre dévouement.

Qu'AllAh vous accorde une longue vie pleine de succès.

A NOTRE MAITRE ET MEMBRE DU JURY

Docteur Boubacari Ali TOURE

- ✓ **Médecin hématologiste ;**
- ✓ **Assistant en hématologie à la FMOS ;**
- ✓ **Responsable unité consultation hospitalisation au CRLD ;**
- ✓ **Membre de la SAFHEMA** (Société Africaine Francophone d'Hématologie) ;
- ✓ **Membre de la SO.MA.HO** (Société Malienne d'Hématologie et d'Oncologie).

Cher Maître,

C'est un grand honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail. Votre simplicité, votre amour pour l'hématologie, votre rigueur scientifique font de vous un exemple à suivre dans ce domaine.

Trouvez ici cher Maître le témoignage de notre sincère reconnaissance et de notre profonde gratitude.

Puisse Allah vous accorder santé et longévité.

A NOTRE MAITRE ET CO-DIRECTEUR DE THESE

Docteur Mohamed AG BARAIKA

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

Cher Maître,

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de co-diriger ce travail. Nous avons été impressionnés par vos qualités scientifiques, votre sympathie mais surtout votre pédagogie.

L'ouverture que vous nous avez accordée est sans qualificatif, merci pour l'accueil, Qu'AllAh fasse que vous nous trouver reconnaissant.

Recevez cher Maître notre profonde gratitude.

Qu'Allah vous accorde une santé de fer.

A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE

Pr Mounirou BABY

- ✓ **Professeur titulaire d'hématologie ;**
- ✓ **Spécialiste en Immuno-hématologie et transfusion sanguine ;**
- ✓ **Directeur général du Centre de Recherche et de Lutte contre la Drépanocytose (CRLD) ;**
- ✓ **Ancien Directeur général du Centre National de Transfusion Sanguine (CNTS) ;**
- ✓ **Ancien Directeur général du CHU Gabriel Touré.**

Cher maître,

Nous vous remercions de nous avoir confié ce sujet et de diriger cette thèse malgré vos multiples occupations.

Homme ouvert et pragmatique, votre sens de l'organisation, votre rigueur scientifique et votre humilité font de vous un maître émérite, respecté par tous.

Veuillez trouver ici l'expression de notre profond respect et de notre sincère reconnaissance pour tous les efforts consentis pour une formation de qualité.

Qu'AllAh vous accorde sa grâce.

SIGLES ET ABREVIATIONS

NA : Acide Nalidixique

AMX : Amoxicilline

AMC : Amoxicilline + acide clavulanique

AN : Amikacine

ATB : Antibiotique

BGN : Bacille Gram Négatif

BGP : Bacille Gram Positif

BLSE : Bêta-Lactamase à Spectre Etendu

BMR : Bactérie Multirésistante

Case HN : Céphalosporinase de Haut Niveau

CB : Carbénicilline

C1G : Céphalosporine de 1ère génération

C2G : Céphalosporine de 2ème génération

C3G : Céphalosporine de 3ème génération

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

CAZ : Ceftazidime

CF : Cefalotine

CTX : Céfotaxime

CIP : Ciprofloxacine

CTX : Cotrimoxazole

CRLD : Centre de Recherche et de Lutte contre la Drépanocytose

DOX : Doxycycline

ECBU : Examen Cytobactériologique des Urines

ETP : Ertapénème

ERY : Erythromycine

FAPH : Faculté de Pharmacie

FMPOS : Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie

FOS : Fosfomycine

FOX : Céfoxitine

FT : Furanes

GM : Gentamicine

GyrA : Phénotype de mutation sur le gène *gyrA*

HbS : Hémoglobine S

IPM : Imipénème

IVU : Infection des Voies Urinaires

Meti R (*meca* /PLP2a) : Phénotype Méticilline Résistant dû au gène mecA codant pour la PLP2a

MTR : Métronidazole

OFX : Ofloxacine

OX : Oxacilline

Pase : Pénicillinase

Pase HN : Pénicillinase de Haut Niveau

ParC : Phénotype de la mutation du gène *parC*

PTF : Partenaire Technique et Financier

RAM : Résistance Antimicrobienne

SDM : Syndrome Drépanocytaire Majeur

SPSS : Statistical Package for the Social Sciences

STX : Sulfamethoxazole Triméthoprime

TE : Tétracycline

TIC : Ticarcilline

TM : Tobramycine

TPZ /TAZ : Ticarcilline + Tazobactame

USA : United State of America

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

VA : Vancomycine

VRSA : Vancomycine Résistant Staphylococcus aureus (possède le gène vanA)

Liste des Tableaux

Tableau I : Répartition de la population d'étude en fonction du genre 19
Tableau II : Répartition de la population d'étude en fonction de la profession 20
Tableau III : Répartition de la population d'étude selon l'âge 21
Tableau IV : Répartition des symptômes cliniques en fonction des résultats de l'ECBU 22
Tableau V : Fréquence des infections urinaires bactériennes dans la population drépanocytaire étudiée 23
Tableau VI : Répartition de la population en fonction du phénotype drépanocytaire 24
Tableau VII : Répartition des souches bactériennes selon le phénotype drépanocytaire 25
Tableau VIII : Répartition de la population en fonction des antécédents d'antibiothérapie .. 26
Tableau IX : Fréquence de la résistance aux ATB des germes isolés 27
Tableau X : Répartition des résultats de culture en fonction des tranches d'âge 28
Tableau XI : Répartition de notre population d'étude en fonction des tranches d'âge et de phénotype drépanocytaire 29
Tableau XII : Phénotypes de résistance aux entérobactéries 30
Tableau XIII : Phénotypes de résistances des cocci 31

Table des matières

1 INTRODUCTION : 2
2 OBJECTIFS 5
2.1 OBJECTIF GENERAL 5
2.2 OBJECTIFS SPECIFIQUES 5
3 METHODOLOGIE 7
3.1 Cadre d'étude 7
3.2 Description du CRLD 7
3.3 Type et période d'étude 8
3.4 Population de l'étude 8
3.5 Taille de l'échantillon 8
3.5.1 Critères d'inclusion 8
3.5.2 Critères de non-inclusion 9
3.6 Collecte des données et variables étudiées 9
 Données sociodémographiques : 9
 Signes cliniques : 9
 Données bactériologiques : 9
3.7 La démarche Méthodologique 10
3.7.1 Souches bactériennes étudiées 10
3.7.2 Prélèvement et mode opératoire résumés 10
3.7.3 Examen macroscopique 10
3.7.4 Examen microscopique 10
3.7.5 Culture 11
3.7.6 Identification manuelle (tests biochimiques) 12
3.7.7 Identification et antibiogramme (VITEK 2 compact) 13
3.7.8 Test de sensibilité aux antibiotiques par la méthode manuelle : 15
3.7.9 Matériels et réactifs utilisés (manuelle et Vitek® 2) 15

3.7.10 Considérations éthiques 15
3.7.11 Saisie et analyse des données 16
3.7.12 Diagramme de GANT pour la réalisation des travaux de recherche de l'étude 16
4 RESULTATS 18
4.1 Résultats globaux 18
4.2 Données sociodémographiques 19
4.3 Données cliniques 22
4.4 Données biologiques 23
4.5 Résultats analytiques : 28
5 DISCUSSION 33
5.1 Méthodologie 33
5.2 Caractéristiques de la population de notre étude 33
5.3 Fréquence des infections urinaires 34
5.4 Les souches bactériennes isolées au cours de notre étude 35
5.5 Résistance aux antibiotiques des souches bactériennes isolées 35
5.6 Phénotypes de résistance des souches bactériennes isolées 38
6 CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS 41
CONCLUSION 41
6.1 RECOMMANDATIONS 42
7 REFERENCES 43

INTRODUCTION

1 INTRODUCTION :

La drépanocytose est une maladie génétique à transmission autosomique récessive caractérisée par une mutation d'un gène de la chaîne bêta de l'hémoglobine. Cette mutation induit la synthèse d'une hémoglobine anormale, appelée hémoglobine S (HbS)[1]. L'affection débute généralement vers l'âge de 6 mois et se manifeste par des crises vasculo-occlusives qui occasionnent des douleurs de localisation et d'intensités variables, une anémie chronique et des épisodes infectieux sévères [2]. L'évolution de cette maladie est emailée d'épisode de déglobulisation aigue et d'une asplénie fonctionnelle responsable d'une grande susceptibilité aux infections [3]. Ces infections et leurs complications constituent la première cause de morbidité et de mortalité chez les drépanocytaires surtout chez l'enfant de moins de 5 ans [2]. La fréquence des infections des os, poumons et des voies urinaires chez le drépanocytaire est souvent liée aux mécanismes de défense de l'organisme [4]. Plusieurs auteurs à travers le monde ont signalé une augmentation de l'incidence des infections urinaires chez le drépanocytaire [5–8].

L'étude réalisée depuis 1971 aux USA en Californie rapporte une prévalence de 6% d'infections urinaires sur 250 cas d'infections bactériennes chez 166 patients drépanocytaires [7]. De toutes les études réalisées dans les pays industrialisés la prévalence des infections urinaires est plus basse par rapport à celles réalisées dans les pays en voie de développement [9]**.** Toutefois, selon une étude réalisée au Nigeria dans deux localités différentes, le taux d'infections urinaires était respectivement de 26% et 21% [5,10]. Dans une étude réalisée au Gabon en 1999, les auteurs rapportent que les infections urinaires principalement dues à *E. coli, K. pneumoniae, Enterobacter cloacae* étaient retrouvées dans 42,8% des cas [11]. La prévalence du gène de la drépanocytose en Afrique varie de 10 à 40%. Elle est de 6 à 16% au Mali [1]. L'ampleur des infections urinaires chez le drépanocytaire et le comportement vis-à-vis des antibiotiques des germes incriminés n'est pas connue au Mali où on enregistre 5000 à 6000 naissances drépanocytaires par an [12]. Il a été noté une augmentation progressive de la résistance aux antimicrobiens chez les agents uropathogènes en particulier dans les pays en développement et cela constitue une préoccupation [13–16]**.** Cette augmentation pourrait être imputée à la prescription probabiliste des antibiotiques dans le contexte de suspicion d'infection urinaire dans cette population vulnérable. Le développement de la résistance aux antimicrobiens aurait pour conséquences une durée d'hospitalisation prolongée, un surcoût financier et une exposition de ces patients à diverses complications. Nous avons initié cette étude à la suite des

recommandations issues d'un travail de thèse de science intitulé : étiologie de la fièvre chez l'enfant drépanocytaire au Mali. Dans cette étude les auteurs ont rapporté 14.28% d'infection urinaire avec une prédominance d'*E. coli* suivis de *K. pneumoniae.* Les phénotypes de résistance de BLSE et Case de haut niveau étaient respectivement de 28% et 8% [17–18]. Très peu d'études à travers le monde et au Mali soulignent le phénomène de résistance des pathogènes bactériens isolés chez le drépanocytaire. Cette croissance fulgurante de la résistance fait l'objet de beaucoup d'interrogations à travers le monde scientifique. C'est ainsi que nous nous sommes proposés de réaliser cette étude sur le profil de résistance aux antibiotiques des souches uropathogènes isolées dans une population drépanocytaire au CRLD.

Hypothèse :

Dans ce contexte de prescription probabiliste des antibiotiques chez le drépanocytaire, les bactéries isolées dans cette population ont une résistance élevée aux antibiotiques.

OBJECTIFS

2 OBJECTIFS

2.1 OBJECTIF GENERAL

Etudier le profil de résistance aux antibiotiques des souches uropathogènes isolées dans la population drépanocytaire au CRLD.

2.2 OBJECTIFS SPECIFIQUES

- Déterminer la fréquence des souches bactériennes isolées au cours des infections urinaires chez les drépanocytaires au CRLD,
- Décrire le profil de résistance aux antibiotiques des souches bactériennes isolées chez les drépanocytaires au CRLD,
- Déterminer les phénotypes de résistance aux antibiotiques des souches bactériennes les plus fréquemment isolées.

METHODOLOGIE

3 METHODOLOGIE

3.1 Cadre d'étude

Notre étude a été conduite au Centre de Recherche et de Lutte contre la Drépanocytose (CRLD) de Bamako.

Ce travail a été financé par le rectorat de l'Université des Sciences des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB), dans le cadre d'un appel à candidature pour protocole de recherche financé sur le fond de recherche inscrit sur le budget de l'USTTB.

3.2 Description du CRLD

Le centre de recherche de lutte contre la drépanocytose est situé dans le quartier du point-G, en commune III du district de Bamako. C'est le premier centre de référence en matière de prise en charge de la drépanocytose au Mali. Il a été créé en 2008 grâce à une volonté politique appuyée par des partenaires techniques et financiers (PTF) dont la coopération internationale de Monaco et la Fondation Pierre Fabre.

Inauguré le 21 janvier 2010, le CRLD a commencé ses activités le 15 mars 2010 avec comme objectif principal : améliorer la qualité et l'espérance de vie des drépanocytaires.

Il compte actuellement douze (12) médecins dont quatre (04) hématologistes et deux (02) pédiatres, cinq (05) pharmaciens, dont deux (02) biologistes et un (01) épidémiologiste, trente (30) techniciens de santé et du personnel administratif.

Il est composé de quatre départements :

- ✓ Département administratif
- ✓ Département de formation et de recherche (Une unité d'informatisation (DATA))
- ✓ Département de communication
- ✓ Département médical avec quatre (04) unités :
    - Une unité de pharmacie
    - Une unité de consultation et d'exploration
    - Une unité d'hospitalisation
    - Une unité de laboratoire de biologie

Figure 1 : vue de photo du CRLD au Mali

3.3 Type et période d'étude

Il s'agissait d'une étude transversale de type prospective portant sur l'examen cytobactériologique des urines des patients drépanocytaires suivis au CRLD présentant des signes évocateurs d'infection urinaire d'août 2019 à août 2020.

3.4 Population de l'étude

La population d'étude était constituée de patients drépanocytaires âgés de 6 mois et plus suivis au CRLD.

3.5 Taille de l'échantillon

L'échantillonnage a été exhaustif. Nous avons enrôlé tous les patients drépanocytaires répondant à nos critères d'inclusion présentant des signes d'appel d'infection urinaire pendant la période d'une année.

3.5.1 Critères d'inclusion

Etaient inclus dans l'étude :

- Les patients drépanocytaires, inscrits et suivis au CRLD ;
- Les patients présentant des signes : Brulure mictionnelles, Leucorrhée, Dysurie, Prurit, Hématurie, Fièvre et autres ;
- Les patients ayant donné leur consentement ou assentiment pour participer à l'étude.

3.5.2 Critères de non-inclusion

N'ont pas été inclus dans cette étude :

- Les patients non drépanocytaires ;
- Les patients ne présentant pas de signe d'appel infectieux ;
- Les patients n'ayant pas accepté de participer à l'étude.

3.6 Collecte des données et variables étudiées

Les données ont été collectées à l'aide d'une fiche de collecte des données préétablie.

Pour atteindre les objectifs que nous nous sommes assignés, les variables suivantes ont été retenues :

- ✓ **Données sociodémographiques :**

  L'âge, le sexe et l'occupation

- ✓ **Signes cliniques :**

  Brûlures mictionnelles, leucorrhée, dysurie, douleur lombaire, Prurit, hématurie, fièvre et autres.

- ✓ **Données bactériologiques :**

  Présence de leucocytes, de nitrites, les facteurs de risques d'infections (pose de sonde urinaire, de cathéter veineux, de cathéter central, intubation durant l'hospitalisation, etc…) ;

  Type d'espèce au Gram, Description des colonies de bactérie, Description de l'antibiogramme.

3.7 La démarche Méthodologique

3.7.1 Souches bactériennes étudiées

Les souches étudiées étaient celles isolées des prélèvements urinaires au cours de notre étude.

3.7.2 Prélèvement et mode opératoire résumés

Après un toilettage minutieux du méat urinaire ou de la vulve et de l'espace périméatique, les urines du milieu de jet ont été recueillies dans un flacon stérile. Les échantillons d'urines prélevés hors du Centre ont été acheminés le plus rapidement au laboratoire dudit Centre. Les urines ont été ensemencées sur milieux UriSelect™ 4 et incubées pendant 24 heures à 37° C. Avant l'ensemencement, l'aspect macroscopique des urines a été apprécié. L'examen des urines à l'état frais avant et après centrifugation recherchait les éléments suivants : leucocytes, hématies, bactéries, parasites, levures, cellules épithéliales, cylindriques et cristaux. La coloration au Gram a rendu compte de la morphologie et de l'affinité tinctoriale des bactéries. Nous avons utilisé les tests d'agglutination biochimiques, et les méthodes conventionnelles d'identification. La confirmation a été faite sur les colonies, au moyen de l'appareil Vitek® 2 (bio Mérieux).

Les antibiogrammes ont été réalisés par Vitek® 2 compact et par la méthode manuelle.

3.7.3 Examen macroscopique

Il consistait à apprécier la couleur et l'aspect des échantillons

3.7.4 Examen microscopique

3.7.4.1 Etat frais

Cette étape consistait à rechercher les leucocytes, les cristaux, les cellules épithéliales, les hématies, les kystes et des parasites.

3.7.4.2 Coloration de Gram

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

3.7.4.3 Technique

Elle se déroule en plusieurs étapes qui se succèdent et consiste à :

Fixer le frottis ;

Recouvrir le frottis de la solution de cristal violet, laisser agir une minute (violet de gentiane) ;

Rejeter le colorant puis laver à l'eau ;

Recouvrir la préparation de Lugol, laisser agir une minute ;

Rejeter le colorant puis laver à l'eau ;

Décolorer à l'alcool-acétone ;

Rincer à l'eau de robinet et recouvrir la lame de solution de fuchsine diluée, laisser agir 30 secondes ;

Rejeter la Fuchsine, laver à l'eau, égoutter, sécher entre deux feuilles de papier buvard propres ;

Lire le frottis coloré au microscope à l'objectif x100 à l'huile d'immersion.

3.7.4.4 Résultat de la coloration

Après coloration :

Bactéries Gram négatif : coloration rose

Bactéries Gram positif : coloration violette

Levures : forme ovale, coloration violette

3.7.5 Culture

Tous les échantillons étaient ensemencés sur le milieu Uriselect (milieu gélosé non sélectif) en déchargeant par stries condensées avec l'anse de platine sur toute la surface de la boîte gélosée et mis en incubation pendant 24 heures à 37°C. L'isolement et la culture ont été effectués après les 24 heures d'incubation de la culture.

Les colonies types étaient ré-isolées sur de nouveaux milieux Uriselect stériles de nature solide afin d'obtenir des souches pures, 24 heures après la mise en culture des échantillons.

3.7.6 Identification manuelle (tests biochimiques)

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

3.7.6.1 Test d'oxydase

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

3.7.6.2 Technique

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

3.7.6.3 Résultat

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

3.7.6.4 Test de la catalase

Le test de la catalase est une technique basée sur la libération d'oxygène. Il permet ainsi la différenciation de bactéries possédant ce caractère. La présence d'un agent épaississant et d'un colorant facilite l'observation du dégagement gazeux.

3.7.6.5 Technique

Déposer sur la lame 1 goutte d'ID coloré catalase,
Disperser 1 à 2 colonies dans la goutte.

3.7.6.6 Sur le milieu

Déposer 1 goutte d'ID coloré catalase directement sur la colonie.

3.7.6.7 Résultat

La présence d'une catalase se traduit par le dégagement immédiat de bulles d'oxygène.

3.7.7 Identification et antibiogramme (VITEK 2 compact)

3.7.7.1 Principe :

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

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

3.7.7.2 Technique

Prendre le flacon eau saline Vitek 2, introduire la dispensette ;

Prendre des tubes secs pour Vitek 2, y introduire dans les puits de la cassette ;

La cassette peut prendre jusqu'à 10 tubes soit 2x5 (identification et antibiogramme) ;

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

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

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

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

Homogénéiser la suspension et bien agiter au vortex ;

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

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

3.7.7.3 Préparer la solution pour antibiogramme :

Dans le cadre de notre étude, nous avons utilisé les micropipettes calibrées à 145µl (rouge) spécifiques au Gram négatif et le 280 µl (bleue) spécifique au Gram positif

A partir de la suspension bactérienne, pipeter 145µl ou 280 µl et diluer dans 3 ml d'eau saline contenue dans le tube voisin. On aurait ainsi préparé la suspension pour l'antibiogramme.

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

Cliquer sur Vitek 2

Mettre Identifiant du laboratoire

Cliquer sur gérer la cassette virtuelle

Créer une cassette virtuelle

Identification de la cassette 1,2, …

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

Saisir les données de l'isolat ;

Entrer les informations de l'isolat (numéro attribué au laboratoire,

nom du germe si déjà identifié par d'autres techniques)

Puis enregistrer les données de la cassette virtuelle

Au niveau de l'automate Vitek 2 Compact,

Ouvrir le capot de remplissage et insérer la cassette à l'intérieur de la chambre ;

Fermer le capot de remplissage ;

Appuyer sur la touche Lancer remplissage, un bip indique que le cycle de remplissage est terminé ;

Retirer la cassette du capot de remplissage et l'introduire dans la chambre de lecture où s'effectue le scellage. Le processus de chargement/déchargement permet la lecture du code à barre des cartes et le code à barre de la cassette ;

Lorsque le message retiré s'affiche dans la chambre de lecture, cela indique que le Vitek 2 a terminé le traitement des cartes contenues sur la cassette. On peut la retirer en ouvrant le capot chargement puis le refermer ;

On attend le jour suivant où les résultats seront imprimés.

3.7.8 Test de sensibilité aux antibiotiques par la méthode manuelle :

Pour les antibiogrammes qui n'ont pas été effectués à l'aide du vitek® 2 compact, les antibiotiques présélectionnés en fonction des souches ont été testés selon la méthode manuelle conventionnelle à l'INSP.

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

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

3.7.9 Matériels et réactifs utilisés (manuelle et Vitek® 2)

Gélose Muller Hilton ;
Milieu Uriselect ;
Solution saline à 0.45% ;
Densitomètre (Mc Ferland) ;
Disques antibiotiques pour le test de sensibilité ;
Ecouvillons en coton stériles ;
Pipettes ;
Tubes à hémolyse ;
Pinces à disques ;
Microscope binoculaire.

3.7.10 Considérations éthiques

Un formulaire de consentement ou d'assentiment écrit pour participer à l'étude préalablement validé par le Comité d'éthique institutionnel du Centre de Recherche et de lutte contre la Drépanocytose (CRLD) de Bamako, a été administré à tous les participants à l'étude.

Ce formulaire a fait l'objet d'une signature ou d'une apposition d'empreinte digitale par les participants consentants. L'enquête a garanti la confidentialité des données et aucun nom de participant ne figure dans la présente thèse et les documents qui seront ultérieurement publiés. Le participant a bénéficié de la gratuité de l'examen biologique qui a été pris en charge par le

CRLD. Les résultats de laboratoire ont été communiqués aux médecins traitants en vue d'une prise en charge éventuelle.

3.7.11 Saisie et analyse des données

Microsoft Word a servi pour le traitement et la saisie du document. Les données ont été analysées à l'aide du logiciel SPSS version 25, et le logiciel ZOTERO 5.0.85 a servi pour la gestion des références bibliographiques.

3.7.12 Diagramme de GANT pour la réalisation des travaux de recherche de l'étude

Activité	**Période sur une année**											
	1er trimestre			2ème trimestre			3ème trimestre			4ème trimestre		
	Août	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre	Janvier	Février	Mars	avril	Mai	Juin	Juillet
Soumission au comité d'éthique												
Recrutement et analyse des échantillons												
Recrutement et analyse des échantillons, rédaction d'article, analyse statistique des données												
Rédaction document de thèse de pharmacie												

RESULTATS

4 RESULTATS

4.1 Résultats globaux

Au terme de notre étude, 145 patients drépanocytaires ont été enrôlés selon nos critères d'inclusion chez qui nous avons réalisé un examen cytobactériologique des urines (ECBU).

Le profil homozygote SS a été le phénotype drépanocytaire majoritaire avec 76 soit 52,4% suivi de 48 drépanocytaires double hétérozygotes SC soit 33,1%, 12 drépanocytaires $S\beta^+$ soit 8,3% et 9 S/β^0 thalassémiques soit 6,2% et le sexe ratio était de 1,95.

Sur les 145 patients drépanocytaires, 12,4% ont fait une infection urinaire bactérienne parmi lesquels 9 drépanocytaires homozygotes SS, 6 doubles hétérozygotes SC et 3 drépanocytaires $S\beta^+$ Thalassémiques.

Les molécules d'antibiotiques les moins actives étaient celles de la famille des bêtalactamines.

4.2 Données sociodémographiques

a) Genre :

Tableau I : Répartition de la population d'étude en fonction du genre

Genre	Fréquence	Pourcentage
Masculin	49	33,8
Féminin	**96**	**66,2**
Total	**145**	**100**

Le genre féminin était le plus représenté dans notre population d'étude avec un sexe ratio de 1,95.

b) Profession :

Tableau II : Répartition de la population d'étude en fonction de la profession

Profession	Fréquence N	Pourcentage (%)
Elève	73	50,30
Ouvrier	41	28.20
Fonctionnaire	7	5
Commerçant	6	4.13
Enfant d'âge préscolaire	6	4.13
NR	12	8.24
Total	**145**	**100**

NR : Non Renseigné

Ce tableau montre que les élèves constituent la population majoritaire de notre étude avec 50,3% suivis des ouvriers qui représentaient 28,2%.

c) Age

Tableau III : Répartition de la population d'étude selon l'âge

Tranche d'âge (mois/ans)	**Nombre** (N)	**Pourcentage (%)**
[0 à 5]	6	4 ,1
[6 à 10]	13	9,0
[11 à 15]	17	11,7
[16 à 25]	**72**	**49,7**
[26 à plus]	37	25,5
Total	**145**	**100**

Ce tableau nous donne la répartition de la population d'étude selon l'âge, près de 50% avaient 16 à 25ans.

4.3 Données cliniques

Symptômes cliniques et résultats de l'ECBU :

Tableau IV : Répartition des symptômes cliniques en fonction des résultats de l'ECBU

Signes cliniques	Oui		Non		Total
	Positive	Stérile	Positive	Stérile	
Brûlures mictionnelles	**14**	89	**4**	38	145
Leucorrhée	**10**	31	**8**	96	145
Dysurie	**6**	27	**12**	100	145
Douleur lombaire	**4**	29	**14**	98	145
Prurit	**4**	13	**14**	114	145
Hématurie	**2**	13	**16**	114	145
Fièvre	**0**	17	**18**	110	145
Autres	**17**	18	**1**	109	145

Les brûlures mictionnelles ont été le symptôme clinique le plus rencontré chez nos patients avec 14 cas sur les 18 cultures positives aux infections urinaires suivies des leucorrhées chez 10 patients.

4.4 Données biologiques

a) Infections bactériennes :

Tableau V : Fréquence des infections urinaires bactériennes dans la population drépanocytaire étudiée

Culture		
Résultats	**Fréquence**	**Pourcentage (%)**
Positive	**18**	**12,4**
Stérile	127	87,6
Total	**145**	**100**

L'analyse de ce tableau montre que sur l'ensemble des patients enrôlés dans notre étude, 12,4% avait une infection urinaire causée par une bactérie.

b) Phénotype drépanocytaire :

Tableau VI : Répartition de la population en fonction du phénotype drépanocytaire

Phénotypes	Fréquence N	Pourcentage (%)
SS	**76**	**52,4**
SC	48	33,1
Sβ⁺ thalassémie	12	8,3
Sβ° thalassémie	9	6,2
Total	**145**	**100**

Le phénotype homozygote SS était le plus représenté dans notre population d'étude avec 52,4% suivi des drépanocytaires SC. Le phénotype Sβ° était le moins représenté avec 6,2%.

c) Phénotype drépanocytaire et souches bactériennes :

Tableau VII : Répartition des souches bactériennes selon le phénotype drépanocytaire

Bactéries isolées	Phénotypes				Fréquence N (%)
	SS N (%)	SC N (%)	Sβ⁺ Thalassémie N (%)	Sβ⁰ Thalassémie N (%)	
Escherichia coli	**4(22,2)**	**3(16,65)**	**1(5,55)**	**0**	**8(44,4)**
Klebsiella pneumoniae	0(0)	1(5,56)	0(0)	0	1(5,56)
Enterococcus faecalis	2(11,12)	0(0)	1(5,56)	0	3(16,68)
Staphylococcus aureus	1(5,56)	1(5,56)	1(5,56)	0	3(16,68)
Enterococcus faecium	1(5,56)	1(5,56)	0(0)	0	2(11,12)
Streptocoque agalactiae	1(5,56)	0(0)	0(0)	0	1(5,56)
Total	**9(50,00)**	**6(33,33)**	**3(16,67)**	**0(0%)**	**18(100)**

N : nombre de patient

Ce tableau montre que *Escherichia coli* est la bactérie la plus isolée avec 44,4% suivie d'*Enterococcus faecalis* et de *Staphylococcus aureus* avec chacune 16,68%. *Klebsiella pneumoniae* est la bactérie la moins isolée au cours de notre étude.

d) Antécédents d'antibiothérapie :

Tableau VIII : Répartition de la population en fonction des antécédents d'antibiothérapie

Prise d'antibiotique	Fréquence	Pourcentage (%)
Oui	**124**	**85.5**
Non	21	14.5
Total	**145**	**100**

Au vu de ce tableau, pratiquement tous nos patients avaient des antécédents d'antibiothérapie, 124 patients soit 85.5% de la population d'étude.

e) Résistance aux Antibiotiques :

Tableau IX : Fréquence de la résistance aux ATB des germes isolés

Antibiotiques	*E. Coli*	*K. pneumoniae*	*S. aureus*	*E. faecium*	*S agalactiae*	*E. faecalis*
	(8)	(1)	(3)	(2)	(1)	(3)
Amoxicilline	5(62,5%)	--	1(33,3%)	NT	1(100%)	2(66,7%)
Amoxicilline-acide clavulanique	3(37,5%)	1(100%)	NT	NT	NT	NT
Carbénicilline	5(62,5%)	NT	NT	NT	NT	NT
Ticarcilline	7(87,5%)	1(100%)	NT	1(50%)	NT	NT
Oxacilline	--	--	1(33,3%)	--	--	--
Ticarcilline/Tazobactame	3(37,5%)	1(100%)	NT	1(50%)	NT	NT
Cefalotine	3(37,5%)	--	NT	--	--	--
Céfoxitine	3(37,5%)	--	NT	--	--	--
Céfotaxime	3(37,5%)	--	NT	--	--	--
Ceftazidime	3(37,5%)	--	--	--	--	--
Ertapénème	1(12,5%)	NT	NT	NT	NT	NT
Imipénème	0%	NT	NT	NT	NT	NT
Amikacine	1(12,5%)	1(100%)	1(33,3%)	1(50%)	1(100%)	NT
Gentamicine	2(25%)	1(100%)	NT	1(50%)	NT	NT
Tobramycine	2(25%)	1(100%)	NT	1(50%)	NT	NT
Ciprofloxacine	7(87,5%)	1(100%)	NT	1(50%)	1(100%)	NT
Ofloxacine	6(75%)	NT	NT	NT	NT	NT
Acide nalidixique	4(50%)	1(100%)	--	--	--	--
Doxycycline	NT	NT	NT	NT	NT	1(33,3%)
Tétracycline	1(12,5%)	NT	NT	NT	NT	NT
Nitrofurane	0(0%)	NT	NT	NT	NT	NT
Sulfamethoxazole-triméthoprime	5(62,5%)	NT	NT	NT	NT	NT
Vancomycine	--	NT	1(33,3%)	NT	1(100%)	1(33,3%)
Métronidazole	1(12,5%)	NT	1(33,3%)	NT	NT	NT
Cotrimoxazole	1(12,5%)	NT	2(66,7%)	NT	NT	NT
Fosfomycine	1(12,5%)	NT	1(33,3%)	NT	NT	2(66,7%)
Erythromycine	--	--	2(66,7%)	--	--	--

NB : -- Résistance naturelle
NB : NT Non testé

Les résultats de ce tableau montrent une résistance relativement élevée à la famille des quinolones, suivie des bêtalactamines. Les carbapénèmes et les furanes ont été les molécules les plus actives sur nos souches bactériennes. Aucun cas de résistance n'a été observé à l'Imipenème.

4.5 Résultats analytiques :

a) Culture et tranches d'âge :

Tableau X : Répartition des résultats de culture en fonction des tranches d'âge

Age(ans)	ECBU		Total
	Positive	Stérile	
[0 à 5[	(0,00)	6(4,13%)	6(4,13%)
[6 à 10[	(0,00)	13(8.96%)	13(8,96%)
[11 à 15[	1(0,68%)	16(11,04%)	17(11,72%)
[16 à 25[	**10(6,9%)**	**62(42,77%)**	**72(49,67%)**
[26 à 50[	7(4,82%)	30(20,70%)	37(25,52%)
Total	**18(12,4%)**	**127(87,60%)**	**145(100%)**

La tranche d'âge 16 à 25 ans a été la plus représentée avec une prévalence d'infection urinaire de 6,9%.

b) Phénotype drépanocytaire et tranches d'âge :

Tableau XI : Répartition de notre population d'étude en fonction des tranches d'âge et de phénotype drépanocytaire

Age/année	Phénotypes drépanocytaire				Total
	SS	SC	Sβ⁺ thalassémie	Sβ° thalassémie	
[0 à 5[	5(6,56%)	0(0,00)	0(0,00)	1(11,11%)	6(4.13)
[6 à 10[	7(9,17%)	4(8,32%)	0(0,00)	2(22,22%)	13(8.96)
[11 à 15[	11(14,41%)	5(10,40%)	0(0,00)	1(11,11%)	17(11.72)
[16 à 25[	**40(52,70%)**	**23(48,00%)**	**5(41,68%)**	**4(44,45%)**	**72(49.67)**
[26 à 50[	13(17,16%)	16(33,28%)	7(58,32%)	1(11,11%)	37(25.52)
Total	**76(100%)**	**48(100%)**	**12(100%)**	**9(100%)**	**145(100)**

La tranche d'âge 16 à 25 ans et le phénotype homozygote SS étaient les plus représentés avec 40 patients soit 52,70%, suivi du phénotype double hétérozygote SC et le phénotype Sβ⁺ thalassémie.

c) Entérobactéries et phénotypes de résistance :

Tableau XII : Phénotypes de résistance aux entérobactéries

Entérobactéries	Phénotypes de résistance									
	Bêtalactamines				Aminosides			Quinolones		
	Sauvage	Pase HN	BLSE	Case HN	Sauvage	KGT (ANT2-I)	KGTANt (AAC6) +association	Sauvage	GyrA ParC	2GyrA ParC
Escherichia coli (n=8)	1(12,5%)	3(37,5%)	3(3,5%)	1(12,5%)	6(75%)	1(12,5%)	1(12,5%)	3(37,5%)	1(12,5%)	4(50%)
Klebsiella pneumoniae (n=1)	--	--	1(100%)	--	--	--	1(100%)	--	--	1(100%)

Ce tableau montre que le phénotype sauvage a été le plus dominant suivi du phénotype *2Gyra ParC*, les BLSE ont été rencontrées chez quatre germes. *E. coli* a été le germe le plus résistant aux antibiotiques testés avec une très grande variété phénotypique.

d) Cocci phénotypes de résistances :

Tableau XIII : Phénotypes de résistances des cocci

Bactéries isolées	Phénotypes de résistance						
	Bêtalactamines			Glycopeptides		Macrolides	Aminosides
	Sauvage	Pase	Meti R (*mec*a/PLP2a)	Sauvage	VRSA	Efflux	Sauvage
Staphylococcus aureus (n=3)	2(66,66%)	--	1(33,33%)	--	1(33,33%)	1(33,33%)	--
Enterococcus faecalis (n=3)	2(66,66%)	1(33,33%)	--	2(66,66%)	--	1(33,33%)	1(33,33%)
Enterococcus faecium (n=2)	--	1(50%)	1(50%)	1(50%)		1(50%)	1(50%)
Streptococcus agalactiae (n=1)	--	1(100%)	--	--		--	

Les résultats de ce tableau montrent que *E. faecium* est le germe qui présente plus de variant phénotypique ; les souches sauvages étaient les plus rencontrées.

DISCUSSION

5 DISCUSSION

L'infection urinaire demeure partout dans le monde une pathologie fréquente. Il s'agit de la deuxième cause d'infections bactériennes communautaires après les infections respiratoires. C'est l'un des principaux motifs de consultations, d'explorations microbiologiques et de prescriptions d'antibiotiques avec leurs conséquences sur le coût des soins et du développement de résistances bactériennes [19–21].

5.1 Méthodologie

Nous avons conduit cette étude de nature transversale prospective qui nous a permis de rapporter 12,4% d'infection urinaire chez une population de 145 drépanocytaires reçus avec au moins un signe d'appel de cette infection. Notre étude avait pour objectif d'évaluer le profil de résistance aux antibiotiques des souches isolées au cours des infections urinaires chez les drépanocytaires.

Bien que l'acheminement des urines pour l'ECBU vers le laboratoire du CRLD s'est déroulé sans difficulté majeure, le traitement des ECBU a été confronté à des problèmes de pannes sur le Vitek 2 qui nous ont amené à transporter nos souches isolées au laboratoire de bactériologie de l'INSP pour la réalisation des antibiogrammes. L'idéal serait de pouvoir réaliser tous les tests bactériologiques sur place et de manière continuelle.

5.2 Caractéristiques de la population de notre étude

Les patients homozygotes SS étaient les plus représentés avec 52,4% soit 76 drépanocytaires, ceci pourrait s'expliquer par le fait que ce syndrome drépanocytaire majeur (SDM) constitue la population majoritaire suivie au CRLD où le recrutement a été effectué. Ce constat pourrait également être dû à une fréquentation du centre plus élevée des patients drépanocytaires homozygotes SS liée à la fréquence du nombre de crise drépanocytaire plus élevé dans cette population. Ces patients homozygotes étaient suivis de 33,1% soit 48 drépanocytaires doubles hétérozygotes SC, de 8,3% soit 12 $S\beta^+$ thalassémie et de 6,2% soit 9 $S\beta^\circ$ thalassémie de la population d'étude. Nos résultats sont similaires à ceux rapportés par **Mohamed Ag et *al.*** [22] en 2 016 au Mali et **Tekou et *al*.** [23] en 2000 au Togo. Ces auteurs étudiaient respectivement les étiologies de la fièvre chez l'enfant drépanocytaire au Mali et aussi le profil des ostéomyélites hématogènes chez l'enfant au Togo.

Dans notre étude, le sexe féminin représentait 66,2% de notre population avec un sexe ratio de 1,95. Ce même constat a été rapporté par **Nedjai et *al.*** [24] en 2012 en Algérie. Cette fréquence chez les femmes peut s'expliquer par la configuration anatomique, la brièveté de l'urètre à proximité des orifices anal et vaginal et l'insuffisance des pratiques d'hygiène [18, 19].
Les patients jeunes étaient les plus concernés, il s'agissait des jeunes avec une tranche d'âge de 16 à 25 ans. Ceci pourrait s'expliquer par le début de l'activité sexuelle dans cette tranche d'âge de notre population d'étude.

5.3 Fréquence des infections urinaires

L'exploration bactériologique des urines devant des signes d'appels d'infections a permis de documenter une infection urinaire chez 18 drépanocytaires soit 12,4% de la population étudiée. Ces résultats sont superposables à ceux rapportés par **Mohamed Ag et *al.*** [17] qui relèvent un taux de positivité de 14,28% dans une étude qui évaluait les étiologies des fièvres chez l'enfant drépanocytaire au Mali entre 2015 et 2016. Cependant **Diakité et *al***.[25] ont rapportés une fréquence inférieure à la nôtre qui était de 9,2% chez les enfant drépanocytaire suivi à la pédiatrie du CHU Gabriel Touré. Cela pourrait être dû au type de population étudiée sachant que la nôtre portait sur tous les patients drépanocytaires. Des fréquences plus élevées ont été rapportées par certains auteurs en Afrique, **Asinobi et *al.*** [5] et **Obaseiki-Ebor et *al.*** [26] ont trouvé des fréquences respectives de 21,1% et 20% d'infections urinaires. Aussi une étude réalisée sur l'infection des voies urinaires chez l'enfant fébrile avec anémie falciforme **Mava et *al.*** [4] en 2011 ont rapporté au Nigéria une prévalence de 26% qui est supérieures à la nôtre. Ces différences observées pour l'infection urinaire dans la population drépanocytaire à travers le monde pourraient s'expliquer par le type de phénotype drépanocytaire étudié.

5.4 Les souches bactériennes isolées au cours de notre étude

Nous avons retrouvé des bacilles à Gram négatifs non exigeants de la famille des entérobactéries. Il s'agissait d'*E. coli* chez 8 patients et *K. pneumoniae* chez (1) un patient, mais aussi des coques à Gram positifs avec *S. aureus* chez 3 patients, *S. agalactiae* chez (1) un patient et le genre *Enterococcus* chez 5 patients. Les résultats obtenus sont un peu contraires à ceux décrits dans la littérature où se sont les BGN qui sont fréquemment retrouvés chez le drépanocytaire.

Ce profil de distribution des agents bactériens retrouvés dans les urines de nos patients étudiés est différent de celui rapporté par **Mava et *al.*** [4] à Maiduguri au Nigéria en 2011**.** Des auteurs ont rapporté que les entérobactéries autres que les salmonelles sont retrouvées avec une fréquence anormalement élevée chez le drépanocytaire au cours des infections urinaires [7,27,28]. Une étude réalisée au CRLD confirme cette affirmation des auteurs qui diffère pour la présente étude. Cela pourrait s'expliquer par la variabilité en genre et âge de notre population d'étude par rapport aux autres réalisées antérieurement. Mais comme dans la littérature nos résultats montrent aussi que *Escherichi*a *coli* reste toujours le germe principalément incriminé dans les infections urinaires [18], devant les coques qui occupent une proportion importante parmi les germes isolés dans notre étude.

5.5 Résistance aux antibiotiques des souches bactériennes isolées

L'étude de la résistance aux antibiotiques des souches isolées au cours de notre étude a révélé que pratiquement, tous nos patients avaient des antécédents prophylactiques d'antibiothérapie avant le recueillis des échantillons analysés (85.5%). Il ressort de cette étude que nos germes isolés ont montré une résistance relativement considérable des espèces bactériennes isolées. Les entérobactéries ont dominé le profil bactériologique des infections urinaires et *Escherichi*a *coli* vient largement en tête des bactéries impliquées, ce qui est également le cas dans la littérature. [22–29–31]

Les souches d'*Escherichia coli* isolées au cours de notre étude exprimaient des taux de résistance élevés aux aminopénicillines (amoxicilline 62,5%), aux carboxypénicillines (ticarcilline 87,5%), Ces taux de résistance élevés sont comparables à ceux rapportés par **Serragui et *al.*** [32] en 2013 qui ont retrouvé 70% de résistance d'*E. coli* à l'amoxicilline et 90,3% de résistance à la ticarcilline obtenu par **Kamga et *al*.** [33] en 2014 au Cameroun.

L'association d'une bêtalactamine à un inhibiteur qui soit avec l'amoxicilline ou la Pipéracilline montre une résistance à ces associations de l'ordre de 37,5% chacune. Nos résultats sont comparables à ceux rapportés par **Thibaut et *al.*** [34] en 2011 en France qui ont retrouvé 36,0% de résistance d'*E coli* à l'amoxicilline associé à l'acide clavulanique. Ces fréquences élevées de résistance constituent un signal fort pour les prescripteurs et le monde scientifique pour développer des moyens de rationalisation de l'usage de ces associations.

Nous avons observé une résistance des souches d'*Escherichia coli* isolés de l'ordre de 37,5% pour les C1G et les C2G. Nos taux sont inférieurs à ceux rapportés par **Mohamed Ag et *al.*** [35] en 2016 à Bamako et **Kamga et *al.*** [33] en 2014 qui ont trouvé des taux de résistance respectivement de 60% aux C1G (cefalotine) et 70% aux C2G (céfotaxime) , et de 69,9% au céfotaxime [33]. Ces différences de valeur de résistance pourraient s'expliquer par la différence de population d'étude mais aussi par l'utilisation abusive de ces molécules dans les antibiothérapies probabilistes.

Nous avons observé une souche d'*E. coli* résistante à l'ertapénème. Ce constat est alarmant car cette molécule est considérée comme le dernier recours dans le traitement des infections dues aux BMR, L'imipénème a montré une très bonne activité sur nos germes d'une manière générale. Ce résultat s'explique par le coup excessif de ces molécules très peu ou même non utilisées dans les traitements probabilistes des infections bactériennes.

Les aminosides après les carbapénèmes ont été les molécules les moins résistants sur les souches isolées au cours de notre étude avec 12,5% de résistance sur nos souches de l'amikacine et 25% pour la gentamicine et la tobramycine. Ces résultats sont comparables avec ceux rapportés par **Hamze et *al.*** [36] en 2003 qui ont trouvé un taux de résistance des germes isolés de l'ordre de 11% à l'amikacine, 22% à la gentamicine, et 24% au tobramycine. Tous ces auteurs ont travaillé sur des patients non drépanocytaires.

La famille des quinolones étant considérée comme un moyen de prédilection thérapeutique dans les infections urinaires ; nous avons retrouvé dans notre étude une résistance aux antibiotiques des souches isolées de l'ordre de 50% pour l'acide nalidixique, 87,5% pour la ciprofloxacine et 75% pour l'ofloxacine. Nos résultats sont comparables à ceux rapportés par **Hamze et *al.*** [36] qui ont trouvé une résistance de 53% à l'acide nalidixique et 71% pour la ciprofloxacine. Ces taux sont supérieurs à ceux rapportés par **Abdallah et *al.*** [37] en 2008 qui ont trouvé une résistance de 28,3% pour l'ofloxacine.

Au terme de notre étude, 12,5% des souches d'*Escherichia coli* isolées ont été résistantes aux cyclines (tétracycline). Ce résultat est très inférieur à celui de **Abdallah et *al.*** [37] en 2008 au

Mauritanie qui ont rapporté 66,1% de résistance. Ce résultat pourrait s'expliquer par l'usage inapproprié et abusive de ces molécules le plus souvent associées aux quinolones dans le traitement des infections urinaires dans notre contexte.

Aucune résistance ne fut observée aux nitrofuranes, ce qui traduit son usage moins fréquent dans notre pays, d'où une pression de sélection presque absente.

Nous avons obtenu 62,5% de résistance à l'association sulfamethoxazole-triméthoprime. Ce résultat est comparable à celui de **Meier et *al.*** [38] en 2011 qui ont rapporté 75,9% de résistance mais, légèrement supérieur à celui de **Moutachakkir et *al.*** [39] en 2015 qui ont rapporté 47% de résistance sur les infections urinaires chez l'enfant au CHU de Marrakech.

Nous avons obtenu pour tous les autres antibiotiques testés, 12,5% à l'occurrence de la fosfomycine et le métronidazole. Ce faible taux de résistance à la fosfomycine est noté également par **Cho et *al.***[40] en 2015 qui ont rapporté 94,9% de sensibilité, soit une résistance de 5,1%, ce qui traduit qu'il reste un arsenal thérapeutique de première classe pour les praticiens.

Toutes les souches d'*Enterococcus faecalis* isolées ont été résistantes de 66,7% à la Péni A(amoxicilline), 33,3% à la doxycycline et 33,3% à la vancomycine. Ces taux diffèrent de ceux de **Bentroki et *al.*** [30] en 2012 qui ont obtenu un taux de résistance de 25% au Péni A.

Concernant *Enterococcus faecium* nous avons obtenu 50% de résistance à la ticarcilline, au pipéracilline-tazobactame, aux aminosides, à la ciprofloxacine et 33,3% à l'acide nalidixique.

Bourdon et *al.* [41] en 2011 en France dans une étude épidémiologique sur la résistance aux antibiotiques des entérocoques, ont retrouvé 95% de souches résistantes aux fluoroquinolones. Cette fréquence de résistance élevée pourrait s'expliquer par l'émergence de souches multi résistantes.

Les souches *Staphylococcus aureus* ont présenté une résistance de 33,3% à l'amoxicilline, à l'oxacilline, à l'amikacine et à l'acide nalidixique et 66,7% à l'érythromycine.

Bernard et *al.* [42] ont rapporté en 2008 un taux de résistance de 86% aux Péni A, 5,8% aux Péni M et 32% à l'érythromycine. Ces différences s'expliquent par l'usage restreint de ces antibiotiques dans nos pays.

Streptococcus agalactiae a présenté une résistance absolue à l'amoxicilline, à l'oxacilline, à l'amikacine, à la ciprofloxacine, à la vancomycine, et 33,3% de résistance à l'érythromycine. L'étude de **Ferjani et *al.*** [43] en 2006 en Tunisie nous montre le contraire avec une sensibilité totale à l'amoxicilline et une résistance de 51,3% à l'érythromycine.

5.6 Phénotypes de résistance des souches bactériennes isolées

L'étude de phénotype de résistance de nos souches uropathogènes isolées montre 12,5% pour *E. coli* de phénotype sauvage suivi de 66,7% pour *E. faecalis et S. aureus.* Nos résultats sont inférieurs à ceux rapportés par **Mohamed et *al.*** [18] en 2016 au CRLD. Dans cette étude réalisée dans une population pédiatrique drépanocytaire, les auteurs ont trouvé que 15,6% de l'ensemble des entérobactéries étudiées avait un phénotype sauvage. Cependant nos données sont supérieures à celles rapportées par **Gonsuet *al.*** [33] en 2014 à Yaoundé qui rapportent un taux de phénotype sauvage de 6,8% dans une étude réalisée sur le phénotype de résistance des souches *E coli* responsable d'infections urinaires dans le milieu communautaire.

En ce qui concerne les aminosides, le phénotype sauvage était de 75% pour *E. coli,* suivi de 33,3% pour *E. faecalis* et 50% pour *E. faecium.* Nos valeurs sont inférieures à celles rapportées par **Gonsu et *al.*** [33] en 2014 qui ont rapportés 51,4% de phénotype de résistance des souches d'*E. coli* en milieu communautaire. Par contre en 2016 dans le même centre mais sur une population pédiatrique des auteurs ont rapportés un phénotype sauvage aux aminosides de l'ordre 93,7% pour l'ensemble des entérobactéries isolées des urines et du sang [18]**.** Ces différences pourraient être liées à la variabilité de notre population d'étude qui concernait tous les patients drépanocytaires suivis au CRLD.

Pour la famille des bêtalactamines et des aminosides nous n'avons pas observés des souches sauvages de *K. pneumoniae,* de *S. agalactiae*, et d'*E. faecium* pour la famille des bêtalactamines et de *S. aureus* pour la famille des aminosides.

En ce qui concerne la famille des quinolones et des glycopeptides nous avons trouvés respectivement 37,5% et 66,7% de phénotype de résistance aux antibiotiques testés de ces familles. Ce résultat pour les quinolones est comparable à celui rapporté par **Gonsu et al** en 2014 au Cameroun. Nos pourcentages sont inférieurs à ceux rapportés par **Mohamed Ag et *al***. [18] en 2016 qui ont trouvé 78,1% de phénotype de résistance sauvage pour les quinolones. Le taux bas de notre étude pourrait s'expliquer par la mise en pratique des recommandations formulées à la sortie des résultats de l'étude réalisée sur les phénotypes de résistance des souches isolées des urines et des bactériémies chez l'enfant drépanocytaire au Mali [18]

Pour les phénotypes de résistance acquis pouvant être qualifiés de haut niveau, nous avons retrouvé au cours de notre étude 37,5% et 12,5% de souche d'*E. coli* productrices respectivement de PHN et CHN. Nos souches d'*E. coli* isolées étaient retrouvées productrices de bétalactamases à spectre élargi (BLSE) dans 37,5% de cas. Pour les phénotypes de résistance

acquis aux aminosides 12,5% de souches d'*E. coli* portaient le phénotype KTG et KGTANt association. Au cours de l'étude de **Mohamed Ag et *al.*** [18] en 2016 les auteurs ont rapportés 28% de souches isolées productrices de BLSE. Ces valeurs sont supérieures aux nôtres. Cette différence peut être liée au fait que la valeur rapportée dans notre étude ne concerne que la seule souche d'*E. coli* ce qui est contraire à l'étude réalisée en 2016 par l'équipe du CRLD.

Pour les quinolones testées, environ 50% de souches d'*E. coli* présentaient une résistance de haut niveau qui associe une altération concomitante sur le gène *gyrA* et le gène *parC*. Nous avons retrouvé dans notre étude un phénotype mixte de résistance associant le gène gyrA et parC avec 12,5%. Cette émergence des souches résistantes aux quinolones pourrait être la conséquence de la mise en œuvre des recommandations de la conférence de consensus sur la prescription des quinolones en première intention en remplacement de l'amoxicilline [44].

Les souches de *S. aureus* ont présentés 33,3% de phénotype VRSA, et Meti R.

Ce résultat concernant les souches de *S. aureus* est différent de celui rapporté par **Hamid et *al.*** [45] qui ont rapporté 16,6% de souches de *S. aureus* Meti R dans une étude de caractérisation phénotypique et génotypique de la résistance de *Staphylococcus aureus* à la méticilline.

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

6 CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

CONCLUSION

Au terme de notre étude 145 patients drépanocytaires ont été enrôlés selon nos critères d'inclusion chez qui nous avons isolés 18 souches bactériennes soit 12.4% d'infection urinaire avec une prédominance d'*E. coli* suivi de *S. aureus*. Le profil homozygote SS a été le phénotype drépanocytaire majoritaire avec 76 soit 52.4% suivi de 48 drépanocytaires double hétérozygotes SC soit 33.1%. L'antibiogramme de nos souches isolées présentaient un niveau de résistance élevé à plusieurs familles d'antibiotiques en revanche elles présentaient une très bonne sensibilité à l'imipenème et aux furanes. Nous avons obtenu plusieurs phénotypes de résistance dont le plus fréquent était le phénotype de haut niveau qui associe une altération concomitante sur le gène *gyrA* et le gène *parC* suivi des phénotypes BLSE et PHN.

Cette croissance des BMR est un signal fort qui sans suivi concret, peut conduire à une impasse thérapeutique.

6.1 RECOMMANDATIONS

A l'Institut National de Santé Publique :

- Impliquer le CRLD dans le système de surveillance à la résistance aux antimicrobiens aux Mali.

Au Centre de Recherche et de Lutte contre la Drépanocytose :

- Elargir le champ d'exploration du laboratoire par la mise en place d'équipements pour la recherche des infections bactériennes afin d'améliorer la prise en charge des drépanocytaires.
- Mettre sur place une unité opérationnelle de diagnostic microbiologique en routine.

Aux chercheurs du CRLD :

- Inscrire ce travail dans la continuité en l'élargissant à d'autres produits pathologiques chez le drépanocytaire.
- Explorer les gènes de résistance et les facteurs de virulence exprimés par ces souches bactériennes isolées au laboratoire du centre.
- Poursuivre la surveillance bactérienne.

7 REFERENCES

1. Eleonore K, Amadou N, Eric Adehoss, Olivat RA, Ibrahima D, Dapa Aly D. Guide de prise en charge, la drépanocytose en Afrique. 1re éd. Paris : Monaco hebdo ; 2018. 62 p.

2. Ibrahima T. Les infections bactériennes invasives chez l'enfant drépanocytaire fébrile âgé de 6 mois à 15 ans au CRLD de Bamako, Mali. Thèse de Pharmacie [Bamako] : FAPH ; 2015.

3. Isabelle H, Léna C. L'enfant drépanocytaire aux urgences. Médecine thérapeutique / Pédiatrie. Janvier 2008 ;11(1) :35-42.

4. Mava Y, Ambe JP, Bello M, Watila I, Nottidge VA. Urinary tract infection in febrile children with sickle cell anemia. West Afrique J Med. 2011 ;30(4) :268-72.

5. Asinobi AO, Fatunde OJ, Brown BJ, Osinusi K, Fasina NA. Urinary tract infection in febrile children with sickle cell anemia in Ibadan, Nigeria. Annals of Tropical Paediatrics. 2003 ;23(2) :129-34.

6. Millet A, Hullo E, Armari Alla C, Bost-Bru C, Durand C, Nugues F, et al. Drépanocytose et salmonelloses invasives ostéo-articulaires. Archives de Pédiatrie. 2012 ;19(3) :267-70.

7. Barrett-Connor E. Bacterial infection and sickle cell anemia. An analysis of 250 infections in 166 patients and a review of the literature. Medicine (Baltimore). 1971 ;50(2) :97-112.

8. Mallouh AA, Salamah MM. Pattern of bacterial infections in homozygous sickle cell disease. A report from Saudi Arabia. Am J Dis Child. 1985 ;139(8) :820-2.

9. Tarry WF, Duckett JW, Snyder HMcC. Urological Complications of Sickle Cell Disease in a Pediatric Population. Journal of Urology. 1987 ;138(3) :592-4.

10. Mava Y, Bello M, Ambe JP, Zailani SB. Antimicrobial sensitivity pattern of organisms causing urinary tract infection in children with sickle cell anemia in Maiduguri, Nigeria. Niger J Clin Pract. 2012 ;15(4) :420-3.

11. Koko J, Kani F, Reymond-Yéni A, Onewin-Andjanga G, Moussavou A, Gahouma D. Infections bactériennes chez l'enfant drépanocytaire à Libreville. Archives de pédiatrie. 1999 ;6(10) :1131–1132.

12. Diallo DA. La drépanocytose en Afrique : problématique, stratégies pour une amélioration de la survie et de la qualité de vie du drépanocytaire. Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine. 2008 ;192(7) :1361-73.

13. El Bouamri MC, Arsalane L, Kamouni Y, Berraha M, Zouhair S. Évolution récente du profil épidémiologique des entérobactéries uropathogènes productrices de β-lactamases à spectre élargi à Marrakech, Maroc. Progrès en Urologie. 2014 ;24(7) :451-5.

14. Sharan R, Kumar D, Mukherjee B. Bacteriology and antibiotic resistance pattern in community acquired urinary tract infection. Indian Pediatr. 2013 ;50(7) :707-707.

15. Hailaji NSM, Ould Salem ML, Ghaber SM. La sensibilité aux antibiotiques des bactéries uropathogènes dans la ville de Nouakchott – Mauritanie. Progrès en Urologie. 2016 ;26(6) :346-52.

16. Seydou SY. Profil épidémiologique et bactériologique des infections urinaires à entérobactéries productrices de bêtalactamases à spectre élargi (E-BLSE) dans le service de néphrologie du CHU du Point G, Bamako, Mali. Revue Africaine et Malgache de Recherche Scientifique/Sciences de la Santé. 2021 ;2(2).

17. Mohamed Ag B, Aldiouma G, Yeya dit Sadio S, Boubacari Ali T, Abdoul Karim D, Ibrahima T. Bacterial Etiologies of Fever in Sickle Cell Children followed up at "Centre de Recherche et de Lutte Contre la Drépanocytose" – Mali. Journal of Paediatric Laboratory Medicine urinal of Paediatric Laboratory. 2016 ;1(1) :6.

18. Mohamed Ag B, Dembele, A, Sarro Y, Touré B, Traoré I, Kene S, et al. Resistance Phenotypes of Bacterial Strains Responsible for Urinary Infections and Bacteraemia among Febrile Children with Sickle Cell Anaemia in Mali. JBR Journal of Clinical Diagnosis and Research. 2016 ;4(1) :4.

19. Hickling DR, Sun T-T, Wu X-R. Anatomy and Physiology of the Urinary Tract : Relation to Host Defense and Microbial Infection. Microbiology Spectrum [Internet]. 6 août 2015 ; 3(4).

20. Emonet S, Harbarth S, van Delden C. Infection urinaire de l'adulte. : Revue Médicale Suisse. 2011 ; (7) :912-6.

21. Zahir H, Arsalane L, Mouhib H, Nakhli R. Profil bactériologique actuel de l'infection urinaire communautaire et état de résistance aux antibiotiques. Journal de Biologie Médicale. 2020 ;8(32) :6.

22. Mohamed Ag B, Aldiouma G, Yeya dit Sadio S, Boubacari Ali T, Dembélé A, Traoré I. Pathogens Causes of Fever in Sickle Cell Children in Mali. Journal of Paediatric Laboratory Medicine. 2017 ;1(1) :1-2.

23. Tekou H, Foly A, Akue B. [Current profile of hematogenous osteomyelitis in children at the Tokoin University Hospital Center in Lome, Togo. Report of 145 cases]. Med Trop. 2000 ;60(4) :365-8.

24. Nedjai S, Barguigua A, Djahmi N, Jamali L, Zerouali K, Dekhil M, et al. Prevalence and characterization of extended spectrum β-lactamases in Klebsiella-Enterobacter-Serratia group bacteria, in Algeria. Médecine et Maladies Infectieuses. 2012 ;42(1) :20-9.

25. Diakité A, Balilé H, Traoré A. Infections bactériennes invasives chez l'enfant drépanocytaire à Bamako, Mali. RMIM. 2015 ; 5 :26-40.

26. Obaseiki-Ebor EE. Trimethoprim/sulphamethoxazole resistance in Escherichia coli and Klebsiella spp. Urinary isolates. African Journal of Medicine and Medical Sciences. 1988 ;17(3) :175-9.

27. Sonia D, Kisito N, Laure T, Ismaël T, Madibèlè K, Fla K, et al. Syndromes drépanocytaires majeurs et infections associées chez l'enfant au Burkina Faso. Pan Afr Med J. 2017 ; 26.

28. Koko J, Dufillot D, M'Ba-Meyo J, Gahouma D, Kani F. Mortalité des enfants drépanocytaires dans un service de pédiatrie en Afrique Centrale. Archives de Pédiatrie. 1998 ;5(9) :965-9.

29. Sbiti M, Lahmadi khalid, louzi L. Profil épidémiologique des entérobactéries uropathogènes productrices de bêta-lactamases à spectre élargi. Pan Afr Med J [Internet]. 2017;28.

30. Bentroki AA, Gouri A, Yakhlef A, Touaref A, Gueroudj A, Bensouilah T. Antibiotic resistance of strains isolated from community acquired urinary tract infections between 2007 and 2011 in Guelma (Algeria). Annales de biologie clinique. 2012 ;70(6) :666-8.

31. Chemlal A, Karimi I, Benabdellah N, Alaoui F, Alaoui S, Haddiya I, et al. Infections urinaires chez le patient atteint d'insuffisance rénale chronique en néphrologie : profil bactériologique et pronostic. Néphrologie & Thérapeutique. 2015 ;11(5) :399.

32. Serragui S, Derraji S, Mahassine F, Cherrah Y. Résistance bactérienne : états des lieux au Maroc. Maroc Médical. 2013 ;7.

33. Kamga HG, Nzengang R, Toukam M, Sando Z, Shiro SK. Phénotypes de résistance des souches d'Escherichia coli responsables des infections urinaires communautaires dans la ville de Yaoundé (Cameroun). Afr J Pathol Microbiol. 2014 ;3 :1-4.

34. Thibaut S, Jocelyne C, Guy G, Françoise B. Réseau MedQual : surveillance de l'évolution des résistances des souches d'Escherichia coli isolées en ville. Journal de Biologie Médicale. Mars 2020 ;8 (32) :4.

35. M Ag B, Dapa Aly D. Resistance Phenotypes of Bacterial Strains Responsible for Urinary Infections and Bacteraemia among Febrile Children with Sickle Cell Anaemia in Mali. JBR Journal of Clinical Diagnosis and Research. 2016 ;4(1) :1-4.

36. Hamze M, Dabboussi F, Izard D. [Enterobacterial susceptibility to antibiotics in northern Lebanon (1998-2001)]. Sante. 2003 ;13(2) :107-12.

37. Abdallah HB, Noomen S, Khélifa ABE, Sahnoun O, Elargoubi A, Mastouri M. Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches de Pseudomonas aeruginosa isolées dans la région de Monastir. Médecine et Maladies Infectieuses. 2008 ;38(10) :554-6.

38. Meier S, Weber R, Zbinden R, Ruef C, Hasse B. Extended-spectrum β-lactamase-producing Gram-negative pathogens in community-acquired urinary tract infections : an increasing challenge for antimicrobial therapy. Infection. 2011 ;39(4) :333-40.

39. Moutachakkir M, Chinbo M, Elkhoudri N, Soraa N. La résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries uropathogènes en milieu pédiatrique au CHU de Marrakech. Journal de Pédiatrie et de Puériculture. 2015 ;28(1) :16-22.

40. Cho YH, Jung SI, Chung HS, Yu HS, Hwang EC, Kim S-O, et al. Antimicrobial susceptibilities of extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae in health care-associated urinary tract infection : focus on susceptibility to fosfomycin. International Urology and Nephrology. 2015 ;47(7) :1059-66.

41. Bourdon N. Épidémiologie de la résistance aux antibiotiques chez les entérocoques en France. Journal des Anti-infectieux. 2011 ;13(1) :2-11.

42. Bernard P, Jarlier V, Santerre-Henriksen A. Sensibilité aux antibiotiques des souches de Staphylococcus aureus responsables d'infections cutanées communautaires. Annales de Dermatologie et de Vénéréologie. 2008 ;135(1) :13-9.

43. Ferjani A, Abdallah HB, Saida NB, Gozzi C, Boukadida J. Portage vaginal de Streptococcus agalactiae chez la femme enceinte en Tunisie : facteurs de risque et sensibilité aux antibiotiques des isolats. Bull Soc Pathol Exot. 2006 ; 99-102.

44. Conférence de consensus co-organisée par la Société de pathologie infectieuse de langue française (SPILF) et l'Association française d'urologie (AFU) – Infections urinaires nosocomiales de l'adulte. Médecine et Maladies Infectieuses. 2003 ; 33 :193-215.

45. Hamid S, Bhat MA, Mir IA, Taku A, Badroo GA, Nazki S, et al. Phenotypic and genotypic characterization of methicillin-resistant Staphylococcus aureus from bovine mastitis. Vet World. 2017 ;10(3) :363-7.

ANNEXES

Annexe I :

MODE OPERATOIRE DE L'EXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUE DES URINES

Principe

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

Matériel

Bocal (aérobie et anaérobie) ;

- Automate (mini API - VITEK 2 Compact) ;
- Densitomètre ;
- Vortex ;
- Cassette VITEK 2.

Consommables

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

Milieu de culture

- Gélose **URI SELECT4**

Etape pré analytique

Nature du prélèvement

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

Le recueil des urines est une étape essentielle qui conditionne pour une grande part la qualité et l'interprétation de l'examen

Cf. Mode opératoire du prélèvement cytobactériologique des urines.

Réf. **M07 ANA BAC- 029 V2**

Analytique

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

Examen macroscopique

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

Aspect *:* limpide, légèrement trouble, trouble, hémorragique,

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

Mise en culture

Ensemencer systématiquement pour éviter toute contamination des urines :

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

  -Immerger l'oese dans l'urine en la tenant verticalement ;

  -Décharger le contenu de cette oese en appuyant la boucle sur le haut de la gélose Uriselect 4 ;

  - Tirer de ce point une verticale jusqu'au 1/3 de la boîte ;

  -Sans recharger l'oese, faire des stries perpendiculaires serrées en partant du point de dépôt jusqu'à la fin ;

  -Si la technique est correctement réalisée et si le dépôt n'est pas trop important, après incubation, la boite doit présenter des colonies isolées.

- Mettre la gélose **Uri select 4** dans un bocal (aérobie) et laisser incuber à 37°C pendant 24h.

- **L'examen microscopique**

- Comptage des éléments

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

※ Les cylindres hyalins correspondent à une accumulation physiologique des protéines d'origine tubulaire qui se moulent dans les lumières tubulaires. Ces cylindres, qui ne contiennent aucune inclusion, ne sont pas pathologiques.

※ Tous les autres cylindres sont pathologiques et témoignent d'une atteinte rénale (granuleux, leucocytaires, hématiques …).

CYLINDRES À L'EXAMEN DIRECT

Fig. 11. - Hyalin.

Fig. 12. - Cireux.

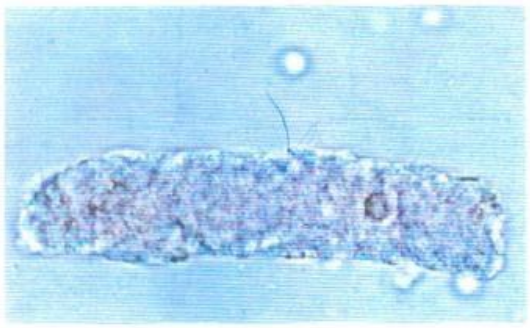


Fig. 13. - Granuleux.

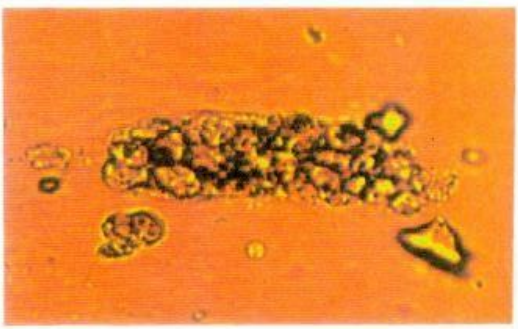


Fig. 14. - Leucocytaire.

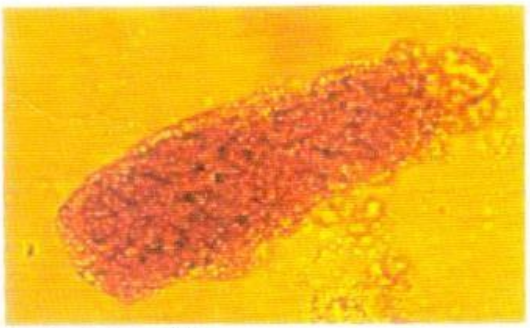


Fig. 15. - Hémoglobinique.

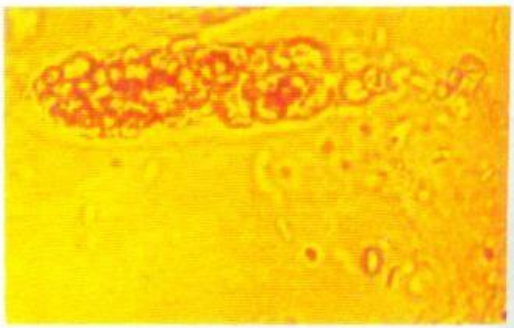


Fig. 16. - Hématique.

CRISTAUX À L'EXAMEN DIRECT

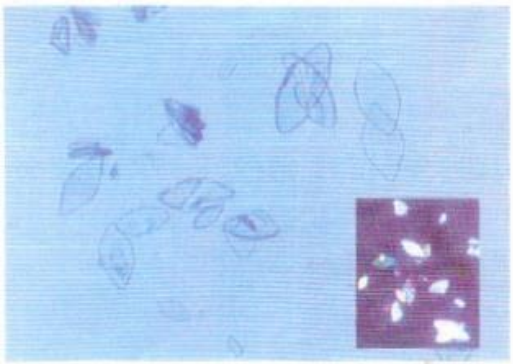


Fig. 1. - Acide urique (direct + lumière polarisée).

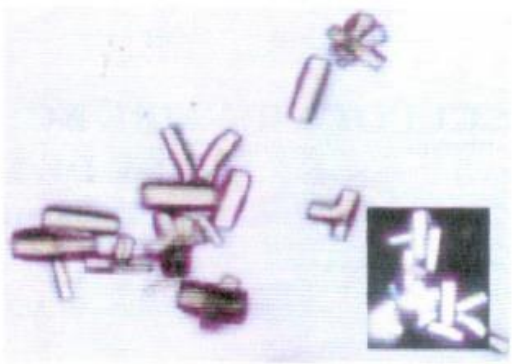


Fig. 2. - Acide urique (direct + lumière polarisée).

Fig. 3. - Urate.

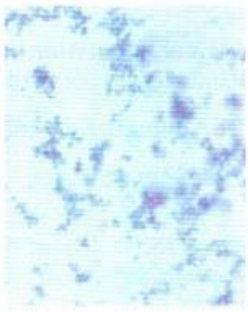


Fig. 4. - Phosphate amorphe.

Fig. 5. - Oxalate de calcium.

Fig. 6. - Phosphate ammoniaco-magnésien.

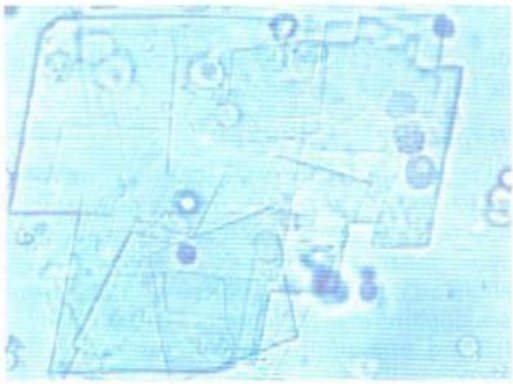


Fig. 7. - Cholestérol.

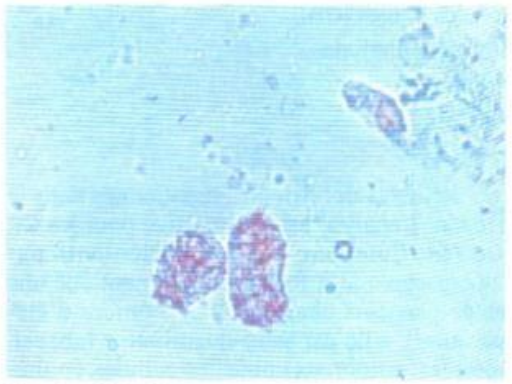


Fig. 8. - Bilirubine.

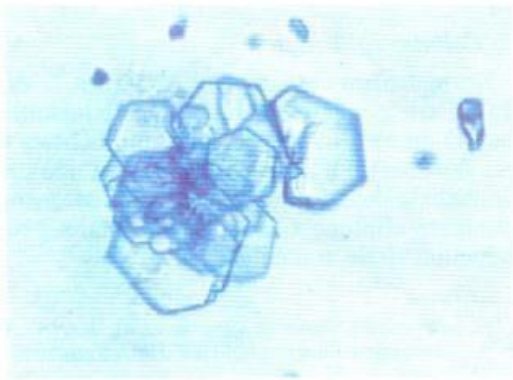


Fig. 9. - Cystine.

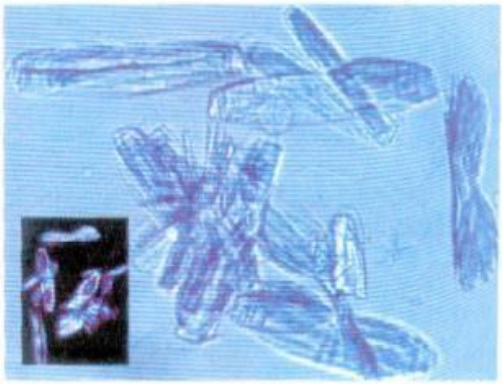
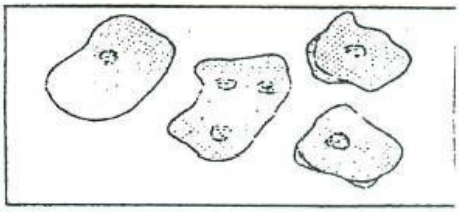


Fig. 10. - Cristaux médicamenteux.

F. Cellules épithéliales

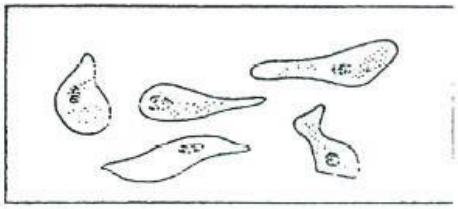
1. *Cellules épithéliales pavimenteuses*

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



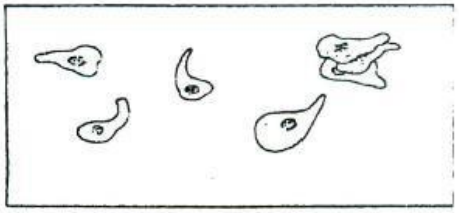
2. *Cellules de la vessie*

Grandes cellules souvent en losange, avec un noyau bien distinct.



3. *Cellules du bassinet*

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

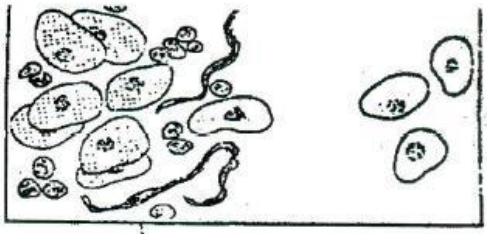


Cellules de l'urètre ou du bassinet

Cellules moyennes, ovales, à noyau bien distinct.

Si elles sont nombreuses, accompagnées de leucocytes et de filaments, elles peuvent provenir de l'urètre.

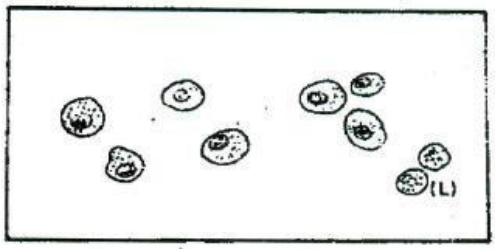
Si elles sont peu nombreuses, sans leucocytes, il peut s'agir de cellules du bassinet.



Cellules rénales

Les cellules rénales sont petites.
- larges comme 1 à 2 leucocytes (L)
- très granuleuses.

Le noyau y est nettement visible, réfringent. Elles sont presque toujours accompagnées de protéines dans l'urine.



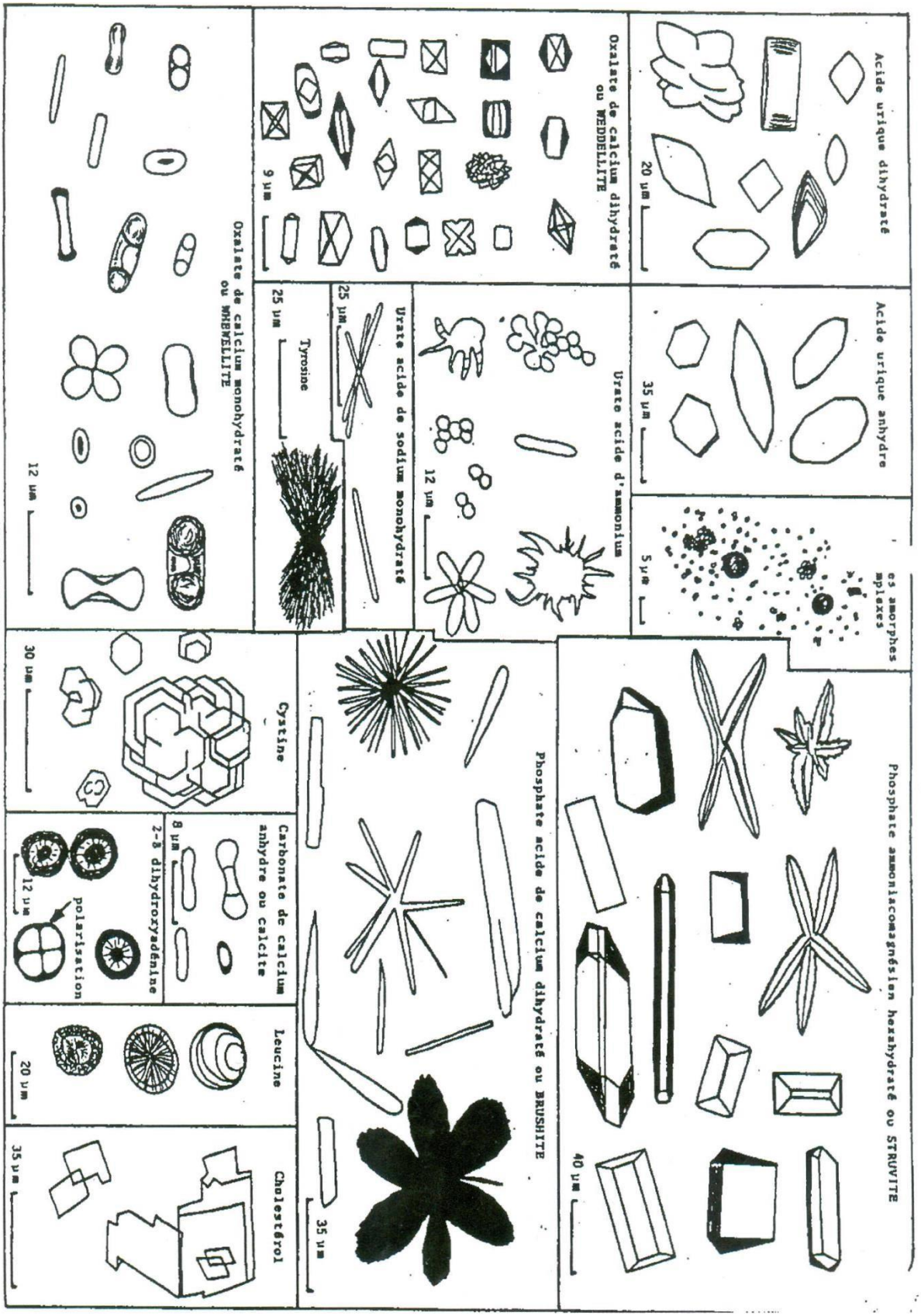


PLANCHE DE CRISTAUX URINAIRES

- Préparation du culot urinaire

-Homogénéiser l'urine ;

-Remplir les 3/4 d'un tube conique à centrifuger ;

-Centrifuger 5 minutes à 35 00 tours/minute ;

-Rejeter le surnageant dans le lavabo, en retournant le tube conique ;

-Remettre en suspension le culot en aspirant et refoulant doucement trois fois avec une pipette ;

-Etaler le culot sur une lame portant le numéro d'identification du patient pour la coloration de Gram

Cf. Mode opératoire de la coloration de Gram.

-En suivant les règles d'utilisation du microscope, observer le frottis à l'immersion (objectif ×100).

- Dosages de protéines et du glucose

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

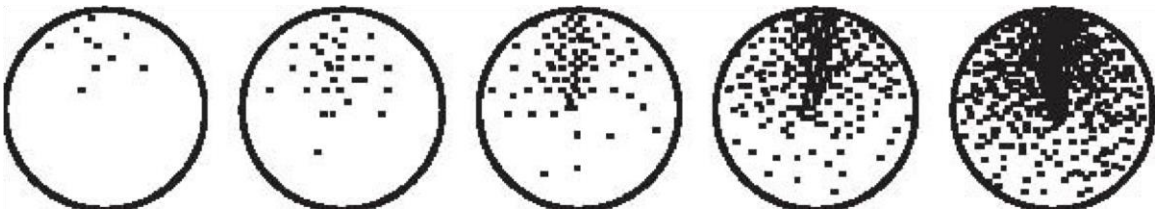
- Ne pas toucher les zones réactives de la bandelette,
- La plonger dans l'urine et la retirer immédiatement en éliminant l'excès d'urine en tapotant légèrement la tranche de la bandelette sur le bord du récipient.
- La tenir horizontale pour éviter toute interférence avec les réactifs des plages voisines.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

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

Lecture et interprétation

- Numération

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



10^2 **10^4** **10^5** **10^6** **10^7**

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

Leucocyturie (leuco/ml)	Bactériurie (bact/ml)	**Interprétation**
<10/mm3	$<10^2$	Urine normale, non infectée
>10/mm3	$>10^2$	Infection urinaire, habituellement mono microbienne, et poly microbienne chez un porteur d'une sonde à demeure
< 10/mm3	$>10^2$	Discordance entre absence de réaction cellulaire et bactériurie : infection débutante, contamination, infection sur terrain particulier
< 10/mm3	10^2 à 10^5	Contamination, prélèvement incorrecte. Un nouveau prélèvement est nécessaire
>10/mm3	$< 10^2$	Leucocyturie sans germe. Infection à BK, infection traitée par antibiotique, ou cause non bactérienne

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

- Identification

Etablir le diagnostic en fonction de la couleur des colonies :

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

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

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

Coloration incolore :

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

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

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

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

Réf. M07 ANA BAC- 023 V1

Coloration bleue : réaliser un examen microscopique :

Bacille à Gram négatif : il y a forte présomption de bactérie appartenant au groupe K.E.S.C (*Klebsiella –Enterobacter – Serratia- citrobacter*) ; faire une identification par l'automate Vitek 2 Compact ou Mini Api

Cocci à Gram positif : forte présomption d'Entérocoque

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

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

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

Annexe II :

MODE OPERATOIRE DE LA RECHERCHE DE LA CATALASE

But :

La recherche de la catalase est réalisée pour différencier les germes :

- Streptococcus (catalase négative) du genre Staphylococcus (catalase positive)
- Bacillus (catalase positive) du genre Clostridium (catalase négative)
- Listeria (catalase positive) et/ou Corynebacterium (catalase positive) du genre Erysipelothrix (catalase négative)

Principe

La catalase est une enzyme qui hydrolyse le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène. La présence de catalase est détectée chez les micro-organismes par une libération d'oxygène à partir d'eau oxygénée.
La présence d'un agent épaississant et d'un colorant facilite l'observation du dégagement gazeux.

Matériels

- Le réactif de catalase ;
- La lame porte-objet ;
- Le bâtonnet ;
- La souche pure.

Contrôle de qualité

L'activité du réactif peut être testée vis-à-vis des souches suivantes :

- ***Staphylococcus aureus*** ATCC 25923, la catalase est **positive**
- ***Enterococcus faecalis*** ATCC 29212, la catalase est **négative**

Réalisation du teste

Laisser les flacons revenir à la température ambiante

- **Test sur lame**

- Déposer su la lame une goutte de catalase ;
- Disperser 1 à 2 colonies dans la goutte
- A l'aide d'un bâtonnet, bien triturer.

- **Test direct sur**
  - Déposer une goutte d'ID color directement sur la colonie.

Résultat

Le test doit être réalisé sur des colonies de 18 à 24 heures après incubation. Les colonies plus âgées pourraient perdre leur catalase et donner des faux négatifs. La présence de catalase se matérialise par une production de bulles ;

Les entérobactéries sont toutes les bactéries catalase positive, à l'exception de shigella dysenteriae ;

Les bacilles à Gram négatif non fermentaires sont en général, catalase positive telles que Pseudomonas, acinetobacter….. quelques cocci à Gram positif sont catalase positive comme les staphylocoques.

Annexe III :

MODE OPERATOIRE DE LA RECHERCHE DE L'OXYDASE

But du test :

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

Principe

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

Matériel

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

Condition de stockage

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

Nature de l'échantillon

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

Contrôle de qualité

L'activité du réactif peut être testée à l'aide des souches suivantes cultivées sur géloses Trypcase Soja (ou Drygalski) :

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

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

Réalisation du test

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

Résultat

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

NB :

- La réaction d'oxydase ne doit pas être réalisée sur des colonies obtenues sur gélose EMB ou
  CHAPMAN 2, ni sur des colonies issues d'une culture de 48 heures sur des milieux gélosés solides.
- La recherche de l'oxydase ne doit pas être effectuée sur des colonies isolées présentant une coloration spontanée (couleur violette, rose, noire…). Dans ce cas, la lecture du test est impossible.
- L'utilisation d'un volume de réactif trop important peut entraîner des résultats faussement négatifs. N'utiliser qu'une seule goutte de réactif comme indiqué dans le mode opératoire.
- Il est conseillé d'utiliser une oese ou une aiguille en platine ou en plastique pour le test de l'oxydase. Toute trace de fer (nichrome) peut catalyser la réaction de l'oxydase et conduire à une réaction faussement positive.
- Tout réactif partiellement utilisé doit être éliminé au bout de 12 heures.
- Les genres faiblement producteurs d'oxydase comme les *Pasteurella*, peuvent donner des résultats négatifs.
- Des résultats faussement négatifs peuvent survenir en cas de cultures mixtes de *Pseudomonas* et *Neisseria*. Une substance inhibitrice est produite par ***Pseudomonas spp***. interférant avec la production d'oxydase de ***Neisseria spp***.

Gestion des déchets

Les réactifs non utilisés peuvent être éliminés comme déchets non dangereux.
Eliminer les réactifs utilisés ainsi que les matériels à usage unique contaminés en suivant les procédures relatives aux produits infectieux ou potentiellement infectieux.

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

Annexe IV :

MODE OPERATOIRE D'UTILISATION DU VITEK 2 COMPACT

Principe :

Entièrement automatisé, l'instrument permet de réaliser des tests d'identification et d'antibiogramme **rapides** et **précis.** Le système Vitek 2 Compact est destiné à l'identification des bactéries et levures, ainsi qu'à la réalisation d'antibiogrammes pour les bactéries significatives sur le plan clinique. Le système comprend l'instrument Vitek 2 Compact, un ordinateur et une imprimante.
Le logiciel fourni par le système Vitek 2 Compact inclut des programmes d'analyses, de gestion de données et un système de contrôle de qualité afin de valider le kit test du Vitek 2 Compact.

Mode opératoire

Prendre le flacon eau saline Vitek 2, introduire la dispensette ;
Prendre des tubes secs pour Vitek 2, y introduire dans les puits de l cassette ;
La cassette peut prendre jusqu'à 10 tubes soit 2x5 (identification+ antibiogramme) ;
Mettre dans chaque tube, 3ml de la solution saline du Vitek 2 à l'aide de la dispensette préalablement réglée à 3 ml.
Pour un germe, deux tubes secs seront utilisés dont l'un servira à l'identification et l'autre à l'antibiogramme ;
Sur une feuille vierge, porter la date et le numéro de l'échantillon ainsi que le nom approximatif du germe à identifier ;
A partir de la culture pure sur gélose (culture jeune 24 h), à l'aide d'une Oese, prélevé quelques colonies et les introduire dans le tube sec contenant la solution saline ;
Homogénéiser la suspension et bien vortexer ;
A l'aide du densitomètre, mesurer la concentration bactérienne à **0,5 McFarland** ;

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

Préparer la solution pour antibiogramme :

Si la bactérie à identifier est à :

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

A partir de la suspension bactérienne, pipeter en fonction de la nature du germe suspecté (BGN ou BGP) et diluer dans 3ml d'eau saline contenu dans le tube voisin. On aurait ainsi préparé la suspension pour l'antibiogramme.

Placer la carte d'identification (soit GN, soit GP ou YST) et la carte pour l'antibiogramme (soit AST- N, soit SST- P ou AST- Y) en fonction de la nature du germe sur la cassette.

NB : différentes cartes utilisables :

Streptocoques et entérocoques : ID : GP 67, réf 22226 ; ATB : AST-P 586, réf 22276

Staphylocoques : ID GP : réf 21342. ATB : AST-P 580, réf 22233

ID GN **:** réf 21341 ; ATB **:** non entérobactéries **:** AST- 222, réf 413083 ; entérobactéries

:

AST-N 233, réf 413117 o Levures : ID : YST, réf 21343 ; ATB

: AST-YS01, réf 22108

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

Mettre Identifiant **: labsuper,** le mot de passe **: labsuper**

Cliquer sur gérer la cassette virtuelle

Créer une cassette virtuelle Identification de la cassette 1, 2, ….

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

Saisir les données de l'isolat ;

Entrer les informations de l'isolat (numéro attribué au laboratoire,

nom du germe si déjà identifié par d'autres techniques)

Puis enregistrer les données de la cassette virtuelle

Au niveau de l'automate Vitek 2 Compact ;

Ouvrir le capot de remplissage et insérer la cassette à l'intérieur de la chambre ;

Fermer le capot de remplissage ;

Appuyer sur la touche **Lancer remplissage,** un bip indique que le cycle de remplissage est terminé ;

Retirer la cassette du capot de remplissage et l'introduire dans la chambre de lecture où s'effectue le scellage. Le processus de chargement/déchargement permet la lecture du code à barre des cartes et le code à barre de la cassette ;

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

On attend le jour suivant où les résultats seront imprimés.

Résultats

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

Exemple : la bétalactamases des entérobactéries, *Staphylococcus aureus* résistant à méthicyline et vancomycine, *Pseudomonas* résistant à l'imipenème…et les phénotypes des souches sauvages (le germe sensible à tous les antibiotiques testés excepté les sensibilités naturelles).

Gestion des déchets

Retrait des cartes éjectées :

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

Retrait du réceptacle collecteur de déchet :

Ouvrir le capot du récipient collecteur de déchets. Noter que les cartes usagées sont stockées à l'intérieur du réceptacle ;

Retirer le réceptacle collecteur de déchet de la station de travail en tirant sur le bord avant, vers soi ;

Jeter les cartes usagées dans la poubelle de déchets contaminés ;

Remettre en place le réceptacle collecteur de déchets en le faisant glisser vers l'intérieur ;

Fermer le capot du récipient collecteur de déchets.

Annexe V :

MODE OPERATOIRE DE LA TECHNIQUE DE COLORATION DE GRAM

Principe

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

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

Matériel

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

Consommable

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

Réactif

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

Nature du prélèvement

Frottis d'un produit pathologique bien séché sur une lame

Contrôle de qualité

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

Technique

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

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

Résultat

A la coloration de Gram :

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

Fiche de collecte

Profil de résistance aux antibiotiques des souches uropathogènes isolées dans une population drépanocytaire au CRLD, Mali

NUMERO D'ETUDE (**identification**) : …… DATE D'INCLUSION……..……/……/…...../jj-mm-aaaa

NUMERO IDENTIFICATION CRLD : ……

1. Données sociodémographiques

Nom et Prénom du patient

…….....

Sexe : □Masculin □Féminin Date de naissance …..…/…… /……..

Age……Ans/mois

Nationalité : □Malienne □Autre à préciser…….

Occupation : …… Phénotype drépanocytaire :……

2. Etat clinique

Hospitalisation : □Oui □Non Si oui date de la fin de la prise : ……..

Description du traitement à base d'antibiotiques reçu avant les prélèvements :

Prise d'antibiotiques (ATB) *:* □Oui □Non Si oui date de la fin de la prise : ……

Température : ……../□C

Suspicion d'infection urinaire □ prélèvement d'urines

□Fièvre □Hématurie □Brulures mictionnelles

□Dysurie □Pollakiurie □Douleur lombaire

□Présence de leucocytes □Présence de nitrites

3. Facteurs de risque d'infections :

□Chirurgie au cours de l'hospitalisation □Pose de cathéter périphérique

□Pose de sonde urinaire □Injection IM/SC

□Pose de cathéter central □Autres à précisés

□Pose de cathéter veineux □Intubation durant l'hospitalisation

Description du traitement à base d'antibiotiques reçu après prélèvement :

……*Posologie*……

…….....…*Durée(DT)*……..

……*Posologie*……

…….....…*Durée(DT)*……..

……*Posologie*……

…….....…*Durée(DT)*……

(DT : Durée du traitement)

4. Diagnostic bactériologique des infections

Type de prélèvement

□Prélèvement sanguin □Tube EDTA □Hémoculture □ Tube sec

□Prélèvement urinaire

Examen cytobactériologique des urines :

Prélèvement : Date de prélèvement : ….../……/ …../ Datede réception……./……./……./

Si urine : Aspect macroscopique : □Trouble □hématique □Autre à préciser

Etat frais……

…….

Coloration de Gram :

□DGN □DGP □CGP en chainette □CGP en amas

□Levures ou filaments mycéliens

Culture : □Positive □Stérile

Si positive, coloration de Gram

□DGN □DGP □CGP en chainette □CGP en amas

□Levures ou filaments mycéliens

Description de colonies de bactérie :

……

……

……

……

Description de l'Antibiogramme de l'ECBU

---

5. Complication drépanocytaire associe :

1.Complications aigues

- SSA
- AVC
- Aggravation anémie
- Priapisme
- Syndrome thoracique aigue (STA)

2.Complications chroniques

- Lithiase biliaire
- Nécrose aseptique épiphysaire
- Ulcère de jambe
- Complication cardiovasculaire
- Rétinopathie drépanocytaire
- Néphropathie drépanocytaire

6. Autres associations :

- Grossesse
- HVB
- HVC
- VIH
- Thrombose veineuse

7. Description de l'évolution clinique du patient :

Fiche d'assentiment

Titre : Profil de résistance aux antibiotiques des souches uropathogènes isolées dans une population drépanocytaire au CRLD, Mali

Etude de la résistance aux antibiotiques des souches bactériennes responsables d'infections urinaire et de bactériennes dans la population drépanocytaire au Mali.

Sponsors : Université des Sciences des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB)

1. Centre de Recherche et de Lutte contre la Drépanocytose, Bamako, Mali

2. Laboratoire de bactériologie-Virologie de l'INSP, Bamako, Mali

Nom et prénom du volontaire : …… N°ID…… Age

Nom et prénom du tuteur ou parent légal pour les enfants : ……

Après avoir pris connaissance de l'étude ci-dessus indiqué dans ses buts, son déroulement, ses résultats attendus, ses bénéfices et risques pour le participant, je consens librement et volontairement de participer et d'y faire participer mon enfant. Je comprends que ma participation, la participation de mon enfant ; n'est pas obligatoire et que je peux le retirer à tout moment de cette étude sans avoir à me justifier ni encourir de sanction. Le fait de ne plus participer, faire participer mon enfant, a cette étude ne portera pas atteinte à mes relations, aux relations avec notre médecin.

J'accepte au cours de cette étude que soient recueillies des informations sociodémographiques, cliniques et biologiques auprès de ma personne, de mon enfant à des fins de recherche. Je comprends que ces informations seront gardées confidentielles et à l'usage exclusif des investigateurs de l'étude et que mon identité, l'identité de mon enfant n'apparaitra dans aucun rapport ou publication.

J'accepte que les données recueillies et les pathogènes qui seront isolés des prélèvements soient conservés même après cette étude pour faire éventuellement l'objet d'autres recherches complémentaires.

Toutes mes questions à propos de ma participation, la participation de mon enfant a cette étude ont été répondues et les réponses m'ont satisfait(e).

Initial de l'investigateur……Signature……/Date…….

Signature du patient ou tuteur légal……/Date…….

Fait en deux exemplaires : Un pour le patient, ou au tuteur légal et un dans les archives de l'étude

FICHE SIGNALETIQUE

Nom : Koné

Prénom : Sidi Mohamed

Adresse : 00223 70 25 48 46

Mail : konemohamedsidi@gmail.com

Titre de la THESE : Profil de résistance aux antibiotiques des souches uropathogènes isolées dans une population drépanocytaire au CRLD, Mali

Année universitaire : 2020-2021

Lieu de dépôt : Bibliothèque FMPOS-FAPH

Centre d'intérêt : Microbiologie, infectiologie, Santé publique et maladie héréditaire

RESUME

La dissémination mondiale de la résistance aux antimicrobiens n'est pas un fait nouveau cependant, elle atteint continuellement plusieurs souches bactériennes. Cette résistance croissante limite le choix des antibiotiques dans le traitement de certaine infection urinaire. Ce travail qui avait pour but d'étudier le profil de résistance aux antibiotiques des souches uropathogènes dans la population drépanocytaire au CRLD nous a permis de documenter chez 145 patients enrôlés dans notre étude, le profil de résistance des souches bactériennes isolées. Ces patients enrôles étaient constitués de 76 patients homozygote SS, suivi de 48 double hétérozygote SC, 12 $S\beta^+$ thalassémie et 9 $S\beta^0$ thalassémie. L'âge moyen de nos patients était entre 16 et 25 ans, le sexe féminin a été le plus représente. Au terme de cette étude, nous avons isolées 18 bactéries soit 12,4% d'infection urinaire bactérienne. Les bacilles à Gram négatif non exigeant de la famille des entérobactéries ont dominé notre étude, *E. coli* était incriminé dans 44,4% suivi de *K. pneumoniae* 5,6%. Les coupes à Gram positif étaient responsables dans cette population étudiée d'infection urinaire dans l'ordre de 16,7% respectivement pour *S. aureus* et *E. faecalis* suivi de 11,1% d'*E. faecium* et 5,6% respectivement de *S. agalactiae et K. pneumoniae.*

L'antibiogramme de nos souches a révélé plusieurs phénotypes de résistance.

Au vu de cette étude, l'antibiothérapie au cours de l'infection urinaire pourrait être révisé pour une meilleure prise en charge du drépanocytaire.

Mots clés : Profil, Uropathogènes, Résistance, Phénotype, Drépanocytose, Mali

ABSTRACT

The global spread of antimicrobial resistance is not new, however, it continuously affects several bacterial strains. This growing resistance limits the choice of antibiotics in the traitement of certain urinary tract infections. This work, which aimed to study the profile of antibiotic resistance of uropathogenic strains in the Sikcle cell population at CRLD, enabled us to document in 145 patients enrolled in our study, the resistance profile of the bacterial stains isolated. These enrollled patients consisted of 76 homozygous SS patients, followed by 48 double hetreozygous SC, 12 S β^{+} thalassemia and 9 Sβ^{o} thalassemia. The average age of our patients was between 16 and 25 years, the female sex being the most represented. At the end of this study, we isolated 18 bacterial strains or 12.4% of bacterial urinary tract infection. Non-demanding Gram negative bacilli of the Enterobacteriaceae family dominated our study, *E. coli* was involved in 44.04% followed by *K. pneumoniae* 5.6% Gram positive sections were responsible in this study population for urinary tract infection in the order of 16.7% respectivly for *S. aureus* and *E. faecalis* followed by 11.1% for *E. faecium* and 5.6% respectively of *S. agalactiae* and *K. pneumoniae*. The antibiogram of our strains revealed several resistance phenotypes. In view of this study, antibiotic therapy could be revised for better management of Sickle cell disease.

Keywords : Profile, Uropathogens, Resistance, Phenotype, Sickle cell anemia, Mali

SERMON DE GALIEN

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

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

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

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ;

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels ;

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

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

Je le jure !