

République du Mali
Un peuple - Un but - Une foi

UNIVERSITE DES SCIENCES, DES TECHNIQUES
ET DES TECHNOLOGIES DE BAMAKO



FACULTE DE PHARMACIE

Année universitaire 2015-2016

N° _____ /

EVOLUTION DE LA RESISTANCE DE *Staphylococcus*

***aureus* AUX ANTIBIOTIQUES AU CENTRE**

D'INFECTIOLOGIE CHARLES MERIEUX DE 2006 à 2015

THESE

Présentée et soutenue publiquement le 31/03/2016 devant la faculté de Pharmacie pour
obtenir le grade de

DOCTEUR EN PHARMACIE

(DIPLOME D'ETAT)

Par

M. Bakary N'tji DIALLO

JURY

Président du jury: Professeur Sounkalo DAO

Membre du jury : Dr Seydou DIARRA

Co-directeur de thèse: Dr Lassina Gadi TIMBINE

Directeur de thèse : Pr Flabou BOUGOUDOGO

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DE PHARMACIE

FACULTE DE PHARMACIE

ANNEE UNIVERSITAIRE 2015-2016

ADMINISTRATION

DOYEN : M. Boubacar TRAORE - PROFESSEUR

VICE-DOYEN : M. Ababacar I MAIGA- PROFESSEUR

SECRETAIRE PRINCIPAL: M. Seydou COULIBALY – ADMINISTRATEUR CIVIL

AGENT COMPTABLE : M. Famalé DIONSAN – CONTROLEUR DES FINANCES

LES PROFESSEURS HONORAIRES

M. Mamadou	KOUMARE	Pharmacognosie
M. Boulkassoum	H Aidara	Législation
M. Boubacar Sidiki	CISSE	Toxicologie
M. Amadou	DIALLO	Biologie Animale
M. Daouda	DIALLO	Chimie générale & minérale
M. Moussa	HARAMA	Chimie organique
M. Abdourahamane S.	MAIGA	Parasitologie
M. Bréhima	KOUMARE	Bactériologie

DER DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES

1. Professeur/Directeur de recherche

M. Amagna	DOLO	Parasitologie-Mycologie
M. Bakary M.	CISSE	Biochimie
M. Abdoulaye	DABO	Biologie/parasitologie Chef de DER
M. Alassane	DICKO	Santé publique
M. Boubacar	TRAORE	Parasitologie-Mycologie
M. Mounirou	BABY	Hématologie

2. Maître de conférences

M. Bourèma	KOURIBA	Immunologie
M. Mahamadou	DIAKITE	Immunologie
M. Souleymane	DIALLO	Bactériologie-Virologie
M. Ousmane	KOITA	Parasitologie-Moléculaire
M. Abdoulaye	DJIMDE	Microbiologie-Immunologie
M. Abdoulaye	TOURE	Entomologie Moléculaire-Médicale
M. Akory Ag	IKNANE	Santé publique/Nutrition

3. Maître assistant

Mme Fanta	SANGHO	Santé Publique
M. Aldjouma	GUINDO	Hématologie

4. Assistant/Attaché de recherche

M. Seidina Aboubacar Samba	DIAKITE	Immunologie
M. Ousmane	TOURE	Santé Publique/santé environnement
M. Klétigui Casmir	DEMBELE	Biochimie clinique
M. Yaya	GOITA	Biochimie clinique
M. Oumar	GUINDO	Biochimie
M. Samba Adama	SANGARE	Bactériologie-Virologie

DER DES SCIENCES DU MEDICAMENT

1. Professeur/Directeur de recherche

M. Ousmane	DOUMBIA	Pharmacie chimique
M. Ababacar I	MAIGA	Toxicologie
M. Elimane	MARIKO	Pharmacologie Chef de DER

2. Maître de conférences

M. Benoît Yaranga	KOUMARE	Chimie analytique
-------------------	---------	-------------------

M. Moussa I. DIARRA Biophysique

ENSEIGNANTS EN MISSION

Pr Babacar FAYE Pharmacodynamie

Pr Amadou Papa DIOP Biochimie

Pr Pascal BONNABRY Pharmacie Hospitalière

DEDICACES ET REMERCIEMENTS

DEDICACES

Je dédie ce travail :

A Allah, le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux

A mon père et à ma mère,

A Mon frère et à mes sœurs,

Mahamadou Diallo (Mc Chaleureux) : Chef tu as un peu paniqué au début mais après tu as gardé ton sang-froid.

Fatoumata Diallo (Ba Nieba) : Arrête de tourner en rond !

Rokia Diallo (Mayinèh) : Beaucoup de courage.

A tous mes oncles et tantes et tous les autres membres de la famille

REMERCIEMENTS

A mes amis, Ibrahim Diarra (Chan), Ibrahim Ouedraogo (Dom), Ibrahim Bah, FLO (l'enfant de Globladji), Soumi (Agent Bauer), NasConnexion, Marabout (AKA Eric Cartman), au Chat Poté, Abdrahamane Berthé, et à toute la famille Nikov, Ruskov. Les chemins se séparent mais je ne vous oublie pas les gars.

A mon binôme Ibrahim Bah, Mec ! Je crois que tu connais la voie à suivre.

A mon deuxième grand frère, Ilias Camara, Chef, un jour on ira à South Park (Colorado).

Aux stagiaires et internes du LRM, Oumar, Samou (le seul catholique !), Samaké (Alias le mendiant), Soumba, Namissa, Chabane, Walett ; Que Dieu vous garde !

A tout le personnel du CICM, Dr Timbiné pour vos conseils et disponibilités, idées, explications... Dr Koné pour votre disponibilité, Professeur Kouriba, à Monsieur Nouhoum Bouaré (merci pour les cafés). Bréhima Traoré,

Au Docteur Sangaré, A ce rythme, un jour, vous marcherez plus vite que la lumière, j'en suis sûr. Merci pour vos explications.

A mon frère Judicaël, je sais que les cheveux sont partis, mais ne perd jamais ta joie et bon humour, Touré, Maiga, Haidara (un jour à Old Trafford), Issa (faudra perdre quelque kilos, on est dans un pays pauvre), Nana, Kadi, Awa, Tantie Lala, Madame Koné, Madame Touré, Hadiata, Koura....

Aux AET du PMS et à tous les AET : Zotto, General Mac, Cible, Samba, Lt Ziza... AET un jour AET pour la vie. Instruisez-vous pour mieux servir. Que Dieu vous garde.

Au Docteur Ag Merci pour votre disponibilité et votre soutien.

A tous mes promotionnaires de la faculté de médecine.

A l'ensemble du corps professoral de la faculté de médecine, de Pharmacie et d'OdontoStomatologie de Bamako.

HOMMAGES AUX HONORABLES MEMBRES DU JURY

A notre Maître et Président du jury

Professeur Soukalo DAO

- **Professeur titulaire des maladies infectieuses et tropicales,**
- **Chef de service des maladies infectieuses du CHU-Point G,**

Cher maître,

C'est un grand honneur pour nous que vous acceptiez de présider le jury de cette thèse. Nous avons été fascinés par votre connaissance. Homme de rigueur et de fermeté dans l'esprit scientifique, vos grandes qualités humaines et scientifiques, votre sens aigu de l'honneur, votre disponibilité dans l'encadrement de vos étudiants qui voient en vous une admiration sans partage, de votre franchise, font de vous un maître très apprécié. Toute notre reconnaissance pour cet honneur que vous avez fait en acceptant de présider le jury de cette thèse malgré votre programme chargé.

A notre Maître et juge

Dr Seydou DIARRA

- **Chef du service de Bactériologie à l'Institut National de Recherche en Santé Publique**

Cher Maître,

Vous nous avez honorés en acceptant de siéger à ce jury.

Vos connaissances scientifiques ainsi que vos qualités humaines forcent le respect.

Nous sommes fiers d'avoir appris à vos côtés.

C'est l'occasion pour nous de vous exprimer humblement nos vives émotions.

Que Dieu le Tout Puissant, vous accorde santé et vous aide dans votre tâche.

Recevez-ici, cher Maître le témoignage de notre profonde gratitude.

A notre Maître et co-directeur de thèse

Dr Lassina Timbiné

- **Pharmacien Microbiologiste au Centre d'Infectiologie Charles Mérieux**
- **Directeur du Laboratoire Rodolphe Mérieux Directeur du Laboratoire Rodolphe Mérieux Centre d'Infectiologie Charles Mérieux**

Cher Maître, vous nous faites un grand honneur en acceptant de siéger à ce Jury malgré vos multiples occupations.

Nous avons beaucoup admiré vos qualités scientifiques et nous sommes fiers de l'enseignement de qualité que vous nous avez donné.

Veillez cher maître recevoir l'expression de notre sincère admiration et de notre profond respect.

A notre Maître et Directeur de thèse

Professeur agrégé Flabou BOUGOUDOGO

- **Pharmacien Microbiologiste,**
- **Maître de Conférences Agrégé en Bactériologie, Virologie,**
- **Responsable de l'enseignement de Bactériologie-Virologie à la Faculté de Pharmacie,**
- **Ancien Directeur de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP), Chevalier de l'ordre du Mérite de la Santé.**

Cher Maître,

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

Au-delà de vos qualités de pédagogue reconnues par tous, nous avons découvert en vous un homme plein de générosité, de simplicité et rigoureux dans le travail. Nous avons été séduits par la qualité de votre savoir scientifique et de votre ouverture envers les étudiants. Merci d'avoir accepté de diriger notre travail.

Merci pour le temps que vous nous avez consacré, et pour votre soutien tout au long de la réalisation de notre thèse.

LISTE DES SIGLES ET ACRONYMES

ACME:	Arginine catabolic mobile element
ADN:	Acides désoxyribonucléiques
Agr:	Accessory gene regulator
ARNr:	Acide Ribonucléique Ribosomal
BAMS :	Bachelor de Biologie Médicale Appliquée
BMR:	Bactérie multi résistante
BORSA:	Bordeline <i>Staphylococcus aureus</i>
MODSA:	Modified <i>Staphylococcus aureus</i>
CAT:	Chloramphenicol acétyltransférase
CHU:	Centre Hospitalier Universitaire
CICM:	Centre d'infectiologie Charles Mérieux
CLSI:	Clinical and Laboratory Standard Institute
CMI:	Concentration Minimale Inhibitrice.
FMPOS:	Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie.
FQ:	Fluoroquinolone.
DHFR:	Dihydrofolate réductase
Eap:	Extracellular adherence protein
Efb:	Extracellular fibrinogen binding protein
Emp:	Extracellular matrix and plasma binding protein
EUCAST:	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FAPH:	Faculté de Pharmacie
FMOS:	Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie
GISA:	Glycopeptide Intermediate-sensitive <i>Staphylococcus aureus</i>
BGN:	Bactéries à Gram négatif.

BGP:	Bactérie à Gram positif.
HGT:	Hôpital Gabriel TOURE
HPG:	Hôpital du Point G
I:	Intermédiaire.
IL:	Interleukine
LRM:	Laboratoire Rodolphe Mérieux
MDR:	Multi Drug Resistance
Meti-R:	Résistant à la méticilline
MLS:	Macrolides, Lincosamides et Streptogramines.
MON:	Mode opératoire normalisé
MRSA:	Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
MSCRAMM:	Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules
NaCl:	Chlorure de sodium
PVX:	Poly-vitex
OMS:	Organisation Mondiale de la Santé
ONERBRA:	Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance aux Antibiotiques
PLP:	Protéine liant les pénicillines.
PU:	Prélèvement urétral
PV:	Prélèvement vaginal
R:	Résistant.
S:	Sensible.
SARM:	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline
SARV:	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la vancomycine
SASM:	<i>Staphylococcus aureus</i> sensible à la méticilline
SERAM:	Secretable Expanded Repertoire Adhesive Molecules

Spa :	Surfactant protein A
TIAC:	Toxi Infection Alimentaire Collective
TNF:	Tumor necrosis factor
UFC:	Unité Formant Colonie
Vanco-R:	Résistant à la vancomycine
VISA:	Vancomycin Intermediate-sensitive <i>Staphylococcus aureus</i>
VRSA:	Vancomycin Resistant <i>Staphylococcus aureus</i>

LISTE DES TABLEAUX et FIGURES

FIGURE 1: STAPHYLOCOQUES EN AMAS APRES COLORATION DE GRAM[15]	6
FIGURE 2 : CULTURE DE <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> SUR GELOSE PVX (CHOCOLAT). IMAGE DU LABORATOIRE RODOLPHE MERIEUX.....	7
FIGURE 3 : FACTEURS DE VIRULENCE DE <i>S. AUREUS</i>	13
FIGURE 4 : STRUCTURES DE QUELQUES BETALACTAMINES [46].	16
FIGURE 5 : MECANISME D'ACTION DE LA VANCOMYCINE ET DE RESISTANCE DE <i>S. AUREUS</i> A LA VANCOMYCINE [4].	19
FIGURE 6: MECANISME D'ACTION DES SULFAMIDES ET DU TRIMETHOPRIME	23
FIGURE 7: CARTOGRAPHIE DES DISTRICTS SANITAIRES DU MALI EN 2012 [62]	28
FIGURE 8: SCHEMA DE DIAGNOSTIC DE <i>S. AUREUS</i> AU LABORATOIRE	35
FIGURE 9: COLONIES DE <i>S. AUREUS</i> SUR URISELECT. IMAGE DU LABORATOIRE RODOLPHE MERIEUX	36
FIGURE 10: COLONIES DE <i>S. AUREUS</i> SUR GELOSE AU SANG (COS). IMAGE DU LABORATOIRE RODOLPHE MERIEUX	36
FIGURE 11: COLONIES DE <i>S. AUREUS</i> SUR GELOSE PVX POLY-VITEX (CHOCOLAT). IMAGE DU LABORATOIRE RODOLPHE MERIEUX.....	37
FIGURE 12: COLONIES DE <i>S. AUREUS</i> SUR GELOSE CHAPMAN (MSA). IMAGE DU LABORATOIRE RODOLPHE MERIEUX	37
FIGURE 13: INSTRUMENT VITEK® 2 COMPACT. IMAGE DU LABORATOIRE RODOLPHE MERIEUX	38
FIGURE 14: IMAGES DE L'ANTIBIOGRAMME SELON LA METHODE DE DIFFUSION EN MILIEU GELOSE. IMAGE DU LABORATOIRE RODOLPHE MERIEUX.....	41
FIGURE 15: REPARTITION DU NOMBRE DE <i>S. AUREUS</i> ISOLE SELON LES ANNEES	44
FIGURE 16: REPARTITION DES 62 SOUCHES DE <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> ISOLEES EN 2015 SELON L'ORIGINE DU PRELEVEMENT	45
FIGURE 17: REPARTITION DES 62 SOUCHES DE <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> ISOLEES EN 2015 SELON LE TYPE DE PRELEVEMENT.	45
FIGURE 18: REPARTITION DE 62 SOUCHES DE <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> ISOLEES EN 2015 SELON L'AGE	46
FIGURE 19: RESISTANCES AUX ANTIBIOTIQUES DES 62 SOUCHES DE <i>S. AUREUS</i> ISOLEES EN 2015	47
FIGURE 20: RESISTANCES AUX ANTIBIOTIQUES DES 19 SOUCHES SARM EN 2015	48
FIGURE 21: RESISTANCES AUX ANTIBIOTIQUES DES 43 SOUCHES DE SASM EN 2015.....	49
FIGURE 22: RESISTANCE COMPAREE AUX ANTIBIOTIQUES DES SOUCHES SARM ET SASM	50
FIGURE 23: EVOLUTION DU TAUX DE SARM ET DE SARV DEPUIS 2006.....	51
TABLEAU I: RECAPITULATIF DES PRINCIPAUX MECANISMES DE RESISTANCES DE <i>S. AUREUS</i> AUX ANTIBIOTIQUES	24
TABLEAU II: EVOLUTION DU TAUX DE SARM ET DE SARV DE 2006 A 2015.....	51
TABLEAU III: EVOLUTION DES TAUX DE SARM ET DE SARV DEPUIS 2006 SUR DES PERIODES DE 5 ANS	52
TABLEAU IV: ASSOCIATION DE LA RESISTANCE A LA METICILLINE ET DE LA RESISTANCE A LA VANCOMYCINE.....	52
TABLEAU V: REPARTITION DE LA CMI DES SOUCHES RESISTANTES A LA VANCOMYCINE	52

TABLEAU VI: <i>S. AUREUS</i> ET RESISTANCE INDUCTIBLE A LA CLINDAMYCINE	53
TABLEAU VII: ASSOCIATION DE LA RESISTANCE A LA CLINDAMYCINE ET LA RESISTANCE A LA METICILLINE.....	53
TABLEAU VIII: EVOLUTION DU TAUX DE RESISTANCE DES <i>S. AUREUS</i> AUX AUTRES ANTIBIOTIQUES TESTES DE 2006 A 2015.....	54

SOMMAIRE

1.	INTRODUCTION	2
2.	OBJECTIFS	4
2.1.	Objectif général :	4
2.2.	Objectifs spécifiques	4
3.	GENERALITES SUR STAPHYLOCOCCUS AUREUS	5
3.1.	Historique :	5
3.2.	Taxonomie :	5
3.3.	Habitat :	5
3.4.	Caractères Bactériologiques	6
3.4.1.	Caractères Morphologiques	6
3.4.2.	Caractères Culturels	6
3.5.	Caractères Biochimiques	7
3.5.1.	Substances de Differentiation	7
3.5.2.	Facteurs de Virulence et Pouvoir Pathogène	8
4.	<i>Staphylococcus aureus</i> ET RÉSISTANCES AUX ANTIBIOTIQUES	14
4.1.	DEFINITIONS	14
4.1.1.	Antibiotique	14
4.1.2.	Résistance bactérienne :	14
4.1.3.	Types de résistance	14
4.1.4.	Supports de la résistance	15
4.1.5.	Phénotype de résistance	15
4.1.6.	Bactéries multirésistantes	15
4.2.	BETA-LACTAMINES	16
4.2.1.	Généralités sur les Béta- lactamines.	16
4.2.2.	Mécanismes d'action.	16
4.2.3.	Mécanisme de résistance de <i>Staphylococcus aureus</i>	16
4.3.	GLYCOPEPTIDES	17
4.3.1.	Généralités sur les Glycopeptides	17
4.3.2.	Mécanismes d'action	18
4.3.3.	Mécanisme de résistance de <i>Staphylococcus aureus</i>	18
4.4.	FLUOROQUINOLONES	19
4.4.1.	Généralités sur les Fluoroquinolones	19
4.4.2.	Mécanismes d'action	19
4.4.3.	Mécanisme de résistance de <i>Staphylococcus aureus</i>	19
4.5.	MACROLIDES, LINCOSAMIDES ET SYNERGYSTINES (MLS)	20
4.5.1.	Généralités sur les MLS	20
4.5.2.	Mécanismes d'action	20

4.5.3.	Mécanisme de résistance de <i>Staphylococcus aureus</i>	20
4.6.	AMINOSIDES	21
4.6.1.	Généralités sur les Aminosides.....	21
4.6.2.	Mécanismes d'action.....	21
4.6.3.	Mécanisme de résistance de <i>Staphylococcus aureus</i>	21
4.7.	TÉTRACYCLINES	22
4.7.1.	Généralités sur les Tétracyclines.....	22
4.7.2.	Mécanismes d'action.....	22
4.7.3.	Mécanisme de résistance de <i>Staphylococcus aureus</i>	22
4.8.	SULFAMIDES ET TRIMETHOPRIME OU PYRIMETHAMINE.....	22
4.8.1.	Généralités sur les Sulfamides	22
4.8.2.	Mécanismes d'action.....	22
4.8.3.	Mécanisme de résistance de <i>Staphylococcus aureus</i>	23
4.9.	AUTRES RESISTANCES : RESISTANCE À L'ACIDE FUSIDIQUE, LA RIFAMPICINE, LA FOSFOMYCINE ET LA MUPIROCINE	23
5.	METHODES ET MATERIELS	27
5.1.	PRESENTATION SOMMAIRE DU MILIEU PHYSIQUE	27
5.2.	CADRE DE L'ETUDE	30
5.3.	TYPE ET PERIODE D'ETUDE	31
5.4.	POPULATION D'ETUDE	31
5.4.1.	Critères d'inclusion	31
5.4.2.	Critères de non inclusion	32
5.5.	ECHANTILLONNAGE	32
5.5.1.	Variables mesurées :	32
5.6.	METHODE DE DIAGNOSTIC DE <i>Staphylococcus aureus</i> AU LABORATOIRE.....	32
5.6.1.	Phase Pré analytique	32
5.6.2.	Phase Analytique.....	33
5.6.3.	Phase post analytique.....	42
5.7.	ASPECTS ETHIQUES.....	42
5.8.	COLLECTE DES DONNEES.....	42
5.9.	SAISIE ET ANALYSE DES DONNEES.....	43
6.	RESULTATS.....	44
6.1.	RESULTATS GLOBAUX.....	44
6.2.	RESULTATS DESCRIPTIFS.....	44
6.2.1.	Répartition du nombre de <i>S. aureus</i> isolé selon les années	44
6.2.2.	Origine des prélèvements	45
6.2.3.	Répartition des souches de <i>S. aureus</i> selon les types prélèvements.....	45
6.2.4.	Répartition des souches de <i>S. aureus</i> selon le sexe et l'âge du patient	46
6.2.5.	Résistances aux antibiotiques des souches de <i>S. aureus</i>	47

6.2.6.	Résistances aux antibiotiques des souches SARM.....	48
6.2.7.	Résistances aux antibiotiques des souches SASM	49
6.2.8.	Résistance comparée aux antibiotiques des souches SARM et SASM.....	50
6.2.9.	Evolution des taux de SARM et de SARV depuis 2006.....	51
6.2.10.	Résistance à la vancomycine chez les souches de SARM.....	51
6.2.11.	CMI des souches résistantes à la vancomycine	52
6.2.12.	<i>S. aureus</i> et résistance inductible à la clindamycine (Souches de 2012-2013).....	53
6.2.13.	Evolution de la fréquence de résistance des autres antibiotiques testés de 2006 à 2015	54
7.	COMMENTAIRES ET DISCUSSION	55
7.1.	Méthodologie	55
7.1.1.	Les prélèvements.....	55
7.1.2.	Identification des souches.....	55
7.1.3.	Importance du test cefoxitin screen.....	56
7.1.4.	La recherche de la résistance inductible à la clindamycine	56
7.1.5.	L'antibiogramme	57
7.2.	Résultat.....	57
7.2.1.	Origine des prélèvements	57
7.2.2.	Infections à <i>S. aureus</i>	58
7.2.3.	Sexe et infection à <i>S. aureus</i>	58
7.2.4.	Résistances aux antibiotiques.....	58
7.2.5.	Les bêta-lactamines	58
7.2.6.	Résistances aux glycopeptides	60
7.2.7.	Résistance aux autres antibiotiques	61
8.	CONCLUSION	65
9.	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	66
10.	ANNEXES	72

PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. INTRODUCTION

Le *Staphylococcus aureus* est l'une des principales bactéries d'intérêt médical. Son caractère ubiquitaire, son commensalisme humain et sa grande virulence expliquent son implication majeure en pathologie humaine aussi bien communautaire que nosocomiale. Au Mali, la bactérie représente une part importante des infections nosocomiales. Elle est responsable d'une variété d'affections allant d'atteintes cutanées bénignes comme les furoncles ou les panaris à des pathologies mettant en jeu le pronostic vital comme les septicémies, les endocardites, les pneumopathies...

Les souches sauvages de *Staphylococcus aureus* sont assez sensibles aux antibiotiques, cependant, elles restent naturellement résistantes à l'aztréonam, à la colistine, aux quinolones de 1^{ère} génération, et au mécillinam [1].

Dans les années 1940, avec la découverte de la pénicilline comme antibiotique, un traitement efficace avait été trouvé pour les infections staphylocociques. Cependant, très vite des souches résistantes à la pénicillines sont apparues [2]. Le *Staphylococcus aureus* devenait un problème thérapeutique avec l'acquisition de cette résistance. Aujourd'hui 70 à 90% des *S. aureus* sont résistants à la pénicilline [3].

Ensuite au début des années 60, la méticilline fut introduite en thérapeutique pour pallier à cette résistance. Les premières souches résistantes à cet antibiotique apparaissent dès 1961 [4]. Selon l'OMS dans certaines régions africaines, jusqu'à 80% des infections à staphylocoque doré (*Staphylococcus aureus*) se sont avérées résistantes à la méticilline (SARM)[5]. Ces souches communément appelées SARM sont non seulement résistantes à la méticilline mais, également à toutes les bêta-lactamines. De plus, elles présentent des résistances élevées aux autres familles d'antibiotiques. Elles constituent l'une des premières causes d'infections nosocomiales. Elles posent de véritables problèmes thérapeutiques, avec un risque de décès qui est supérieur de 64% comparé au risque pour les personnes atteintes d'une souche non résistante. Elles augmentent également le coût des soins du fait de la prolongation des séjours à l'hôpital et des soins plus intensifs sont requis [5].

Autre phénomène, ces souches de SARM jusqu'ici principalement d'origine hospitalière sont de plus en plus observées en pathologies communautaires. À partir des années 90 des cas de SARM ont été reporté sur des populations sans antécédents hospitaliers [6]. Bien que les fréquences de ces souches communautaires restent faibles par rapport aux souches

hospitalières, et qu'elles demeurent plus sensibles aux antibiotiques, elles sont cependant plus virulentes [7].

Plus récemment, des souches résistantes aux glycopeptides sont apparues. Communément appelées SARV, ces souches ont pour la première fois été identifiées en 1997 au Japon [8]. Les glycopeptides notamment la vancomycine restent les antibiotiques de choix face au SARM.

Le SARM d'une manière générale, le SARM Communautaire de façon spécifique, et le SARV sont des phénomènes de résistance en augmentation et qui posent de véritables problèmes de santé aux conséquences thérapeutiques et financières importantes. La découverte de nouveaux antibiotiques efficaces et à coût abordable dans nos pays reste longue. La recherche demeure lente et coûteuse. Et l'histoire montre que la résistance à un antibiotique se développe aussi vite suite à l'introduction d'un nouvel antibiotique. La surveillance de l'évolution de la résistance et le contrôle de la dissémination des résistances bactériennes s'inscrivent ainsi comme les meilleures stratégies de lutte. Cela nécessite de disposer au niveau de chaque pays des données régulières et fiables sur la fréquence et les caractéristiques de cette résistance pour assurer l'efficacité des protocoles de traitement de première intention et de proposer des traitements alternatifs en cas d'échec thérapeutique.

Le Laboratoire Rodolphe Mérieux s'est engagé à contribuer à la surveillance de la résistance des pathogènes aux antibiotiques au Mali, et de suivre les directives du Bureau régional de l'OMS pour l'Afrique. Notre étude qui s'inscrit ainsi dans le cadre de la surveillance de la résistance aux antibiotiques au Laboratoire Rodolphe Mérieux du Centre d'Infectiologie Charles Mérieux.

2. OBJECTIFS

2.1. Objectif général :

- 1) Evaluer l'évolution de la résistance des souches de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques.

2.2. Objectifs spécifiques

- 1) Déterminer la sensibilité des *Staphylococcus aureus* isolés aux antibiotiques.
- 2) Etudier l'évolution de la fréquence des *Staphylococcus aureus* Meti-R et Vanco – R
- 3) Comparer la sensibilité aux antibiotiques des SARM à celles des souches méticillinosensibles.

3. GENERALITES SUR STAPHYLOCOCCUS AUREUS

3.1. Historique :

Les staphylocoques sont pour la première fois isolés à partir de pus d'abcès en 1871. Plus tard, en 1880, Louis Pasteur en fera une description après leur observation dans un pus de furoncle : des grappes de coques. Le nom "*Staphylococcus*" (staphylê : grappe et kokkos : grain en grec) est donné par Alexander Ogston en 1883 [9]. Ce dernier différencie ainsi le genre bactérien du genre *Streptococcus*.

La première différenciation de *Staphylococcus aureus* est faite par Friedrich Julius Rosenbach en 1884 à partir de culture sur milieu solide [10]. La coloration dorée (*aureus* en latin) des colonies le distingue ainsi de *S. albus* (*S. epidermidis*) qui produit une coloration blanche (*albus* en grec).

3.2. Taxonomie :

De récentes études [11] ont entraîné une réclassification de la bactérie. L'analyse des séquences de la sous-unité 16S de l'acide ribonucléique (ARNr 16S) et d'autres analyses génétiques ont entraîné la suppression de la bactérie de la famille des *Micrococcaceae* pour la classer dans une famille à son nom, celle des *Staphylococcaceae*. On y retrouve les genres *Jeotgalicoccus*, *Salinicoccus*, *Macrooccus*, ainsi que le genre *Staphylococcus*. Aujourd'hui on compte 51 espèces et 27 sous espèces dans le genre *Staphylococcus* parmi lesquels *Staphylococcus aureus*. [12]

Règne : *bacteria*

Classe : *Bacilli*

Ordre : *Bacilliales*

Famille : *Staphylococcaceae*

Genre : *Staphylococcus*

Espèce : *Staphylococcus aureus*

3.3. Habitat :

Le *S. aureus* est un germe ubiquitaire sur la surface de la terre. Il fait partie de la flore commensale de la peau chez l'homme et des mammifères et oiseaux de manière générale. Les fosses nasales, les glandes de la peau, le cuir chevelu, les mains, la bouche, les dents et le périnée constituent les sites de colonisation préférentiels de *S. aureus* [13]. La présence de *S. aureus* dans l'environnement est essentiellement due à une contamination par l'Homme ou par les animaux [14].

3.4. Caractères Bactériologiques

3.4.1. Caractères Morphologiques

Après coloration au Gram, les staphylocoques apparaissent sous la forme de cocci à Gram positif d'environ 0,5 à 1 µm de diamètre. Ils peuvent être disposés de façon isolée, en diplocoques, en courte chaînette, ou en amas (grappe de raisin). Ils sont immobiles, non sporulés et ont généralement des capsules qu'ils perdent après culture.

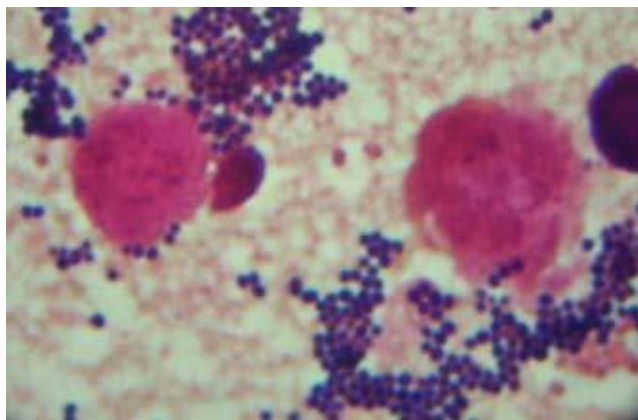


Figure 1: Staphylocoques en amas après coloration de Gram[15]

3.4.2. Caractères Cultureux

S. aureus se cultive facilement en 24 heures sur les milieux usuels et sur des milieux sélectifs contenant des fortes concentrations en sel (NaCl 7,5%) dans des conditions de pH et de température très variables avec des optimums à 7,5 et 37° respectivement. La croissance est aéro-anaérobie facultative. L'addition de mannitol sur ce milieu permet une orientation vers *S. aureus* ou une autre espèce de *staphylococcus* fermentant le mannitol.

Les colonies de *S. aureus* apparaissent rondes avec un diamètre entre 1 à 3mm. Elles sont lisses, opaques et convexes. Elles produisent souvent une bêta-hémolyse sur les géloses au sang et un pigment caroténoïde jaune doré.

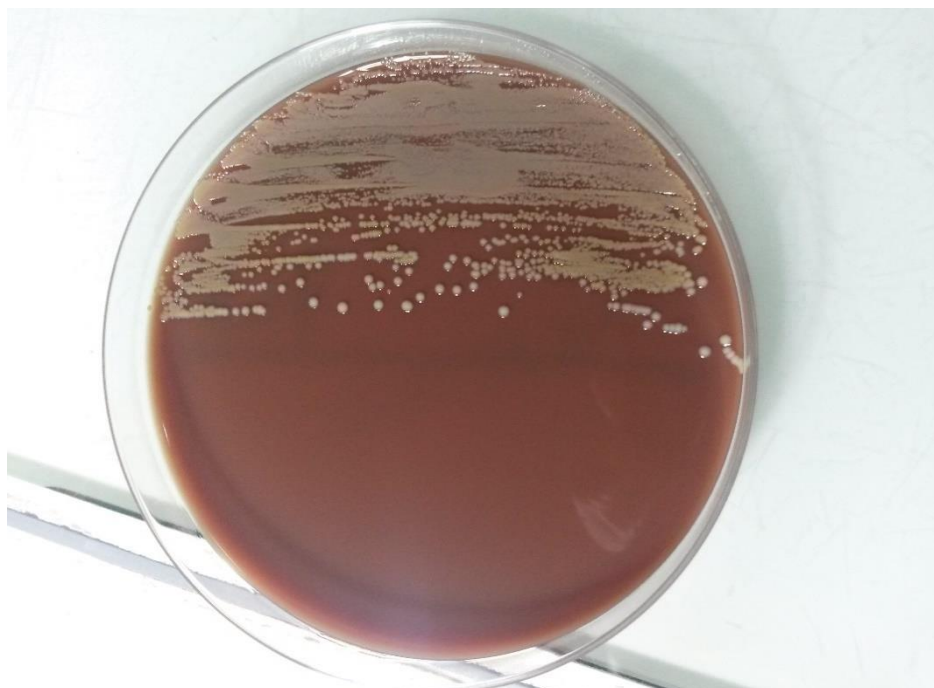


Figure 2 : Culture de *Staphylococcus aureus* sur gélose PVX (Chocolat). Image du Laboratoire Rodolphe Mérieux

3.5. Caractères Biochimiques

3.5.1. Substances de Différentiation

3.5.1.1. La catalase

La bactérie est dite à catalase positive, c'est-à-dire qu'elle produit cette enzyme qui lui permet de réduire le peroxyde d'hydrogène. La catalase la différencie aussi des streptocoques qui n'en possèdent pas. Elle permet aussi lors de la phagocytose de transformer le peroxyde d'hydrogène toxique pour la bactérie, en eau et oxygène.

3.5.1.2. La fermentation du mannitol

Le *S. aureus* est généralement capable de fermenter le mannitol mais aussi certaines espèces de staphylocoque. Ce dernier est utilisé sur le milieu de Chapman qui vire au jaune en cas de fermentation. La fermentation du mannitol n'a pas de valeur absolue et doit être complétée par d'autres tests dans l'identification de *S. aureus* [16].

3.5.1.3. La coagulase ou staphylocoagulase

Il s'agit d'une protéine extracellulaire, thermostable, d'origine chromosomique capable de coaguler le plasma humain ou celui de lapin. La coagulase se fixe avec la prothrombine sur un site de liaison situé en N-terminal. Elle forme avec la prothrombine un complexe nommé staphylothrombine. Ce complexe va induire une polymérisation du fibrinogène en fibrine et

ainsi la formation d'un thrombus [17]. Cette caractéristique est utilisée en routine au laboratoire pour l'identification de *S. aureus*. Bien que permettant de différencier les souches pathogènes, la virulence de *S. aureus* n'est pas forcément liée à la coagulase [18]. Enfin la coagulase permet aussi de résister aux anticorps et à la phagocytose en dissimulant la bactérie dans un caillot.

Il existe aussi une coagulase dite liée au clumping factor. Elle fait partie des constituants de la paroi. Elle entraîne l'agglutination des staphylocoques en fixant le fibrinogène. Ce dernier est fréquent chez les souches d'origine humaine et moins fréquent chez les souches d'origine animale.

3.5.1.4. La DNase thermostable

Aussi appelée thermonucléase, cette dernière a la capacité de couper les acides désoxyribonucléiques (ADN) en nucléotides. Très caractéristiques des souches de *S. aureus*, elle permet, associée à la coagulase libre de différencier l'espèce *S. aureus* [19].

3.5.2. Facteurs de Virulence et Pouvoir Pathogène

3.5.2.1. La paroi et la capsule

La paroi est essentiellement constituée du peptidoglycane, des acides teichoïques (polysaccharide A) et des acides lipoteichoïques. Constitué de longues chaînes polysaccharidiques linéaires, le peptidoglycane est associé à de nombreuses autres protéines intervenant dans l'adhésion de la bactérie aux cellules à infecter. Il possède certains effets toxiques et intervient dans l'activation du complément [20]. Chez *S. aureus*, le relargage de grandes quantités de peptidoglycane lors d'infections locales (abcès, infections articulaires) provoque un chimiotactisme des cellules phagocytaires et une libération de cytokines (IL-1, IL-6, IL-8 et TNF alpha) qui, en grande quantité, provoquent des lésions tissulaires et une hyperthermie [21].

La capsule ou « slime » de *S. aureus* est de nature polysaccharidique. Son rôle dans la pathogénicité de la bactérie s'explique par la dissimulation de cette dernière au système immunitaire. La capsule empêche l'interaction des phages avec les récepteurs (peptidoglycane et acides teichoïques) de la bactérie [22]. Elle permet ainsi à la bactérie de résister à la phagocytose. Les polysaccharides permettent à la bactérie de former un biofilm. Ce dernier va enduire les bactéries et former une couche résistante aux globules blancs. 90 % des souches cliniques ont des polysaccharides capsulaires. Des chercheurs ont découvert chez l'animal une augmentation de la virulence des sérotypes 5 et 8 de *S. aureus* liée à la capsule [23].

3.5.2.2. Les protéines de surface

Ces protéines interviennent dans l'adhésion (les adhésines ou MSCRAMMs (Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules) et à l'invasion.

- Les SERAM

Dans ce groupe on retrouve plusieurs protéines aux propriétés variées pouvant établir plusieurs types de liaisons non-covalentes avec la matrice extracellulaire. Elles peuvent se fixer au fibrinogène, à la fibronectine, à la prothrombine, au collagène, à la laminine, aux sialoprotéines, à l'élastine et à la vitronectine [24]. On y retrouve la Eap (extracellular adherence protein), la Efb (extracellular fibrinogen binding protein), et la Emp (extracellular matrix and plasma binding protein).

La protéine Eap aurait plusieurs fonctions, elle se lie aux glycoprotéines de son hôte et dispose de propriétés pro et anti-inflammatoires[25]. Par sa grande capacité de fixation extracellulaire, et sa répartition sur la surface, Eap contribue à l'internalisation de la bactérie dans les cellules eucaryotes d'où son rôle dans la phagocytose [26].

La protéine Efb interagit avec le fragment C3 du complément. Cette interaction contrecarre l'activation du complément et l'opsonisation [27]. De plus, elle se lie aux plaquettes via le fibrinogène ou via les récepteurs GPIIb/IIIa et inhibe ainsi l'agrégation plaquettaire [28]. Aussi cette liaison au fibrinogène empêche l'adhérence des neutrophiles [29].

- La protéine A

La protéine A ou Spa (Surfactant protein A) est retrouvée seulement chez les souches d'origine humaine. Elle constitue un facteur de virulence pléiotropique en jouant plusieurs rôles : elle inhibe l'opsonophagocytose par liaison avec les immunoglobulines, elle participe aussi dans l'activation du complément et déclenche la réaction inflammatoire, elle peut aussi se fixer sur les facteurs de Von Willebrand (glycoprotéine du plasma intervenant dans l'adhésion des plaquettes avec l'endothélium vasculaire) provoquant des endocardites infectieuses. D'autre part, elle peut aussi stimuler les lymphocytes B et cette activation va selon la concentration de Spa entraîner une anergie ou une apoptose des lymphocytes B [30].

- Les MSCRAMM

La protéine de liaison au collagène (Cna) permet l'adhésion de *S. aureus* au cartilage. Elle constitue ainsi un facteur de virulence important dans les infections osseuses et articulaires [31].

Les protéines de liaison au fibrinogène ou clumping factor (ClfA et ClfB) provoquent l'agrégation de bactéries en présence de plasma permettant de transformer directement le fibrinogène en fibrine d'où le nom de coagulase liée. Elles forment aussi un facteur de virulence pour les plaies et les infections sur corps étrangers.

Les protéines de liaison à la fibronectine (FnBPA et FnBPB) permettent l'adhésion aux biomatériaux (cathéters, prothèses) et aux caillots plasmatiques.

3.5.2.3. Les substances élaborées par *Staphylococcus aureus*

3.5.2.3.1. Toxines

- Hémolysines ou staphylolysines

Plusieurs ont été décrites (alpha, bêta, gamma, delta), elles ont une action cytolytique sur les plaquettes et les globules rouges.

L'hémolysine α , sécrétée par la quasi-totalité des souches de *S. aureus*, est mise en évidence avec des hématies de mouton, de bœuf ou de lapin. Elle se fixe sur la membrane de ces derniers, forme ensuite des pores. Cette perméabilisation membranaire entraîne une fuite électrolytique conduisant à la mort des cellules. La cytolysse de plaquettes et de monocytes libère des cytokines et d'autres médiateurs de la réaction inflammatoire expliquant le choc septique des infections sévères à *S. aureus*. La destruction des cellules endothéliales favorise la dissémination des bactéries et les métastases infectieuses [32].

Codée par le gène *hly*, la bêta-hémolysine a une activité sphingomyélinase de type C. Elle s'attaque aux membranes riches en lipide et est synthétisée par 94% de souches animales et par 54% de souches humaines. Son activité hémolytique est remarquable par les conditions d'apparition, car elle est de type "chaud-froid": les érythrocytes soumis à son action à 37°C ne sont pas lysés sauf si on les refroidit à 4°C. La bêta-hémolysine aurait aussi une lymphotoxycité [33].

Produite par 97 % des souches de *S. aureus*, la δ -toxine est un petit peptide codé par le gène *hly*. Son rôle est lié directement à sa structure en hélice contenant des domaines hydrophobes. Ainsi, elle est à l'origine de la formation de pores hydrophobes de forme cylindrique dans la membrane [34].

- ***Les toxines synergohyménotropes***

C'est un groupe de toxines dites à deux composants : la gamma hémolysine et la Leucocidine de Panton Valentine. La première est produite par toutes les souches de *S. aureus*, et possède un spectre d'activité assez large de par son action sur les lymphocytes T, les polynucléaires neutrophiles, les monocytes et les macrophages.

Quant à la leucocidine, elle est produite par seulement 2 à 3% des souches et possède un fort pouvoir pathogène. Ses deux composantes agissent en synergie et elle est reconnue par les membranes cellulaires sur lesquelles elles créent des pores entraînant fuites d'ions, relargages de cytokines et mort de la cellule. Elle s'attaque aux phagocytes, polynucléaires neutrophiles et monocytes entraînant une aggravation et une extension des lésions. Elles sont principalement retrouvées dans des lésions dermonécrotiques sévères. La LPV est donc un facteur de virulence important des infections nécrosantes cutanées (furuncles, anthrax) et des infections graves à point de départ cutané primaire [31].

- ***Les exfoliatines***

Environ 5% des souches de *S. aureus* peuvent synthétiser ces toxines thermostables. Elles sont dites à activité épidermolytique (exfoliatines ou épidermolysines ETA, ETB et ETD beaucoup plus rare), ont un tropisme cutané et sont à l'origine de différentes formes de staphylococcies cutanées bulleuses observées parfois dans les septicémies à staphylocoque et au cours de l'impetigo. 80 % des sujets adultes ont des anticorps protecteurs [32].

- ***Les entérotoxines***

Environ 30 à 60 % des souches de *S. aureus* produisent une entérotoxine. Elles sont très variées (SEs; SEA à SEE, SEG à SEI, SER à SET) thermostables, insensibles aux enzymes protéolytiques du suc digestif et stables dans une large gamme de pH. Elles sont impliquées dans les Toxi- Infections Alimentaires Collectives (TIAC) [32]. Douées d'activité super antigénique, elles interagissent avec les cellules présentatrices d'antigène et stimulent la prolifération non spécifique des cellules T [35].

- ***La toxine responsable du choc toxique staphylococcique (TSST-1)***

D'origine chromosomique, elle induit la synthèse d'anticorps dont la fréquence augmente avec l'âge. On la trouve dans 20 % des souches *S. aureus* [36]. Cette toxine, comme les entérotoxines, a un effet pyrogène et est un superantigène qui entraîne l'activation simultanée de plusieurs sous-populations lymphocytaires, ce qui entraîne la libération de plusieurs

médiateurs (interleukine, interféron gamma, TNF alpha et bêta) responsables de la symptomatologie du choc staphylococcique [32].

3.5.2.3.2. Enzymes staphylococciques diffusibles

Ces protéines et enzymes produites par *S. aureus* ont différentes cibles. En effet, certaines toxines ont plus un tropisme membranaire, d'autres une activité superantigénique et certaines un rôle d'extension du foyer infectieux.

- *La fibrinolysine ou staphylokinase*

Elle active le plasminogène en plasmine et contribue à la dislocation du caillot et à la formation de microembols bactériens responsables des métastases septiques.

D'autres activités ont été recensées comme la neutralisation des IgG et du fragment C3b du complément évitant ainsi la phagocytose [37] ou comme la fixation aux peptides bactéricides (α - defensines) des neutrophiles pour empêcher leurs propriétés défensives [38].

- *Hyaluronidase*

Thermolabile, elle hydrolyse l'acide hyaluronique, substance fondamentale du tissu conjonctif. Elle favorise ainsi la diffusion des staphylocoques dans le tissu conjonctif [32].

- *La FAME (fatty acid modifying enzyme)*

Cette enzyme serait importante dans les abcès, elle modifie les lipides antibactériens et prolonge la survie de la bactérie [38]. Elle aide ainsi la bactérie à infiltrer l'organisme cible à travers les différentes barrières lipidiques. 80 % des souches de *S. aureus* expriment cette enzyme [34].

- *Les protéases*

Un premier groupe de quatre protéines (la sérine protéase (SspA ou protéase V8), la cystéine protéase 1 (SspB ou staphopain B), la cystéine protéase 2 (ScpA) et la métalloprotéase (auréolysine ou Aur) interviennent dans le contrôle de l'adhésion de la bactérie.

S. aureus secrète aussi une nouvelle famille de protéine inhibant l'activité des sérine protéases des neutrophiles (NSPs) et contribuant ainsi à la pathogénicité de la bactérie [39].

- *L'ACME (arginine catabolic mobile element)*

Un nouveau facteur de virulence, l'ACME rencontré dans les souches USA300 de *S. aureus* (souche de SARM d'origine communautaire, largement répandue aux Etats-Unis) serait un îlot

de pathogénie mobile. Elle permettrait à la bactérie de survivre, de croître et de disséminer plus rapidement [34].

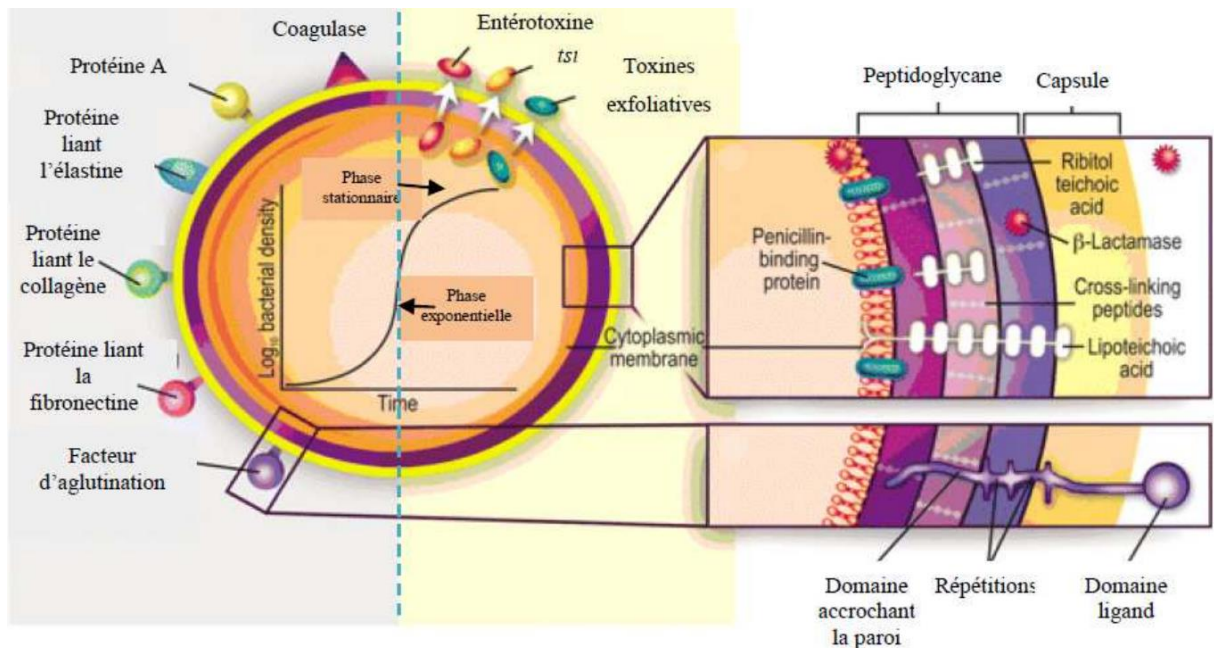


Figure 3 : Facteurs de virulence de *S. aureus* [40]

3.5.2.4. Système agr (Accessory gene regulator) et Régulation des Facteurs de Virulence

La régulation des facteurs de virulence

En fonction des différentes étapes du processus infectieux, *S. aureus* dispose d'un système de régulation permettant de contrôler les facteurs de virulence. Ce système est indispensable à la survie de la bactérie. Durant la première phase, avec une faible population bactérienne les facteurs de virulence participant à l'adhésion, les adhésines sont synthétisés. Après, quand la population bactérienne atteint un certain seuil, une inhibition est exercée sur ces derniers, et on assiste à une stimulation des facteurs d'invasion et de dissémination (hémolysines, entérotoxines, lipases, etc.). Il existe plusieurs systèmes de régulation (saeRS, srrAB, arlSR et système lytRS), le plus connu étant le système *agr* (accessory gene regulator), capable de traduire les signaux extracellulaires et d'agir en conséquence sur la transcription des gènes. Ainsi, le système *agr* fonctionnerait comme un quorum sensor, informant la bactérie sur la densité de staphylocoques dans son environnement [41].

4. *Staphylococcus aureus* ET RÉSISTANCES AUX ANTIBIOTIQUES

4.1. DEFINITIONS

4.1.1. Antibiotique

En 1928 Alexander Fleming remarque que des colonies de *Penicillium* inhibe la croissance d'une culture bactérienne qui se trouve être une souche de staphylocoque [34]. Ce fut la première découverte d'un antibiotique.

Un antibiotique (du grec *anti* : « contre », et *bios* : « la vie ») est une substance naturelle ou synthétique qui détruit ou bloque la croissance des bactéries [42].

4.1.2. Résistance bactérienne :

L'OMS définit une souche résistante aux antibiotiques comme « *une souche qui supporte une concentration d'antibiotiques notamment plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des souches de la même espèce* » ou « *une souche qui supporte une concentration notablement plus élevée que la concentration qu'il est possible d'atteindre in vivo* ».

4.1.3. Types de résistance

4.1.3.1. Résistance Naturelle

La résistance dite naturelle est présente dans toutes les souches de l'espèce considérée et préexiste à l'usage des antibiotiques. Elle constitue une caractéristique propre à l'espèce et délimite le spectre d'activité d'antibiotiques [43] [44].

Par exemple *S. aureus* est naturellement résistant aux quinolones de 1ère génération (acide nalidixique).

4.1.3.2. Résistance Acquise

Cette résistance n'est présente que chez quelques souches d'une espèce sensible et apparaît étroitement liée à l'utilisation des antibiotiques [43] [44].

Des souches de Staphylocoques normalement sensibles à la pénicilline, peuvent devenir résistantes à celle-ci par suite de production d'une enzyme : la pénicillinase qui hydrolyse le noyau bêta-lactame rendant ainsi la molécule inactive.

4.1.3.3. Résistance Clinique

Elle se traduit par l'échec thérapeutique. Plusieurs facteurs entrent en cause dans ce type de résistance :

- des facteurs environnementaux (cations, protéines inhibitrices etc.) ;
- la pharmacocinétique ;
- le choix judicieux de l'antibiotique.

4.1.4. Supports de la résistance

Supports Chromosomique : liée à une mutation sur le chromosome bactérien la résistance ne s'exerce que vis-à-vis d'un seul antibiotique en général non transférable d'une espèce bactérienne à l'autre, elle concerne surtout les Quinolones, les Rifamycines, la Fosfomycine, l'Acide fusidique avec un taux de mutation élevé.

Supports Extra-chromosomique : Le plus fréquent, le plus souvent plasmidique pouvant porter plusieurs résistances à la fois transmissibles entre différentes bactéries de la même espèce, voire entre espèces différentes.

4.1.5. Phénotype de résistance

C'est un groupe, un ensemble d'antibiotiques permettant au mieux, avec le plus de précision possible de préjuger des mécanismes de résistance dont dispose une bactérie donnée et notamment mais pas exclusivement de son équipement enzymatique.

Au sein de chaque espèce, on distingue le phénotype sauvage, déterminé par les mécanismes naturels de résistance, et les phénotypes résistants déterminés par des mécanismes acquis de résistance [45].

4.1.6. Bactéries multirésistantes

Les bactéries sont dites multirésistantes (BMR) aux antibiotiques lorsque du fait de l'accumulation de résistances acquises à plusieurs familles d'antibiotiques, elles ne sont plus sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotiques utilisables en thérapeutique (résistance à plus de 3 familles différentes) [46].

Le SARM est résistant à toutes les bêtalactamines et aux fluoroquinolones.

S. aureus est naturellement résistant aux monobactames (aztréonam), aux quinolones de 1ère génération (acide nalidixique) et aux peptides cycliques (polymixine B) [34]. Dans cette partie, nous développerons les différentes classes d'antibiotiques, leurs mécanismes d'action ainsi que les mécanismes de résistance de *S. aureus*.

4.2. BETA-LACTAMINES

4.2.1. Généralités sur les Béta- lactamines.

Ils furent les premiers antibiotiques utilisés. Découverts par Alexander Fleming en 1928, ils ont prouvé leur grande efficacité lors de la Seconde Guerre mondiale. Ils sont divisés en 4 classes, avec différents spectres d'activité: pénicillines (pénicilline G, oxacilline, méticilline, cloxacilline,...), céphalosporines (céfalexine, céfuroxime, ceftriaxone, céfépime,...), carbapénèmes (imipénème, méropénème et ertapénème) et les monobactames (aztréonam). Ces derniers ne seront pas évoqués, car ils ne sont pas actifs. *S. aureus* y est naturellement résistant. Leur structure de base repose sur le cycle bêta-lactame.

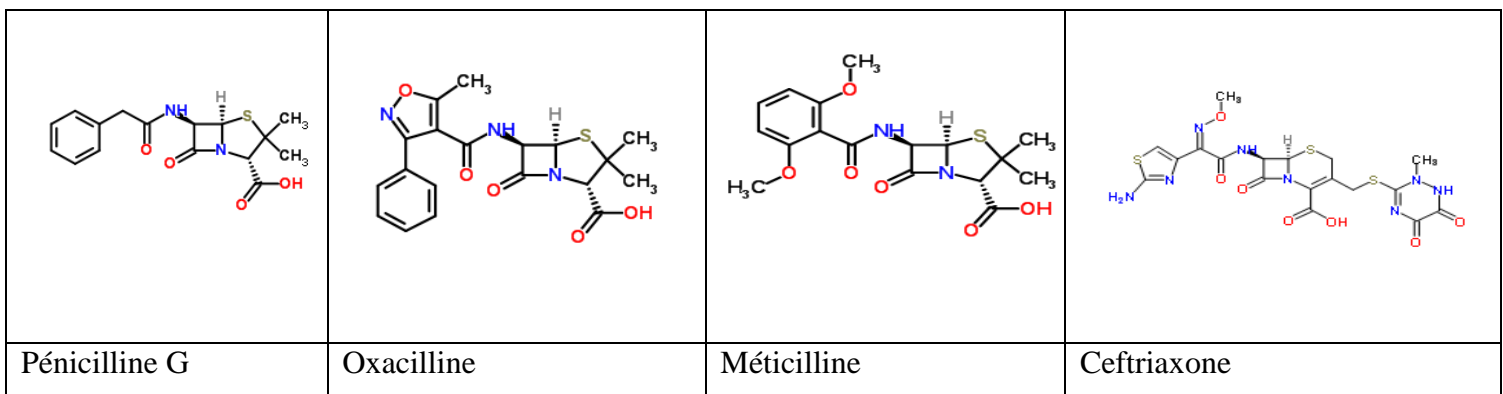


Figure 4 : Structures de quelques betalactamines [47].

4.2.2. Mécanismes d'action.

Les β -lactamines agissent au niveau de la paroi bactérienne. Ils ont pour cible les protéines liant la pénicilline (PLP). Les souches de *Staphylococcus aureus* possèdent 4 PLP : PLP1, PLP2, PLP3 (essentiels à la survie) et PLP4 (accessoires) [48]. Ces protéines à activité enzymatique (transpeptidases or carboxypeptidases et dans certains cas transglycosylase) interviennent dans la synthèse de la paroi bactérienne. Par fixation sur ces protéines, les β -lactamines inhibent ainsi la synthèse du peptidoglycane.

Les β -lactamines ont, vis-à-vis de *S. aureus*, une activité bactéricide temps-dépendant avec spécialement pour les carbapénèmes un effet post-antibiotique sur les Gram positifs [34].

4.2.3. Mécanisme de résistance de *Staphylococcus aureus*

Mécanisme par production de β -lactamases

Premier mécanisme de résistance à un antibiotique décrit, il est dû à la pénicillinase plasmidique. Cette protéine enzymatique est capable d'hydrolyser le cycle β -lactame inactivant ainsi l'antibiotique.

Plus de 90 % des *S. aureus* isolés des produits pathologiques en milieu hospitalier sont producteurs de pénicillinase. Quatre groupes de bêta-lactamases (A, B, C, D) sont décrits chez *Staphylococcus aureus*. Ces enzymes ne sont pas capables d'inactiver les pénicillines M (conçues spécialement pour résister à l'hydrolyse avec l'ajout d'un radical chimique sur le noyau β -lactame) et les céphalosporines. Les inhibiteurs de bêta-lactamases tels que l'acide clavulanique et le sulbactam permettent de restaurer la sensibilité du germe aux pénicillines du groupe A, les céphalosporines en général et l'imipenème. La pénicillinase staphylococcique est le produit d'expression du gène *blaZ* qui est porté par un plasmide ou un transposon [34].

Mécanisme par production d'une protéine de liaison à la pénicilline additionnelle : la PLP2a

On a la production d'une nouvelle PLP, la PLP2a, qui a une faible affinité avec les β -lactamines. Cette Résistance qui concerne particulièrement la méticilline (SARM), est croisée à l'ensemble des β -lactamines. Mais son expression peut être hétérogène au sein d'une même souche. Avec cette PLP2a, la bactérie peut continuer l'assemblage du peptidoglycane même quand les autres PLP sont inhibées par les β -lactamines.

Sur le plan génétique, la PLP2a est le produit du gène *mecA*. Ce dernier appartient à la famille des cassettes chromosomiques staphylococciques *mec* (SCC*mec*). L'origine de SCC*mec* se trouverait chez le *Staphylococcus sciuri* [34]. Un nouvel homologue du gène *mecA*, le gène *mecC* conférerait aussi la résistance à la méticilline [49].

Autres mécanismes de résistance à la méticilline

Il s'agit des résistances de type BORSA (bordeline *Staphylococcus aureus*) et MODSA (modified *Staphylococcus aureus*). Le premier implique une hyperproduction de la pénicillinase staphylococcique. Le second est lié à une modification des PLP endogènes (PLP1, 2 ou 4), il entraîne une résistance sans production de pénicillinase [50].

4.3. GLYCOPEPTIDES

4.3.1. Généralités sur les Glycopeptides.

On retrouve principalement deux antibiotiques dans cette famille : la vancomycine et la teicoplanine. La première molécule est souvent très utilisée dans les cas de staphylocoques résistants aux β -lactamines. Ils constituent le traitement de choix dans les cas de staphylocoques résistants à la méticilline (SARM).

Malgré leur activité sur les souches multirésistantes, les glycopeptides présentent de nombreuses limitations: une bactéricidie lente (48 heures), une fluctuation de CMI et elle est élevée (1 à 2 mg/L), une faible pénétration intracellulaire, et une toxicité potentielle.

4.3.2. Mécanismes d'action

Ils interviennent au niveau de la formation du peptidoglycane. Durant cette synthèse, nous avons l'enchaînement d'acides aminés D-alanyl-D-alanine fait par des enzymes (transglycosylases et transpeptidases). Les glycopeptides ont une affinité pour l'extrémité (D-alanyl-D-alanine). Ils s'y fixent, créent un encombrement stérique, empêchent l'action des enzymes et bloquent ainsi la synthèse du peptidoglycane.

4.3.3. Mécanisme de résistance de *Staphylococcus aureus*

On y retrouve deux souches : souche de *S. aureus* de sensibilité intermédiaire à la vancomycine (GISA ou VISA pour *Glycopeptide ou Vancomycin Intermediate-sensitive Staphylococcus aureus*) se définissant par une CMI comprise entre 8 et 16 mg/L et Les souches résistantes à la vancomycine (VRSA pour *Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus*) ayant une CMI > 32 mg/L selon les recommandations du Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI, anciennement NCCLS) [51].

Chez les souches GISA ou VISA, le mécanisme serait lié à une hyperproduction de cible, la D-alanyl-D-alanine. Elle se trouve ainsi en abondance au niveau de la paroi qui devient épaisse, et une partie servira à piéger et immobiliser les molécules d'antibiotique.

Chez les souches VRSA, hautement résistantes à la vancomycine, le mécanisme est lié à l'expression du gène *vanA*. *S. aureus* aurait acquis ce gène suite à un transfert avec *Enterococcus faecalis*. L'expression du gène change le précurseur D-alanine-D-alanine en D-alanine-D-lactate pour lequel la vancomycine a une affinité 1000 fois inférieure [52].

Toute résistance à la vancomycine implique une résistance à la teicoplanine. Un niveau intermédiaire de résistance à la vancomycine apparaît souvent à un échec thérapeutique de cet antibiotique [53].

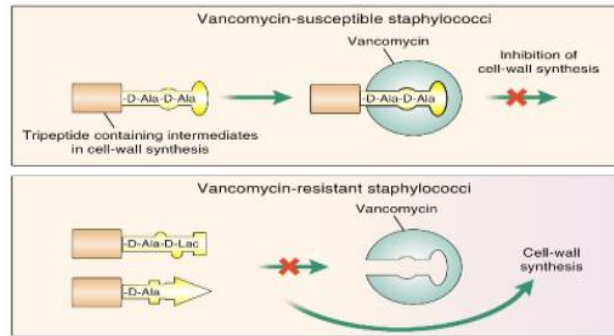


Figure 5 : Mécanisme d'action de la vancomycine et de résistance de *S. aureus* à la vancomycine [4].

4.4. FLUOROQUINOLONES

4.4.1. Généralités sur les Fluoroquinolones.

Les Fluoroquinolones constituent une large classe d'antibactériens de synthèse qui comprend les dérivés de l'acide nalidixique découvert en 1962. Elles constituent la 2ème génération de quinolones et ont la particularité de posséder un fluor dans leur structure moléculaire apportant une nette amélioration pharmacocinétique et antibactérienne. Les quinolones présentent un risque de rupture du tendon d'Achille et de photosensibilisation.

4.4.2. Mécanismes d'action

Les fluoroquinolones agissent sur l'ADN bactérien. Elles bloquent la synthèse de l'ADN bactérien (réplication et transcription), inhibant de manière sélective l'action de deux enzymes, l'ADN-gyrase et la topoisomérase IV. Ces molécules ont une activité bactéricide concentration-dépendante vis-à-vis de *S. aureus* [54].

4.4.3. Mécanisme de résistance de *Staphylococcus aureus*

On a un premier mécanisme de résistance par mutation du gène *parC*. Ce gène code pour une partie de la topoisomérase IV (sous-unité C). L'antibiotique ne pourra plus se fixer sur le complexe ADN/ topoisomérase et n'aura plus d'effet. Ce mécanisme de résistance est de haut niveau [4].

Un second mécanisme implique la modification de l'ADN-gyrase. Des mutations au niveau des gènes *gyrA* et *gyrB* seraient à l'origine de cette mutation [54].

Un troisième mécanisme se fait par efflux des fluoroquinolones (pompage actif hors de la cellule). Les pompes *Multi Drug Résistance* (MDR) de la bactérie vont augmenter en quantité et avoir une affinité augmentée pour l'antibiotique. Ce dernier est alors éjecté hors de la bactérie. A l'origine de ce mécanisme, nous avons une surexpression des protéines, codées par le gène *NorA*.

4.5. MACROLIDES, LINCOSAMIDES ET SYNERGYSTINES (MLS)

4.5.1. Généralités sur les MLS.

Les macrolides, les lincosamides et les synergystines sont des molécules différentes par leur structure, mais groupés dans cette famille en raison de leur mécanisme d'action. Ils possèdent un spectre antibactérien similaire.

4.5.2. Mécanismes d'action

Malgré leurs structures chimiques très différentes, ces antibiotiques ont la même cible moléculaire : le ribosome (fraction 50S). Les MLS sont des inhibiteurs de la synthèse protéique en stimulant la dissociation entre ribosomes et complexe ARN de transfert-peptide. Cela entraîne une terminaison réversible de l'élongation protéique.

Les MLS sont des antibiotiques bactériostatiques, sauf les synergystines qui sont bactéricides vis-à-vis des *S. aureus* [34].

4.5.3. Mécanisme de résistance de *Staphylococcus aureus*

Trois mécanismes sont impliqués : une modification de la cible de l'antibiotique, un mécanisme d'efflux et une modification enzymatique de la drogue.

Dans le premier mécanisme, la partie ribosomale est modifiée par une attaque enzymatique, l'adénine en position 2058 de l'ARNr 23S se retrouve alors méthylée. Les enzymes en cause sont des méthylases codées par des gènes de la famille *erm* (erythromycin resistant methylase). La méthylation empêche la fixation du MLS et son action. Cette résistance peut être inductible (induite en présence de macrolides, phénotype MLS_B inductible). Elle ne touche dans ce cas que les macrolides à 14 atomes de carbones. Elle peut aussi être constitutive (exprimée en permanence : phénotype MLS_B constitutif). Dans ce cas, elle s'étend aux macrolides à 16 atomes de carbones, aux lincosamides et aux streptogramines B. Dans tous les deux cas, cette résistance ne touche pas les streptogramines A, c'est pourquoi la pristinamycine reste active, même en cas de résistance constitutive.

Pour le mécanisme par efflux, il ne touche que les macrolides à 14 et 15 atomes de carbones (érythromycine, roxithromycine, clarithromycine, dirithromycine, azithromycine) et les streptogramines A. Les gènes *msrA* et *msrB* sont à l'origine de la résistance des macrolides et le gène *vga* est la cause de celle des streptogramines A. Les autres antibiotiques du groupe MLS restent actifs.

Enfin l'inactivation des streptogramines B et des lincosamides est due aux produits des gènes *sbh* et *linA* (encoding 3-lincomycin 4-clindamycin O-nucleotidyltransferase).

4.6. AMINOSIDES

4.6.1. Généralités sur les Aminosides

Avec pour chef de file la streptomycine, les aminosides ou aminoglycosides sont produits par des bactéries de la famille des actinomycètes, ou en sont dérivés par hémisynthèse. Ils sont constitués dans leurs structures d'unités de sucre substituées par des fonctions amines d'où le nom aminoglycosides (amino → amine, glycoside → sucre).

4.6.2. Mécanismes d'action

Ils ont pour site d'action la sous-unité 30S des ribosomes bactériens. Cette fixation interfère avec la synthèse peptidique en perturbant la lecture des acides ribonucléiques messagers (ARNm). Il en résulte des protéines anormales pour la bactérie, ce qui entraîne sa mort. Ils possèdent un spectre d'activité antibactérien large. Ce sont des bactéricides rapides et puissants qui présentent un effet post-antibiotique (une inhibition durable de la croissance bactérienne avec de faibles traces d'aminoside dans le corps).

4.6.3. Mécanisme de résistance de *Staphylococcus aureus*

La bactérie résiste par un mécanisme d'inactivation de l'antibiotique. Elle possède des enzymes comme l'aminoglycoside phosphotransférase (APH(3')III), l'aminoglycoside adényltransférase AAD (4')(4'') ou l'enzyme bifonctionnelle AAC(6')-APH(2'). Ces derniers vont greffer des radicaux sur l'antibiotique entraînant son inactivation.

Les gènes à l'origine de ces résistances sont portés par des plasmides ou transposons. Il s'agit des gènes *aph aad aph*.

La résistance à la streptomycine est médiée par un mécanisme de mutation de la cible de cet antibiotique. L'activité de la streptomycine n'est pas altérée par la présence des enzymes inactivant les autres aminosides puisque cette molécule appartient à un groupe chimiquement distinct [55].

4.7. TÉTRACYCLINES

4.7.1. Généralités sur les Tétracyclines

Isolées d'une bactérie du genre *Streptomyces*, les tétracyclines font partie de la classe des cyclines. Elles ont en commun leur structure à quatre cycles (tétracyclines) formant un noyau naphtacène.

4.7.2. Mécanismes d'action

La tétracycline agit au niveau de la sous-unité 30S du ribosome. Elle empêche la fixation de l'aminocyl-ARNt entrant dans le site A du ribosome. Elle empêche ainsi l'élongation peptidique. Elles ont une action bactériostatique sur *S. aureus*.

4.7.3. Mécanisme de résistance de *Staphylococcus aureus*

On retrouve deux mécanismes de résistance : un mécanisme par efflux actif des tétracyclines et un deuxième par protection des sites du ribosome. Plusieurs gènes peuvent être impliqués *tetK*, *tetL*, *tetM* et *tetO*. La protéine Tet(K) est une des protéines qui entraîne l'expulsion des tétracyclines et les protéines Tet(O) ou Tet(M) vont protéger les sites actifs ribosomiaux [34].

4.8. SULFAMIDES ET TRIMETHOPRIME OU PYRIMETHAMINE

4.8.1. Généralités sur les Sulfamides

Premiers antibiotiques hémisynthétiques, les sulfamides dérivent de l'acide para-amino-benzène-sulfonique (Acide para-Amino-Benzène Sufone Amide). Ils sont utilisés le plus souvent en association avec les diaminopyrimidines : triméthoprimine ou la pyriméthamine.

4.8.2. Mécanismes d'action

Les sulfamides agissent par inhibition de la synthèse des acides foliques bactériens. Par analogie avec l'acide para-amino benzoïque (précurseur du métabolisme des acides foliques), ils rentrent en compétition avec ce dernier et bloquent la synthèse. Le triméthoprimine exécute son action en aval des sulfamides, il neutralise la dihydrofolate réductase (DHFR) et stoppe la synthèse des folates.

Les sulfamides sont des antibiotiques bactériostatiques, mais leur association avec le triméthoprimine rend leur activité bactéricide, les deux molécules agissant en synergie [34].

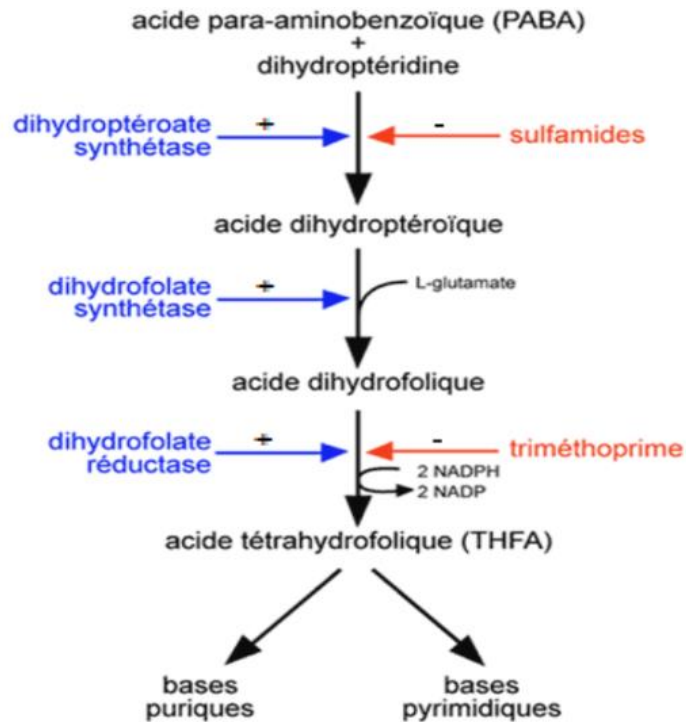


Figure 6: Mécanisme d'action des sulfamides et du triméthoprime [56]

4.8.3. Mécanisme de résistance de *Staphylococcus aureus*

Le mécanisme le plus connu est lié à une hyperproduction d'acide para-aminobenzoïque. A l'origine de ce mécanisme, on retrouve le gène *sulA*.

On peut aussi avoir la synthèse d'une dihydrofolique acide synthétase et d'une dihydrofolate réductase présentant une affinité moindre pour leurs antagonistes respectifs. Ce mécanisme est médié par les gènes *dfrB* et *dfrA*. Deux autres gènes aussi (*dfrG* et *dfrK*) conférant la résistance au triméthoprime ont été identifiés [57].

4.9. AUTRES RESISTANCES : RESISTANCE À L'ACIDE FUSIDIQUE, LA RIFAMPICINE, LA FOSFOMYCINE ET LA MUPIROCINE

- La rifampicine se fixe à la sous-unité β de l'ARN polymérase-ADN et bloque ainsi l'initiation de la transcription. La résistance à la rifampicine est liée à des mutations sur le gène *rpoB* qui code la sous-unité β de l'ARN polymérase-ADN.
- La fosfomycine agit sur la paroi en inactivant l'enzyme énolpyruvyl-transférase qui intervient dans la synthèse du peptidoglycane. La résistance à la fosfomycine est due à la production d'une protéine (codée par le gène *FosB*) qui hydrolyse la fosfomycine [58].

- L'acide fusidique forme un complexe stable avec le facteur d'élongation EF-G, bloquant ainsi l'élongation peptidique. La résistance à l'acide fusidique est due soit à une modification de la cible (altération au niveau du facteur EF-G) codée par le gène *fusA* soit à défaut de pénétration dans la bactérie (résistance de type plasmidique, gènes *fusB* ou *fusC*) [59].
- La mupirocine inhibe la synthèse protéique en se liant à l'isoleucylARNt synthétase. La résistance est de deux types : une de bas niveau et l'autre de haut niveau. La première est due à une mutation du gène *ileS* codant pour l'isoleucylARNt synthétase. La seconde est aussi due à une modification de l'isoleucyl-ARNt synthétase codée cette fois-ci par le gène plasmidique *mupA* [34]. Un nouvel gène, *mupB* conférant également la résistance de haut niveau a été identifié [60].

Tableau I: Récapitulatif des principaux mécanismes de résistances de *S. aureus* aux antibiotiques et les gènes de résistance impliqués. [4] [55] [57] [58]

Familles	Gènes	Mécanisme de Résistance
Beta-Lactamines	<i>blaZ</i>	Enzyme capable d'hydrolyser le cycle β -lactame inactivant ainsi l'antibiotique (Pénicilline G, pénicilline A, Carboxy et uréido-pénicilline)
	<i>mecA</i> <i>mecC</i>	Nouvelle PLP (PLP2a ou PLP2c qui a une faible affinité avec les β -lactamines. est croisée à l'ensemble des β -lactamines.
Glycopeptides		GISA ou VISA : hyperproduction de cible, la D-alanyl-D-alanine. Elle se trouve ainsi en abondance au niveau de la paroi qui devient épaisse, et une partie servira à piéger et immobiliser les molécules d'antibiotique.
	<i>vanA</i>	VRSA : hautement résistantes à la vancomycine, expression du gène <i>vanA</i> . change le précurseur D-alanine-D-alanine en D-alanine-D-lactate pour lequel la vancomycine a une affinité 1000 fois inférieure.
Fluoroquinolones	<i>grlA</i> , <i>gyrA</i> ou <i>gyrB</i>	Modification de la cible (mutations des gènes codant pour la topoisomérase IV ou pour la gyrase)
	<i>NorA</i>	Pompe à efflux
Macrolides, Lincosamides et Synergistines (MLS)	<i>ermA</i> , <i>ermB</i> , <i>ermC</i>	Modification de la cible ribosomale par une attaque enzymatique, l'adénine en position 2058 de l'ARNr 23S se retrouve alors méthylée. La méthylation empêche la fixation du MLS et son action. Cette résistance peut être inductible (induite en présence de macrolides, phénotype MLS _B inductible).
	<i>msrA</i> , <i>msrB</i>	Pompe à efflux
Aminosides	<i>Aph</i> <i>aad</i> <i>aph.</i>	Inactivation de l'antibiotique : des enzymes comme l'aminoglycoside phosphotransférase (APH(3')III, l'aminoglycoside adényltransférase AAD (4')(4'')) ou l'enzyme bifonctionnelle AAC(6')-APH(2') vont greffer des radicaux sur l'antibiotique entraînant son inactivation.
Oxazolidinones	<i>rrn</i>	Modification de la cible (méthylation d'une adénosine à la position 2503 dans l'ARNr 23S conduit à la résistance au linézolide)
Tétracyclines	<i>tetK</i> , <i>tetL</i>	Mécanisme par efflux actif des tétracyclines : La protéine Tet(K) est une des protéines qui entraîne l'expulsion des tétracyclines.
	<i>tetM</i> <i>tetO</i> .	Protection des sites du ribosome : les protéines Tet(O) ou Tet(M) vont protéger les sites actifs ribosomiaux.
Sulfamides et Triméthoprim ou Pyriméthamine	Sulfonamide : <i>sulA</i>	Hyperproduction de l'acide para-aminobenzoïque par l'enzyme DHPS
	TPM : <i>dfpB</i>	Réduction de l'affinité pour la DHFR
Phénicolés	<i>cat</i>	L'enzyme chloramphénicol acétyltransférase (CAT) transforme le chloramphénicol et le thiamphénicol en dérivés diacétylés inactifs.
Rifampicine	<i>ropB</i>	Modification de la cible (réduction de l'affinité pour l'ARN polymérase)
Fosfomycine	<i>FosB</i>	Production d'une protéine (codée par le gène) qui hydrolyse la fosfomycine.
L'acide Fusidique	<i>fusA</i>	Modification de la cible (altération au niveau du facteur EF-G)
	<i>fusB</i> ou <i>fusC</i>	Défaut de pénétration dans la bactérie (résistance de type plasmidique)
Mupirocine	<i>ileS</i>	Résistance de bas niveau : Mutation du gène <i>ileS</i> codant pour l'isoleucyl-ARNt synthétase.
	<i>mupA</i> <i>mupB</i>	Résistance de haut niveau : Modification de l'isoleucyl-ARNt synthétase

DEUXIEME PARTIE : METHODOLOGIE

5. METHODES ET MATERIEL

5.1. PRESENTATION SOMMAIRE DE LA SITUATION SANITAIRE NATIONALE

Le Mali a une superficie de 1 241 238 kilomètres carrés [61].

La population est estimée à 16 319 000 habitants avec un taux d'accroissement intercensitaire de 3,6 % en 2012.

Les problèmes de santé les plus fréquemment rencontrés dans les formations sanitaires sont dans l'ordre la fièvre présumée palustre, la toux de moins de 15 jours et les infections respiratoires aiguës (IRAs) basses, les plaies, les brûlures et traumatismes, les diarrhées présumées infectieuses et les IRAs hautes.

Les principaux déterminants de la santé sont :

- Couverture sanitaire : 57 % à moins de 5 km et 88 % à 15 km [62] ;
- Mortalité infantile : 56 pour mille [63] ;
- Mortalité infanto juvénile : 95 pour mille [63];
- Mortalité maternelle : 368 pour 100 000 naissances vivantes [63];
- Séroprévalence du VIH/SIDA dans la population générale : estimée à 1,1 % [63];
- Proportion d'enfants (12 à 23 mois) complètement vaccinés contre les maladies cibles du PEV avant l'âge de 12 mois : 31% [63] ;
- Taux de malnutrition chronique chez les enfants âgés de 1 à 4 ans : 13% [63];
- 56,0% de la population ont accès de façon durable à une source d'eau meilleure (eau de robinet, forage ou puits protégé).

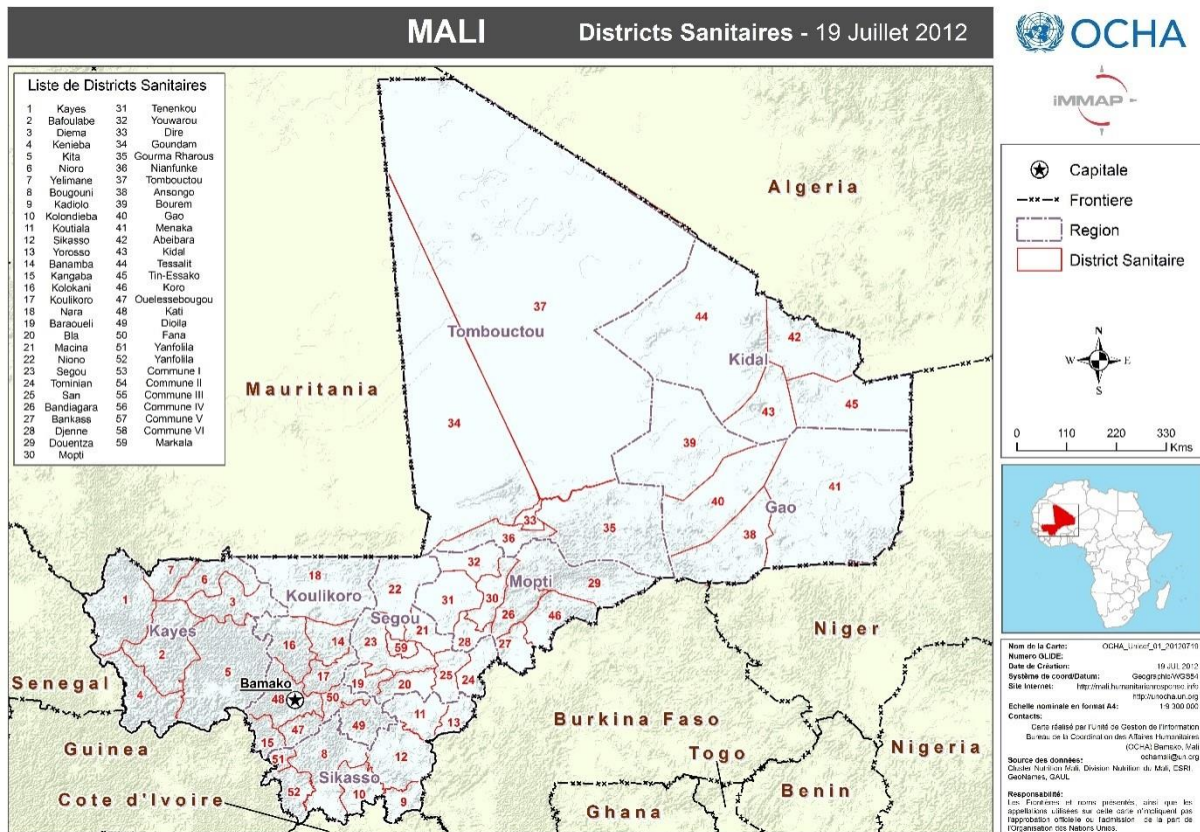


Figure 7: Cartographie des districts sanitaires du Mali en 2012 [64]

L'Administration sanitaire comprend :

- Les directions centrales et services rattachés
- Les Organismes personnalisés de contrôle et de recherche
- Les Programmes nationaux de lutte contre les maladies spécifiques
- Les Ordres professionnels
- Les Directions régionales de la santé et du District de Bamako
- Les services sanitaires de Cercle

Les structures de prise en charge comprennent :

- Les Structures publiques et communautaires
- Les Structures privées

Elles se répartissent selon un système pyramidal à 3 niveaux : le niveau central, le niveau intermédiaire et le niveau opérationnel.

Le niveau Central est composé par les structures de troisième référence, dernier niveau de recours du système de soins au Mali. Ce sont les Etablissements Publics Nationaux de 3ème référence assurant les fonctions de Centres hospitaliers Universitaires (CHU). Ce sont

les CHU du Point G, de Gabriel Touré, de Kati, du Centre National d'Odontostomatologie, de l'Institut d'Ophthalmologie Tropicale d'Afrique (IOTA) et l'Hôpital du Mali.

A ces structures publiques, il faut ajouter un Hôpital parapublic (Hôpital Mère-Enfant le Luxembourg), plusieurs structures médicales privées et confessionnelles, le service de santé de l'Institut National de Prévoyance Sociale (INPS) et le service de Santé des Armées. Plusieurs de ces structures sont dotées de laboratoires polyvalents fonctionnels ayant pour mission l'appui au diagnostic des maladies et la prise en charge des patients, la surveillance épidémiologique, la formation et la recherche. En plus de ces laboratoires hospitaliers, il existe les laboratoires de référence (INRSP, CNAM, LNS, CNTS), les Laboratoires des Institutions de formation et de recherche (MRTC, FAST, SEREFO) et les Laboratoires agréés du privé (Laboratoire Rodolphe Mérieux du CICM, ALGI, Laboratoire de la Rive Droite, Laboratoire CELLAL, Bio2000, Biotech-Mali, LABIOKA, DIAFOUNOU et PA&KA [65].

Le niveau intermédiaire, regroupant 6 Etablissements Publics Nationaux de 2ème référence, les hôpitaux régionaux, situés dans les régions de Kayes, Sikasso, Ségou, Mopti, Tombouctou et Gao et dotés de l'autonomie de gestion. A Koulikoro et Kidal, existent des CSRef. Ces structures sont dotées de laboratoires polyvalents fonctionnels.

Le niveau opérationnel, comportant 2 échelons:

Le premier échelon ou premier niveau de contact et de recours aux soins est constitué par les Centres de Santé Communautaires (CSCoM) créés et gérés par les Associations de Santé Communautaire (ASACO) avec l'appui technique et financier de l'Etat et des Partenaires. Les CSCoM, au nombre de 1329 en 2013 [66], offrent le Paquet minimum d'activités (PMA) comprenant les soins curatifs, préventifs et promotionnels. En principe, il n'est pas prévu de laboratoire dans les CSCoM ; cependant vu la nécessité, certains CSCoM ont créé des laboratoires pour aider au diagnostic et à la prise en charge des malades [64].

Le deuxième échelon ou deuxième niveau de recours aux soins est constitué par les Centres de Santé de Référence de cercle ou CSRef (correspondant aux hôpitaux de district sanitaire). Les CSRef, au nombre de 63 [64] offrent des soins de première référence comprenant la prise en charge des urgences obstétricales ; ils sont dotés de laboratoires polyvalents et fonctionnels.

5.2. CADRE DE L'ETUDE

Le Centre d'Infectiologie Charles Mérieux (C.I.C.M) a constitué notre cadre d'étude. Le CICM est situé dans le quartier de l'ex- base aérienne de Bamako, rue du Docteur Charles Mérieux.

Fruit de la collaboration entre le Gouvernement de la République du Mali et la Fondation Mérieux, le CICM a été mis en place suite à la signature de l'Accord- cadre N° 0956/1899 du 18 février 2004 entre le Gouvernement de la République du Mali et la Fondation Mérieux ainsi que la Convention du 16 janvier 2005 et son Protocole annexe du 11 mai 2011 entre le Ministère de la Santé et la Fondation Mérieux.

- 8 décembre 2003 : Création de la Fondation Mérieux Mali
- 15 janvier 2004 : Pose de la première pierre du CICM
- 17 janvier 2005 : Inauguration du CICM
- 2 mai 2005 : Démarrage des activités

Le CICM comprend :

- une administration générale.
- un centre de formation avec une formation diplômante le BAMS (Bachelor de Biologie Médicale Appliquée), des formations qualifiantes et des formations par compagnonnage
- un laboratoire d'analyses médicales dénommé Laboratoire Rodolphe Mérieux (LRM) avec des activités de recherche et des activités de routine.

La présente étude s'est déroulée dans le Laboratoire Rodolphe Mérieux (LRM).

Le CICM a pour mission de participer tout comme les autres structures du Ministère de la Santé au développement sanitaire du Mali par le service rendu aux malades, la formation, la recherche et le renforcement des capacités dans le domaine du diagnostic biologique dans des conditions désintéressées au bénéfice de la population.

Les ressources humaines du CICM sont composées de 29 agents, répartis entre les services techniques du LRM (17 agents) et les fonctions de support administratif, financier et logistique (12 agents).

L'organigramme du Centre d'infectiologie Charles Mérieux de Bamako est en annexe de ce document. (Cf. annexe n°1)

Le LRM se compose des Laboratoires 1 et 2 au sein desquels les activités de recherche et de diagnostic de routine sont effectuées. Le Laboratoire 1 offre le cadre et le matériel pour la

réalisation des examens d'hématologie, de biochimie et d'immunologie et le Laboratoire 2 prend en charge les examens de microbiologie (bactériologie, mycologie et parasitologie).

Le niveau d'équipement du Laboratoire Rodolphe Mérieux pour la microbiologie au Laboratoire 2 où s'est déroulée notre étude est comme suit :

- Un (1) étuves de marque JOUAN ;
- Une (1) plaque chauffante de marque STUART ;
- Une (1) centrifugeuse de marque JOUAN ;
- Un (1) réfrigérateur de marque LIEBHERR pour la conservation des milieux de culture préparés (+ 5 degrés Celsius) ;
- Un (1) réfrigérateur de marque LIEBHERR pour la conservation des réactifs (+ 5 degrés Celsius) ;
- Deux (2) microscopes optiques;
- Une (1) hotte de bactériologie à flux laminaire de marque JOUAN ;
- Un (1) autoclave pour la stérilisation de la verrerie, et pour la préparation des milieux de culture ;
- Un (1) automate VITEK[®] 2 Compact de marque bioMérieux (pour la réalisation des identifications de souches bactériennes et des antibiogrammes) ;
- Un (1) automate mini API[®] de marque bioMérieux (pour la réalisation des identifications de souches bactériennes et des antibiogrammes).
- Un four à microonde

5.3. TYPE ET PERIODE D'ETUDE

Il s'agit d'une étude retro-prospective portant sur les différentes souches de *Staphylococcus aureus* isolées au Laboratoire Rodolphe Mérieux de 2006 à 2015.

5.4. POPULATION D'ETUDE

Notre étude a portée uniquement sur les souches bactériennes de *Staphylococcus aureus* isolées à partir des différents prélèvements bactériologiques adressés au LRM.

5.4.1. Critères d'inclusion

Ont été incluses dans notre étude les souches de *Staphylococcus aureus* isolées des différents prélèvements bactériologiques au LRM et ayant fait l'objet d'antibiogramme.

5.4.2. Critères de non inclusion

N'ont pas été pas inclus dans notre étude :

- Les prélèvements non conformes.
- Toutes les souches de *Staphylococcus aureus* n'ayant pas fait l'objet d'antibiogramme.

5.5. ECHANTILLONNAGE

L'étude a porté sur les différents échantillons reçus dans le laboratoire de bactériologie et desquels fut isolée la bactérie *Staphylococcus aureus*.

5.5.1. Variables mesurées :

- Age des patients
- Sexe des patients
- Provenance des prélèvements
- Types de prélèvement
- Résistances aux antibiotiques

5.6. METHODE DE DIAGNOSTIC DE *Staphylococcus aureus* AU LABORATOIRE

Le diagnostic repose sur la mise en évidence des caractères bactériologiques, et biochimiques propres à la bactérie dans un échantillon.

5.6.1. Phase Pré analytique

L'étude a porté sur tous les prélèvements destinés au laboratoire de bactériologie du Centre d'Infectiologie Charles Mérieux. Les différents types de prélèvement étaient les pus (plaies, les abcès, ascite, liquide (articulaire, pleural, prostatique, synovial) ostéite...), les hémocultures, les urines, les liquides céphalo-rachidiens et autres liquides de ponction, les expectorations, les prélèvements vaginaux, les prélèvements de sels, les prélèvements ORL, les spermocultures.

Certains prélèvements sont effectués sur place au laboratoire tandis que d'autres viennent des différents hôpitaux et autres structures de santé.

Les prélèvements sont enregistrés dans le système informatique du laboratoire au niveau de la réception. Un numéro d'identification est attribué à chaque échantillon. Ensuite, ils sont acheminés au laboratoire sur la paillasse de bactériologie. Chaque échantillon est associé à une fiche de paillasse. Sur cette fiche est notées les différentes observations durant la phase analytique jusqu'au rendu des résultats.

5.6.2. Phase Analytique

Il s'agit de la phase technique de laboratoire de l'examen donc du traitement proprement dit de l'échantillon jusqu'à la conclusion de la présence ou non d'un ou des germes et de la réalisation des antibiogrammes. Chaque échantillon est traité selon une procédure de diagnostic bien définie. Ces différentes procédures suivent généralement le schéma diagnostic suivant :

5.6.2.1. Examen macroscopique

En fonction des différents types de prélèvement, il s'agit de noter l'aspect, la couleur, et de juger de la conformité du prélèvement.

5.6.2.2. Examen microscopique

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

La cytologie est effectuée par observation directe à l'état frais au microscope. Les différents éléments (leucocytes, hématies, cellules épithéliales...) rencontrés en fonction du type de prélèvement sont notés.

L'étude bactériologique consiste en une observation au microscope après coloration de Gram (Mode opératoire de la coloration de Gram cf. annexe N° 2). Cet examen constitue le premier test d'orientation vers le *Staphylococcus aureus*. Certaines caractéristiques de la bactérie peuvent déjà être mises en évidence à l'observation de cette coloration. La bactérie se présente sous la forme de cocci à Gram positif d'environ 0,5 à 1 µm de diamètre. La disposition en amas (grappe de raisin) est très caractéristique. Elle peut aussi être disposée de façon isolée, en diplocoques, ou en courte chaînette. Cette observation constitue une première orientation vers le *Staphylococcus aureus*.

5.6.2.3. Culture et Identification préliminaire

Selon la procédure spécifique à l'échantillon, ce dernier sera mis en culture sur différents milieux de culture. Le *Staphylococcus aureus* peut croître sur plusieurs milieux :

- Gélose chocolat (PVXPoly-vitex), incubée à 37°C sous CO₂ ;
- Gélose au sang (COS Columbia +5% de sang frais de mouton), incubée à 37°C sous CO₂ ;
- Chapman, incubé en aérobiose ;
- Gélose Uriselect 4 ;
- Bouillon cœur cerveau.

Ces milieux seront incubés pendant 24 – 48 h à 37°C. En cas de bouillon trouble, il sera ensemencé sur un milieu de culture solide.

Les colonies de *S. aureus* apparaissent rondes avec un diamètre entre 1 à 3mm. Elles sont lisses, opaques et convexes. Elles produisent souvent une bêta-hémolyse sur les géloses au sang et un pigment caroténoïde jaune doré. Cette coloration dorée des colonies constitue un aspect caractéristique du *S. aureus*.

Sur les géloses chocolat, au sang (COS) et Uriselect 4, à partir de ces colonies caractéristiques, le test à la catalase (procédure voir annexe N°7) permettra une orientation vers le genre staphylocoque. Ces derniers étant à catalase positive. Cependant, des tests supplémentaires sont nécessaires pour confirmer l'espèce *S. aureus*.

Aussi, à ce niveau une coloration au Gram peut être effectuée sur ces colonies pour confirmer l'aspect caractéristique au microscope.

La culture sur gélose Chapman est une étape importante du diagnostic. Ce milieu permet l'isolement des staphylocoques. La présence de mannitol sur ce milieu permet une orientation vers *S. aureus* ou une autre espèce de *staphylococcus* fermentant le mannitol. Ces colonies fermentant le mannitol feront virer la coloration du milieu du rose/rouge au jaune.

La présence de colonies mannitol + sur le milieu Chapman permet une orientation pour l'identification de l'espèce *S. aureus*. Mais il ne s'agit que d'un test de présomption et une confirmation par des tests plus spécifiques est nécessaire.

5.6.2.4. Tests de confirmation

En présence de colonies caractéristiques à catalase positive sur les géloses chocolat, au sang frais (COS) et Uriselect 4 ou de colonies mannitol plus (+) sur la gélose Chapman, l'identification finale de l'espèce *S. aureus* se fait avec les tests de coagulase (Mode opératoire.cf. Annexe N°6), ou par le VITEK® 2 Compact (Mode opératoire.cf. Annexe 3).

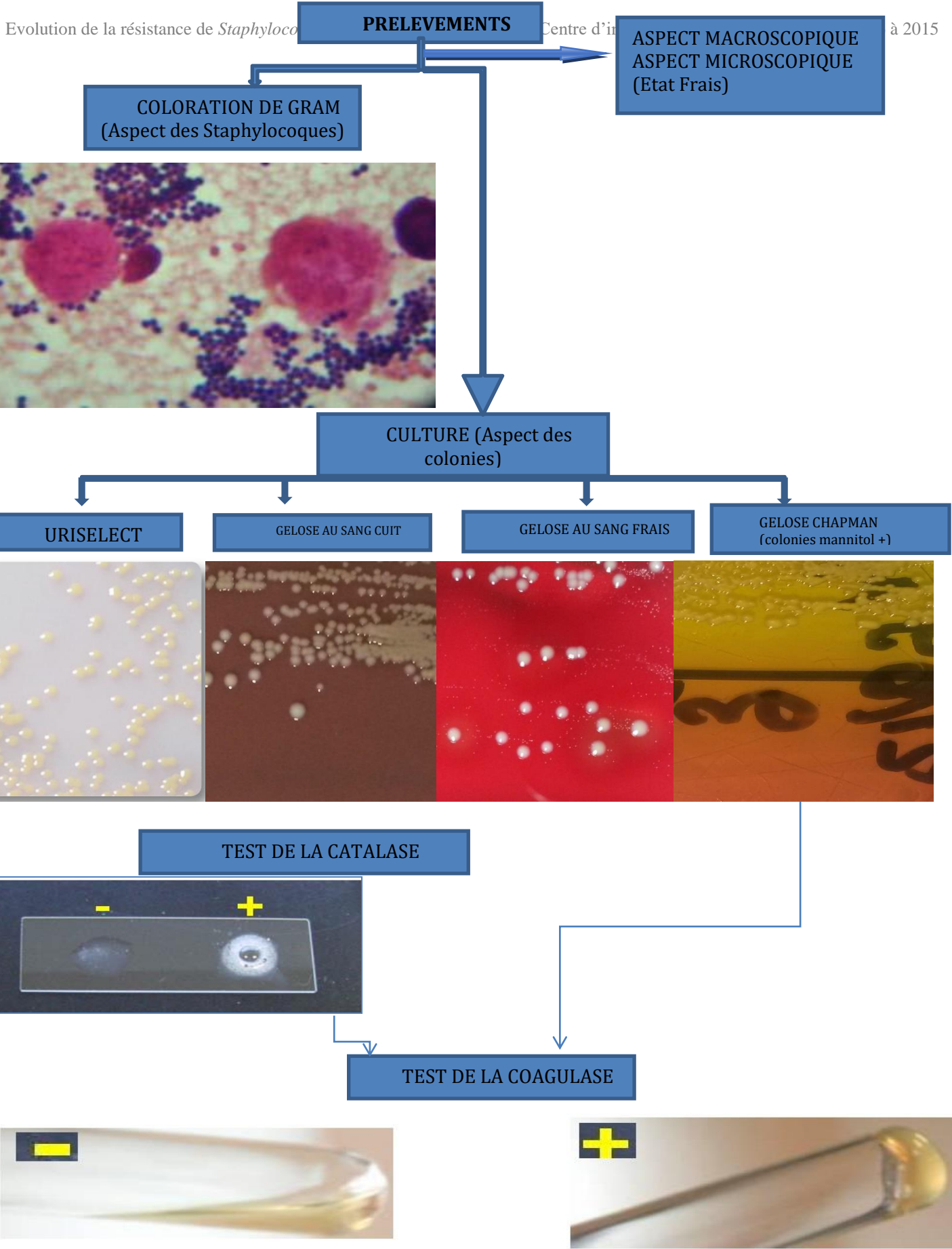


Figure 8: Schéma de diagnostic de *S. aureus* au Laboratoire



Figure 9: Colonies de *S. aureus* sur Uriselect. Image du Laboratoire Rodolphe Mérieux



Figure 10: Colonies de *S. aureus* sur Gélose au sang (COS). Image du Laboratoire Rodolphe Mérieux

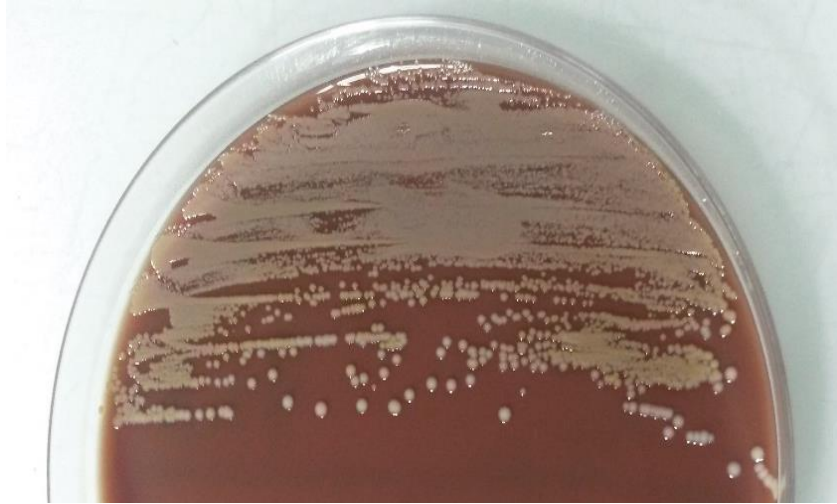


Figure 11: Colonies de *S. aureus* sur gélose PVX Poly-vitex (Chocolat). Image du Laboratoire Rodolphe Mérieux

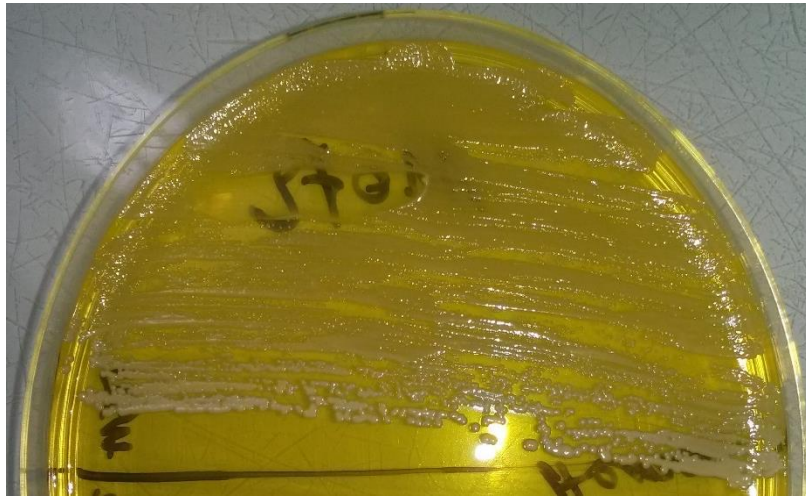


Figure 12: Colonies de *S. aureus* sur gélose Chapman (MSA). Image du Laboratoire Rodolphe Mérieux

5.6.2.5. Identification et test de Sensibilité aux antibiotiques

Les Automates
VITEK® 2 Compact



Figure 13: Instrument VITEK® 2 Compact. Image du Laboratoire Rodolphe Mérieux

L'automate VITEK® 2 Compact de bioMérieux est utilisé depuis 2011 pour l'identification de des bactéries et la détermination de la sensibilité des différentes souches aux antibiotiques. Dans le cadre de notre travail, nous avons utilisé la carte d'identification GP (Gram positif) ainsi que la carte d'antibiogramme AST-P580.

La carte d'identification Gram positif (GP) du VITEK® 2 s'utilise avec les Systèmes VITEK® 2 Compact pour l'identification automatique des germes à Gram positif fréquemment rencontrés en microbiologie clinique.

Elle se base sur des méthodes biochimiques établies et de nouveaux substrats développés. Il existe 43 tests biochimiques mesurant l'utilisation des sources de carbone, l'activité enzymatique et la résistance. Les résultats d'identification définitifs sont obtenus en 8 heures maximum environ [67].

La carte d'antibiogramme (AST) pour les VITEK[®] 2 Systems est une méthode de test automatique qui repose sur la technique de détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) rapportée par MacLowry Marsh et Gerlach. La carte d'antibiogramme est une version miniaturisée et abrégée de la technique de double dilution pour les valeurs CMI déterminées par micro dilution [67]. Mode opératoire de l'utilisation du VITEK[®] 2 (cf. Annexe 3)

5.6.2.6. Dépistage du SARM par le VITEK[®] 2

La carte d'antibiogramme (AST P580) pour le VITEK[®] 2 Compact contient le test Cefoxitin Screen. Ce test est basé sur la méthode de diffusion du CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute) pour la recherche du gène *mecA*. Ce test est ainsi utilisé pour la recherche des SARM depuis 2011.

5.6.2.7. Le test de la résistance inductible à la clindamycine

La carte d'antibiogramme (AST P580) pour le VITEK[®] 2 comporte aussi le test pour la recherche de la résistance inductible à la clindamycine (Test ICR). Un test ICR positif indique une résistance inductible MLS_B qui confère une résistance aux macrolides, aux lincosamides et à la streptogramine de type B. Un isolat avec un test ICR positif doit être rapporté comme résistant à la clindamycine. Néanmoins, la clindamycine peut demeurer efficace chez certains patients. Si le test ICR est positif et que le résultat de la clindamycine est sensible ou intermédiaire, le résultat de la clindamycine sera attribué résistant par le test ICR (en mode CLSI[®] ou Utilisateur, selon le CLSI[®])[67].

5.6.2.8. mini API[®]

L'automate mini API[®] de bioMérieux est utilisé pour l'identification de la bactérie et la détermination de la sensibilité aux antibiotiques.

Principe de fonctionnement

Le Mini API permet deux types de lecture.

Turbidimétrie : mesure de l'intensité de la lumière transmise (T) inversement

proportionnelle à la croissance bactérienne.

Néphélométrie : mesure de l'intensité de la lumière diffusée (D) à 30°C directement proportionnelle à la croissance bactérienne.

Ces deux mesures permettent d'évaluer la densité bactérienne dans chaque cupule.

5.6.2.9. Méthode de diffusion en milieu gélosé des disques imprégnés d'antibiotiques

Ce procédé définit l'utilisation de la méthode de diffusion des disques imprégnés d'antibiotiques in vitro selon Kirby- Bauer pour tester la sensibilité, d'importants isolats en clinique. Les résultats de cet examen peuvent aider les médecins dans la sélection de l'antibiotique approprié pour la thérapie.

- Principe : La méthode de diffusion des disques selon Kirby- Bauer est basée sur l'observation qu'il y a une corrélation entre la concentration minimale inhibitrice (CMI) et le diamètre de la zone d'inhibition de croissance bactérienne autour d'un disque d'antibiotique. La taille de la zone d'inhibition de croissance est déterminée par la sensibilité du micro-organisme à l'antibiotique, la concentration du disque d'antibiotique, le taux de diffusion de l'antibiotique du disque et le taux de croissance du micro-organisme. En standardisant les conditions du test (exemple : préparation d'un seul antibiotique contenu dans le disque, milieu de culture spécial, atmosphère et durée d'incubation) et avec une concentration du micro-organisme du test, la zone d'inhibition mesurée sera corrélée avec la sensibilité du micro-organisme à l'antibiotique (exemple : plus la zone est grande, plus le micro-organisme est sensible). Le test doit être exécuté exactement comme décrit sinon les résultats ne seront pas précis.

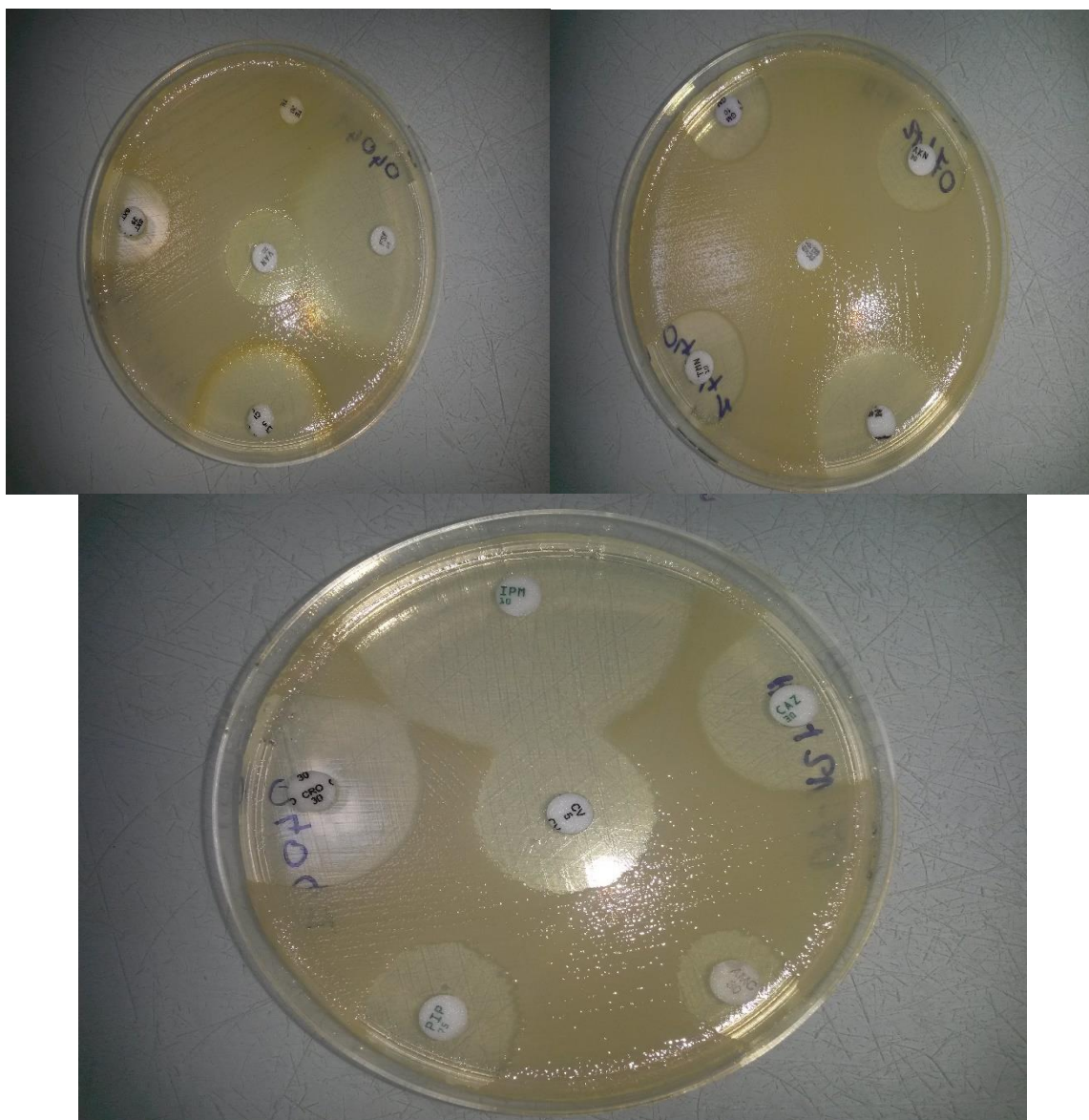


Figure 14: Images de l'antibiogramme selon la méthode de diffusion en milieu gélosé. Image du Laboratoire Rodolphe Mérieux

Les antibiotiques utilisés :

PEN: Penicilline **OXA:** Oxacilline **GEN :** Gentamicine **ERY :**Erythromycine
FOS :Fosfomycine **RFA:**Rifampicine **FUC :**Acide fusidique **VAN:** Vancomycine **TEC:**
Téicoplanine **SXT:**Cotrimoxazole **TOB:**Tobramycine ; **TET:**Tetracycline ;

5.6.3. Phase post analytique

5.6.3.1. Validation Biologique

Réservée au biologiste ou ses assistants, elle s'effectue en confrontant l'ensemble des résultats avec les éléments cliniques apportés par la discussion avec le médecin prescripteur. Elle est objectivée par la signature du compte-rendu.

5.6.3.2. Rendu de résultat

Toutes les informations recueillies lors de la phase analytique sont notées sur la fiche de paillasse. Le résultat de l'antibiogramme est directement imprimé à partir du VITEK® 2 Compact. L'ensemble des résultats seront saisis sur le système informatique CODAT. Dans certains cas, le résultat peut être communiqué par téléphone au clinicien en charge du patient. Cependant, seul le biologiste est en mesure de téléphoner ou ses assistants.

5.6.3.3. Conservation des bactéries

Après identification et réalisation de l'antibiogramme, les souches de SARM et de SARV ont été conservées (conféré annexe N°5 procédure de conservation des souches).

5.7. ASPECTS ETHIQUES

Les analyses ont été effectuées en respectant les règles de bonnes pratiques de laboratoire. L'anonymat et la confidentialité des patients ont été respectés conformément aux règles d'éthique médicale. En effet les noms et prénoms des patients n'ont été mentionnés dans aucun document permettant de faire le lien avec le résultat.

Les références bibliographiques n'ont pas fait l'objet de modifications.

Il n'y a pas de conflit d'intérêts dans cette étude.

5.8. COLLECTE DES DONNEES

Les données ont été principalement collectées à partir des résultats rendus sur le système informatique CODAT. Elles sont complétées avec certaines informations sur les fiches de paillasse et accessoirement du VITEK® 2 Compact.

5.9. SAISIE ET ANALYSE DES DONNEES

Le texte est saisi avec le logiciel Microsoft Word (version 2007 et 2013). Les données ont été saisies et analysées à l'aide du logiciel Microsoft Excel (version 2007 et 2013). Les figures furent réalisées à l'aide du logiciel Microsoft Excel (version 2013). Le test de χ^2 a été utilisé pour comparer nos proportions avec un p significatif $\leq 0,05$.

6. RESULTATS

6.1. RESULTATS GLOBAUX

Au cours de la période d'étude (2006-2015), un total de 711 souches de *Staphylococcus aureus* a été isolé au Laboratoire Rodolphe Mérieux. Ces bactéries ont été principalement isolées des pus de plaie, les hémocultures, les urines et les liquides biologiques ne représentant qu'une part mineure.

Les prélèvements provenaient du Centre Hospitalo-universitaire Gabriel Touré, de l'hôpital du Point G, de l'hôpital du Mali et des autres structures de santé communautaire.

La majeure partie des résultats descriptifs concernera la partie prospective de l'étude (année 2015). Cette année 62 souches avaient été isolées, dont 31% étaient résistants à la méticilline, et 7% étaient résistants à la vancomycine.

6.2. RESULTATS DESCRIPTIFS

6.2.1. Répartition du nombre de *S. aureus* isolé selon les années

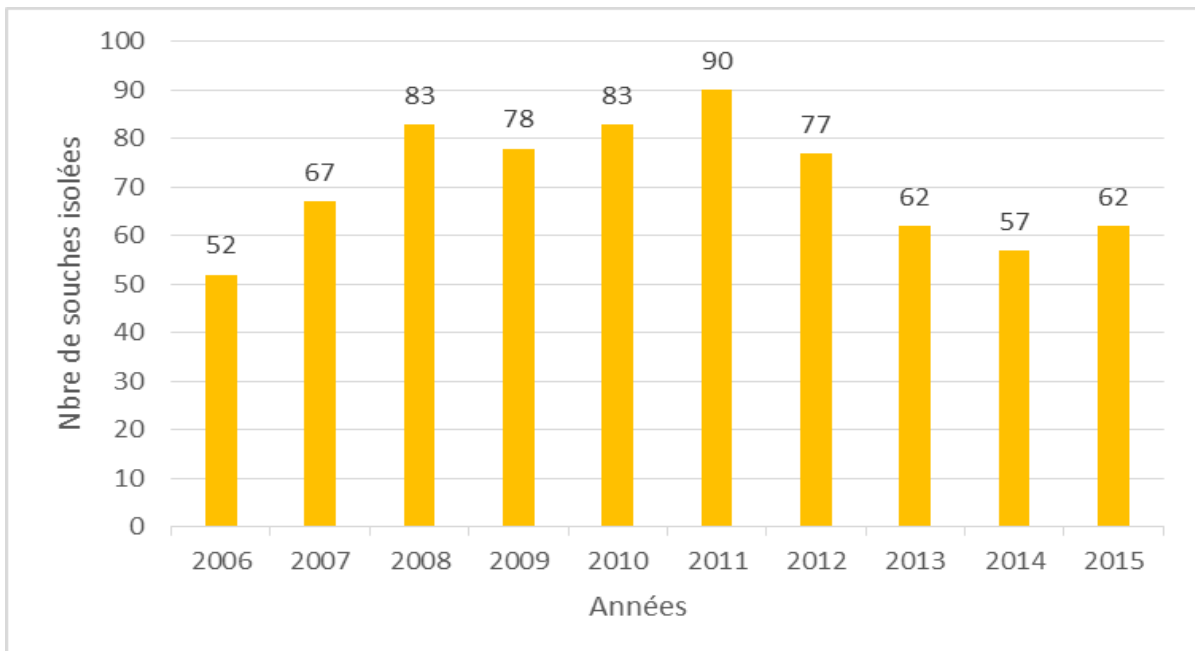


Figure 15: Répartition du nombre de *S. aureus* isolé selon les années

Environ, entre 50 et 90 souches de *S.aureus* sont isolées par an au LRM.

6.2.2. Origine des prélèvements

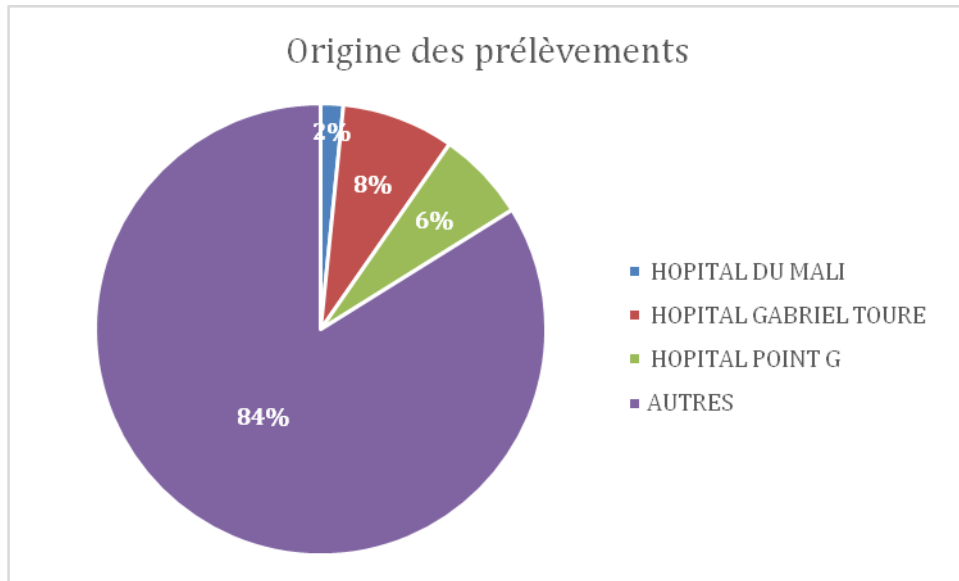


Figure 16: Répartition des 62 souches de *Staphylococcus aureus* isolées en 2015 selon l'origine du prélèvement

L'essentiel des prélèvements venait des structures de milieu communautaire (84%), les hôpitaux ne représentaient qu'une part mineure (hôpital du Point G 6%, hôpital Gabriel Toure 8% et l'hôpital du Mali 2%).

6.2.3. Répartition des souches de *S. aureus* selon les types prélèvements

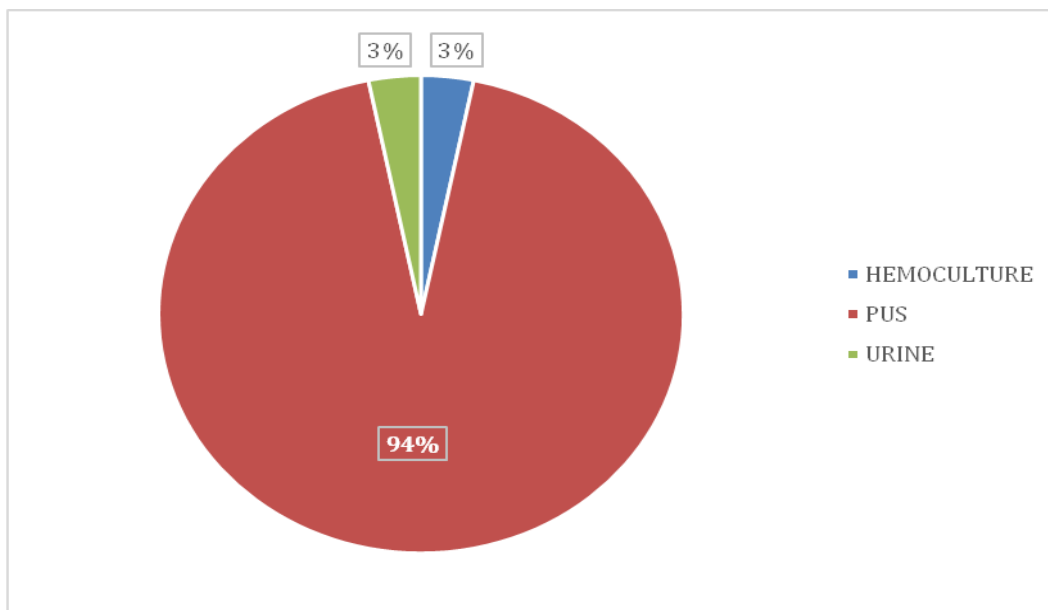


Figure 17: Répartition des 62 souches de *Staphylococcus aureus* isolées en 2015 selon le type de prélèvement.

La majorité des prélèvements (94%) fut regroupée sous la dénomination PUS. Seules 2 urines et 2 hémocultures complètent les échantillons.

Les pus concernaient une diversité de sites atteints : les plaies, les pus d'oreille, de gorge, les abcès (du cou, abcès du crâne, abcès de la cuisse) adénopathie suppurante, ascite, empyème cérébrale opérée, épanchement péricardique, infections post- opératoires, lésions tumorales de l'aisselle, liquide (articulaire, pleural, prostatique, synovial) ostéite, perte urétrale, polyarthrite fébrile, sécrétions bronchiques...

6.2.4. Répartition des souches de *S. aureus* selon le sexe et l'âge du patient

Les infections à *Staphylococcus aureus* ont été le plus retrouvées chez les hommes avec 66%. Le ratio hommes/femmes était de 1,9.

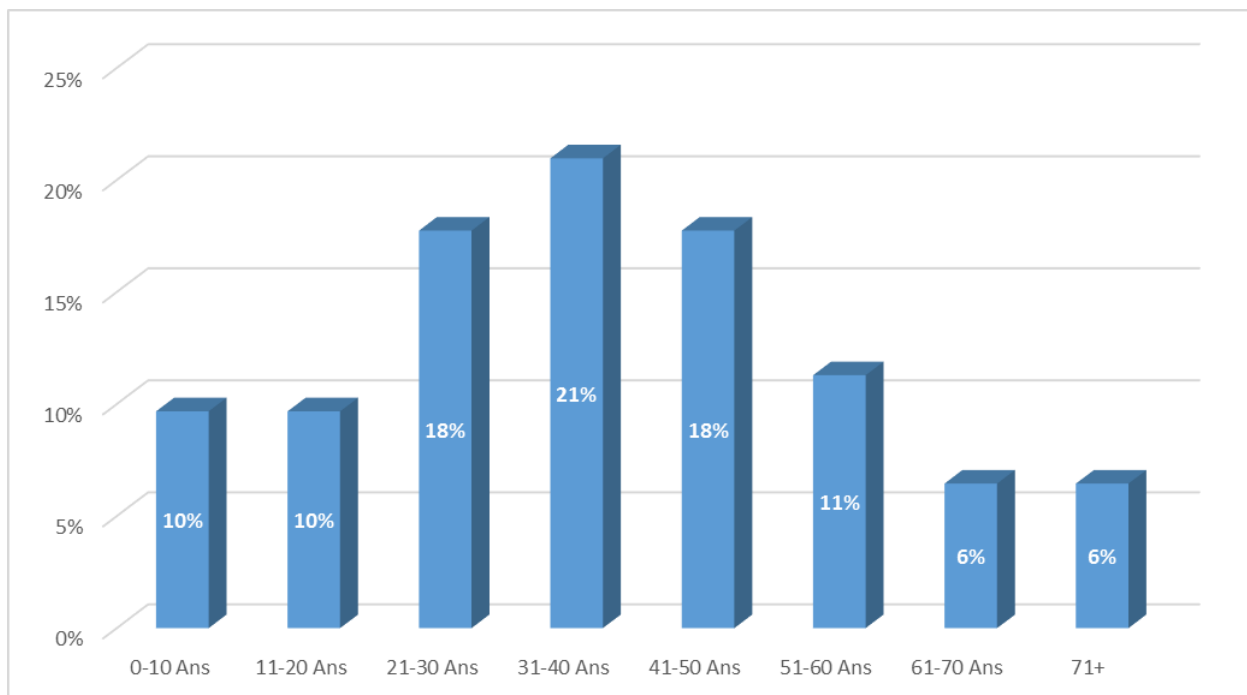


Figure 18: Répartition de 62 souches de *Staphylococcus aureus* isolées en 2015 selon l'âge des patients

La tranche d'âge 30 à 39 ans représentait le taux le plus élevé d'infection avec 21%. Elle était suivie des tranches 20 à 29 ans et 40 à 49 ans avec 18% chacun. Le taux le plus bas a été noté

dans la tranche d'âge des plus de 70 ans. La moyenne d'âge était de 36 ans avec des extrêmes de 1 an et 80 ans.

6.2.5. Résistances aux antibiotiques des souches de *S. aureus*

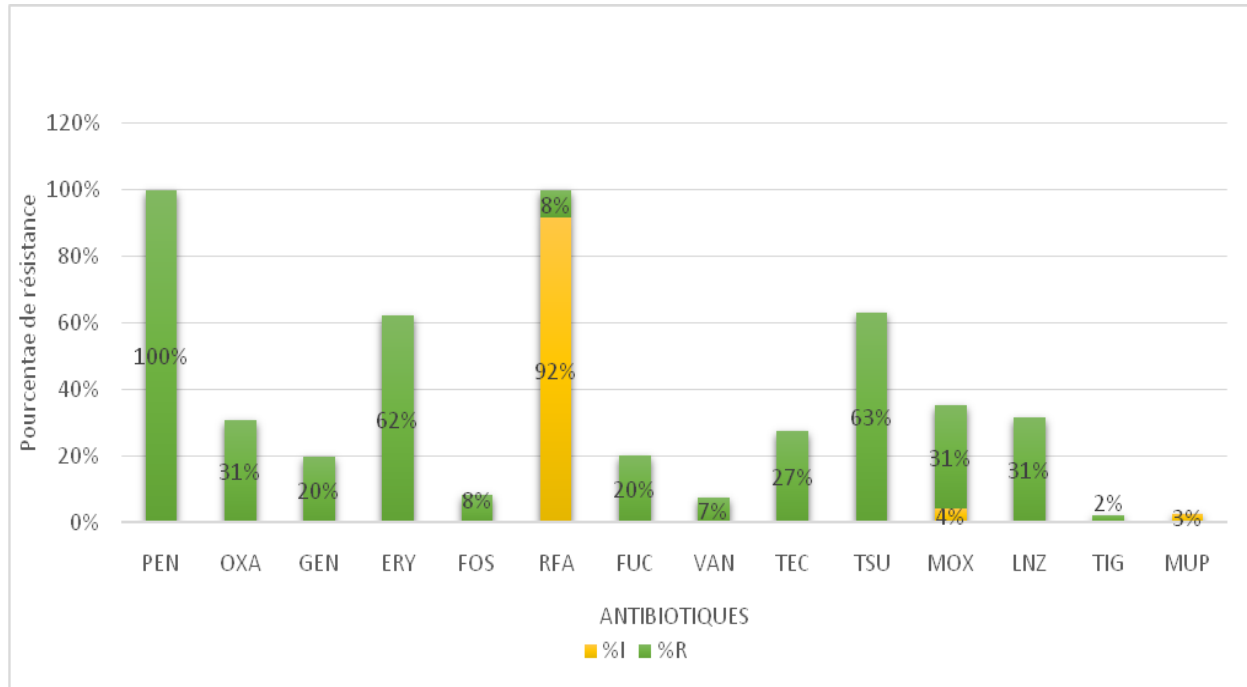


Figure 19: Résistances aux antibiotiques des 62 souches de *S. aureus* isolés en 2015

PEN: Penicilline **OXA:** Oxacilline **GEN :** Gentamicine **ERY :**Erythromycine
FOS :Fosfomycine **RFA:**Rifampicine **FUC :**Acide fusidique **VAN:** Vancomycine **TEC:**
Téicoplanine **SXT:**Cotrimoxazole **MOX:** Moxifloxacin **LNZ :**Linézolide **TIG :**Tigecycline
MUP :Mupirocine ;
S : sensible **I :** Intermédiaire **R :** Résistant

Le taux de SARM était de 31 % (19). La résistance aux antibiotiques de ces SARM était croisée avec toutes les autres bêta-lactamines.

Les antibiotiques les plus actifs furent la vancomycine (7% de résistance), la fosfomycine (8% de résistance), la tigecycline (2% de résistance), et la mupirocine (3% d'intermédiaire).

Toutes les souches étaient résistantes à la pénicilline (100% de résistance). Les autres antibiotiques les moins actifs furent la rifampicine, la doxycycline (69% de résistance), le cotrimoxazole (63% de résistance) et l'érythromycine (62% de résistance).

Pour la rifampicine, la majorité des souches présentait une résistance intermédiaire (92%).

6.2.6. Résistances aux antibiotiques des souches SARM

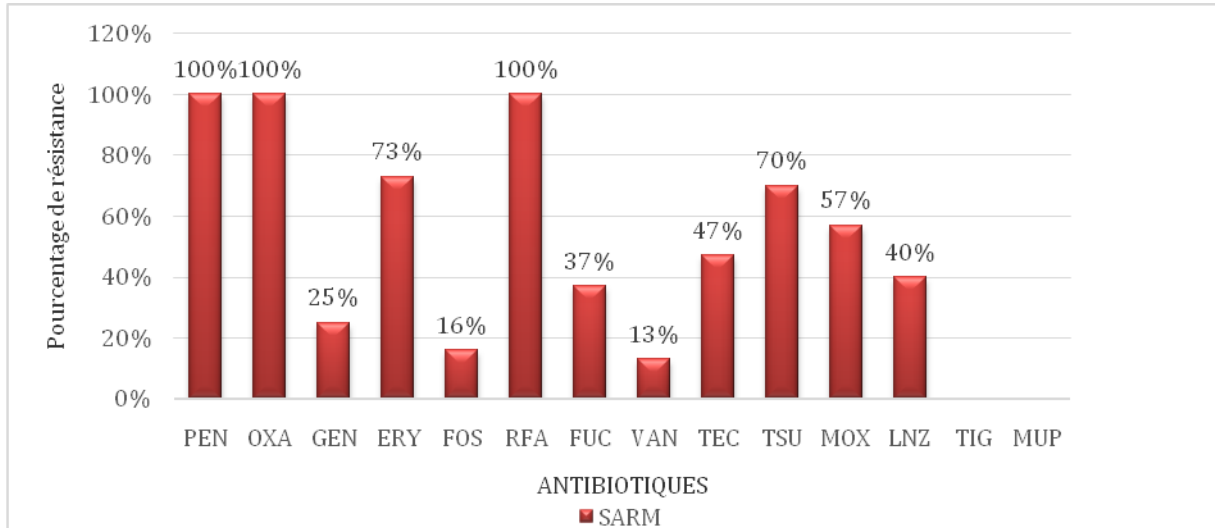


Figure 20: Résistances aux antibiotiques des 19 souches SARM en 2015

PEN: Penicilline **OXA:** Oxacilline **GEN :** Gentamicine **ERY:** Erythromycine
FOS :Fosfomycine **RFA:** Rifampicine **FUC :**Acide fusidique **VAN:** Vancomycine **TEC:**
Téicoplanine **SXT:**Cotrimoxazole **MOX:** Moxifloxacin **LNZ :**Linézolide **TIG :**Tigecycline
MUP :Mupirocine

S : sensible **I :** Intermédiaire **R :** Résistant

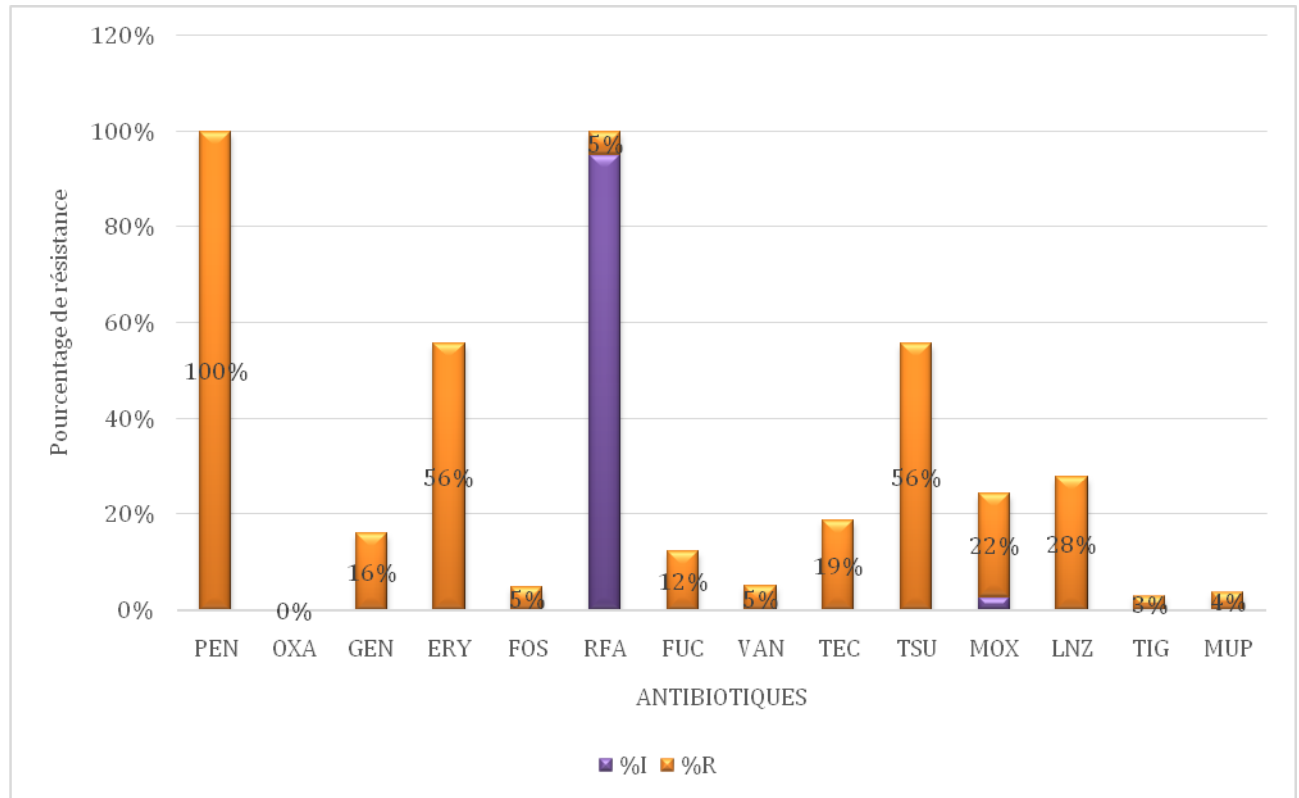
Les SARM ont montré des taux assez élevés de résistance.

La résistance de ces SARM était croisée avec toutes les bêta-lactamines. Les antibiotiques les plus actifs furent la vancomycine (13% de résistance), la fosfomycine (16% de résistance), la tigecycline (0% de résistance), et la mupirocine (0% de résistance).

Les antibiotiques les moins actifs furent la rifampicine, le cotrimoxazole (70% de résistance) et l'érythromycine (73% de résistance), penicilline G (100% de résistance) et l'oxacilline (100% de résistance).

Pour la rifampicine, la majorité des souches présentait une résistance intermédiaire (84%).

6.2.7. Résistances aux antibiotiques des souches SASM



PEN: Penicilline **OXA:** Oxacilline **GEN :** Gentamicine **ERY:** Erythromycine
FOS :Fosfomycine **RFA:** Rifampicine **FUC :**Acide fusidique **VAN:** Vancomycine **TEC:**
Téicoplanine **SXT:**Cotrimoxazole **MOX:** Moxifloxacine **LNZ :**Linézolide **TIG :**Tigecycline
MUP :Mupirocine

S : sensible **I :** Intermédiaire **R :** Résistant

Figure 21: Résistances aux antibiotiques des 43 souches de SASM en 2015

Toutes les souches sensibles à la métilcilline restent résistantes à la pénicilline. Les antibiotiques les plus actifs furent la vancomycine (5% de résistance), la tigecycline (3% de résistance), et la mupirocine (4% de résistance).

Les antibiotiques les moins actifs furent la rifampicine, le cotrimoxazole (56% de résistance) et l'érythromycine (56% de résistance).

Pour la rifampicine, la majorité des souches présentait une résistance intermédiaire (95%).

6.2.8. Résistance comparée aux antibiotiques des souches SARM et SASM

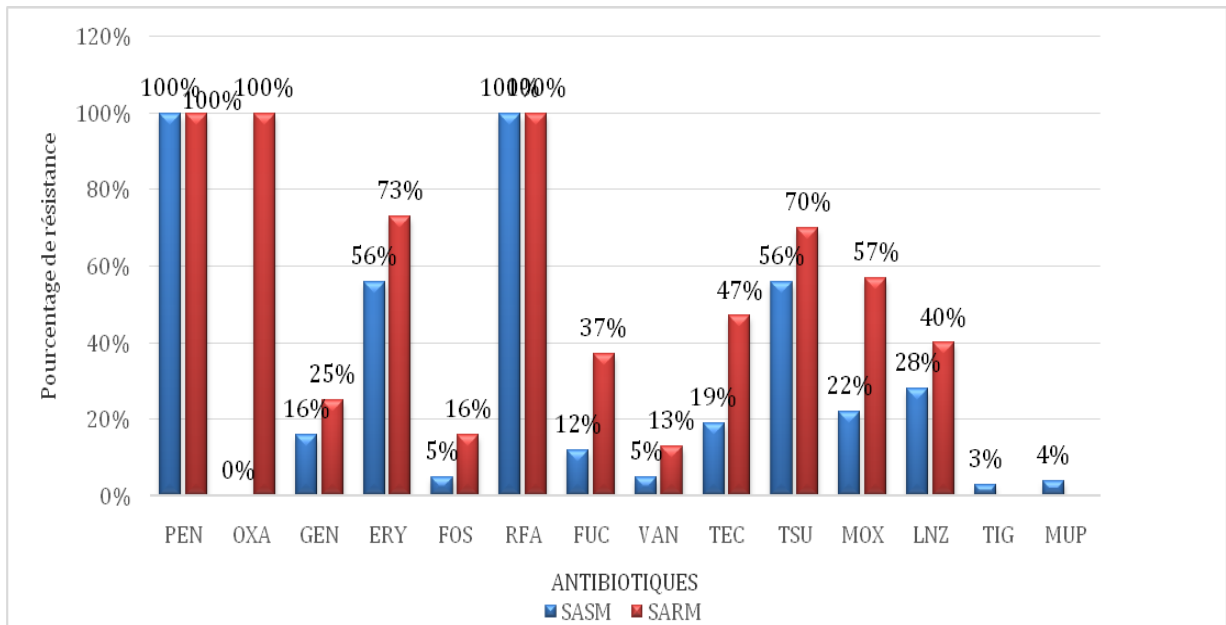


Figure 22: Résistance comparée aux antibiotiques des souches SARM et SASM

GEN : Gentamicine **ERY** : Erythromycine **FOS** : Fosfomycine **RFA** : Rifampicine
FUC : Acide fusidique **VAN** : Vancomycine **TEC** : Téicoplanine **SXT** : Cotrimoxazole **MOX** :
Moxifloxacin **LNZ** : Linézolide **TIG** : Tigécycline **MUP** : Mupirocine

S : sensible **I** : Intermédiaire **R** : Résistant

Les SARM se sont montrés plus résistants aux antibiotiques que les souches de SASM. Pour la rifampicine, le même phénomène de résistance a été observé, la majorité des souches de *S. aureus* ont eu une résistance intermédiaire par rapport à cette molécule. Les antibiotiques les plus actifs sur les deux phénotypes furent la fosfomycine, l'acide fusidique, la vancomycine, la tigécycline et la mupurocine. Tous les SARM étaient sensibles à la tigécycline et à la mupurocine. Cependant, il y a une souche SASM résistante à la mupurocine et une autre résistante à la tigécycline.

6.2.9. Evolution des taux de SARM et de SARV depuis 2006

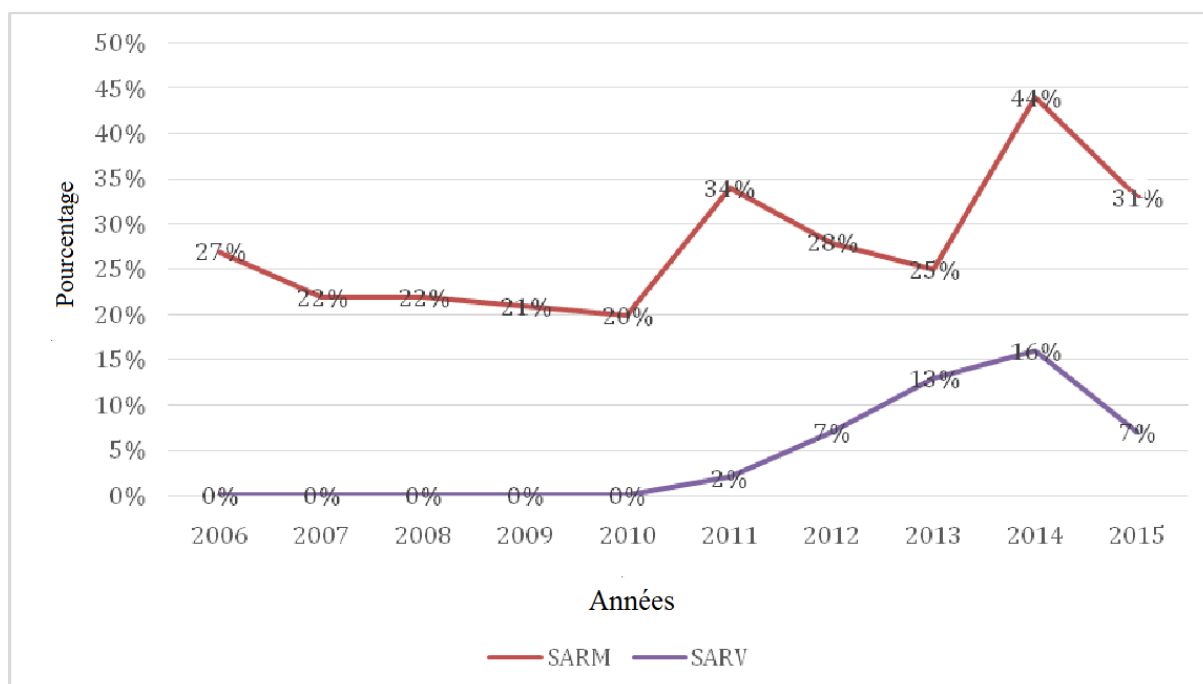


Figure 23: Evolution du taux de SARM et de SARV de 2006 à 2015

6.2.10. Résistance à la vancomycine chez les souches de SARM

Tableau II: Evolution du taux de SARM et de SARV de 2006 à 2015

Années	TOTAL Souches	(Nbre testé)%SARM	(Nbre testé)%SARV
2006	52	(52)27%	(52)0%
2007	67	(65)22%	(64)0%
2008	83	(83)22%	(83)0%
2009	78	(78)21%	(78)0%
2010	83	(83)20%	(83)0%
2011	90	(90)34%	(89)2%
2012	77	(76)28%	(73)7%
2013	62	(61)25%	(62)13%
2014	57	(57)44%	(56)16%
2015	62	(62)31%	(55)7%

Tableau III: Evolution des taux de SARM et de SARV depuis 2006 sur des périodes de 5 ans

Périodes	%SARM	%SARV
2006-2010	22%	0%
2011-2015	32%	9%

Les SARM et de SARV ont eu des fréquences de résistance assez stationnaires jusqu'en 2010 (environ 20% pour le SARM et 0% pour le SARV). À partir de 2010, les taux ont constamment augmenté pour les deux phénotypes de bactérie pour atteindre un pic de 44% en 2014 pour le SARM et un pic de 16% pour le SARV la même année. Enfin les fréquences ont notablement chuté en 2015.

La moyenne des souches SARM isolées était de 27% sur la décennie de 2006 à 2015 sur 711 souches *Staphylococcus aureus*. On a observé une différence entre les deux périodes quinquennales 2006-2010 avec 22% de SARM et 2011-2015 avec 32%. On note également que les souches résistantes à la vancomycine ont commencé à apparaître durant cette dernière période.

6.2.11. CMI des souches résistantes à la vancomycine

Tableau IV: Association de la résistance à la méticilline et à la vancomycine

2011-2015	Phénotypes	SARM	SASM	Total
	Vanco-R	18	12	30
	Vanco-S	93	224	317
Total		111	237	348

Sur un total de 30 souches de *S. aureus* résistantes à la vancomycine, 18 étaient des SARM contre 12 qui restaient sensibles à la méticilline. Les SARM sont plus associés à la résistance à la vancomycine que les souches SASM ($p < 0.05$).

Tableau V: Répartition de la CMI des souches résistantes à la vancomycine

CMI ($\mu\text{g/ml}$)	Nbre de Souches	Pourcentages
4	8	26%
8	6	19%
16	1	3%
≥ 32	16	52%

Sur 31 souches dont les CMI ($\mu\text{g/ml}$) avaient été déterminées, 16 (52%) avaient une CMI ≥ 32 $\mu\text{g/ml}$. La moitié des souches résistantes à la vancomycine était ainsi des souches VRSA. Sept de ces 31 souches avait une CMI entre 8 $\mu\text{g/ml}$ et 16 $\mu\text{g/ml}$, constituant ainsi les souches VISA.

6.2.12. *S. aureus* et résistance inductible à la clindamycine (Souches de 2012-2013)

Tableau VI: *S. aureus* et résistance inductible à la clindamycine

Résistance à la clindamycine 2012-2013	TOTAL (n=146)
ERY-S CLI-S	103(71%)
ERY-R CLI-R (MLS _B constitutive)	12(8%)
ERY-R CLI-Si (MLS _B inductible)	13(9%)
ERY-R CLI-S	18(12%)

Dans notre étude (sur les souches de 2012 et 2013 ayant passé le test ICR) nous avons trouvé un taux de résistance à l'érythromycine de 29%. Parmi ces souches 12 (8%) avaient une résistance constitutive à la clindamycine, et 13(9%) avaient une résistance inductible à la clindamycine.

Enfin 18(12%) avaient une vraie sensibilité à la clindamycine.

Tableau VII: Association de la résistance à la clindamycine et la résistance à la méticilline

Résistance à la clindamycine 2012-2013	Résistance à la méticilline		
	SARM(n=30)	SASM(n=116)	TOTAL(n=146)
ERY-S CLI-S	9(30%)	94(81%)	103(71%)
ERY-R CLI-R (MLS _B constitutive)	11(37%)	1(1%)	12(8%)
ERY-R CLI-Si (MLS _B inductible)	5(17%)	8(7%)	13(9%)
ERY-R CLI-S	5(17%)	13(11%)	18(12%)

Les phénotypes MLS_B constitutive étaient beaucoup plus répandus chez les SARM que chez les SASM avec respectivement 37%(11) contre 1(1%). La différence est extrêmement significative avec un $p < 0,0001$.

Par contre, il n'y avait pas de différence significative entre les SARM et les SASM pour le phénotype MLS_B inductible $p = 0,142139$.

6.2.13. Evolution de la fréquence de résistance des autres antibiotiques testés de 2006 à 2015

Tableau VIII: Evolution du taux de résistance des *S. aureus* aux autres antibiotiques testés de 2006 à 2015

Années	Nbre de Souches	PEN	TOB	GENT	TET	MIN	ERY	LIN	PRI	FOS	RFA	FUC	TEC	SXT
2006	52	96%	18%	13%	64%	26%	35%	23%	8%	7%	17%	22%	0%	24%
2007	67	95%	20%	6%	62%	13%	32%	20%	2%	7%	0%	20%	5%	19%
2008	83	99%	12%	12%	58%	14%	33%	17%	0%	9%	4%	10%	1%	36%
2009	78	95%	15%	10%	61%	12%	44%	20%	3%	11%	10%	16%	3%	37%
2010	83	89%	16%	12%	55%	13%	62%	25%	3%	9%	11%	11%	7%	31%
2011	90	90%	22%	18%	63%	17%	51%		7%	13%	9%	13%	12%	29%
2012	77	98%	15%	15%	66%		31%			10%	32%	11%	8%	39%
2013	62	100%	3%	2%	79%		32%			3%	100%	8%	16%	37%
2014	57	100%	10%	6%	72%		40%			0%	100%	9%	29%	49%
2015	62	100%		20%			62%			8%	100%	20%	27%	63%

PEN : Pénicilline G ; **GEN** : Gentamicine **TOB** : Tobramycine **FOS** : Fosfomycine **TET** : Tétracycline **RFA** : Rifampicine **FUC** : Acide fusidique **MIN** : Minocycline **TEC** : Tétracycline **SXT** : Cotrimoxazole **MOX** : Moxifloxacin **ERY** : Erythromycine **PRI** : Pristinamycine **LIN** : Lincomycine

7. COMMENTAIRES ET DISCUSSION

7.1. Méthodologie

7.1.1. Les prélèvements

Tous les renseignements cliniques complets n'étaient pas disponibles pour tous les prélèvements. Ce manque de données ne nous a pas permis de préciser les types exacts des différents prélèvements. Les différents écouvillonnages provenaient de différents sites variés : plaies, pus d'oreille, de gorge, abcès (du cou, du crâne, de la cuisse), adénopathies suppurantes, ascite, empyème cérébral opéré, épanchement péricardique, infections post-opératoires, lésions tumorales de l'aisselle, liquide (articulaire, pleural, prostatique, synovial), ostéite, perte urétrale, polyarthrite fébrile, sécrétions bronchiques..... Ils sont regroupés sous la dénomination de « PUS ».

Aussi, l'origine hospitalière ou communautaire des prélèvements ne pouvait être déterminée à partir des renseignements cliniques disponibles sur les demandes d'analyses. Certaines demandes d'analyses provenaient distinctement des différents hôpitaux (Kati, Point G...). Cependant, ces demandes pouvaient concerner aussi des patients ambulants vus en consultation dans ces structures.

7.1.2. Identification des souches

L'identification était faite par l'étude des caractères bactériologiques et biochimiques de la bactérie : cocci Gram positif, fermentant le mannitol, avec production d'une coagulase. Le milieu Chapman était utilisé pour la culture.

En plus du test de la coagulase, une identification finale était réalisée avec la carte GP57 de l'automate VITEK® 2 Compact. Les souches de *S. aureus* furent identifiées avec une probabilité entre 85% (identification acceptable) et 99% (excellente identification).

La mise en évidence de la coagulase reste une étape importante dans le diagnostic de *S. aureus* dans les laboratoires d'analyses biomédicales. Le coût élevé du plasma lyophilisé de lapin utilisé dans le cadre de l'identification des souches de *Staphylococcus aureus* constitue une des raisons d'inadéquation entre les dépenses et les recettes des laboratoires d'analyses

biomédicales [68]. Une étude béninoise a permis d'établir le plus petit volume de plasma de lapin capable de révéler la présence de la staphylocoagulase libre. Selon les résultats, le volume de plasma de lapin peut-être donc réduit de 0,5 à 0,2 ml sans aucun impact sur la qualité du résultat [68]. Pour nos pays aux contextes économiques difficiles, cela permettrait certainement de réduire les coûts de diagnostic dans les laboratoires d'analyses biomédicales.

La détection de la résistance hétérogène à la méticilline peut être difficile en raison de la présence de deux sous-populations bactériennes (une sensible et l'autre résistante à la méticilline). Dans ces cas, les cellules exprimant l'hétérorésistance se développent plus lentement et pourraient passer inaperçues à des températures supérieures à 35°C. C'est pour cette raison que le CLSI recommande l'incubation des souches pour la recherche de SARM à des températures entre 33 et 35°C, pendant 24 heures [69]. Dans notre méthodologie, les cultures étaient incubées dans une étuve à 37°C pendant 24 heures, ce qui peut conduire à une insuffisance dans la détection des SARM hétérorésistants.

7.1.3. Importance du test de cefoxitin screen.

La recherche des souches de SARM à partir de l'automate VITEK[®] 2 Compact fut réalisée avec le test Cefoxitin Screen. Ce test est basé sur la méthode de diffusion du CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute) pour la recherche du gène *mecA*. Il fut ainsi utilisé pour la recherche des SARM à partir de 2011. Ce test de Cefoxitin Screen a montré une sensibilité de 99% et une spécificité de 96% [67]. Le taux de détection du « phénotype résistant à la Métricilline » d'une souche de *S. aureus* est plus élevé avec le disque de Céfoxitine qu'avec celui de l'Oxacilline [71]. Ce test a ainsi permis une identification rigoureuse des souches de SARM.

7.1.4. La recherche de la résistance inductible à la clindamycine

Dans les infections à SARM, et aussi pour des patients allergiques à la pénicilline, la clindamycine est une bonne alternative notamment dans les infections cutanées et des tissus mous. En plus, cette molécule a des paramètres pharmacologiques permettant une bonne biodisponibilité. Des échecs thérapeutiques dans certains traitements avec la clindamycine furent rapportés. Ces souches étaient résistantes à l'érythromycine et sensible à la clindamycine. Cependant, elles possédaient une résistance inductible à la clindamycine, cause de l'échec thérapeutique *in vivo* par sélection de mutants résistants [72].

Ainsi pour une souche sensible à la clindamycine, il est important de rechercher le caractère inductible de cette résistance.

7.1.5. L'antibiogramme

Au niveau de l'antibiogramme avec l'automate VITEK[®] 2 Compact, les souches furent réparties en sensibles, intermédiaires ou résistantes en fonction de leur CMI selon les recommandations de EUCAST ou du CLSI.

Avec l'antibiogramme selon la méthode de Kirby- Bauer la détermination de la résistance était basée sur les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Le manque de certains disques d'antibiotiques n'a pas permis d'obtenir des statistiques pour certaines molécules en 2015. Les molécules suivantes : tobramycine, doxycycline, tetracycline, lincomycine, clindamycine, pefloxacin et norfloxacine n'ont pu être testées sur toutes les souches isolées en 2015.

7.2. Résultat

7.2.1. Origine des prélèvements

Les hôpitaux ne représentaient qu'une part minime des prélèvements, 16% pour l'ensemble des hôpitaux (hôpital du Point G 6%, hôpital Gabriel Toure 8% et l'hôpital du Mali 2%). Ces souches pouvaient aussi provenir de patients vus en consultation dans ces hôpitaux. La plupart des échantillons (84%) provenait des autres structures communautaires. Ce faible pourcentage des principaux hôpitaux laisse une présomption de forte proportion de souches communautaires.

Depuis la fin des années 80, des études ont montré l'existence de SARM chez des sujets qui n'avaient jamais été hospitalisés. La transmission des SARM en milieu communautaire pourrait intervenir lors des soins à domicile ou au cabinet des médecins de ville. De plus, la transmission entre les membres d'une même famille a été démontrée, à partir d'une personne hospitalisée récemment ou appartenant au personnel soignant d'un établissement de soins [73].

7.2.2. Infections à *S. aureus*

D'après nos résultats, la majeure partie des souches furent isolées des « PUS ». La fréquence de *S. aureus* dans nos prélèvements reste très faible (3%). Ces résultats concordent avec ceux de TONY en 2014 où la part de *S. aureus* dans les infections urinaires était de (0.5%). Ces données sont aussi en accord avec la littérature où la proportion de *S. aureus* reste faible dans les infections urinaires.

Cependant, ces résultats discordent avec ceux de DICKO et de TCHOUGOUNE où les *S. aureus* provenaient principalement des urines avec respectivement des taux de 54,4% et 45 % [74].

7.2.3. Répartition des infections à *S. aureus* selon le sexe.

Les infections staphylococciques sont retrouvées plus chez les hommes avec un taux de 66%. Le sexe ratio (hommes/femmes) étant de 1,9. Le même constat est fait par HANANE [73] avec 69 souches (56.66%) chez les hommes et 53 souches (43.44%) chez les femmes sur un total de 122 souches. Ces résultats sont confirmés par plusieurs autres études antérieures [75].

Par ailleurs, DIALLO a trouvé une prévalence du portage nasal de *S. aureus* plus élevée chez les femmes que chez les hommes (avec 26% contre 15,9% de portage positif pour les femmes) [76].

7.2.4. Résistances aux antibiotiques

7.2.5. Les bêta-lactamines

Toutes nos souches de 2015 se sont révélées être résistantes à la pénicilline G. Ce résultat confirme les données de la littérature où les taux de résistance sont élevés (80% à 95%). Au Mali, DICKO en 2009 [74] et TCHOUGOUNE en 2007 [77] avaient des taux respectivement de 88% et 85%. Egalement en 2007 DIOUARA [78] avait trouvé un taux de résistance à la pénicilline de 86,25 %. Encore toutes les autres souches isolées en 2014 et 2013 étaient résistantes à cette molécule. Il faut remonter en 2012 pour retrouver une souche qui lui était sensible. Ces données montrent l'accentuation du niveau de résistance par rapport

à cette molécule. Nos souches SARM aussi bien que celles SASM avaient le même niveau de résistance à la pénicilline.

Dans notre étude, la moyenne de SARM était de 27% des souches de *Staphylococcus aureus* isolées sur la décennie de 2006 à 2015 avec 711 souches. On a observé une différence entre les deux périodes quinquennales 2006-2010 avec 22% de SARM et 2011-2015 avec 32%. Dans d'autres études au Mali, les pourcentages de SARM étaient de 58,9% chez DICKO [74], 42,5% chez TCHOUGOUNE [77] en 2007. Nos taux sont bien inférieurs à ceux observés par ces derniers.

En Afrique de l'Ouest, les taux varient entre les pays. Dans une étude béninoise sur 508 prélèvements d'urines et de sécrétions cervico-vaginales, la fréquence de *S. aureus* était de 12,4% dont 87,3% étaient résistants à la méticilline [79]. Au Sénégal, selon le rapport 2013 de l'Institut Pasteur de Dakar le taux de SARM était de 7,8%. Au Burkina, en 2008 20% des souches de staphylocoques était résistant à l'oxacilline [81]. En Côte d'Ivoire, dans une étude réalisée à Bouaké [82] le taux de SARM était de 5,5% par contre d'autres études indiquent des taux à 39% [83]. Au Maroc, entre 2008 et 2012 au CHU Hassan 2, le taux d'isolement des souches de SARM était de 5,2%. Ainsi nos taux restent bien supérieurs à ceux de ces derniers.

D'une manière générale en Afrique, le taux de SARM est en augmentation depuis les années 2000 [83].

Selon le dernier rapport de l'OMS sur la résistance aux antibiotiques, les taux globaux de SARM varient entre 20% et 80%, certaines régions dépassant même les 80% [5].

Selon ce même rapport, le taux de SARM en France en 2011 est de 20,1% (sur 4716 isolats invasifs). Cependant, ce taux est en constante baisse de 33% en 2002 à 17% en 2014 [84].

Quant aux Etats Unis, le taux de SARM était de 51,3% (sur 12327 isolats issus d'infections associées aux soins entre 2009 et 2010) [5].

Les taux les plus bas sont observés en Europe du Nord (Danemark 1,2%, Finlande 2,9%, la Hollande 1,4%, la Norvège 0,3%) [5]. Ces pays ont mis en place des politiques de contrôle des SARM depuis les années 80. Cette politique a été reconnue comme une des causes principales de la quasi disparition des SARM dans ces pays. Au Pays-Bas par exemple, le taux de SARM reste inférieur à 1%, et cela, pendant de nombreuses années. La politique de « Search and destroy » mise en place est ainsi un succès. Elle repose sur l'isolement préventif de toutes les personnes à risques, le dépistage, le traitement des infections, et la désinfection

des services et du matériel colonisé [73]. La mise en place de ces genres de mesures de contrôle a été un succès dans plusieurs pays européens et en Amérique du Nord. En France, la proportion de SARM parmi les souches cliniques de *S. aureus* a diminué de 41% en 1993 à 26,6% en 2007. Ce taux serait de 17% en 2014 [84]. En 2012, aux Etats Unis, sur l'incidence de base du calendrier 2007-2008, il y avait une diminution de 30% des cas de SARM [85]. De même, les chiffres affichés par d'autres pays comme la Belgique, l'Allemagne ou l'Angleterre montrent des baisses significatives des taux de SARM [75].

Le dépistage des porteurs de SARM à l'admission à l'hôpital est communément admis comme l'un des moyens les plus efficaces dans la lutte contre la dissémination des infections à SARM. Cela permet d'identifier les porteurs et les réservoirs afin de prendre des mesures rapides de prévention en particulier dans les services de soins intensifs. Cependant, ce dépistage dans notre contexte possède un coût important par rapport aux raisons de sa motivation.

7.2.6. Résistances aux glycopeptides

La vancomycine représente toujours l'un des traitements de choix face aux infections à SARM. Dans notre étude, on a observé l'émergence de souches résistantes à la vancomycine à partir de 2011. Jusqu'à présent peu d'études avaient évalué la sensibilité des souches de *S. aureus* à la vancomycine. Durant la période 2011-2015, on note en moyenne 9% de souches résistantes à cette molécule. On peut noter une légère augmentation de la fréquence de résistance à cette molécule durant les 5 dernières années (2011-2015). Même si elle reste bien active par rapport aux autres molécules, l'apparition de cette résistance est assez inquiétante vue que l'utilisation de cette molécule en thérapeutique est réservée au Mali.

En 2005, DIALLO [76] a observé un taux de résistance à la vancomycine de 5% sur 102 souches isolées à l'hôpital du Point G. En 2014, sur les *Staphylococcus aureus* isolés de pus diabétiques au Laboratoire Rodolphe Mérieux de janvier à décembre 2013, 5,5% étaient résistantes à la vancomycine [86].

AMINE avait observé 0% de résistance à la vancomycine, en 2014 en Algérie [75]. Au Sénégal en 2013, l'Institut Pasteur a rapporté 0% de souches résistantes à la vancomycine sur 113 souches [87].

Les taux de résistance restent faibles (<10%) d'une manière générale dans la plupart des pays africains [83].

Par ailleurs, l'émergence de la résistance à la teicoplanine, 27% pour les souches de *S. aureus* en générale et 40% chez les SARM est aussi inquiétante. La résistance à cette molécule n'existait pas en 2009, et pendant les années antérieures. Elle a connu une augmentation soutenue jusqu'en 2015, passant de 7% en 2009 à 27% en 2015.

Sur 31 souches dont les CMI avaient été déterminées, 16 (52%) avaient une CMI ≥ 32 $\mu\text{g/ml}$. On avait donc une prédominance de souches VRSA. De plus, ces souches sont en augmentation depuis 2011.

Par ailleurs, 18 des 30 souches résistantes à la vancomycine étaient des SARM. La proportion de SARM était ainsi plus élevée que celle de SASM parmi les souches résistantes à la vancomycine.

7.2.7. Résistance aux autres antibiotiques

La gentamicine est restée assez bien active sur l'ensemble de nos souches de *Staphylococcus aureus*. Le taux le plus élevé de résistance était observé en 2015 avec 20% de souches résistantes. La même année, la différence entre les souches SARM et SASM par rapport à cette molécule n'était pas remarquable. Mais cette différence l'était durant les années antérieures avec des écarts de sensibilité très remarquable notamment en 2011, 48% de souches résistantes chez les SARM contre seulement 2% de souches résistantes chez les SASM.

Au Mali, DIALLO avait trouvé 2% de souches résistantes à cette molécule [76], par contre DICKO avait trouvé seulement 42,3% de souches résistante à la gentamicine et ces SARM étaient encore plus résistantes avec seulement 25% de souches sensibles [74]. Chez TCHOUGOUNE, le taux de résistance était de 28%, un taux qui monte à 60% chez les SARM [77]. Cette molécule garde ainsi une certaine activité sur les SASM et sur les *S. aureus* d'une manière générale. Cependant, les taux de résistance chez les SARM restent assez préoccupants.

En 2013, l'Institut Pasteur de Dakar a rapporté un taux de résistance à la gentamicine de seulement 4,3% [87]. Les taux de résistance des SARM à cette molécule sont très variables en Afrique (entre 0 et 100%) [83].

En France, selon le rapport 2014 de Onerbra, la sensibilité du SARM à la gentamicine a augmenté continuellement pour atteindre 91,1% en 2013, alors qu'elle n'était que de 12,2% en 1993 [88].

L'érythromycine n'avait pas une bonne activité sur l'ensemble de nos souches de *Staphylococcus aureus* avec 62% de résistance en 2015. DIALLO n'avait observé en 2007 que 5% (sur 102 souches) de résistance [76], comparativement à la même année, nous enregistrons 32% de résistance (65 souches). Un taux similaire est enregistré par TCHOUGOUNE la même année, contre 49,8% chez DICKO en 2009 [74]. Ces taux étaient encore plus élevés chez les souches de SARM que celles de SASM.

En Afrique, les taux de résistance des SARM à l'érythromycine restent d'une manière générale supérieure à 50% [83].

En France, la sensibilité à l'érythromycine a continuellement augmenté de 1998 à 2013, passant de 29% à 63%.

Dans notre étude (sur les souches de 2012 et 2013 ayant passé le test ICR) nous avons trouvé un taux de résistance à l'érythromycine de 29%. Parmi ces souches 12 (8%) avaient une résistance constitutive à la clindamycine, et 13 (9%) avaient une résistance inductible à la clindamycine. La recherche de la résistance inductible à la clindamycine reste assez importante. Ces observations montrent que sans la recherche de cette résistance, ces souches auraient été rendues sensibles à la clindamycine. Des souches avec une résistance inductible à la clindamycine peuvent développer une résistance à cette molécule en cours de traitement ce qui conduirait à un échec thérapeutique [72]. Cette résistance doit être mise en évidence par le D-test [89]. Contrairement à notre étude, le phénotype MLS_B inductible est assez courant dans les différentes études au Mali notamment chez les souches de SARM [76].

Pour la rifampicine, la majorité des souches présentait une résistance intermédiaire (92%). Cette grande proportion de souches intermédiaire est apparue en 2013. Cette résistance intermédiaire reste assez préoccupante, car les taux de résistance à cette molécule sont assez faibles dans les différentes études [88].

Ce même constat est valable pour le cotrimoxazole et le linezolide avec respectivement 63% et 31% de résistance qui pourtant gardent une bonne activité selon plusieurs autres études [88].

Pour les fluoroquinolones, nous avons observé un taux de résistance à la moxifloxacin de 31%. Un taux qui monte à 57% chez les SARM. Également, dans l'étude chez DICKO, la ciprofloxacine n'était active que sur 33% des souches de *S. aureus* [74] par contre chez TCHOUGOUNE, elle reste active sur 66% des souches [77]. La plus grande sensibilité était observée chez DIALLO dont 99% des souches étaient sensibles à l'ofloxacine [76].

En Afrique, la sensibilité aux différentes molécules reste supérieure à 60% [83]. Par contre en France, cette sensibilité a rarement dépassé les 12% [88].

Les tétracyclines sont restées peu actives avec des taux de résistances supérieures à 60% à travers les différentes années. Un chiffre qui s'accroît encore plus chez les souches SARM. Ce résultat est similaire à celui des autres études réalisées au Mali avec 68% de résistance à la tétracycline en 2009 chez DICKO [74], 75% chez TCHOUGOUNE en 2007, et de même 71% chez DIALLO. Cette molécule reste ainsi très faiblement active au Mali sur les *S. aureus*. Dans notre étude, seule la tigécycline a gardé une très bonne activité avec rarement de souches résistantes.

En Afrique, les taux de résistance à la tétracycline sont également assez élevés [83].

Outre la vancomycine, la clindamycine, la gentamycine, la tigécycline, les autres molécules qui avaient une bonne activité sur nos souches furent la mupirocine, la pristinaamycine, la fosfomycine, l'acide fusidique, la tobramycine et la minocycline. En effet, les taux de résistances à ces molécules ont rarement dépassé les 15%.

Les taux de résistance de nos souches de *Staphylococcus aureus* sont en augmentation. Ce constat est valable pour ceux des autres études réalisées au Mali. Ces taux sont la plupart du temps encore plus accentués chez les SARM confirmant le caractère multirésistant de ces souches. Aucune des molécules testées n'était active sur toutes les souches.

Au Sénégal, le taux de SARM est seulement de 7,8% selon le rapport 2013 de l'Institut Pasteur de Dakar. Les *S. aureus* restent sensibles à la plupart des molécules avec seulement la tétracycline (42,5%) et la pénicilline G 86% ayant des taux de résistance supérieurs à 10% [81].

La non disponibilité, sur le marché, de certaines molécules encore actives sur les SARM comme les streptogramines, les oxazolidinones ou encore les glycylicyclines (Tigécycline), entraîne l'absence d'alternative pour traiter les infections à *S. aureus* et à SARM en particulier. Dans ce contexte de choix limité les cliniciens finissent par utiliser les quelques

molécules disponibles pour lutter contre les *S. aureus* : ciprofloxacine, gentamicine, érythromycine. Ceci contribue à accentuer la pression de sélection et à faire augmenter la résistance à ces antibiotiques.

Le rapport de l'OMS sur la résistance aux antibiotiques fait état de lacunes majeures dans le suivi de la résistance aux antibiotiques dans la région africaine, des données n'étant rassemblées que dans un nombre limité de pays. Bien qu'il ne soit pas possible d'évaluer la véritable ampleur du problème, compte tenu du manque de données, celles dont on dispose sont assez préoccupantes [5].

8. CONCLUSION

Les taux de résistance ont augmenté d'une manière générale notamment avec des molécules comme l'érythromycine, la rifampicine, le cotrimoxazole, les tétracyclines, les fluoroquinolones et la teicoplanine. D'autres molécules comme la gentamicine, la tobramicine, la fosfomycine et l'acide fusidique n'ont pas connu d'évolution majeure. Aucune diminution des taux de résistance n'est notable.

Cette étude a ainsi permis de mettre en évidence une augmentation de la résistance des souches de *S. aureus* aux antibiotiques, plus accentuée encore chez le SARM, une augmentation du taux de SARM et l'émergence des souches résistantes à la vancomycine.

❖ **Recommandations au Centre d'Infectiologie Charles Mérieux :**

- Améliorer les techniques de diagnostic bactériologiques et d'étude de la dissémination des souches avec l'introduction des techniques moléculaires.
- Développer le système de surveillance de la résistance aux antibiotiques selon les recommandations de l'OMS et en collaboration avec le Ministère en charge de la santé.
- Améliorer le système informatique pour permettre et rendre plus facile l'exploitation des données disponibles.

9. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Société Française de Microbiologie. Communiqués CASFM - Société Française de Microbiologie Recommandations CA-SFM édition 2015.
2. « Celbenin » - resistant Staphylococci [Internet]. [cité 12 oct 2015]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1952888/>
3. *Staphylococcus aureus*. In: Wikipedia, the free encyclopedia [Internet]. 2015 [cité 12 oct 2015]. Disponible sur: https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Staphylococcus_aureus&oldid=685044418
4. Lowy FD. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. J Clin Invest. 1 mai 2003;111(9):1265-73.
5. OMS | Premier rapport de l'OMS sur la résistance aux antibiotiques: une menace grave d'ampleur mondiale [Internet]. WHO. [cité 15 août 2015]. Disponible sur: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/amr-report/fr/>
6. David MZ, Daum RS. Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Epidemiology and Clinical Consequences of an Emerging Epidemic. Clin Microbiol Rev. juill 2010;23(3):616-87.
7. Vignaroli C, Varaldo PE, Camporese A. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* USA400 Clone, Italy. Emerg Infect Dis. juin 2009;15(6):995-6.
8. *Staphylococcus aureus* résistant à la vancomycine. In: Wikipédia [Internet]. 2015 [cité 13 oct 2015]. Disponible sur: https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Staphylococcus_aureus_r%C3%A9sistant_%C3%A0_la_vancomycine&oldid=113297935
9. Spicer WJ, Frédéric H, Peter L. Pratique clinique en bactériologie, mycologie et parasitologie. Paris: Médecine-sciences Flammarion; 2002. VIII-221 p.
10. Licitra G. Etymologia: *Staphylococcus*. Emerg Infect Dis. sept 2013;19(9):1553.
11. Götz F, Bannerman T, Schleifer K-H. The Genera *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In: Dr MDP, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer K-H, Stackebrandt E, éditeurs. The Prokaryotes [Internet]. Springer US; 2006 [cité 14 août 2015]. p. 5-75. Disponible sur: http://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007/0-387-30744-3_1
12. *Staphylococcus* [Internet]. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature. J.P. Euzéby: List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature – Genus, *Staphylococcus*. [cité 14 août 2015]. Disponible sur: <http://www.bacterio.net/staphylococcus.html>
13. Smith AJ, Jackson MS, Bagg J. The ecology of *Staphylococcus* species in the oral cavity. J Med Microbiol. nov 2001;50(11):940-6.
14. Berche P, Gaillard JL, Simonet M. Bactériologie : les bactéries des infections humaines. Paris: Flammarion; 1991. (De la Biologie à la Clinique.).
15. Fasquelle R. Eléments de bactériologie médicale. 9 ème édition. Flammarion, Paris;

16. Couture B, Québec (Province): Direction générale de l'enseignement collégial., Collège de Sherbrooke. Bactériologie médicale: étude et méthodes d'identification des bactéries aérobies et facultatives d'intérêt médical. Décarie; 1990.
17. Kawabata S, Morita T, Iwanaga S, Igarashi H. Staphylocoagulase-binding region in human prothrombin. J Biochem (Tokyo). janv 1985;97(1):325-31.
18. Baddour LM. Virulence factors among gram-positive bacteria in experimental endocarditis. Infect Immun. juin 1994;62(6):2143-8.
19. Fauchère J-L, Avril J-L. Bactériologie générale et médicale. Paris, France: Ellipses; 2002. 365 p.
20. Verbrugh HA, Van Dijk WC, Peters R, Van Der Tol ME, Verhoef J. The role of *Staphylococcus aureus* cell-wall peptidoglycan, teichoic acid and protein A in the processes of complement activation and opsonization. Immunology. juill 1979;37(3):615-21.
21. CSF E, C A. The cell envelope. In « Staphylococci and Staphylococcal infections », In: Academic Press, London.
22. Wilkinson BJ, Holmes KM. *Staphylococcus aureus* cell surface: capsule as a barrier to bacteriophage adsorption. Infect Immun. févr 1979;23(2):549-52.
23. Thakker M, Park JS, Carey V, Lee JC. *Staphylococcus aureus* serotype 5 capsular polysaccharide is antiphagocytic and enhances bacterial virulence in a murine bacteremia model. Infect Immun. nov 1998;66(11):5183-9.
24. Chavakis T, Wiechmann K, Preissner KT, Herrmann M. *Staphylococcus aureus* interactions with the endothelium: the role of bacterial « secretable expanded repertoire adhesive molecules » (SERAM) in disturbing host defense systems. Thromb Haemost. août 2005;94(2):278-85.
25. Edwards AM, Bowden MG, Brown EL, Laabei M, Massey RC. *Staphylococcus aureus* Extracellular Adherence Protein Triggers TNF α Release, Promoting Attachment to Endothelial Cells via Protein A. PLoS ONE. 15 août 2012;7(8):e43046.
26. Haggar A, Hussain M, Lönnies H, Herrmann M, Norrby-Teglund A, Flock J-I. Extracellular Adherence Protein from *Staphylococcus aureus* Enhances Internalization into Eukaryotic Cells. Infect Immun. mai 2003;71(5):2310-7.
27. Lee LYL, Höök M, Haviland D, Wetsel RA, Yonter EO, Syribeys P, et al. Inhibition of complement activation by a secreted *Staphylococcus aureus* protein. J Infect Dis. 1 août 2004;190(3):571-9.
28. Shannon O, Flock J-I. Extracellular fibrinogen binding protein, Efb, from *Staphylococcus aureus* binds to platelets and inhibits platelet aggregation. Thromb Haemost. avr 2004;91(4):779-89.
29. Ko Y-P, Liang X, Smith CW, Degen JL, Höök M. Binding of Efb from *Staphylococcus aureus* to fibrinogen blocks neutrophil adherence. J Biol Chem. 18 mars 2011;286(11):9865-74.
30. Goodyear CS, Silverman GJ. Death by a B Cell Superantigen. J Exp Med. 5 mai 2003;197(9):1125-39.

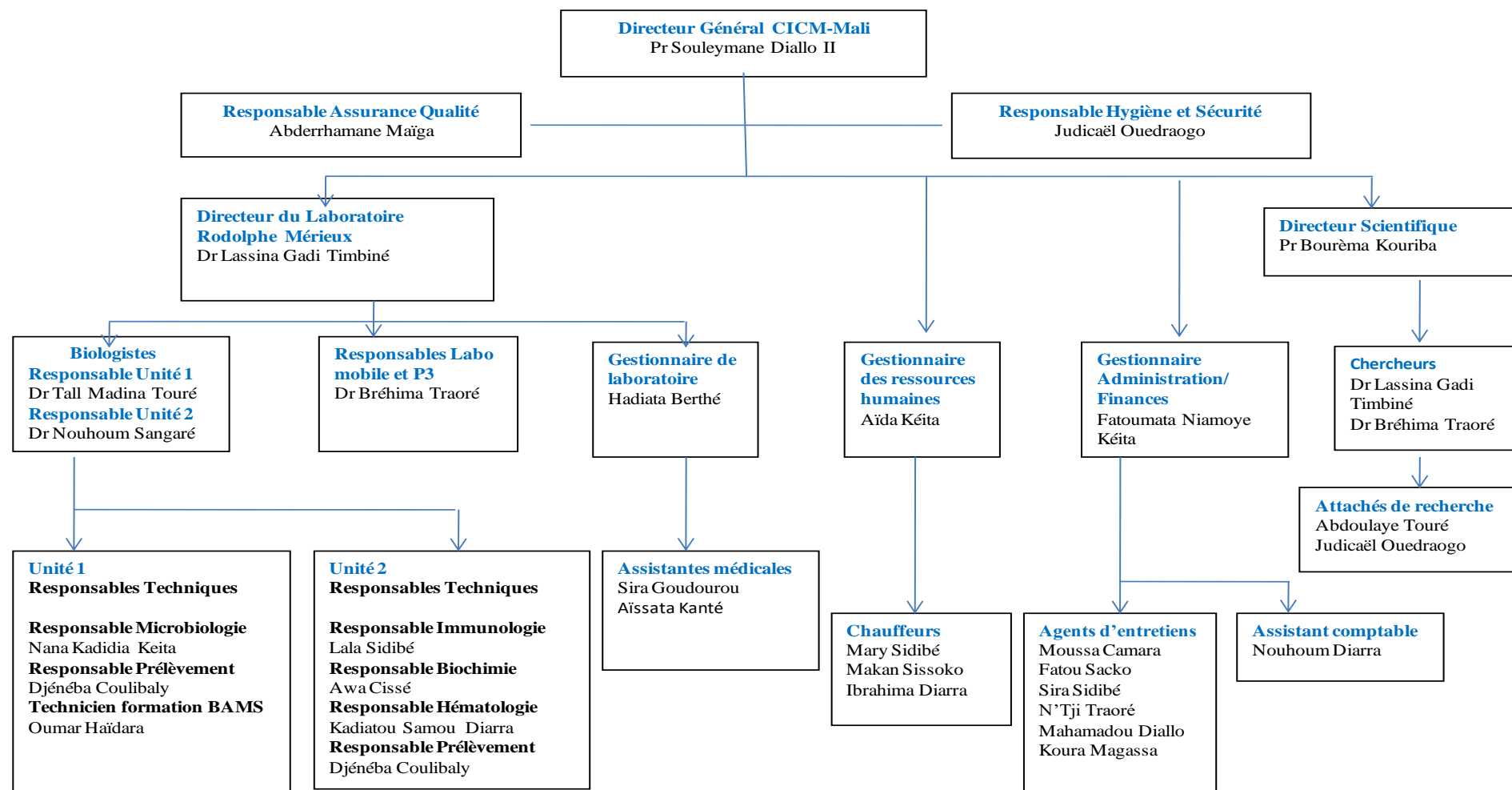
31. Buckingham SC, McDougal LK, Cathey LD, Comeaux K, Craig AS, Fridkin SK, et al. Emergence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at a Memphis, Tennessee Children's Hospital. *Pediatr Infect Dis J.* juill 2004;23(7):619-24.
32. Service de Bactériologie. Université Pierre et Marie Curie Bactériologie DCEM1. 2002.
33. Huseby M, Shi K, Brown CK, Digre J, Mengistu F, Seo KS, et al. Structure and Biological Activities of Beta Toxin from *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol.* déc 2007;189(23):8719-26.
34. Robert D. *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM): généralités, antibiotiques actifs, résistances acquises, et implication en pathologie communautaire illustrée par l'exemple des infections acquises au cours de la pratique sportive. 2013.
35. Balaban N, Rasooly A. Staphylococcal enterotoxins. *Int J Food Microbiol.* 1 oct 2000;61(1):1-10.
36. Avril J-L, Dabernat H, Denis F, Monteil H. Bactériologie clinique. Paris: Ellipses Edition Marketing S.A.; 2000.
37. Bokarewa MI, Jin T, Tarkowski A. *Staphylococcus aureus*: Staphylokinase. *Int J Biochem Cell Biol.* 2006;38(4):504-9.
38. Foster T. *Staphylococcus*. In: Baron S, éditeur. *Medical Microbiology* [Internet]. 4th éd. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996 [cité 15 août 2015]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8448/>
39. Stapels DAC, Ramyar KX, Bischoff M, Köckritz-Blickwede M von, Milder FJ, Ruyken M, et al. *Staphylococcus aureus* secretes a unique class of neutrophil serine protease inhibitors. *Proc Natl Acad Sci.* 9 sept 2014;111(36):13187-92.
40. Therapeutic Challenges in the Management of Nosocomial Pneumonia: Interpulmonary Dynamics: Tissue Penetration and Alterations in Toxin Release [Internet]. [cité 4 avr 2016]. Disponible sur: http://www.medscape.org/viewarticle/458771_2
41. Ayliffe G a. J. The Progressive Intercontinental Spread of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis.* 1 janv 1997;24(Supplement 1):S74-9.
42. Antibiotique. In: Wikipédia [Internet]. 2015 [cité 19 août 2015]. Disponible sur: <https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Antibiotique&oldid=116954802>
43. Le Chat. Généralités sur les antibiotiques. *Pharmacologie médicale* 1982, pp. 108-260. Paris Masson. 1982.
44. Lemeland JF. Les bêtalactamines : mécanisme d'action et de résistance bactérienne. 1979, 20, pp.108-123. *Rév. Méd.*
45. Jarlier V. Phénotypes de résistance aux Bêta-lactamines Description et fréquence, place d' E. c10acae. *Med. Mal. Infect, Hors série:* 30-40. 1988.
46. Bactérie multirésistante. In: Wikipédia [Internet]. 2015 [cité 19 août 2015]. Disponible sur: https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Bact%C3%A9rie_multir%C3%A9sistante&oldid=116038791
47. ChemSpider | Search and share chemistry [Internet]. [cité 8 sept 2015]. Disponible sur: <http://www.chemspider.com/>

48. Chambers HF. Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. Clin Microbiol Rev. oct 1997;10(4):781-91.
49. Paterson GK, Harrison EM, Holmes MA. The emergence of mecC methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Trends Microbiol. janv 2014;22(1):42-7.
50. Jorgensen JH. Mechanisms of Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus* and Methods for Laboratory Detection. Infect Control Hosp Epidemiol. janv 1991;12(01):14-9.
51. Tiwari KB. Vancomycin resistance in &i>Staphylococcus aureus&i>; may occur faster than expected. Int J Life Sci [Internet]. 9 oct 2009 [cité 15 août 2015];3(0). Disponible sur: <http://nepjol.info/index.php/IJLS/article/view/2302>
52. Tenover FC. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. Am J Med. juin 2006;119(6 Suppl 1):S3-10; discussion S62-70.
53. Leclercq R. Résistance des staphylocoques aux antibiotiques. Ann Fr Anesth Reanim. 2002;5(21):375-83.
54. Muylaert A, Mainil JG. Fluoroquinolones resistances: the current situation. Ann Médecine Vét. 2013;157(1):15-26.
55. J. C Quincampoix JLM. Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif. Réanimation. 2001;10(3):267-75.
56. 123bio.net - COURS - Les différentes classes d'antibiotiques [Internet]. [cité 4 avr 2016]. Disponible sur: <http://www.123bio.net/cours/antibio/sulfamides.html>
57. Genetics of Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus* [Internet]. Medscape. [cité 15 août 2015]. Disponible sur: <http://www.medscape.com/viewarticle/710150>
58. Thompson MK, Keithly ME, Goodman MC, Hammer ND, Cook PD, Jagessar KL, et al. Structure and Function of the Genomically Encoded Fosfomycin Resistance Enzyme, FosB, from *Staphylococcus aureus*. Biochemistry (Mosc). 4 févr 2014;53(4):755-65.
59. Dobie D, Gray J. Fusidic acid resistance in *Staphylococcus aureus*. Arch Dis Child. janv 2004;89(1):74-7.
60. Seah C, Alexander DC, Louie L, Simor A, Low DE, Longtin J, et al. MupB, a New High-Level Mupirocin Resistance Mechanism in *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother. avr 2012;56(4):1916-20.
61. Institut national de la statistique. Rapport Institut national de la statistique 2015 (INSTAT). 2015.
62. Rapport Système d'information Sanitaire SIS, 2009.
63. Enquête Démographique et de Santé (EDSM-V) 2014.
64. Bureau de la coordination des affaires humanitaires des Nations Unies. Carte Sanitaire du Mali 2015. 2015.
65. Direction de la Pharmacie et du Médicament (DPM) 2010. 2010.
66. Direction Nationale de la Santé SILS/DNS, 2013. 2013.

67. BioMérieux. Informations produit sur les VITEK® 2 Systems. 2010.
68. Bankolé et al. Identification de *Staphylococcus aureus* : est-il possible de réduire le volume de plasma de lapin sans influencer la recherche de la staphylocoagulase libre ? 2014;
69. Laboratory Testing for MRSA | MRSA | CDC [Internet]. [cité 17 janv 2016]. Disponible sur: <http://www.cdc.gov/mrsa/lab/>
70. Nonhoff C, Rottiers S, Struelens MJ. Evaluation of the Vitek 2 system for identification and antimicrobial susceptibility testing of *Staphylococcus spp.* Clin Microbiol Infect. 1 févr 2005;11(2):150-3.
71. Dia M.I1, Diongué K1, Diop A1, Ka R1, Sonko Ma1, Diagne R1, Sow AI1, Cissé M.F. Mécanismes de la résistance aux B-Lactamines de souches de *Staphylococcus aureus* Isolées au Chu de Dakar (Sénégal). 2014;
72. Prabhu K, Rao S, Rao V. Inducible Clindamycin Resistance in *Staphylococcus aureus* Isolated from Clinical Samples. J Lab Physicians. 2011;3(1):25-7.
73. Aouati Hanane. Isolement des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline. Etude de leur sensibilité aux autres familles d'antibiotiques. [Algérie]; 2009.
74. Dicko OA. Prévalence des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline au CHU du Point G de 2007 à 2009. Université de Bamako, Thèse de Pharmacie N°13P29; 2013.
75. Alioua MA. Les Staphylocoques : sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire de *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méticilline. [Algérie]; 2014.
76. Diallo AB. Le portage nasal de *Staphylococcus aureus* en milieu chirurgical à l'hôpital du Point G. Université de Bamako, Thèse de Pharmacie N°06P40; 2006.
77. Tchougoune ML. Prévalence des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline au CHU du Point G. Université de Bamako, Thèse de Pharmacie N°07P45; 2007.
78. Diouara M. Sensibilité des bactéries pathogènes aux antibiotiques dans le district de Bamako en 2006. Université de Bamako, Thèse de Pharmacie N°07P54; 2007.
79. Koudopon H. Problématique des résistances des souches de *Staphylococcus aureus* à la méticilline au sud Bénin.
80. Institut Pasteur de Dakar. Institut Pasteur de Dakar Rapport Annuel 2011. 2011.
81. Ouédraogo Traoré R, Sanou I, Yé-Ouattara D, Ouédraogo B, Tarnagda Z. [Susceptibility to antibiotics of *Staphylococcus* strains isolated in Ouagadougou, Burkina Faso]. Dakar Méd. 2008;53(3):198-204.
82. Akoua KC. Caractérisation bactériologique et moléculaire de souches de *Staphylococcus aureus* invasives et de portage isolées à bouaké côte d'ivoire.
83. Falagas ME, Karageorgopoulos DE, Leptidis J, Korbila IP. MRSA in Africa: Filling the Global Map of Antimicrobial Resistance. PLoS ONE. 29 juill 2013;8(7):e68024.
84. EARS-Net France / Réseaux et partenaires / Contexte, enjeux et dispositif de surveillance / Résistance aux anti-infectieux / Maladies infectieuses / Dossiers thématiques / Accueil

- [Internet]. [cité 25 janv 2016]. Disponible sur: <http://www.invs.sante.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Resistance-aux-anti-infectieux/Contexte-enjeux-et-dispositif-de-surveillance/Reseaux-et-partenaires/EARS-Net-France>
85. MRSA Tracking | MRSA | CDC [Internet]. [cité 29 janv 2016]. Disponible sur: <http://www.cdc.gov/mrsa/tracking/index.html>
 86. Ahanogbe KAL. Résistance bactérienne en cas d'infections de plaies diabétiques. Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako, Thèse de Pharmacie N°14P23; 2014.
 87. Fondation Institut Pasteur de Dakar. Fondation Institut Pasteur de Dakar Rapport annuel 2013. 2013.
 88. Rapport d'activité 2013-2014 Onerbra France. 2014.
 89. Acharya T. Inducible Clindamycin Resistance (D Test): Principle, procedure and Interpretation [Internet]. *microbeonline*. [cité 17 janv 2016]. Disponible sur: <http://microbeonline.com/inducible-clindamycin-resistance-d-test-principle-procedure-and-interpretation/>

10. ANNEXES



Annexe 1: Organigramme du CIM



Annexe 2 : Mode opératoire de la technique de coloration de GRAM

Rédigé le:	25/02/20 05	Par : Al Hadji SIDIBE	AS	
Vérifié le:	25/02/20 05	Par : Louis DEWEERDT	LD	Visa :
Approuvé le:	02/03/20 05	Par : Fatou Traoré FAYE	FTF	Visa :
Modifié le:	21/02/20 13	Par : Tony ZITTI	TZ	
Vérifié le :	25/03/20 13	Par : Nana Kadidia KEITA	NK	Visa :
Approuvé le:		Par : Dr Daniel YALCOUYE	DY	Visa :
Diffusé le :				
Objet de la modification:	Mise à jour des documents assurance qualité			
Archivé le :				

Document provisoire

Document opérationnel

Destinataires

D. YALCOUYE	N. KEITA	À. MAIGA	À. CISSE	À. TOURE
O. HAIDARA	L. SIDIBE	K. DIARRA	J.OUEDRA OGO	B. KANOUTE

Exemplaires : - Classeur Assurance Qualité :

- Classeur de Bactériologie

Documents Qualité liés:

MAQ: Manuel Assurance Qualité du LRM de Bamako

P: Procédure de la réalisation des analyses en bactériologie

MO:

D:

E:

I – Buts

Décrire le mode opératoire de la technique de coloration de GRAM

II Domaines et personnels concernés

Secteur de bactériologie. Tout le personnel susceptible d'utiliser cette technique.

III - Abréviations/Définitions

LRM : Laboratoire Rodolphe Mérieux

IV – Références

V – Contenu

MODE OPÉRATOIRE DE LA TECHNIQUE DE COLORATION DE GRAM

1. 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.

2. Matériel

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

3. Consommable

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

4. Réactif

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

5. Nature du prélèvement

Frottis d'un produit pathologique bien séché sur une lame.

6. Contrôle de qualité

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

7. 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.

8. Résultat

À la coloration de Gram :

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



Annexe 3: Mode opératoire de l'utilisation du VITEK® 2 Compact-Version N°1

Rédigé le:	22/02/20 13	Par : Sandrine	S	
Vérifié le:	25/03/20 13	Par : Nana Kadidia KEITA	NK	Visa :
Approuvé le:		Par : Dr Daniel YALCOUYE	DY	Visa :
Modifié le:		Par :		
Vérifié le :		Par :		Visa :
Approuvé le:		Par :		Visa :
Diffusé le :				
Objet de la modification:				
Archivé le :				

Document provisoire

Document opérationnel

Destinataires

D. YALCOUYE	N. KEITA	À. MAIGA	À. CISSE	À. TOURE
O. HAIDARA	L. SIDIBE	K. DIARRA	J.OUEDRA OGO	B. KANOUTE

Exemplaires : - Classeur Assurance Qualité :

- Classeur de Bactériologie

Documents Qualité liés:

MAQ: Manuel Assurance Qualité du LRM de Bamako

P: Procédure de la réalisation des analyses en bactériologie

Procédure de gestion des déchets

MO:

D:

E:

I – Buts

Décrire le mode d'utilisation du VITEK® 2 Compact

II- Domaines et personnels concernés

Secteur de bactériologie. Tout le personnel susceptible d'utiliser cet appareil.

III - Abréviations/Définitions

LRM : Laboratoire Rodolphe Mérieux

IV – Références

Manuel d'utilisation du VITEK® 2 Compact

V – Contenu

MODE D'UTILISATION DU VITEK® 2 COMPACT

11.

1. Principe

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

Le logiciel fourni 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.

2. Mode opératoire

- Prendre le flacon eau saline Vitek 2, introduire la dispensette ;
- Prendre des tubes secs pour Vitek 2, y introduire dans les puits de la cassette ;
- La cassette peut prendre jusqu'à 10 tubes soit 2x5 (identification+ antibiogramme) ;
- Mettre dans chaque tube, 3ml de la solution saline du Vitek 2 à l'aide de la dispensette préalablement réglée à 3 ml.

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 ;
- À partir de la culture pure sur gélose (culture jeune 24 h), à l'aide d'une oese, prélever quelques colonies et les introduire dans le tube sec contenant la solution saline ;
- Homogénéiser la suspension et bien vortexer ;
- À l'aide du densitomètre, mesurer la concentration bactérienne à **0,5McFarland** ;
- 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) ;
 - À 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
 - 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 ;
 - 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 **capotchargement** puis le refermer ;
- On attend le jour suivant où les résultats seront imprimés.

3. Résultats

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

Exemple : les bétalactamases des entérobactéries (*Klebsiella*, *E. coli*), *S. aureus* résistant à méthicyline et vancomycine, *Pseudomonas* résistant à l'imipénème...et les phénotypes des souches sauvages (le germe sensible à tous les antibiotiques testés excepté les sensibilités naturelles).

4. 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.

Le Vitek 2 Compact réinitialise le compteur de déchets si le réceptacle est entièrement vidé.



Annexe 4: Mode opératoire d'utilisation du MINI API - Version N° 1

Rédigé le:	24/05/2005	Par :	Lala SIDIBE	
Vérifié le:	14/09/2005	Par :	Louis DEWEERDT	Visa :
Approuvé le:	15/09/2005	Par :	Fatou .T. FAYE	Visa :
Modifié le:		Par :		
Vérifié le :		Par :		Visa :
Approuvé le:		Par :		Visa :
Diffusé le :				
Objet de la modification:				
Archivé le :				

Document provisoire

Document opérationnel

Y. Issabre	L. Deweerd	J. Lombart	P.	Al. Sidibé	Aïssata Sidibé
F.T. Faye	S. Traoré	M. Maïga		L. Sidibé	

12.

Exemplaires : - Classeur Mini Api

- Classeur de Diffusion des documents du Laboratoire

Documents Qualité liés:

MAQ:

P:

MO:

D:

E:

I – Buts

Décrire l'utilisation en routine du mini API

II - Domaines et personnels concernés

Secteur bactériologie. Les responsables techniques et plus particulièrement, les responsables de l'automate.

III - Abréviations/Définitions

ID 32 GN

ID 32 C

ATB UR

IV - Références

V – Contenu

UTILISATION DU MINI API

1. Principe de fonctionnement

Le Mini API permet deux types de lecture.

1.1. La lecture turbidimétrique

Elle est destinée aux galeries turbidimétriques.

Exemple :

ID 32 GN

ID 32 C

ATB UR

Turbidimétrie : mesure de l'intensité de la lumière transmise (T) inversement proportionnelle à la croissance bactérienne.

Néphélométrie : mesure de l'intensité de la lumière diffusée (D) à 30°C directement proportionnelle à la croissance bactérienne.

Ces deux mesures permettent d'évaluer la densité bactérienne dans chaque cupule.

Le cycle d'une lecture turbidimétrique se fait en deux étapes :

1ère étape :

Entrée du chariot porte galerie et détection du code de la galerie

2ème étape :

Mesure sous la position sans filtre puis sortie du chariot porte galerie

Lorsque le cycle de lecture est terminé, le logiciel traite les mesures effectuées.

1.2. La lecture colorimétrique

Elle est destinée aux galeries colorimétriques.

Exemple: ID 32 STAPH

ID 32 E

Rapid ID 32 À

Rapid ID 32 STREP

Le Mini API effectue pour chaque cupule une mesure de transmission de la lumière dans 4 régions du spectre visible.

Le cycle d'une lecture colorimétrique se fait en 4 étapes :

1ère étape :

- 1ère entrée du chariot porte galerie
- Détection du code de la galerie

- Mesure sous filtre K60

2ème étape :

- 1ère sortie du chariot porte galerie
- Mesure sous filtre K40

3ème étape :

- 2ème entrée du chariot porte galerie
- Mesure sous le filtre DT bleu

4ème étape :

- 2ème sortie du chariot porte galerie
- Mesure sous le filtre DT vert

Lorsque le cycle de lecture est terminé, le logiciel traite les mesures effectuées.

13. Mise en route

Il faut :

- Mettre le Mini API sous tension, l'interrupteur d'alimentation (marche/arrêt) est à l'arrière de l'appareil.

À la mise sous tension, la configuration interne du système est testée (identification du microprocesseur, taille de la mémoire).

Deux signaux sonores retentissent. Le Mini API a effectué avec succès les tests internes.

L'écran affiche brièvement la page de présentation du logiciel Mini API puis le menu principal apparaît.

14. 3. Procédure d'utilisation.

3.1. Description du logiciel

Le logiciel Mini API est composé de 6 modules :

SAISIE.

Ce module permet à l'utilisateur de créer les dossiers patients gérés par le Mini API.

Un dossier patient est identifié par une référence unique.

L'examen d'un dossier patient contient les informations relatives à un prélèvement.

Les résultats d'identification et d'antibiogramme concernant un prélèvement sont affectés d'un numéro d'ordre géré automatiquement.

L'examen d'un dossier patient peut contenir jusqu'à 5 germes.

CONSULT.

Ce module permet de visualiser les données patient et de vérifier l'examen et les résultats associés.

COMM.

Ce module permet l'échange d'information entre le Mini API et le système informatique du laboratoire.

EXPERT.

Ce module intègre la gestion d'un système EXPERT permettant l'interprétation des résultats bruts des antibiogrammes enregistrés.

OUTILS.

Ce module regroupe tous les utilitaires du logiciel : Création et Mise à jour des Thésaurus, Sauvegarde/ Restauration / Extraction, Destruction des données.

Api /ATB.

Ce module permet d'effectuer des lectures de galeries d'identification ou d'antibiogramme sans créer un dossier patient et d'examen associé. Les résultats pour l'identification et l'antibiogramme ne sont pas enregistrés. Les résultats de l'antibiogramme ne sont pas expertisés.

3.2. Réalisation d'un test

Avant d'effectuer la lecture des galeries, il faut :

1ère étape :

- Mettre en marche Mini API
- Attendre au moins 15 minutes (préchauffage) avant de commencer la lecture des galeries
- Création d'un dossier patient

2ème étape :

- Préparation des galeries pour la lecture

- Enlever le couvercle des galeries
- Ajouter les réactifs nécessaires pour la révélation de certains tests (se reporter à la notice d'utilisation des galeries).

3ème étape :

- Tirer l'arceau de protection

Attention :

Il est impératif de tirer complètement l'arceau de protection pour procéder à la sortie du chariot porte galerie.

L'arceau de protection délimite la surface pour le libre déplacement du chariot porte galerie.

Il ne doit pas être utilisé comme poignet pour déplacer l'instrument.

Ne rien poser sur l'arceau de protection lorsque celui-ci est tiré.

La sortie du chariot porte galerie est effectuée automatiquement par le logiciel Mini API au moment de la lecture automatique des galeries.

Important :

Ne pas toucher le chariot porte galerie durant le mouvement de celui-ci.

4ème étape

- Positionner la galerie sur le chariot porte galerie

5ème étape : lecture des galeries

- La lecture des galeries est déclenchée par le logiciel Mini API
- La lecture des galeries est automatique
- Le code de la galerie est lu et les résultats interprétés générant ainsi le traitement de la galerie correspondante: lecture turbinéphéléométrique ou colorimétrique.

15. Arrêt Mini Api

Lorsque le menu principal de mini Api est affiché, sortir de l'application

- Appuyer sur <SUPPR>
- Eteindre l'appareil

- Rentrer l'arceau de protection

16. Gestion des documents

Type de document	Contenant	Lieu	Durée de conservation
Document qualité	Classeur Assurance qualité Mini Api	Laboratoire Bactériologie	3 ans après la fin de leur utilisation
Traçabilité AQ	Registre de maintenance	Laboratoire Bactériologie	Pendant la durée de vie de l'appareil et 3 ans après
Document fabricant	Manuel d'utilisation et Manuel Instrument Mini Api	Laboratoire Bactériologie	Pendant la durée de vie de l'appareil et 3 ans après



Annexe 5: Mode opératoire de la technique de SOUCHOTHEQUE -Version N° 1

Rédigé le:	22/02/2013	Par : Fatoumata Maïga	FM	
Vérifié le:	25/03/2013	Par : Judicaël OUEDRAOGO	JO	Visa :
Approuvé le:		Par : Dr Daniel YACOUYE	DY	Visa :
Modifié le:		Par :		
Vérifié le :		Par :		Visa :
Approuvé le:		Par :		Visa :
Diffusé le :				
Objet de la modification:				

Archivé le :

Document provisoire

Document opérationnel

Destinataires

D. YALCOUYE	N. KEITA	A. MAIGA	À. CISSE	A. TOURE
O. HAIDARA	L. SIDIBE	K. DIARRA	J.OUEDRA OGO	B. KANOUTE

Exemplaires : - Classeur Assurance Qualité :

- Classeur de Bactériologie

Documents Qualité liés:

MAQ: Manuel Assurance Qualité du LRM de Bamako

P: Procédure de la réalisation des examens Bactériologique

MO:

D:

E:

I – Buts

Décrire le mode opératoire de la technique de souchothèque

II- Domaines et personnels concernés

Le secteur de Bactériologie. Tout le personnel susceptible d'utiliser cette technique.

III - Abréviations/Définitions

LRM : Laboratoire Rodolphe Mérieux

IV – Références

V – Contenu

17.

**MODE OPÉRATOIRE DE LA TECHNIQUE DE
SOUCHOTHÈQUE**

1. Principe

Il permet de conserver les bactéries multi-résistantes à -80°C en présence de glycérol à savoir :

- *Staphylococcus aureus* (Met-R et Vanco-R) ;
- *Pseudomonas aeruginosa* ;
- *Salmonelles* ;
- *Escherichia coli* ;
- *Klebsiella pneumoniae* ;
- *Streptococcus pneumoniae*.

2. Matériel

- Tube à hémolyse ;
- Portoir tube ;
- Micropipettes ;
- Embouts ;
- Cryotubes ;
- Tubes à vis ;
- Marqueur ;
- Congélateur (-80°C).

3. Réactif

- Glycérol ;
- ATB Médium.

4. Nature du prélèvement

Souche pure des bactéries multi-résistantes.

5. Enregistrement

Sur le cahier de souchothèque

6. Technique

À partir d'une souche pure de BMR :

- Prendre un tube à hémolyse sur lequel on portera le numéro d'identification du patient et le nom de la bactérie à soucher ;
- Prendre de l'ATB médium et remplir le tube à hémolyse jusqu'à moitié ;
- Prélever à l'aide d'une oese quelques colonies isolées à partir de la purification qu'on introduira dans l'ATB médium, bien mélanger
- Mettre cette suspension à 37° C pendant 24h à l'étuve ;
- Prendre deux tubes de souchage (cryotubes) ;
- Mettre une étiquette portant le numéro de la souche correspondant aux trois premières lettres et chiffres du CODAT plus deux lettres de la souche plus le numéro d'ordre ;
- Ex : W04ECO001 (premier *E. coli* souche en Avril 2012)
- Prendre soin de porter l'enregistrement dans un classeur prévu à cet effet ;
- Ensuite mesurer 800 µl de la suspension déjà préparée, mélanger avec 200 µl de glycérol puis vortexer et conserver le tout à -80° C ;
- Faire le même pour les deux cryotubes.

7. Conservation des échantillons

Les souchothèques sont conservées au congélateur à – 80°C.

8. Gestion des déchets

18. Les objets souillés sont éliminés dans la poubelle jaune (contaminant).



Annexe 6: Mode opératoire du test de la coagulase

MODE OPERATOIRE DU TEST DE LA COAGULASE

1. Principe

Le BBL Coagulase Plasma, Rabbit (Plasma de lapin pour test de la coagulase BBL) servent à déterminer qualitativement la pathogénicité des staphylocoques par la méthode directe en tube.

Cette méthode consiste à mélanger une culture en bouillon de la veille ou des colonies prélevées sur une boîte de gélose non inhibitrice dans un tube de coagulase plasma réhydraté. Le tube est incubé à 37°C, la formation d'un caillot dans le plasma indique une production de coagulase.

2. Matériel

- Tube sec ;
- L'œse ;
- Souche pure ;
- Bec bunsen ;
- Portoir tube ;
- Etuve ;
- Chronomètre.

3. Réactif

Le coagulase Rabbit est un plasma de lapin lyophilisé contenant environ 0,85% de citrate de sodium et 0,85% de chlorure de sodium.

4. Conservation du réactif

Le BBL coagulase plasma, Rabbit non ouvert se conserve entre 2 – 8°C

Le Plasma reconstitué se conserve à 2 – 8°C jusqu'à 14jours, ou aliquoter et congeler immédiatement à – 20°C jusqu'à 30jours, ne pas recongeler une fois décongeler.

5. Nature du prélèvement

Les colonies pures sur une souche gélosé ou en bouillon

6. Contrôle de qualité

Les contrôles positifs et négatifs sont testés aux souches de références pour vérifier la conformité des performances du coagulase Plasma avec les spécifications.

Microorganisme	ATCC	Réaction
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Caillot dans le tube
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12228	Absence de caillot dans le tube

19.

20.

7. Réalisation du test

- Préparation des réactifs
 - Réhydrater le BBL Coagulase Plasma en ajoutant de l'eau purifiée dans le flacon comme indiqué ci-dessous puis mélanger en retournant alternativement le flacon.

Volume de produit	Eau purifiée stérile	Nombre approximatif de test
3 ml	3 ml	6
15 ml	15 ml	30
25 ml	25 ml	50

- Réalisation du test de BBL Coagulase

- À l'aide d'une micropipette de 1 ml, ajouter 0,5 ml de BBL Coagulase Plasma, Rabbit réhydraté à un tube à culture sur un portoir ;
- Ajouter environ 0,05 ml de culture en bouillon de la veille du microorganisme à tester dans le tube de plasma. Il est également possible, à l'aide d'un ensemenceur à anse plastique stérile, d'émulsifier complètement dans le tube de plasma 2 – 4 colonies prélevées sur une boîte de gélose ;
- Mélanger doucement ;
- Incuber au bain-marie ou à l'étuve à 37°C pendant 4 heures ;
- Examiner périodiquement les tubes en les inclinant doucement. Ne pas agiter le tube pour ne pas risquer de désagréger le caillot et par conséquent, d'entraîner des résultats de test douteux ou faussement négatifs. **Tout degré de coagulation dans un délai de 3 – 4 heures doit être interprété comme un résultat positif.** De nombreuses souches productrices d'enzymes ne coaguleront le plasma qu'au bout de 24 heures d'incubation.

8. Résultat

- **Si la coagulase est négative :** absence de formation de caillot, laisser jusqu'à 24 heures sur la paillasse ;
- **Si la coagulase est positive :** le caillot ne se détache pas lorsque le tube est retourné. Suspicion de *Staphylococcus aureus*.

Aspect avant

Ensemencement



Aspect du test positif



Aspect du test négatif



9. Gestion des déchets

Les objets tranchants sont jetés dans une boîte de sécurité et les objets souillés non tranchants dans la poubelle jaune (contaminant).



Annexe 7: Mode opératoire du test de la catalase

MODE OPERATOIRE DU TEST DE CATALASE

(ID-ASE, REF : (55 561))

1. 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 facilitent l'observation du dégagement gazeux.

2. Matériel

- Le réactif de catalase (R1) ;
- La lame porte-objet ;
- Le bâtonnet ;
- La souche pure..

3. Contrôle de qualité

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

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

4. Protocole

Laisser les flacons revenir à température ambiante

- Test sur lame

Déposer sur la lame une goutte d'ID color catalase ;

Disperser 1 à 2 colonies dans la goutte ;

À l'aide d'un bâtonnet, bien triturer

- Test direct sur le milieu de culture

Déposer une goutte d'ID color catalase directement sur la colonie. er les réactifs à 2 - 8°C

Ne pas congeler les réactifs

5. Résultat

- La présence de catalase se matérialise par une production de bulles ;
- Les entérobactéries sont toutes des catalases positives, à l'exception de *Shigella dysenteriae* ;
- Les bacilles à Gram négatives non fermentaires sont en général, catalase positive telles que *Pseudomonas*, *Acinetobacter*... ;
- Quelques cocci à Gram positif ont catalase positive comme les Staphylocoques.

6. Gestion des déchets

Les objets tranchants sont jetés dans une boîte de sécurité et les objets souillés non tranchants dans la poubelle jaune.

Annexe 8 : Taux de SARM selon l'OMS dans différents pays africains

Table A2.25 *Staphylococcus aureus*: Resistance to methicillin^a (MRSA)
African Region

Countries, territories and other areas or groupings	Data source ^{b, c, d}	Resistance (%)	No. tested isolates	Type of surveillance, population or samples ^c	Period for data collection	Year of publication or report
Algeria	Publication (149)	40.5 (Community); 47.4 (Hospital)	84 (Community); 137 (Hospital)	<i>S. aureus</i> infections	2006–2007	2011
Angola	No information obtained for this report					
Benin	National data, incomplete					2013
Botswana	National data, incomplete		26	Invasive isolates	2012	2013
Botswana	Publication (150)	23	857	Skin and soft tissue infections	2000–2007	2011
Burkina Faso	National data not available					2013
Burundi	National data	13	265	Targeted	2012	2013
Cameroon	No information obtained for this report					
Cabo Verde	No information obtained for this report					
Central African Republic	National data not available					2013
Chad	No information obtained for this report					
Comoros	No information obtained for this report					
Congo	National data	Not tested	26	Invasive isolates	2012	2013
Côte d'Ivoire	No information obtained for this report					
Democratic Republic of the Congo	No information obtained for this report					
Equatorial Guinea	No information obtained for this report					
Eritrea	No information obtained for this report					
Ethiopia	National data	31.6	175	Comprehensive	2011–2012	2013
Gabon	Publication (151)	1.6	34	Carriage (children with sickle-cell anemia)	2009–2010	2013
Gabon	Publication (152)	3.7	163	Infections and carriers	2008–2010	2011
Gambia	National data not available					2013
Ghana	National data not available					2013
Guinea	National data not available					2013
Guinea-Bissau	National data	100	31	Comprehensive	2013	2013
Kenya	National data not available					2013
Kenya	Publication (153)	20	207	Surgical site infections		2012
Lesotho	National data	12	75		2012	2013
Liberia	National data not available					2013
Madagascar	Publication (3)	13.6	103	Hospital acquired infections	2006–2008	2010
Malawi	National data	0	13	Comprehensive	2013	2013
Malawi	Publication (154)	31.3	147	Clinical isolates	2006–2007	2012
Mali	No information obtained for this report					
Mauritania	National data	80	41	Comprehensive	2013	2013
Mauritius	National data	51.5	171	Hospital isolates	2012	2013
Mozambique	No information obtained for this report					
Namibia	National data	15	1843		2012	2013
Nigeria	Publication (4)	70	200	Blood isolates (children)	2006–2008	2009
Nigeria	Publication (155)	14	293	Intestinal carriage, children	2006	2012
Nigeria	Publication (104)	60.8	156	Healthy carriers	2011	2012
Nigeria	Publication (5)	70 (clox)	180	Healthy carriers	(2003)–2007	2008
Nigeria	Publication (110)	87.9 (clox)	124	Healthy carriers	2008–2009	2012
Nigeria	Publication(156)	16.3	98	Ear discharge in otitis media	2009–2010	2011
Nigeria	Publication (157)	88	100	Clinical samples (hospitalized patients)		2011
Nigeria	Publication (158)	100	46	Urinary isolates	2010	2012
Nigeria	Publication (112)	11 (AIDS pts); 0 (non-AIDS pts)	54 (AIDS pts); 0 (non-AIDS pts)	Urinary infections (AIDS and non-AIDS patients)	2003–2009	2010
Nigeria	Publication (104)	60.8	188	Healthy carriers	2011	2012
Nigeria	Publication (159)	27.5	40	Healthy carriers	2009	2011
Nigeria	Publication (160)	64.2	150	Clinical isolates	2009	2011
Nigeria	Publication (161)	33.3	33	Blood isolates newborns	2006–2007	2011
Nigeria	Publication (162)	64.2	150	Clinical isoalates	2009	2011
Nigeria	Publication (163)	12.5	96	Consecutive hospital isolates	2007	2011
Nigeria	Publication (164)	40	2511	Clinical samples	1987–2000	2011
Nigeria	Publication (12)	94.8	58	Blood isolates (HIV-infected children)		2010
Rwanda	No information obtained for this report					

Evolution de la résistance de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques au Centre d'infectiologie Charles Mérieux de 2006 à 2015

Countries, territories and other areas or groupings	Data source ^{b, c, d}	Resistance (%)	No. tested isolates	Type of surveillance, population or samples ^c	Period for data collection	Year of publication or report
Sao Tome and Principe	National data not available					2013
Senegal	No information obtained for this report					
Seychelles	No information obtained for this report					
Sierra Leone	No information obtained for this report					
South Africa	National data	52	1177	Invasive isolates	2012	2013
South Sudan	National data not available					2013
Swaziland	National data	0	25	Comprehensive	2013	2013
Togo	Publication (165)	35.7	84	Infected dermatology patients	2003–2005	2011
Uganda	National data, incomplete		9	Comprehensive	2012	2013
Uganda	Publication (166)	0	54	Surgical site infections	2007	2009
United Republic of Tanzania	National data not available					2013
United Republic of Tanzania	Publication (167)	15	160	Skin and soft tissue infections	2008	2012
Zambia	National data	32	424	Targeted	2012	2013
Zimbabwe	National data not available					2013

a. cef, ceftioxin; clox, cloxacillin; oxa, oxacilin. Data on ceftioxin used when not specified.

b. National data refers to data returned on the questionnaires as defined in Annex 1. This definition does not imply that the data collected is representative for that country as a whole because information gaps are likely.

c. See Annex 1 for definitions.

d. "National data not available" means that there was information that no data were available; "No information obtained for this report" means that no information was obtained from authorities, networks or publications.

Fiche signalétique

Nom : DIALLO

Prénom : Bakary N'tji

Adresse : diallobakary4@gmail.com

Tel : 97397714 - 74565722

Nationalité : Malienne

TITRE : EVOLUTION DE LA RESISTANCE DE *Staphylococcus aureus* AUX ANTIBIOTIQUES AU CENTRE D'INFECTIOLOGIE CHARLES MERIEUX DE 2006 à 2015

Année académique : 2014-2015

Ville de soutenance : Bamako

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la faculté de médecine, de pharmacie et d'odonto-stomatologie, Bamako.

Secteur d'intérêt : Bactériologie

Résumé

Le Staphylococcus aureus est l'une des principales bactéries d'intérêt médical par son importance en pathologie aussi bien nosocomiale que communautaire. C'est aussi un problème thérapeutique par sa capacité d'acquisition de nombreux mécanismes de résistance aux antibiotiques.

La présente étude a pour objectif de faire le point sur l'évolution de la résistance de *S. aureus* aux antibiotiques au Laboratoire Rodolphe Mérieux de Bamako, Mali (LRM).

L'étude retro-prospective, a porté sur les *S. aureus* isolés des différents prélèvements bactériologiques reçus au LRM entre 2006 et 2015.

L'identification des souches a été faite par la mise en évidence de caractères culturels et biochimiques propres à la bactérie : aspect des colonies, test de la catalase, fermentation du mannitol, la coagulase, et identification par l'automate VITEK[®] 2 Compact.

La sensibilité aux antibiotiques a été déterminée selon la méthode sur milieu gélosé de Kirby Bauer, ou avec les automates VITEK[®] 2 Compact ou le Mini Api.

Nos résultats montrent que durant période d'étude (2006-2015) environ 60 à 80 souches de *S.aureus* sont isolées par an.

Le taux moyen de SARM sur la période d'étude était de 27% et de 5% pour les SARV. Ces souches augmentent régulièrement depuis 2006. On peut noter une différence

significative entre les deux périodes quinquennales 2006-2015 avec 22% de SARM et 2011-2015 avec 32%, soit une augmentation de 10% entre les deux périodes.

Les molécules les plus actives furent la vancomycine (0-16% de résistance), la clindamycine (10-25% de résistance), la gentamycine(6-20% de résistance), la tigecycline(7% de résistance), la mupurocine(7% de résistance), la pristinamycine(0-8% de résistance), la fosfomycine(0-13% de résistance), l'acide fusique(8-22% de résistance), la tobramycine(3-22% de résistance) et la minocycline(12-26% de résistance). Par contre des antibiotiques comme les tétracyclines (55-79% de résistance), les fluoroquinolones (31% de résistance), la pénicilline (90-100% de résistance), l'érythromycine (31-62% de résistance), le cotrimoxazole (19-63% de résistance) n'ont été que faiblement actifs. Les SARM se sont montrés plus résistants aux antibiotiques que les souches de SASM.

Les taux de résistance ont augmenté d'une manière générale notamment avec des molécules comme l'érythromycine, la rifampicine, le cotrimoxazole, les tétracyclines, les fluoroquinolones et la teicoplanine. D'autres molécules comme la gentamycine, la tobramycine, la fosfomycine et l'acide fusidique n'ont pas connu d'évolution majeur. Aucune diminution des taux de résistance n'est notable.

Cette étude a ainsi permis de mettre en évidence une augmentation de la résistance des souches de *S.aureus* aux antibiotiques, plus accentuée encore chez le SARM, une augmentation du taux de SARM et des souches résistantes à la vancomycine.

Mots clés : *Staphylococcus aureus*, résistance à la méticilline, résistance, antibiotiques, Laboratoire Rodolphe Mérieux.

SUMMARY

Title: EVOLUTION of *Staphylococcus aureus* RESISTANCE TO ANTIBIOTICS AT THE CENTER OF INFECTIOUS DISEASES CHARLES MERIEUX BETWEEN 2006 AND 2015

Staphylococcus aureus is one of the main bacteria of medical interest because of its importance in pathology as well as nosocomial and in community. It is also a therapeutic problem in its ability to acquire many antibiotic resistance mechanisms.

This study aims to take stock of the evolution of resistance of *S. aureus* to antibiotics at Laboratory Rodolphe Mérieux in Bamako Mali (LRM).

The retro-prospective study focused on *S. aureus* isolated from various bacteriological samples received at LRM between 2006 and 2015.

The identification of the strains was done by the detection of cultural and biochemical characteristics specific to the bacterium: appearance of the colonies, catalase test, mannitol fermentation, coagulase, and identification with the VITEK[®] 2 Compact machine.

Antibiotic susceptibility was determined by the Kirby Bauer method, or with the VITEK[®] 2 Compact machine or with the Mini Api.

Our results show that during the study period (2006-2015) about 60 to 80 *S. aureus* strains are isolated by year.

The average rate of MRSA over the study period was 27% and 5% for VRSA. These strains are increasing steadily since 2006. One can note a significant difference between the two quinquennial periods from 2006 to 2015 with 22% of MRSA and 32% from 2010 to 2015, an increase of 10% between the two periods.

The most active molecules were vancomycin (0-16% of resistance), clindamycin (10-25% of resistance), gentamicin (6-20% of resistance), tigecycline (7% of resistance), mupirocine (7% of resistance), pristinamycin (0-8% of resistance), fosfomicin (0-13% of resistance), fusique acid (8-22% of resistance), tobramycin (3-22% of resistance) and minocycline (12-26% of resistance). On the other hand, antibiotics like tetracyclines (55-79% of resistance), fluoroquinolones (31% of resistance), penicillin (90-100% of resistance), erythromycin (31-62% of resistance), cotrimoxazole (19-63% of resistance) had low activity. MRSA strains were more resistant to antibiotics than MSSA strains.

Resistance rates have increased in general with particular molecules such as erythromycin, rifampin, cotrimoxazole, tetracycline, fluoroquinolones and teicoplanin. Other molecules such as gentamicin, tobramycin, fosfomicin and fusidic acid have not experienced major changes. No decrease in rates of resistance is noticeable.

This study showed an increase in the resistance rate of *S. aureus* to antibiotics, more accentuated with MRSA strains, and an increase in the rate of strains resistant to vancomycin.

Key words: *Staphylococcus aureus*, methicillin resistance, resistance, antibiotics, Laboratory Rodolphe Mérieux.

SERMENT DE GALIEN

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

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

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

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

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

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

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

Je le jure!