

Ministère de L'Enseignement  
Supérieur et de la Recherche  
Scientifique

République du Mali

Un Peuple-Un But-Une Foi



UNIVERSITE DES SCIENCES, DE  
TECHNIQUES ET DES  
TECHNOLOGIES DE BAMAKO



FACULTE DE PHARMACIE

ANNEE UNIVERSITAIRE 2021-2022

N°.....

THESE

**ETUDE DE LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES  
ESPECES DE « *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter  
baumannii* » ISOLEES DE JANVIER 2020 A DECEMBRE  
2020 DANS UN LABORATOIRE PRIVEE A BAMAKO**

Présentée et soutenue publiquement le 21/05 2022 Devant la

Faculté de Pharmacie

Par M. Assana DOUMBIA

**Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie**

**(Diplôme d'Etat)**

**JURY**

**Président :** Professeur Flabou BOUGOUDOGO

**Membres :** Docteur Djibril Mamadou COULIBALY

**Invité :** Docteur Youssouf DEMBELE

**Co-directeur :** Docteur Mohamed AG BARAIKA

**Directeur :** Professeur Daouda K. MINTA

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

**ADMINISTRATION**

**Doyen :** Boubacar TRAORE, Professeur

**Vice-doyen :** Sékou BAH, Maître de Conférences

**Secrétaire principal :** Seydou COULIBALY, Administrateur Civil

**Agent comptable :** Ismaël CISSE, Contrôleur des Finances,

***PROFESSEURS HONORAIRES***

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

### PROFESSEURS DECEDES

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

### DER : SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES

#### 1. PROFESSEURS/DIRECTEUR DE RECHERCHE

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

#### 2. MAITRES DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

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

### 3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mohamed	AG BARAIKA	Bactériologie-virologie
2	Charles	ARAMA	Immunologie
3	Boubacar Tiétiè	BISSAN	Biologie clinique
4	Djibril Mamadou	COULIBALY	Biochimie clinique
5	Seydou Sassou	COULIBALY	Biochimie Clinique
6	Antoine	DARA	Biologie Moléculaire
7	Souleymane	DAMA	Parasitologie -Mycologie
8	Djénéba Koumba	DABITAO	Biologie moléculaire
9	Laurent	DEMBELE	Biotechnologie Microbienne
10	Klétigui Casimir	DEMBELE	Biochimie Clinique
11	Seydina S. A	DIAKITE	Immunologie
12	Yaya	GoïTA	Biochimie Clinique
13	Ibrahima	GUINDO	Bactériologie virologie
14	Aminatou	KONE	Biologie moléculaire
15	Birama Apho	LY	Santé publique
16	Almoustapha Issiaka	MAiGA	Bactériologie-Virologie
17	Dinkorma	OUOLOGUEM	Biologie Cellulaire
18	Fanta	SANGHO	Santé Publique/Santé communautaire
19	Oumar	SANGHO	Epidémiologie

#### 4. ASSISTANTS/ ATTACHE DE RECHERCHE

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

#### DER : SCIENCES PHARMACEUTIQUES

##### 1. PROFESSEURS/DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Rokia	SANOGO	Pharmacognosie <b>Chef de DER</b>

##### 2. MAITRES DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
-	Néant	-	-

### 3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGE DE RECHERCHE

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

### 4. ASSISTANTS / ATTACHE DE RECHERCHE

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

## DER : SCIENCES DU MEDICAMENT

### 1. PROFESSEURS/DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Benoît Yaranga	KOUMARE	Chimie Analytique
2	Ababacar I.	MaiGA	Toxicologie

### 2. MAITRES DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Sékou	BAH	Pharmacologie <b>Chef de DER</b>

### 3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGE DE RECHERCHE

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

#### 4. ASSISTANTS/ATTACHE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mahamadou	BALLO	Pharmacologie
2	Dalaye Bernadette	COULIBALY	Chimie analytique
3	Blaise	DACKOUCO	Chimie Analytique
4	Fatoumata	DAOUCO	Pharmacologie
5	Abdourahamane	DIARA	Toxicologie
6	Aiguerou dit Abdoulaye	GUINDO	Pharmacologie
7	Mohamed El Béchir	NACO	Chimie analytique
8	Mahamadou	TANDIA	Chimie Analytique
9	Dougoutigui	TANGARA	Chimie analytique

#### DER : SCIENCES FONDAMENTALES

##### 1. PROFESSEURS/DIRECTEUR DE RECHERCHE

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

##### 2. MAITRES DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Lassana	DOUMBIA	Chimie appliquée

##### 3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGE DE RECHERCHE

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

#### 4. ASSISTANTS/ATTACHE DE RECHERCHE

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

#### CHARGES DE COURS (VACATAIRES)

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

**Bamako, le 02 décembre 2021**

**P/Le Doyen PO**

**P/Le Secrétaire Principal PO**

**Le chargé des examens**

**Dr Issa COULIBALY**

**Maître-assistant**

## **DEDICASE**

***Je dédie ce modeste travail a mes deux defunts parents :***

***A la mémoire de mon cher père : Feu Djinèmoussa Doumbia***

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon profond amour, mon ultime respect, ma gratitude et ma reconnaissance. Je sais que votre joie aurait été immense si vous étiez parmi nous. Je ne saurais exprimer mon grand chagrin en ton absence. J'aurais aimé que tu sois à mes côtés ce jour. Que ce travail soit une prière pour le repos de ton âme que Dieu tout puissant vous accorde sa clémence et sa miséricorde.

***A la mémoire de ma chère mère : Fe Doussouba Traore***

En nous quittant pour toujours, vous nous avez laissé un peu trop tôt. De votre vivant vous avez toujours œuvré pour ma réussite et voilà que vous ne pouvez pas assister à ce grand jour, fruit de tes efforts. Exceptionnelle, vous l'es Mah pour nous tous, vous avez joué pleinement le rôle de mère et de bon guide en assumant ta responsabilité de mère de famille. Pour moi, tu restes un exemple de femmes modèles, car les épreuves de la vie et singulièrement celle du mariage ne t'ont pas empêché de te battre pour l'éducation et la réussite de tes enfants. Femme modeste, ménagère je suis fier d'être ton enfant. Je suis fier d'être le fils d'une femme courageuse, battante et réconciliatrice que tu es et qui n'a jamais lésiné sur les moyens pour inculquer à ses enfants le sens de la fraternité et de la rigueur qui garantit un travail bien fait Aujourd'hui nous te pleurons encore, dans notre cœur, l'oubli n'a pas de place pour toi, Chère mère. Que ton âme repose en paix

***A mes tantes : Theba et kossira***

Femmes humbles, généreuses, honnêtes et travailleuses. Vous représentez pour moi l'exemple de la femme modèle, de la bonté, et du respect de l'autre. Ce travail est le fruit de votre longue année de patience, d'efforts et de sacrifices pour parfaire notre éducation et notre instruction. Vous n'avez cessé de m'encourager tout au long de mes études et surtout aux moments les plus pénibles. Votre tendresse ne peut s'évaluer. Vos bénédictions seront toujours pour moi la lampe qui illumine la voie devant m'indiquer le chemin de l'honneur. Chères tantes en ce jour de réalisation de vos vœux, les mots me manquent pour exprimer mes sincères sentiments. Que Allah vous garde très longtemps parmi nous et qu'il m'aide à vous satisfaire davantage. A vos pieds, je dépose respectueusement ce modeste travail en guise de ma très grande affection.

**A mon très cher Grand frère : Yacouba**

Permetts-moi de couler une larme de bonheur pour te dire merci Grande frère. Ton souci majeur est, et demeure le bonheur et la réussite de tes frères. Ton docteur est enfin là. Tes prières, tes conseils nuit et jour, ta rigueur dans notre éducation, ton amour du travail bien fait, ton honnêteté, ta discrétion, et tous les sacrifices consentis pour notre éducation m'ont guidé chaque jour de ma vie. Ton souci pour ma soutenance depuis tant d'années est devenu réalité. Merci pour ce que tu as fait et tout ce que tu feras encore pour moi. Que Dieu t'accorde santé et longévité et qu'il m'aide à ce que je puisse accomplir pleinement mes devoirs envers toi. Si toutes les fois je n'ai pas toujours su m'exprimer en ces termes, aujourd'hui j'ai envie de te dire... je t'aime grand frère. Merci de m'avoir donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. Merci d'avoir toujours été là pour moi. J'espère que tu trouveras dans ce travail, une infime partie de ma reconnaissance fraternelle.

**A mes très chers frères : Moussa et Ibrahim**

Vous m'avez toujours incité à étudier et à aller de l'avant. Grâce à votre bienveillance, à votre encouragement et à votre générosité, j'ai pu terminer mes études dans l'enthousiasme. Toutes les encres du monde ne me suffisent pour vous exprimer mon immense gratitude. Que ce travail puisse être le résultat de votre effort et de votre sacrifice. Puisse le bon Dieu vous protéger et vous accorder longue vie.

**A mes sœurs : Kamba, Nakou, Awa et Mariam**

Vous avez toujours été près de moi, vous m'avez toujours offert beaucoup de tendresse et d'affection et vous m'avez toujours épaulée pendant mon parcours étudiant. Merci, adorables sœurs, d'avoir montré tant de complaisance et de serviabilité à mon égard. Puisse Allah, le Très-Haut, vous accorder une vie heureuse et un avenir prospère.

**A mes frères : Aliou, Mamadou, Lamine, Seydou, Daouda, et Adama,**

Vous êtes ce que j'ai de plus précieux dans la vie. Pour l'amour que je vous porte et en témoignage de mon éternel dévouement je vous dédie ce travail avec tous mes souhaits de réussite et de bonheur. L'union, la solidarité et l'amour est la plus grande richesse de notre famille. Vous avez tous été d'un soutien inestimable tout au cours de mes longues années d'études. L'occasion m'est offerte pour vous rappeler que les liens de sang sont sacrés. Je vous pris d'accepter ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

**A mes belles sœurs : Rokia, Aissata, Adama, Fatoumata, seba, Wassa, Ramatou**

Comme le nom le dit, soyez toujours belles, oui belles pour mes frères. Merci pour ces moments de joie, de soutien. Soyez heureuses.

**A la famille Dr Yaro de lafiabougou :**

Merci pour tous les sacrifices consentis et pour toute la volonté de faire de moi un homme à la hauteur de vos espérances. Je me souviendrais à jamais de tout ce que vous avez fait pour moi. Que Dieu Tout Puissant veille sur votre famille et vous apporte tout bonheur, qu'il soit terrestre ou céleste. Veuillez trouver ici l'expression de toute mon affection et de mon amour.

## REMERCIEMENTS

### Mes sincères remerciements vont :

Au Créateur de toute chose ‘‘ALLAH’’ le tout puissant, Le clément, le miséricordieux et son Prophète Mohamed (S.A.W.) pour m’avoir donné longue vie, m’avoir donné la santé et l’opportunité de présenter ce travail.

A mon co-directeur: Dr Mohamed AG Baraika

Merci chère maître de m’avoir guidé et aidé avec toute votre énergie, votre grande passion et votre disponibilité. Vos qualités pédagogiques, scientifiques et humaines m’ont émue et resterons graver dans ma mémoire pour toujours. Vous êtes un modèle à suivre par votre modestie et votre dévouement. Merci de m’avoir fait découvrir et aimer l’univers de la microbiologie.

### Au personnel du laboratoire PA & KA de Bamako

Une thèse est le résultat d'un travail de longue haleine. Ce travail réalisé au laboratoire PA & KA, n'aurait pu être réalisé sans un cadre de travail, matériel et intellectuel favorable et sans soutien. Que soient donc ici remerciés tous ceux qui m'ont communiqué leurs savoirs, l'énergie et la confiance nécessaires au déroulement de cette étape scientifique particulière qu'est la thèse.

### A mes oncles et tontons :

Chacun de vous a eu à jouer un rôle dans ma vie. Puisse à cet instant, chacun de vous recevoir le fruit de ses intentions.

### A mes cousins et cousines :

Merci pour vos conseils et vos soutiens. Que l’entente règne entre nous. Bonne chance pour le futur

### A mes meilleurs amis : Tidiani keita et Mamadou Diallo

Plus qu'un ami, un frère pour moi. Vous été des hommes que j’admire beaucoup de par votre courage et votre charisme, merci pour toutes fois où j’ai pu compter sur vous ; je vous souhaite beaucoup de réussite dans tout ce que vous entreprends et plein de bonheur dans votre vie.

### A mes très chers amis : Lassine bouaré, Koly Diawarra, Moussa Mariko, Boubacar Sidi coulibaly, Abdoul Malick Doumbia, Harouna Niangali

Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées. Vous êtes pour moi des frères, d’amis sur qui je peux compter. En témoignage de la forte amitié qui nous unit, de l’attachement, des souvenirs de ces années pendant lesquelles nous avons partagé joies et difficultés, des préparations passées ensemble et de nos disputes je vous dédie, chers amis, ce travail signe de l’affection que j’ai pour vous avec tous mes meilleurs vœux de

bonheur, de santé et de réussite. Ensemble, nous avons bâti notre avenir. Après ma famille, vous êtes les personnes qui combent mon quotidien dont j'apprends énormément.

**Dr Bakary Traoré**

Pour ton amitié sincère et franche, pour cette marque d'attention manifestée à mon égard que ce soit dans mes moments de joie ou de peine. Tu n'as ménagé aucun effort pour ma réussite : tes conseils, tes documents. En dépit de tes nombreuses occupations tu as été toujours là. Je t'en suis reconnaissante à vie.

**La famille Konaté et Traoré de sanankoroba :**

Je vous remercie pour votre soutien.

**Mes camarades de Sanankoroba :**

Merci à vous tous, les encouragements dont vous avez fait preuve à mon égard à toutes les étapes de mes études.

**Mes collègues de la faculté : Moussa Mariko, Harouna Niangaly, Djéneba Traoré, silvi, Mariam Traoré, Aminata tangara, Oumou, Mariam Sow, Kani sidibé et Néïssa**

Esprit d'équipe, complicité, entraide, conseils, échanges et respect voilà les vertus dont vous avez fait preuve tout au long de notre collaboration, je garderai de vous ces beaux moments passés ensemble.

**Au personnel de la pharmacie Officine Dawa de sanankoroba :**

Plus particulièrement au Dr Doumbia Moussa pour son soutien et qui m'a permis de faire mes premiers pas en tant que stagiaire, cela a été pour moi un moment inoubliable. Merci pour l'opportunité que vous m'avez donnée, pour apprendre auprès de vous les réalités du métier de pharmacien.

**Au personnel de logistic sante SA :**

Je suis honoré d'avoir partagé mon expérience et mes connaissances avec vous. En retour vous m'avez beaucoup appris. C'est avec humilité et honneur que je vous en remercie.

**Au personnel de la pharmacie Diallpharma de kati :**

Ces moments de collaborations passés avec vous restent inoubliables. Et je retiens de vous cette vertu : le respect du prochain dans le milieu professionnel !

**Au personnel de la pharmacie Amie DIADIE de Bamako (Mali),**

Notamment au Dr Diamouténé merci pour vos conseils, votre enseignement, votre confiance et votre amitié.

**A la 11<sup>e</sup> et 12<sup>e</sup> promotion du Numerus,**

Merci pour la fraternité et le très long chemin parcouru ensemble. Bonne chance à tous dans votre vie professionnelle future.

**A tout le corps professoral de la FAPH ET DE LA FMOS,**

Les professeurs pour leur disponibilité, leur encadrement et les enseignements de qualités qu'ils m'ont donnés.

Je tiens à exprimer maintenant toute ma reconnaissance et mon profond respect à leurs égards.

**A tous les frangins et frangines du Lycée : Mamourou, youssouf, Issiaka, Oumar, Mohamed, Amadou, Sananba, Gogo, Abdoulaye, Issa**

Vous m'avez toujours soutenu dans tous mes projets, soyez remerciés pour votre amitié qui ne m'a jamais fait défaut.

**A tout le personnel du laboratoire du laboratoire Diafounou et Clinique Fertilia :**

Pour leur accueil, leur aide et leur sympathie qui ont été des atouts précieux tout au long de ce parcours.

Milles excuses à ceux que je n'ai pas cités, La place manque sur cette page mais pas dans mon cœur.

## HOMMAGE AUX MEMBRES DU JURY

### A notre maître et président du Jury : Professeur Flabou BOUGOUDOGO

- Professeur honoraire à la Faculté de pharmacie,
- Pharmacien Microbiologiste,
- Ancien Directeur de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP), de 2002 à 2012,
- Officier de l'ordre de Mérite de la Santé.

#### Cher Maître

Nous avons été impressionnés par la promptitude et la modestie avec lesquelles vous avez accepté de présider ce travail malgré vos multiples occupations. Votre dévouement, votre rigueur scientifique et votre sens élevé de la personnalité humaine font de vous un exemple model à suivre

Veillez accepter ici cher Maître, nos sentiments d'estime et notre profonde gratitude.

### A Notre maître et juge : Dr Djibril Mamadou COULIBALY

- Pharmacien biologiste,
- Maître Assistant en biochimie clinique à la Faculté de Pharmacie,
- Praticien hospitalière au CHU point G.

#### Cher maître,

Vous avez été d'un apport indispensable à ce travail par non seulement vos qualités scientifiques mais aussi par votre soutien et encouragement infaillible. Recevez ici cher maître nos sincères remerciement et profondes grâtes envers votre personne.

### A Notre maître et juge : Docteur Youssouf DEMBELE

- Médecin Biologiste,
- Directeur Adjoint du laboratoire de biologie médicale PA&KA,
- Auditeur qualité des laboratoires de biologie médicale selon la norme ISO15189,
- Membre de l'association des Médecins et Pharmaciens biologistes du Mali.

**Cher maître,**

En acceptant d'apprécier ce modeste travail, vous contribuer à son indispensable amélioration. Votre grande disponibilité et votre rigueur ont été un soutien de taille pour mener à bien ce travail. Nous vous en serrons éternellement reconnaissant.

**A Notre maître et Codirecteur : Dr Mohamed AG BARAIKA**

- Pharmacien Microbiologiste,
- Maître Assistant en bactériologie-virologie à la Faculté de Pharmacie,
- Enseignant Chercheur au centre de recherche et de lutte contre la drépanocytose.

**Cher maître,**

Les mots nous manquent pour vous remercier.

Vous nous avez fait honneur de codiriger ce travail ; soyez-en rassuré que nous nous servirons, toute notre vie, des méthodes de travail que vous nous avez inculquées. Votre rigueur, votre sens élevé du travail bien fait nous ont toujours séduits. Vous demeurez un exemple maître à suivre.

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

**A notre maître et Directeur de thèse : Professeur Daouda K. MINTA**

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

**Cher maître**

Vous nous avez fait un grand honneur d'accepter de diriger et encadrer ce travail.

Votre sagesse, l'esprit d'ouverture, votre précision dans le travail et votre pédagogie font de vous un maître admiré et respecté.

Nous vous remercions pour votre disponibilité malgré vos multiples occupations, nous espérons avoir été à la hauteur de vos attentes.

Veillez trouver ici l'expression de nos sincères remerciement, et de notre plus profond respect.

## Abréviations

*P. aeruginosa* : *Pseudomonas aeruginosa*

ABR : *Acinetobacter Baumannii* Résistant

ARN : Acide Ribo-Nucléique

ARNm : Acide Ribo-Nucléique messenger

ATB : Antibiotique

ATBP : Antibioprophylaxie

ATC : Anatomique, Thérapeutique, Chimique

BGP : Bactérie Gram Positif

BGN : Bacille Gram Négatif

BLSE : Bêtalactamases à Spectre Etendu

BMR : Bactéries Multirésistantes

CGP : Cocci Gram Positif

CarO : protéine membranaire externe associée au carbapénème

CHU : Centre Hospitalo-Universitaire

CLIN : Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales

CMB : Concentration Minimale Bactéricide

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

DDD : Defined Daily Dose

DDJ : Dose Définie Journalière

DHPS : dihydropteroate-synthétase

DHFR : Dihydrofolate-Réductase

DMS : Durée Moyenne de Séjour

EPH : Etablissement Public Hospitalière

ERC : Entérobactéries Résistantes aux Céphalosporines de 3ème génération

H : Heure

HCASE : Hypersécrétion de Céphalosporinase

IN : Infection Nosocomiale

JH : Journée d'Hospitalisation

LPS : Lipopolysaccharide

MLS : Macrolides-Lincosamimides-Streptogramines

MOY : Moyenne

OMS : Organisation Mondiale de Santé

PAB : Para-Amino-Benzoïque

PAR : *Pseudomonas Aeruginosa* multirésistant

PLP : Protéine Liant les Pénicillines

% : pour cent

AHL : Acyl-Homosérine-Lactose

*A. baumannii* : *Acinetobacter baumannii*

ABMR : *Acinetobacter baumannii* multirésistant

ADN : Acide désoxyribonucléique

AmpC : Gène de céphalosporinase

AN : Amikacine

APACHE II: *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II*

ARN : Acide ribonucléique

BAP : *Biofilm-Associated Protein*

BCP : Bromocrésol pourpre (gélose BCP Lactose)

BLSE : Bêtalactamase à spectre étendu (ou élargi)

BMR : Bactérie multirésistante

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

CDC: Center of Disease Control

CAZ: Ceftazidime

CTX : Céfotaxime

C3G : Céphalosporine de 3 ième générations

EARS : European Antimicrobial Resistance Surveillance

ECBU : Examen cyto bactériologique des urines

GM : Gentamicine

UFC : Unité Formant une Colonie

USI : Unité de Soin Intensif

INSPEAR : Le réseau international pour l'étude et la prévention de la résistance aux antimicrobiens émergents

LCR : Liquide céphalo rachidien

LPS : Lipopolysaccharides

MGG: May-Grunwald Giemsa

PCR: *Polymerase chain reaction*

PDP : Prélèvement distal protégé

PLP : Protéines liant les pénicillines

TZP : Pipéracilline –Tazobactam

R : Résistance,

TIC: Ticarcilline,

PIP: Piperacilline,

TCC: Ticarcilline/acide clavulanique,

FEP: Céfepime,

IMP: Imipénème,

TOB: Tobramycine,

AK: Amikacine,

CIP : Ciprofloxacine,

SXT : Sulfaméthoxazole/Trimétoprime,

CT : Colistine,

TE : Tétracycline,

QS : Quorum Sensing

CMI : concentrations minimales inhibitrices

AHL : Acyl-Homosérine-Lactone

Adcs : *Acinetobacter-derived cephalosporinase*

## Liste des Tableaux

<b>Tableau I: Classification taxonomique de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>[18].</b> .....	4
<b>Tableau II : Classification taxonomique d'<i>Acinetobacter baumannii</i>[30].</b> .....	12
<b>Tableau III : Récapitulatif des facteurs de pathogénicité chez <i>A. baumannii</i> [46-46-47-48-49-50-51-52-53-54-55].</b> .....	24
<b>Tableau IV : Classification des antibiotiques selon leurs activités</b> .....	26
<b>Tableau V: Résultats de la galerie API 20 E d'une souche de <i>Pseudomonas</i>.spp [77].</b> .....	62
<b>Tableau VI : Les disques d'antibiotiques testés et leurs charges[79].</b> .....	68
<b>Tableau VII: Interpretation du phénotype par familles d'antibiotique[81-82-83].</b> .....	71
<b>10.1 Tableau VIII: Fréquence d'isolement des BGNnF&lt;&lt; <i>A. baumannii</i> et <i>P. aeruginosa</i>&gt;&gt; isolés au laboratoire PA et KA.</b> .....	73
<b>Tableau IX : La répartition des patients selon le sex.</b> .....	73
<b>Tableau X : Répartition des deux espèces bacterienne selon la nature du produit pathologique.</b> .....	74
<b>Tableau XI : Nature des produits biologique des sources bacteriennes isolées.</b> .....	75
<b>Tableau XII: Répartition des espèces isolées selon la provenance du produit pathologique pendant notre période d'étude.</b> .....	75
<b>Tableau XIII : Résistance des souches d'<i>A.baumannii</i> et <i>P. aeruginosa</i> aux Bêta-lactamines isolées au laboratoire pendant notre période d'étude.</b> .....	76
<b>Tableau XIV : Résistance des souches d'<i>A.baumannii</i> et <i>P. aeruginosa</i> aux aminosides isolés au laboratoire pendant notre période d'étude.</b> .....	76
<b>Tableau XV: Résistance des souches d'<i>A.baumannii</i> et <i>P. aeruginosa</i> aux fluoroquinolones et autres molecules isolés au laboratoire pendant notre période d'étude.</b> .....	77
<b>Tableau XVI : Fréquence de la résistance aux antibiotiques des souches isolées selon qu'elles soient communautaire ou hospitalière.</b> .....	78
<b>Tableau XVII: Phénotype de résistance des souches de <i>P. aeruginosa</i> et <i>A. baumannii</i> aux Bêta-lactamines en milieu communautaire et en milieu hospitalière.</b> .....	79
<b>Tableau XVIII : Phénotype de résistance aux Aminosides des bactéries isolées chez les patients en milieu communautaire et hospitalière.</b> .....	80
<b>Tableau XIX: Phénotype de résistance des bactéries aux fluoroquinolones en milieu communautaire et hospitalière.</b> .....	80

**Tableau XX:** Prévalence des bactéries multi-résistantes (BMR) au cours de notre période d'étude..... 81

## Liste des Figures

<b>Figure 1:</b> Coccobacille à Gram négatif d' <i>A.baumannii</i> .....	12
<b>Figure 2 :</b> <i>Acinetobacter baumannii</i> , avec grossissement 26661x [30].....	13
<b>Figure 3:</b> Protéines transmembranaires de transport chez <i>A. baumannii</i> . ....	14
<b>Figure 4:</b> Etapes de la formation de biofilms microbiens [34]. ....	18
<b>Figure 5 :</b> Représentation des deux principales classes de Bêta-lactamines obtenues par substitution ou fixation d'hétérocycles du noyau Bêta-lactamines.....	26
<b>Figure 6:</b> Mécanisme de résistance lié au mode d'action de l'antibiotique [56].....	28
<b>Figure 7:</b> Mécanisme de résistance aux antibiotiques [64]. ....	30
<b>Figure 8 :</b> Vue photographique d'un Mini API [77]. ....	58
<b>Figure 9 :</b> Vue photographique d'un Automate VITEK ®2 Compact-BIO [77]. ....	59
<b>Figure 10 :</b> Résultat de la galerie API 20 E d'une souche de <i>Pseudomonas.spp</i> [78].....	62
<b>Figure 11 :</b> Schéma de dépôt de disque pour la recherche de BLSE [81]. ....	71
<b>Figure 12 :</b> Répartition des patients selon la tranche d'âge. ....	74

# Table des matières

<b>2. MAITRES DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE</b> .....	III
<b>1. Introduction</b> .....	1
<b>2. OBJECTIFS :</b> .....	3
<b>2.1 OBJECTIF GENERAL</b> .....	3
<b>2.2 OBJECTIFS SPECIFIQUES</b> .....	3
<b>3. Généralités</b> .....	4
<b>3.1 Pseudomonas aeruginosa :</b> .....	4
<b>3.1.1 Historique</b> [6] : .....	4
<b>3.1.2 La Taxonomie :</b> .....	4
<b>3.1.3 Habitat :</b> .....	5
<b>3.1.4 Caractères cultureux :</b> .....	5
<b>3.1.5 Morphologie et structure :</b> .....	5
<b>3.1.6 Caractères biochimiques</b> .....	6
<b>3.1.6.1 Métabolisme :</b> .....	6
<b>3.1.6.2 Mise en évidence des pigments</b> .....	6
<b>3.1.6.3 Les facteurs de virulence et Pouvoir pathogène [8]:</b> .....	7
<b>3.1.7 Cas particulier de la mucoviscidose :</b> .....	9
<b>3.2 Acinetobacter baumannii :</b> .....	10
<b>3.2.1 Historique :</b> .....	10
<b>3.2.2 Caractéristiques morphologiques structurale d'Acinetobacter baumannii :</b> .....	12
<b>3.2.3 Habitat :</b> .....	14
<b>3.2.4 Métabolisme ou caractéristiques biochimiques :</b> .....	15
<b>3.2.5 Caractères cultureux :</b> .....	16
<b>3.2.6 Facteurs de virulence et pouvoirs pathogène :</b> .....	16
<b>3.2.7 Les systèmes de sécrétions :</b> .....	21

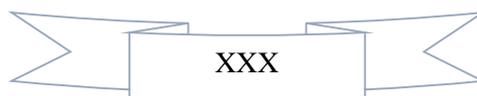
<b>4 LES ANTIBIOTIQUES :</b> .....	25
<b>4.1 Définitions et classification des Antibiotiques :</b> .....	25
<b>4.1.1 Définition d'un antibiotique :</b> .....	25
<b>4.1.2 La classification des antibiotiques :</b> .....	25
<b>4.2 Les Bêta-lactamines</b> .....	26
<b>4.3 Les aminosides</b> .....	26
<b>4.4 Les Fluoroquinolones</b> .....	27
<b>5 La résistance aux antibiotiques :</b> .....	27
<b>5.1 Définition[3] :</b> .....	27
<b>5.2 Notion de spectre d'activité :</b> .....	28
<b>5.3 Définitions bactérie multi-résistante :</b> .....	29
<b>5.4 Mécanisme de résistance :</b> .....	30
<b>5.5 Support génétique de la résistance [3]:</b> .....	31
<b>5.6 La résistance par mutation chromosomique [3]:</b> .....	31
<b>5.7 Résistance plasmidique [3] :</b> .....	32
<b>5.8 Evolution de la résistance [3]:</b> .....	33
<b>5.9 Les différents types de résistances [3] :</b> .....	33
<b>6 Résistance chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i> :</b> .....	33
<b>6.1 La résistance naturelle :</b> .....	33
<b>6.2 La résistance acquise aux Bêta-lactamines :</b> .....	34
<b>6.3 La résistance non enzymatique :</b> .....	34
<b>7 Résistance chez <i>Acinetobacter baumannii</i> :</b> .....	35
<b>7.1 Résistance naturelle :</b> .....	35
<b>7.2 Résistance enzymatique :</b> .....	35
<b>7.3 Résistance acquise aux carbapénèmes :</b> .....	35
<b>7.4 La résistance acquise aux Bêta-lactamines</b> .....	36
<b>8 Mécanisme d'action des antibiotiques et leurs spectres d'activités</b> .....	37

<b>8.1 Les Bêta- lactamines</b> .....	37
<b>8.1.1 Mécanisme d'action</b> .....	37
<b>8.1.2 Spectre d'activité :</b> .....	37
<b>8.1.3 Mecanisme de résistance</b> .....	37
<input type="checkbox"/> <b>Les carboxypénicillines</b> .....	38
<input type="checkbox"/> <b>Mecanisme d'action</b> .....	38
<input type="checkbox"/> <b>Spectre d'activité</b> .....	38
<input type="checkbox"/> <b>Les acylureidopénicillines :</b> .....	38
<input type="checkbox"/> <b>Mecanisme d'action</b> .....	38
<input type="checkbox"/> <b>Spectre d'activité</b> .....	38
<input type="checkbox"/> <b>Les céphalosporines :</b> .....	39
<input type="checkbox"/> <b>Spectre d'activité</b> .....	39
<input type="checkbox"/> <b>Mecanisme de resistance</b> .....	39
<input type="checkbox"/> <b>Les carbapénèmes :</b> .....	39
<input type="checkbox"/> <b>Mecanisme d'action</b> .....	39
<input type="checkbox"/> <b>Spectre d'activité</b> .....	39
<input type="checkbox"/> <b>Mécanisme de résistance</b> .....	40
<input type="checkbox"/> <b>Les monobactams :</b> .....	40
<input type="checkbox"/> <b>Mécanisme d'action</b> .....	40
<input type="checkbox"/> <b>Spectre d'activité</b> .....	40
<input type="checkbox"/> <b>Mécanisme de resistance</b> .....	40
<input type="checkbox"/> <b>Mécanisme d'action</b> .....	40
<input type="checkbox"/> <b>Spectre d'activite</b> .....	40
<input type="checkbox"/> <b>Mécanisme de résistance</b> .....	40
<input type="checkbox"/> <b>Classification des 4,6-di-O-glycosyles (Aminosides)</b> .....	41
<b>Tobramycine = Nebcine®</b> .....	41
<b>Amikacine =Amiklin®</b> .....	42

Nétilmicine = Nétromicine® .....	42
□ Les quinolones.....	42
□ Mécanisme d'action .....	42
□ Spectre d'activité : .....	42
□ Mécanisme de résistance .....	42
□ Les polymyxines.....	42
□ Définition .....	42
□ Les Sulfamides .....	43
□ Spectre d'activité : .....	43
□ Mécanisme d'action .....	43
□ Mécanisme de résistance .....	44
□ Triméthoprim.....	44
□ Mécanisme d'action .....	44
□ Spectre d'activité.....	44
□ Mécanisme de résistance :.....	44
<b>9 Méthodologies .....</b>	<b>45</b>
<b>9.1 Cadre d'étude :.....</b>	<b>45</b>
<b>9.2 Type et période d'étude :.....</b>	<b>46</b>
<b>9.3 Population d'étude :.....</b>	<b>46</b>
<b>9.4 Echantillonnage :.....</b>	<b>46</b>
<b>9.5 Critère d'inclusion et non inclusion : .....</b>	<b>46</b>
<b>9.5.1 Critère d'inclusion :.....</b>	<b>46</b>
<b>9.5.2 Critère de non inclusion :.....</b>	<b>46</b>
<b>9.6 Collect des données : .....</b>	<b>46</b>
<b>9.7 Variables étudiées : .....</b>	<b>46</b>
<b>9.8 La mission du laboratoire PA &amp; KA :.....</b>	<b>47</b>
<b>9.9 Methodes d'études : .....</b>	<b>47</b>

<b>9.9.2</b>	<b>Produits pathologiques :</b> .....	47
<b>9.9.3</b>	<b>Matériels utilisé pour l'isolement des germes :</b> .....	47
<b>9.9.4</b>	<b>Matériels utilisés pour l'identification des souches et l'antibiogramme</b> .....	48
<b>9.9.5</b>	<b>Matériels utilisés pour la conservation des souches, réactifs.</b> .....	48
<b>9.11</b>	<b>Réactifs</b> .....	48
<b>9.12</b>	<b>La démarche de traitement des produits pathologique :</b> .....	48
<b>9.13</b>	<b>Procédure de traitement des échantillons sur BACTEC 9050</b> .....	54
<b>9.14</b>	<b>Culture et isolement des bactéries en fonction des produits pathologiques :</b> .....	56
<b>9.14.1</b>	<b>Milieu de culture</b> .....	56
<b>9.14.2</b>	<b>Réalisation de l'inoculum bactérien</b> .....	57
<b>9.14.3</b>	<b>Ensemencement par inondation :</b> .....	57
<b>9.14.4</b>	<b>Dépôt de disques</b> .....	57
<b>9.14.5</b>	<b>Pré-diffusion et incubation</b> .....	57
<b>9.14.6</b>	<b>Lecture et interprétation</b> .....	57
<b>9.14.7</b>	<b>Identification bactérienne :</b> .....	57
<b>9.15</b>	<b>L'automate Vitek ®2 COMPACT-BIO</b> .....	57
<input type="checkbox"/>	<b>Principe</b> .....	62
<b>9.16</b>	<b>Analyse et traitement des échantillons :</b> .....	72
<b>9.17</b>	<b>Considérations éthiques :</b> .....	72
<b>10</b>	<b>Résultats</b> .....	73
	<b>Résultats descriptifs :</b> .....	73
<b>10.2</b>	<b>Résultats des données socio-démographiques</b> .....	73
<b>11</b>	<b>Commentaires et Discussion</b> .....	82
<b>12</b>	<b>Conclusion et Perspectives</b> .....	88
<b>12.1</b>	<b>Conclusion</b> .....	88
<b>12.2</b>	<b>Perspectives</b> .....	88
	<b>Recommandations</b> .....	90

**13 References**..... 91  
**Annexes** ..... 98



## 1. Introduction

La résistance aux antibiotiques est un problème mondial de santé[1]. L'émergence et la diffusion de la résistance aux antibiotiques représentent une menace majeure de santé publique aussi bien dans les pays développés que dans les pays en voie de développement[2]. La surveillance de la sensibilité des bactéries pathogènes aux antibiotiques est une nécessité car les maladies infectieuses sont l'une des premières causes de consultation et l'antibiothérapie est une pratique courante en médecine curative[3]. La résistance se diffuse rapidement parmi de nombreux agents pathogènes aussi bien hospitalières que communautaires[4]. Les bactéries multirésistantes qui cumulent de nombreuses résistances acquises posent des problèmes particuliers de par, leur fréquence et leur conséquence thérapeutique, tant à l'hôpital (*Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline, *Klebsiella pneumoniae* productrices de BLSE, *P. aeruginosa* résistants à l'imipénème) que dans la communauté (pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline)[5]. Bacille à Gram négatif, saprophyte de l'environnement hydrique, *P. aeruginosa* apparaît aujourd'hui comme un pathogène majeur au sein des établissements de santé, où il est responsable de 10 % des infections nosocomiales, ce taux augmentant jusqu'à 15 % dans les services de réanimation. Le portage endogène à l'admission des patients et l'acquisition des souches en cours d'hospitalisation, soit à partir de l'environnement hydrique, soit par transmission croisée de patient à patient, représentent les différentes voies de contamination précédant la survenue des infections. La dissémination de clones épidémiques précède le plus souvent l'acquisition d'une multi-résistance aux antibiotiques chez un patient donné sous l'effet de la pression de sélection des antibiotiques. Le *P. aeruginosa* est une bactérie opportuniste pathogène ne provoquant de maladie que chez le sujet immunodéprimé ou bien lorsqu'il est inoculé accidentellement [6]. Il est responsable de 10 à 20 % des infections nosocomiales [7]. Le *P. aeruginosa* a une résistance naturelle à de nombreux antibiotiques tels les aminopénicillines, les céphalosporines de premières et deuxièmes générations, la streptomycine, la kanamycine, les quinolones classiques, les phénicolés, les tétracyclines et le triméthoprime [8]. L'introduction des antibiotiques en thérapeutique a favorisé l'émergence de souches multirésistantes, ce qui explique de nombreux échecs thérapeutiques. Toute fois, la fréquence de la résistance de *P. aeruginosa* varie d'une région à l'autre, d'un hôpital à l'autre, d'un service à l'autre à cause de la pression de sélection exercée selon les molécules utilisées [9].

*Acinetobacter.spp* est un coccobacille à Gram négatif non fermentant qui a une grande capacité de survie à la fois sur le corps humain, les animaux et dans les réservoirs environnementaux

[10]. *L'Acinetobacter* est un pathogène opportuniste connu pour sa résistance intrinsèque aux antibiotiques et sa grande capacité d'acquérir rapidement des gènes de résistance sous forme d'éléments génétiques mobiles (plasmides, transposons, cassettes d'intégrons et séquences d'insertion) [11]. Le genre *Acinetobacter*, regroupe à ce jour près d'une cinquantaine d'espèces, et parmi elles, *A. baumannii* est la plus impliquée dans la pathologie humaine. *L'A. baumannii* est apparu ces dernières années comme l'un des pathogènes qui pose le plus de problèmes des épidémies d'infections associées aux soins, de résistance aux antibiotiques, de morbidité, de surcote et de mortalité surtout chez les patients gravement malades hospitalisés dans les unités de soins intensifs (USI) [12]. Il est devenu une menace mondiale avec une impasse thérapeutique de plus en plus décrite. En effet cet organisme présente généralement une résistance à plusieurs antibiotiques. Les données de la littérature ont montré que les infections à *A. baumannii* représentent 7,9 % des pneumopathies acquises sous ventilation mécanique et 5,7 à 15,7 % des bactériémies dans les USI. Une étude multicentrique ayant inclus 75 pays de tous les continents du monde a montré que le taux des infections à *A. baumannii* dans les services de réanimation était de 19,2 % en Asie ; 17,1 % en Europe de l'Est ; 14,8 % en Afrique ; 13,8 % en Amérique centrale et en Amérique du Sud ; 5,6 % en Europe de l'Ouest ; 4,4 % en Océanie et 3,7 % en Amérique du Nord [13]. Elle était de 15 % chez les patients VIH positifs d'Afrique du Sud [14] et de 13 % dans les services des brûlés Canadiens[15]. Dans notre région, les études sur la prévalence des infections à *A. baumannii* sont rares et anciennes. Une étude Marocaine réalisée sur la période de 2002 à 2005 a montré que cette bactérie représentait 13,63 % des isolats cliniques d'hémocultures dans les unités de soins intensifs (USI) [6] et dans une autre étude marocaine publiée en 2007[16], elle représentait 6,74 % de tous les bacilles à Gram négatif. Au Mali la prévalence des infections nosocomiales est estimée à 14%, au Sénégal à 10,9%, en Côte d'Ivoire à 12% [17]. Cette résistance préexiste à l'utilisation des antibiotiques mais l'utilisation intensive, mal adaptée et mal suivie de ces molécules conduisent à la sélection de nombreuses souches résistantes. Ce phénomène de résistance a pris une évolution tellement importante que de nos jours, la seule connaissance de l'espèce bactérienne ne permet plus de prédire l'efficacité d'une antibiothérapie. L'émergence de ce germe représente un sérieux problème thérapeutique et épidémiologique, d'où la nécessité de la mise en place d'un système de surveillance de l'environnement microbien de l'hôpital et l'application de strictes mesures d'hygiène. Tous ces constats font qu'il est nécessaire d'évaluer régulièrement la résistance des bactéries pathogènes dans notre pays. Ce travail est une contribution à cette évaluation au Mali. La présente étude vise les objectifs suivants :

## 2. OBJECTIFS :

### 2.1 OBJECTIF GENERAL

Etudier la résistance aux antibiotiques des souches « de *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* » isolées au laboratoire PA et KA de Bamako.

### 2.2 OBJECTIFS SPECIFIQUES

- Déterminer la fréquence d'isolément des souches « de *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* » des différents prélèvements au laboratoire PA & KA de Bamako,
- Décrire la fréquence de la résistance aux antibiotiques des souches « de *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* » isolées au cours de notre période d'étude
- Identifier les différents phénotypes de résistance aux antibiotiques des souches « de *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* » isolées au cours de notre période d'étude.
- Déterminer la fréquence des souches multirésistantes « de *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* » isolées au cours de notre étude.

### 3. Généralités

#### 3.1 *Pseudomonas aeruginosa* :

##### 3.1.1 Historique[6] :

Le *P. aeruginosa* ou bacille pyocyanique a été isolé en 1882 par CARLE GESSART à partir du pus bleu d'infections cutanées post-chirurgicales. Commensal du tube digestif, mais peu abondant chez le sujet sain, il occasionne de nombreuses infections chez les sujets fragilisés. Cependant avec l'ère des antibiotiques, le bacille pyocyanique a émergé comme une cause majeure d'infections nosocomiales.

##### 3.1.2 La Taxonomie :

Le vaste groupe des BGN-nF a fait l'objet de nombreux remaniements taxonomiques avec l'apport des données génomiques ayant pour conséquence l'établissement d'une classification plus précise concernant les *Pseudomonas* et apparentés et la réassignation dans de nouveaux genres ou le transfert dans des genres déjà existants. En dehors de quelques espèces (*P. aeruginosa*) dont l'identification pose peu de problèmes. L'identification phénotypiques des autres BGN-nF est restée longtemps difficile, avec le recours nécessaire à des méthodes moléculaires (séquençage des gènes *rrs* (DANr 16S), *rpoB*, *gyrB*, *recA*, ect...). La spectrométrie de masse de type MALDI-TOF a révolutionné l'identification bactérienne y compris celle des bacilles à Gram négatif permettant l'identification au niveau de l'espèce et au niveau de genre (ou complexe) dans respectivement 75 à 90 % et 90 à 100 % de ceux-ci selon les études. Seulement environ 5 % des souches testées ne sont pas correctement identifiées ou sont non identifiables par cette technique [16]. Selon la 9<sup>ème</sup> édition de Bergey's manual of systematic bacteriology (1994) *P. aeruginosa* est classée comme suite :

**Tableau I: Classification taxonomique de *Pseudomonas aeruginosa*[18].**

Domaine	Bacteria
<i>Phylum</i>	Proteobacteria
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	Pseudomonadales
Famille	Pseudomonaceae
Genre	<i>Pseudomonas</i>
Espèce	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

### 3.1.3 Habitat :

Le *P. aeruginosa* est une bactérie saprophyte, très répandue dans l'air, le sol, l'eau, les téguments et muqueuses de l'Homme et des animaux. Elle peut également contaminer le matériel hospitalière, hôtelier (robinetterie), médical (sondes, trocarts, cathéters) ou chirurgical (instruments, matériels de prothèse), les solutions antiseptiques, les solutés injectables, des produits médicamenteux ou cosmétiques.

### 3.1.4 Caractères cultureux :

Le *P. aeruginosa* est une bactérie aérobie stricte utilisant pour sa respiration les nitrates comme accepteurs d'hydrogène. En milieux anaérobies contenant des nitrates, il pousse dans toute la hauteur du tube. Le bouillon est troublé avec développement d'un voile en surface limité à un simple anneau adhérent aux parois du tube. La culture, très alcaline exhale une odeur aromatique (ou odeur de seringue). Quelques jours plus tard, un sédiment visqueux s'accumule en profondeur. Sur gélose nutritive, les colonies apparaissent souvent dissociées :

- Des colonies de grande taille (1 à 3mm), à bords irréguliers, en œuf sur le plat ;
- Des colonies plus petites (1 à 2 mm), lisses, régulières, bombées.

On observe également des colonies de type R (rugueux) ou M (muqueux) : bombées, opaques, visqueuses. Les souches isolées de malades atteints de mucoviscidose ont un aspect muqueux et donnent des colonies très visqueuses. En quelques jours (2 à 4), on assiste à un bleuissement ou verdissement des milieux de culture dû aux pigments diffusibles (pyocyanine et pyoverdine) élaborés par la bactérie. Certaines souches ne produisent qu'un seul pigment et moins de 1 % des souches ne synthétisent aucun pigment.

### 3.1.5 Morphologie et structure :

Le *P. aeruginosa* est un bacille à Gram négatif, fin de 1,5 à 3  $\mu\text{m}$  de long et 0,5 à 0,8  $\mu\text{m}$  de large, non sporulé et non capsulé. Il est très mobile grâce à une ciliature polaire en général mono triche. De l'extérieur vers l'intérieur on distingue la membrane externe, le peptidoglycane et la membrane cytoplasmique. La membrane externe est une double couche lipidique asymétrique comprenant deux feuilletts : le feuillet externe est constitué par le lipopolysaccharide et le feuillet interne par les phospholipides. La membrane externe contient des protéines dont des protéines majeures et des protéines mineures. Parmi les protéines majeures il y a des porines. Les porines interviennent dans la pénétration des antibiotiques, particulièrement les Bêta-lactamines et leur mutation donne une résistance. Le phénomène d'efflux actif existe chez *P. aeruginosa*. L'ensemble de la pompe à efflux est un système de 3 protéines : Mex B, Mex A et

Opr M. La résistance aux fluoroquinolones est le reflet de l'hyperpression d'un ou plusieurs systèmes d'efflux capables d'exporter les fluoroquinolones, les tétracyclines, le chloramphénicol, les Bêta-lactamines y compris les carbapénèmes.

### 3.1.6 Caractères biochimiques

#### 3.1.6.1 Métabolisme :

Le *P. aeruginosa* possède :

- Oxydase : Non fermentant
- Nitrate : réductase (réduction des nitrates pouvant aller jusqu' au stade d'azote gazeux)
- Un métabolisme oxydatif des sucres, appréciable sur milieu MEVAG (Milieu pour l'Étude de la Voie d'Attaque des Glucides) ou de HUGH et LEIFSON.
- Une argininase
- D'hydrolase
- Une lécithinase (qui ne peut être révélée qu'en milieu liquide)
- Un pouvoir protéolytique : liquéfaction de la gélatine en entonnoir puis en coupe renversée.

#### 3.1.6.2 Mise en évidence des pigments :

Le *P. aeruginosa* élabore des pigments bleu (pyocyanine), vert (pyoverdine). Ces pigments sont visibles sur milieux ordinaires ou sérum de bœuf coagulé. On doit parfois avoir recours à des milieux spéciaux, types milieux de King A et King B.

- La pyocyanine :

C'est un dérivé de la phénazine. Elle est responsable de la coloration bleue des milieux de culture. Sa production est favorisée sur milieu de King A. Elle est soluble dans l'eau et le chloroforme. En présence d'acide fort, elle devient rouge. Oxydée, elle devient jaune (ce qui se produit parfois spontanément après exposition prolongée à la lumière). On obtient un leuco-dérivé incolore après réduction.

- La pyoverdine :

C'est un pigment vert fluorescent, soluble dans l'eau mais non dans le chloroforme. Sa production est maximale sur milieu de King B Oxydée (cas des cultures âgées), elle devient rouge.

- Le pigment érythroène (rouge) : la pyorubrine
- Le pigment mélanogène (noir) : la pyomélanine

Ces deux derniers pigments sont beaucoup plus rares et moins significatifs.

Colonie de *P. aeruginosa* gélose Mueller Hinton :

Ces cultures dégagent une odeur caractéristique de raisin ou de seringa. Il existe trois types de colonie de *P. aeruginosa*

- Les colonies larges : sont grandes, rugueuses convexes et lisses.
- Les colonies muqueuses : sont bombées, opaques visqueuses, filantes ou parfois coulantes. Elles possèdent une pseudo-capsule constituée d'alginate. Cet aspect s'observe surtout dans les sécrétions bronchiques des patients atteints de mucoviscidose.
- Les colonies Sm (Small) : sont rondes petites, convexes et lisses.

### 3.1.6.3 Les facteurs de virulence et Pouvoir pathogène [8]:

Le *P. aeruginosa* est une bactérie de faible virulence. Cependant lorsque les défenses immunitaires de l'hôte sont effondrées, ce germe peut exprimer de nombreux facteurs de virulence qui jouent un rôle certain dans sa pathogénicité. Ce sont entre autres :

#### ➤ Les pili :

Ils sont responsables de la fixation aux cellules épithéliales. En effet 90 % des fonctions d'adhérence de *P. aeruginosa* sur des pneumocytes humains sont dépendants du pilus.

#### ➤ L'alginate :

La production d'alginate survient dans certaines circonstances (infections pulmonaires au cours de la mucoviscidose par exemple). L'alginate est un copolymère linéaire d'acide D-mannuronique et de son épimère en C5, l'acide L-guluronique liés par des liaisons Bêta-1,4. L'alginate permet de protéger la bactérie contre la phagocytose, la déshydratation et l'action des antibiotiques. Elle favorise l'adhérence des bactéries aux cellules épithéliales du tractus respiratoire. Elle favorise également l'implantation des souches mucoïdes rencontrées lors de la mucoviscidose ou des infections urinaires chroniques.

#### ➤ Le lipopolysaccharide (LPS) :

A une activité anti phagocytaire, il est incriminé dans la genèse de la fièvre, du choc et du syndrome de coagulation intravasculaire disséminée.

#### ➤ Le flagelle :

Constitué par l'empilement d'un seul sous unité protéique, la flagelline de type a ou b. Il joue un rôle essentiel dans la mobilité et vraisemblablement un rôle indirect dans l'adhérence cellulaire. Le rôle du flagelle dans la pathogénèse semble établi puisque des souches non flagellées sont sévèrement atténuées dans leur virulence.

➤ **Pyoverdine et pyochéline :**

Sont les sidérophores les mieux caractérisés et jouent un rôle important dans la pathogenèse de *P. aeruginosa*.

➤ **Pyocyanine :**

C'est un inhibiteur mitochondrial.

➤ **Les ADP-ribosyltransférases :**

Ces enzymes hydrolysent le nicotinamide adénine dinucléotide (NAD) en nicotinamide et ADP-ribose. Ces enzymes transfèrent ensuite le résidu ADP-ribose sur un substrat (facteur d'élongation EF2, protéine G régulant l'adenylate-cyclase, actine). Les ADP-ribosyltransférases diffèrent non seulement selon la nature du substrat sur lequel elles agissent, mais aussi par la vitesse d'hydrolyse du NAD et de la réaction d'ADP-ribosylation.

Deux enzymes de ce type sont élaborées par *P. aeruginosa* :

• **L'exotoxine A :**

Agit à l'instar de la toxine diphtérique en inhibant les synthèses protéiques cellulaires par blocage du facteur EF2 d'élongation. Sa synthèse est augmentée dans des conditions de carence en fer.

• **L'exoenzyme S :**

Possède une activité ADP-ribosylante. Elle interfère donc avec la réponse immunitaire de l'hôte en plus de son rôle dans l'adhérence. In vivo, elle entraîne la dépolymérisation des microfilaments d'actine et contribue à la résistance aux macrophages.

➤ **La phospholipase C :**

Hémolysine thermolabile, détruirait le surfactant pulmonaire et serait responsable avec les protéases des lésions nécrotiques et hémorragiques.

➤ **Le rhamnolipide :**

Glycolipide thermostable, augmenterait l'activité de la phospholipase C par son action détergente.

➤ **Les élastases :**

Jouent un rôle dans la pathogenèse en provoquant des hémorragies et des nécroses tissulaires.

➤ **La cytotoxine (ou leucocidine) :**

Elle agit directement sur les leucocytes. Libérée hors des cellules durant les étapes tardives de la croissance, elle cause alors la formation de pores dans les membranes cellulaires, ce qui résulte en une augmentation de la perméabilité et une libération des enzymes lysosomiaux. Ces altérations conduisent à une inflammation sévère des tissus et à la nécrose.

➤ **La lipase :**

Produit une forte réaction inflammatoire en synergie avec la phospholipase C.

➤ **La neuraminidase :**

Facilite l'attachement de la bactérie à la surface des cellules eucaryotes. Pouvoir pathogène naturel des *P. aeruginosa* est une bactérie opportuniste qui provoque rarement des infections chez les sujets en bonne santé. Il s'agit alors :

- D'infestations massives par exemple chez les nageurs de piscine contaminée
- Ou d'inoculations traumatiques directes dans un tissu ou une cavité (méningites ou ostéomyélite d'inoculation).

En fait, il est de règle que les infections à pyocyanique surviennent chez les malades fragilisés en milieu hospitalière. L'antibiothérapie favorise l'implantation des bactéries sur la peau ou les muqueuses de ces malades. Le concept d'immunodépression inclut l'état consécutif aux stress, à des traumatismes divers (brûlures, fractures, interventions chirurgicales, injections intraveineuses d'héroïne, manœuvres instrumentales), à des chimiothérapies neutropéniantes utilisées par le traitement des cancers ou des leucémies mais aussi les tares (diabète, mucoviscidose, ...), la malnutrition (kwashiorkor), l'âge (prématurité) ou le délabrement physiologique (vieillesse).

➤ **Les infections de la peau :**

L'implantation de *P. aeruginosa* sur le revêtement cutané est favorisée par :

- L'humidité (localisation aux zones périnéales, fréquence des infections en régions tropicales, ...).
- L'existence des lésions sous - jacentes (eczémas, dermatites, traumatismes, brûlures, ulcères du décubitus).

### 3.1.7 Cas particulier de la mucoviscidose :

Le *P. areuginosa* est un agent pathogène opportuniste qui « colonise » l'épithélium respiratoire des patients présentant des conditions prédisposantes ; telle la mucoviscidose, la ventilation mécanique, l'immunodéficienc e ou la présence d'une maladie pulmonaire, comme la BPCO. Son unique flagelle ainsi que ses pili sont responsables de la mobilité de la bactérie et de son adhésion à l'épithélium respiratoire. La mucoviscidose, dont la prévalence est estimée à 0,74 pour 10 000 habitants dans l'Union Européenne fait partie des maladies rares [17], elle est néanmoins la plus fréquente des maladies monogénique potentiellement grave dès l'enfance dans les populations d'origine Européenne. Il s'agit d'une maladie héréditaire à transmission

autosomique récessive due aux mutations du gène CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator), dont la plus fréquente est la mutation F508del [19]. La surinfection broncho-pulmonaire, qui se traduit par des épisodes d'exacerbations, est un problème majeur pour les malades, les deux germes les plus fréquemment responsables d'infection étant le *P. aeruginosa* et le *staphylococcus aureus*, fortement impliqués dans l'aggravation de l'atteinte pulmonaire [20]. L'atteinte pulmonaire de la mucoviscidose conduit à l'apparition d'une dilatation des bronches avec une infection bactérienne chronique. *P. aeruginosa*, est l'agent pathogène majeur infectant les patients mucoviscidosiques. Après l'infection initiale ou l'éradication de la bactérie est possible, une infection chronique affecte environ 75 % des adultes mucoviscidosiques [21]. Son éradication est à ce jour-quasi-impossible en cas d'infection chronique avérée.

### 3.2 *Acinetobacter baumannii* :

#### 3.2.1 Historique :

L'histoire du genre *Acinetobacter* a commencé en 1911 lorsque Martinus Willem Beijerinck, un microbiologiste néerlandais, a identifié un micro-organisme nommé *Micrococcus calcoaceticus* à partir d'échantillons de sol [22] en 1954, Brisou et Prévost proposaient la nomination du genre *Acinetobacter* (du grec Akinetos qui signifie immobile) pour regrouper la collection hétérogène de bactéries immobile, Gram négatif, oxydase positive ou oxydase négative. Le genre d'*Acinetobacter* a été précédemment désigné comme *Bacterium anitratum*, *Herellea vaginicola*, *Mima polymorpha*, *Achromobacter*, *Micrococcus calcoaceticus*, *Diplococcus*, B5W et *Cytophaga* [23]. Dans son édition de 1974, le manuel de bactériologie systématique de Bergey a répertorié le genre *Acinetobacter* avec la description d'une seule espèce : *Acinetobacter calcoaceticus* [24]. En 1986, **Bouvet** et **Grimont** ont décrit 12 espèces génomiques d'*Acinetobacter* dont seulement quelques-unes sont référées à *A. baumannii*, *A. calcoaceticus*, *A. haemolyticus*, *A. junii*, *A. johnsonii* et *A. lwoffii* en utilisant la méthode d'hybridation ADN / ADN [21-23]. Depuis 1991, le genre *Acinetobacter* appartient à la famille des Moraxellaceae dans l'ordre des Gammaprotéobactéries composé par *Moraxella*, *Acinetobacter* et *Psychrobacter*. Plusieurs publications ont permis la découverte de 57 noms d'espèces validés incluant les synonymes hétérotypiques.

(<http://doi.namesforlife.com/10.1601/tx.2765e><http://www.bacterio.net/acinetobacter.html#r>)

*A. baumannii* est l'espèce la plus fréquente et la plus souvent impliquée en pathologie. Elle représente plus de 90% des isolats cliniques, et présente des caractéristiques qui la différencient

des autres espèces notamment en termes de pathogénicité, d'épidémiologie et de résistance aux antibiotiques. Certaines espèces sont étroitement liées génétiquement et difficiles à distinguer, en particulier *A. Calcoaceticus*, *A. baumannii*, *A. pittii*, *A. nosocomialis*, *A. seifertii* et *A. dijkshoorniae* qui sont regroupées sous le terme complexe *A. baumannii calcoaceticus* [25]. Il existe un nombre élevé d'espèces dont le statut taxonomique est encore inconnu. La taxonomie du genre *Acinetobacter* souffre encore de nombreux inconvénients tels que la nomenclature confuse des taxons provisoires, la description de l'espèce en se basant sur un seul isolat, le statut taxonomique incertain des mêmes espèces (expérimentales), un nombre élevé des espèces encore non classées et le manque de méthodes d'identification fiables. La nomenclature est strictement réglementée par Code international de nomenclature des bactéries. Parmi les 57 noms d'espèces validement publiés, 4 noms d'espèces sont des synonymes hétérotypiques car ils sont similaires sur le plan taxonomique, donc il existe approximativement 53 noms d'espèces validés. Les chercheurs ont fourni des informations intéressantes contre la validité de 4 espèces :

- Dunlap et Rooney en 2018 ont démontré qu'*A. dijkshoorniae* et *A. lactucae* étaient des synonymes hétérotypiques en se basant sur les règles de priorité, les comparaisons génomiques basées sur des hybridations ADN-ADN, l'identité nucléotidique moyenne et l'étude phylogénétique que ces souches *A. dijkshoorniae* et d'*A. lactucae* était identiques. Donc *A. lactucae* devrait être reclassifié et considère synonyme hétérotypique ultérieur d'*A. dijkshoorniae* [26].
- Nemeč et Radolfova-Krizova en 2016 ont reporté qu'il n'y avait pas de preuve taxonomique valable pour différencier les souches d'*A. bohemicus* et *A. pakistanensis*. Les valeurs moyennes d'identités nucléotidiques (95,9 et 96,1%) entre les séquences des génomes entiers des souches d'*A. bohemicus* et *A. pakistanensis* ont confirmé l'identité de ces souches au niveau de l'espèce. L'analyse comparative des séquences de *rpoB*, des empreintes de MALDI-TOF, des séquences du gène de l'ARNr 16S, des caractéristiques métaboliques et physiologiques des souches d'*A. pakistanensis* étaient identiques celles d'*A. bohemicus* sur la base de ces résultats, ils ont conclu qu'*A. pakistanensis* est un synonyme hétérotypique ultérieur d'*A. bohemicus* [27].
- Nemeč et Radolfova-Krizova en 2017 ont aussi prouvé une grande similarité des souches d'*A. indicus* et d'*A. guangdongensis* au niveau de l'espèce en se basant sur les valeurs moyennes d'identité nucléotidique d'hybridation ADN-ADN (96,3%). En plus, les caractéristiques métaboliques, physiologiques et chimiotaxonomiques d'*A. guangdongensis*

étaient congruents à celles d'*A. indicus* et ils ont conclu qu'*A. guangdongensis* est un synonyme hétérotypique plus tardif d'*A. indicus*[28].

- Vanechoutte et al en 2008 ont trouvé que les propriétés phénotypiques, les profils de polymorphisme de longueur des fragments amplifiés (AFLP) et les séquences de l'ARNr 16S et du gène *rpoB* de la souche d'*A. grimontii* étaient similaires à ceux d'*A. junii* et ils ont confirmé qu'*A. grimontii* est un synonyme hétérotypique ultérieur d'*A. junii*[29].

**Tableau II : Classification taxonomique d'*Acinetobacter baumannii*[30].**

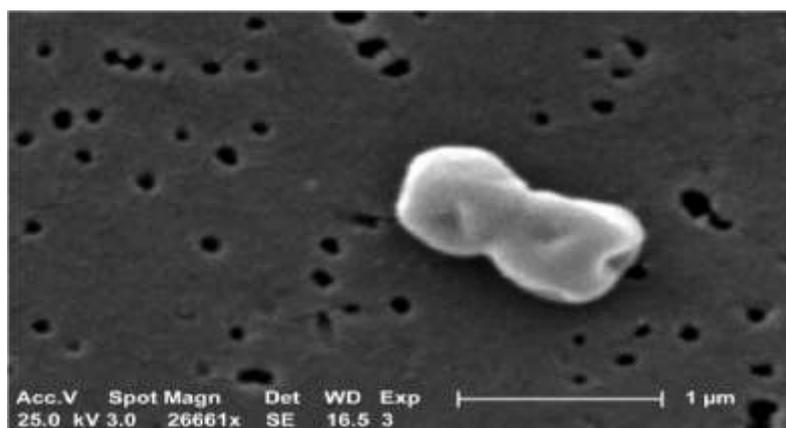
REGNE	BACTERIA
EMBRANCHEMENT	PROTEOBACTERIA
CLASSE	GAMMA PROTEOBACTERIA
ORDRE	<i>PSEUDOMONADALES</i>
FAMILLE	MORAXELLACEAE
GENRE	ACINETOBACTER
Espèce	<i>Baumannii</i>

### 3.2.2 Caractéristiques morphologiques structurale d'*Acinetobacter baumannii* :



**Figure 1: Coccobacille à Gram négatif d'*A.baumannii*[9].**

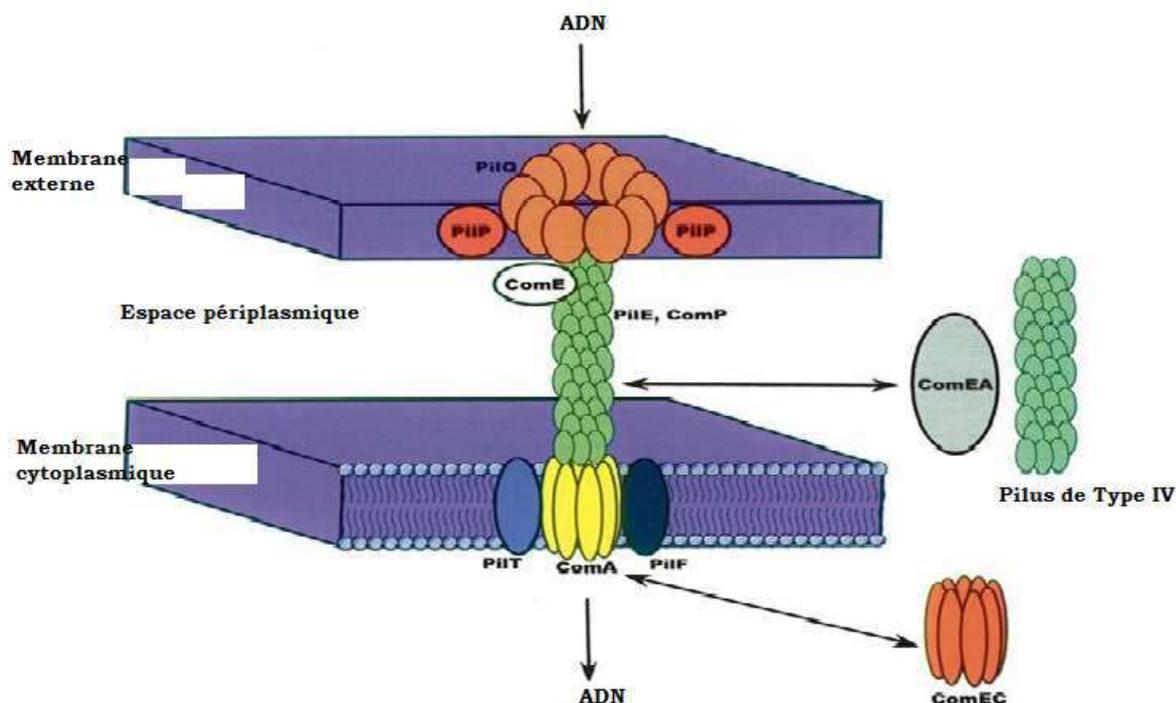
*Acinetobacter* est un *Coccobacille* à Gram négatif, mesurant de 1,0 à 1,5µm de diamètre sur 1,5 à 2,5 µm de longueur, parfois encapsulée, souvent en diploco bacilles ou parfois en chaînes de longueur variable, non sporulées et immobile [31].



**Figure 2 : *Acinetobacter baumannii*, avec grossissement 26661x[32].**

Les espèces d'*Acinetobacter* contiennent une enveloppe cellulaire à couches multiples, comprenant une membrane externe et une membrane cytoplasmique interne séparées par l'espace périplasmique [33]. La membrane cellulaire externe comprend des porines et des canaux d'efflux qui contribuent à la résistance aux antibiotiques. En général, les porines sont des canaux protéiques qui permettent le transport de molécules à travers la membrane et sont également des sites de fixation pour les antibiotiques. Dans certains cas, les porines peuvent permettre aux cellules d'adhérer à d'autres cellules bactériennes (comme dans la formation de biofilms). Néanmoins, les porines peuvent permettre l'entrée d'antibiotiques et d'autres composés antimicrobiens à travers la membrane cellulaire et dans le cytoplasme, où ils perturbent les processus enzymatiques normaux ou détruisent les fonctionnements cellulaires et des organites[34]. Cependant, *A. baumannii* a moins de porines et plus petites que les autres bactéries à Gram négatif, ce qui diminue la perméabilité cellulaire et augmente la résistance aux antibiotiques. Seulement moins de 5% des molécules sont perméables à la membrane cellulaire[35]. Dans certaines études, il a été constaté que la résistance aux carbapénèmes, était le résultat de l'absence d'un gène de la protéine de la membrane externe de 29 kDa appelé carO (protéine membranaire externe associée au carbapénème). La protéine CarO est impliquée dans l'importation de carbapénème dans la cellule[35]. On trouve également dans la membrane cellulaire *A. baumannii* des canaux protéiques et des transporteurs impliqués dans le transport de l'ADN étranger dans la cellule. La protéine PilQ qui est localisée dans la membrane externe, permet l'entrée initiale de l'ADN étranger. L'ADN se lie ensuite à la protéine ComE, et il est transporté à travers l'espace périplasmique par le PilE, ou le pilus de type IV et à la fin par la protéine transmembranaire ComA située dans la membrane interne. Le transport de l'ADN par ComA permet son entrée dans le cytoplasme *A. baumannii*. Une fois à l'intérieur de la

cellule, cet ADN étranger est soit dégradé, intégré dans le génome ou dans le plasmide [36]. La protéine A de la membrane externe de la bactérie (OmpA) présente un intérêt particulier en ce qui concerne la structure cellulaire d'*A. baumannii*. L'OmpA a été associée à la capacité d'*A. baumannii* à former des biofilms sur des surfaces biologiques telles que la peau humaine, ainsi que dans des environnements abiotiques tels que les cathéters [37]. En outre, l'OmpA est considérée comme un composant majeur du mécanisme par lequel *A. baumannii* envahit les cellules épithéliales [38].



**Figure 3:** Les protéines transmembranaires de transport chez *A. baumannii*.

Le PilQ permet l'entrée initiale de l'ADN étranger dans la cellule.

L'ADN étranger est ensuite lié par la protéine ComE et puis il est dirigé vers le transporteur membranaire Cytoplasmique ComA [36].

### 3.2.3 Habitat :

Bien que la plupart des espèces d'*Acinetobacter* soient ubiquitaires (sol, eau, végétaux, hommes), *A. baumannii* n'a pas de réservoir naturel connu en dehors de l'hôpital [39]. Lors d'épidémies hospitalières à *A. baumannii* est retrouvé dans l'environnement clinique immédiat du malade (appareils de ventilation, lit, matelas, tables...) et dans l'environnement humide (siphons de lavabo, linge humide...) ainsi que sur les mains des soignants. En effet, ce germe possède une capacité de survie prolongée dans l'environnement, il résiste longtemps dans des conditions environnementales variées, et résiste bien à la dessiccation [40]. La durée moyenne

de survie sur une surface sèche a été estimée à un (1) mois [41]. Sa durée de survie sur les mains est supérieure à 60 minutes après inoculation de 10<sup>4</sup> unités formant colonies (UFC) par doigt [42].

#### 3.2.4 Métabolisme ou caractéristiques biochimiques :

Ces bactéries peuvent utiliser une sélection variée de matières organiques comme sources de carbone. Les souches d'*Acinetobacter spp* ne réduisent généralement pas les nitrates en nitrites en milieu complexe. Ils obtiennent de l'azote à partir de sels d'ammonium et de nitrate. Donc, elles ne sont pas capables de croître en anaérobiose en utilisant les nitrates comme accepteur final d'électrons. Ils sont capables d'utiliser les divers composés organiques pour le métabolisme et la production d'énergie, y compris les sucres, les acides gras, certains acides aminés, les chaînes hydrocarbonées non ramifiées et certains composés aromatiques (y compris les acides aminés aromatiques). L'utilisation des sucres comme source de carbone pour les voies métaboliques par *A. baumannii* est limitée au D-glucose, au D-ribose, au D-xylose et au L-arabinose [33]. L'oxydation du glucose et d'autres sucres en acide gluconique résulte de la présence d'un glucose déshydrogénase membranaire. Le D-glucose est métabolisé par *A. baumannii* par la voie d'etner-Doudoroff. Les pentoses utilisés par *A. baumannii* dans le métabolisme sont dégradés par un aldose déshydrogénase. Les acides pentoïques oxydés sont ensuite convertis en  $\alpha$ -cétoglutarate en plusieurs étapes impliquant des mécanismes de déshydratation et de déshydrogénation [33]. *A. baumannii* peut dégrader les composés aromatiques par la voie du Bêta-cétoadipate, impliquant la Bêta-cétoadipate enol-lactone hydrolase et la Bêta-cétoadipate succinyl-CoA transférase en tant qu'enzymes principales du métabolisme. Grâce à cette voie, les composés aromatiques sont finalement convertis en acide succinique et en acétyl-CoA [33]. *A. baumannii* utilise le système du cytochrome dans ses voies de transport d'électrons. Il a été démontré que le cytochrome a1, le cytochrome a2, le cytochrome b1, le cytochrome c, ainsi que la flavine jouent un rôle important dans les voies de transport des électrons et de la respiration cellulaire d'*A. baumannii* [33]. Dans le métabolisme de l'acide nucléique, *A. baumannii* utilise l'uracile comme pyrimidine dans la synthèse de l'ARN et de l'ADN. Comme *A. baumannii* ne possède pas les enzymes telles que la thymine phosphorylase et la thymidine kinase, il ne peut pas incorporer la thymine dans les molécules d'ADN [33].

### 3.2.5 Caractères culturels :

Toutes les espèces d'*Acinetobacter* sont strictement aérobies, non fermentant, prototrophes, non fastidieuses, facilement cultivables sur la plupart des milieux ordinaires [43]. La plupart des espèces se multiplie bien à des températures d'incubation de 20 à 37°C, avec des températures optimales de croissance situées entre 33 et 35°C [44]. Mais certaines souches peuvent se développer à des températures élevées[45]. Les colonies apparaissent généralement non pigmentées, lisses ou muqueuses (lorsque la capsule est présente), opaques, de couleur blanche ou crémeuse, avec un diamètre de 1-2 mm après 18-24h d'incubation à 37°C.

### 3.2.6 Facteurs de virulence et pouvoirs pathogène :

Nous n'avons trouvé aucune source spécifiée dans le document actif. En général, les isolats d'*A. baumannii* ont une faible virulence, mais ils ont développé un large éventail de stratégies pour coloniser les surfaces inanimées et leurs hôtes, et ils peuvent envahir les tissus profonds des organes humains et causer des infections graves chez les patients immunodéprimés. Les modèles animaux et les outils moléculaires ont été développés pour faciliter l'identification des facteurs de virulence qui facilitent la pathogénèse et la persistance d'*A. baumannii*. Les caractéristiques qui contribuent à la virulence et à la pathogénèse d'*A. baumannii* sont : hydrophobicité de surface cellulaire, protéine de la membrane externe, vésicules de la membrane externe, polysaccharides toxiques, système d'acquisition des métaux, formation de biofilms, phospholipases, motilité et adhérence, composants de la membrane polysaccharidique, Systèmes de sécrétion des protéines, protéines liant la pénicilline et vérotoxines [46].

#### ➤ L'hydrophobicité de la surface cellulaire :

Elle est connue pour être un déterminant essentiel de l'adhésion bactérienne et empêche la phagocytose d'*Acinetobacter spp.* Elle est impliquée dans la fixation de ces bactéries à divers dispositifs médicaux polymériques tels que les stimulateurs cardiaques, les cathéters et les prothèses, et elle est médié par la composition des parois cellulaires, les récepteurs de surface cellulaire, les enzymes de surface cellulaire et les facteurs de colonisation [46].

#### ➤ Motilité et adhésion :

*A. baumannii*, est connu d'être une bactérie immobile en raison de l'absence des flagelles. La motilité d'*A. baumannii* sur des surfaces semi-solides a été décrite pour la première fois par Henrichsen en 1975, quand il a rapporté l'effet de l'environnement sur la motilité d'*A. calcoaceticus* sur le milieu gélosé [47]. Les études actuelles suggèrent que ce pathogène se déplace sur des surfaces semi-solides à la suite d'un mouvement de contraction au lieu de celui

de glissement, d'essaimage [47]. Une étude récente a rapporté que les souches d'*A. baumannii* isolées des hémocultures étaient moins mobiles que ceux des sites respiratoires alors que la formation de biofilms par les isolats respiratoires était supérieure à ceux des hémocultures, suggérant que les isolats d'*A. baumannii* nécessitent un temps suffisant pour se fixer et envahir des cellules de l'hôte [48].

➤ **Formation de biofilm :**

*A. baumannii* possède la capacité de produire des biofilms qui contribuent à leur persistance dans les milieux environnementaux et à la résistance aux antibiotiques. Les biofilms sont constitués de communautés bactériennes complexes, attachées à la surface biotique ou abiotique, enfermés dans la matrice de substances polymères extracellulaires, fournissant la protection des bactéries dans des conditions délétères telles que la dessiccation, la privation de nutriments, les effecteurs immunitaires, les cellules phagocytaires et les antibiotiques. Ils sont également connus pour être impliqués dans des infections ; ils constituent un réservoir bactérien à partir duquel *A. baumannii* colonise les patients intubés ou cathétérisés, conduisant à des infections des voies respiratoires, à des infections sanguines et à une méningite associée au shunt [49]. Le mécanisme de formation d'un biofilm « mature » sur une surface s'effectue généralement selon les quatre étapes successives suivantes [50] :

- Transport des cellules vers le support solide par sédimentation (due aux forces de gravité), mouvement Brownien (mouvement perpétuel aléatoire), turbulence du liquide de suspension ou encore motilité des micro-organismes (cas des bactéries ciliées ou flagellées) [51].
- Adhésion initiale, par interactions physico-chimiques entre micro-organismes et support récepteur.
- Consolidation de l'adhésion par l'intermédiaire d'interactions moléculaires plus spécifiques entre le micro-organisme et le support. Les structures polymériques permettant ces interactions moléculaires sont : la capsule, le slime, le glycocalyx, les exopolymères, les fimbriae ou pili.
- Colonisation de la surface : cette colonisation résulte de la multiplication des microorganismes. La croissance et la division des micro-organismes sont possibles principalement grâce aux nutriments (protéines absorbées à l'interface solide-liquide). Les bactéries adhérant à la surface sécrètent des polymères extracellulaires ou glycocalyx qui emprisonnent les bactéries et les nutriments dans une matrice. Cette couche muqueuse et les bactéries forment ainsi un biofilm [51].

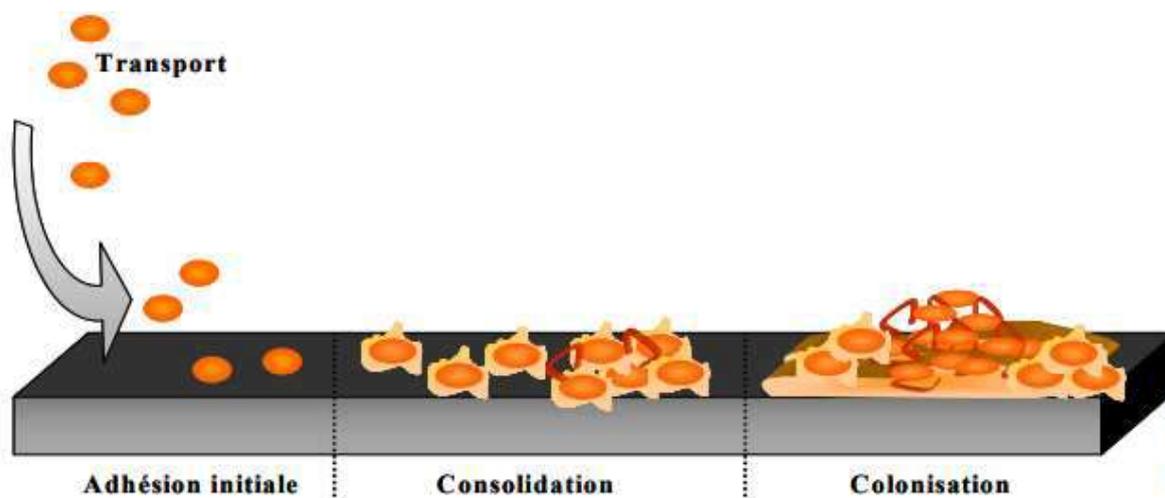


Figure 4: Etapes de la formation de biofilms microbiens [36].

➤ **Les protéines de la membrane externe :**

Les porines sont des protéines de la membrane qui module la perméabilité cellulaire. OmpA est l'un des porines les plus abondantes dans la membrane externe chez *A. baumannii*. L'OmpA est le facteur de virulence ayant les variétés de propriétés biologiques intéressantes et ayant été identifiées in vitro [52]. L'OmpA se lie aux cellules épithéliales de l'hôte et induit l'apoptose en libérant les molécules pro-apoptotiques, telles que le cytochrome c et les facteurs induisant l'apoptose. Une autre étude a montré que l'OmpA induit la mort cellulaire en se fixant au niveau des mitochondries ou des noyaux. L'OmpA joue également un rôle important dans l'adhésion et l'invasion des cellules épithéliales en interagissant avec la fibronectine, et se lie au facteur H dans le sérum humain, qui peut permettre à *A. baumannii* d'échapper à la mort cellulaire médiée par le complément. Le gène OmpA est nécessaire pour la persistance d'*A. baumannii* dans le poumon de la souris. La principale porine de l'*A. baumannii* est l'OmpA, qui a 70 fois moins d'activité sporogène que celle de l'OmpF. En outre, le gène OmpA diminue significativement les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de plusieurs antibiotiques (chloramphénicol, l'aztréonam et l'acide nalidixique), ce qui suggère que l'OmpA participe aux systèmes d'efflux membranaires. L'OmpA améliore la survie et la persistance d'*A. baumannii* en facilitant la motilité de surface et la formation de biofilm. OmpA aussi régule la biogenèse des vésicules de la membrane externe. La protéine Omp de 33 à 36 kDas (Omp33-36), qui agit comme un canal de passage de l'eau, est une autre protéine de la membrane externe associée à la cytotoxicité d'*A. baumannii*. Les souches dépourvues des protéines omp33-36 réduisent significativement leur capacité d'adhésion et d'invasion des cellules épithéliales pulmonaires et la cytotoxicité

pour ces cellules humaines. La délétion du gène omp 33-36 chez les souris présentant la bactériémie à *A. baumannii*, atténue la létalité et réduit les concentrations bactériennes dans la rate et les poumons. Une étude a montré que la protéine Omp 33-36 induit l'apoptose dans les différents types de cellules, y compris les cellules des tissus immunitaires et conjonctifs. La protéine Omp33-36 est également impliquée dans la résistance aux antibiotiques des souches d'*A. baumannii*. Une souche d'*A. baumannii* JC10/01 résistante aux carbapénèmes (imipénème et méropénème) présentant une perte d'Omp 33-36 et une expression épisomique d'Omp 33-36 dans cette souche avait les CMI de l'imipénème et du méropénème nettement réduites. La protéine Omp22 a également été identifiée comme un nouvel antigène pouvant servir au développement des vaccins efficaces contre les infections à *A. baumannii* bien que la contribution d'Omp22 à la pathogénicité d'*A. baumannii* n'a pas été déterminé. D'autres porines, telles que la protéine CarO et l'OprD sont également des facteurs liés à la virulence [53].

➤ **Polysaccharides capsulaires :**

Les exopolysaccharides capsulaires contribuent également à la pathogénicité d'*A. baumannii* notamment, de nombreux isolats provenant de patients infectés par *A. baumannii*, expriment des polysaccharides capsulaires de surface et contiennent un groupe de gènes conservés, appelé le locus K, pouvant déterminer la production de polysaccharides capsulaires. Des études antérieures ont conduit à l'identification des gènes *ptk* et *epsA*, intervenant dans la polymérisation et dans l'assemblage des capsules. Les mutants *ptk* et *epsA* sont incapables de coder pour la production de capsules et réduit la croissance bactérienne dans le sérum humain, ce qui entraîne une diminution très significative de la survie dans les sites d'infections des tissus mous. Les mutants déficients en polysaccharides capsulaires ont une résistance intrinsèque aux antibiotiques peptidiques. En outre, la présence d'antibiotiques induit une hyperproduction de polysaccharides capsulaires. La production de polysaccharides capsulaires induite par les antibiotiques augmente la résistance à la destruction par les cellules de l'hôte et la virulence dans les infections systémiques. La production de capsules après l'exposition à un antibiotique dépend de l'expression du gène K. Cette expression des gènes K est régulée par le système à deux composants *bfmRS*, *bfmR* sont des gènes essentiels à la croissance bactérienne dans l'ascite humaine, et ils sont important pour la persistance dans le poumon des souris. *BfmS* est également un facteur de virulence qui joue un rôle important dans la formation de biofilm, l'adhérence aux cellules eucaryotes et résistance au sérum humain. *BfmR* induit la résistance à l'activité bactéricide et augmente la résistance aux antibiotiques. Cependant, les effets de *bfmR*

sont indépendants de la production de polysaccharides capsulaires. Donc, la relation entre BfmRS et les polysaccharides capsulaires devrait être décrit en plus de détail [53].

➤ **Lipopolysaccharides (LPS) :**

Le LPS est le principal composant de la membrane externe chez la plupart des bactéries Gram négatif, il est immunogène et induit la libération des facteurs de la nécrose tumorale, tels que l'interleukine 8 à partir des macrophages et à l'activation des récepteurs Toll-like 4 (TLR4). LPS est composé d'une fraction de lipide A endotoxique, un noyau oligosaccharide et un antigène O répétitif. Chez *A. baumannii*, LPS joue un rôle majeur dans la virulence et dans la survie d'*A. baumannii*. Chez les cellules mutantes dépourvues de LPS B-glycotransférase, les LPS présentent une structure tronquée contenant seulement deux résidus de glucides liés au lipide A, entraînant une diminution de la résistance au sérum humain et la diminution de la survie dans les tissus mous chez le rat infecté. L'inhibition de LpxC, une enzyme impliquée dans la biosynthèse des lipides A, n'inhibe pas la croissance de la bactérie, mais supprime l'activation de TLR4 médié par les LPS. L'inhibition de LpxC dans le modèle de souris améliore la survie d'*A. baumannii* en empêchant la phagocytose et en réduisant la concentration sérique de LPS et l'inflammation, ce qui protège complètement la souris contre l'infection létale. Ces résultats indiquent que le blocage de la synthèse de LPS est une stratégie puissante pour découvrir de nouveaux antibiotiques. La modification des LPS contribue à la résistance aux antibiotiques. De nombreuses études ont montré que les modifications du LPS diminuent la sensibilité d'*A. baumannii* à de nombreux antibiotiques, tels que la colistine [53].

➤ **Phospholipase :**

La phospholipase est une enzyme lipolytique essentielle pour le métabolisme des phospholipides et est un facteur de virulence chez *A. baumannii*, ainsi que chez d'autres bactéries, telles que *P. aeruginosa*, *Legionella monocytogenes* et *Clostridium perfringens*. Trois classes de phospholipases, telles que la phospholipase A (PLA), la phospholipase C (PLC) et la phospholipase D (PLD) ont été définies en se basant sur le site de clivage. PLA hydrolyse les acides gras du glycérol, tandis que la PLC clive la tête phosphorylée du phospholipide. PLD est une transphosphatidylase. La dégradation des phospholipides affecte la stabilité des cellules de l'hôte, et le groupe de tête clivée peut interférer avec la signalisation cellulaire, entraînant des changements dans la réponse immunitaire de l'hôte. PLC et la PLD ont été identifiées comme facteur de virulence chez *A. baumannii*. La perturbation d'un des deux gènes PLD (A1S-2989) présents dans la souche d'*A. baumannii* 98-37-09, entraîne une résistance réduite au sérum humain, une diminution de la capacité d'invasion des cellules épithéliales et la

diminution de la virulence dans un modèle murin de pneumonie à *A. baumannii*. Les phospholipases sont donc des facteurs de virulence importants dans la pathogenèse d'*A. baumannii* [53].

### 3.2.7 Les systèmes de sécrétions :

#### ➤ Vésicules membranaires externes (OMVs)

Les OMVs sont les vésicules sphériques, ayant un diamètre 20-200 nm, sécrétées par les membranes externes de diverses bactéries à Gram négatif. Elles sont composées de LPS, membrane externe, protéines périplasmiques, phospholipides et ADN ou ARN, et sont reconnus comme des vecteurs des effecteurs bactériens aux cellules hôtes. Les OMVs transportent les divers facteurs de virulence à l'intérieur des cellules hôtes et permettent aux pathogènes d'interagir avec leur hôte. De nombreuses souches d'*A. baumannii* sécrètent des OMVs contenant les divers facteurs de virulence, y compris l'OmpA, les protéases et les phospholipases. Les dérivés d'OMVs d'*A. baumannii* interagissent avec les cellules hôtes et transportent des effecteurs bactériens aux cellules hôtes, entraînant une cytotoxicité. Une souche d'*A. baumannii* qui produit plus des OMVs induit une réponse immunitaire innée plus forte et une plus grande cytotoxique par rapport à une souche productrice moins des OMVs. L'immunisation active et passive, à base des OMVs réduit significativement la charge bactérienne, l'inflammation cellulaire et l'accumulation de cytokines inflammatoires dans les pneumonies. Ces résultats indiquent que les OMVs d'*A. baumannii* peuvent être utilisés comme des vaccins. Il est intéressant de noter que les OMVs d'*A. baumannii* sont également liés à la propagation de résistance aux antibiotiques et induisent le transfert horizontal du gène OXA24, codant pour les Carbapénèmases [53].

#### ➤ Systèmes de sécrétion de protéines

Plusieurs systèmes de sécrétion de protéines ont été identifiés chez *A. baumannii*. Le système de sécrétion de type II (T2SS) a récemment été décrit chez *A. baumannii*. Le T2SS est un complexe multiprotéique qui est structurellement très similaire aux systèmes de pili de type IV, généralement retrouvé dans les bactéries Gram négatif. Le T2SS est composé de protéines 12-15 ayant quatre sous-ensembles : un pseudo pilus, une ATPase de sécrétion cytoplasmique, une membrane interne et une membrane externe. La sécrétion de T2SS est un processus qui se fait en deux étapes. Les protéines cibles sont transportées dans l'espace périplasmique par le système général de sécrétion (Sec) ou le système de transport d'arginine (Tat), les protéines cibles sont ensuite sécrétées hors de la cellule par le T2SS. *A. baumannii* possède également un système de sécrétion de type VI (T6SS). Le T6SS a été identifié pour la première fois dans

les souches de *Vibrio cholera* et de *P. aeruginosa*. De nombreuses bactéries utilisent le T6SS pour transporter des protéines effectrices, permettant la colonisation ou l'infection des cellules hôtes eucaryotes. Le T6SS entraîne la libération d'ADN et le transfert horizontale des gènes chez *V. cholera*, ce qui peut contribuer à la propagation de la résistance aux antibiotiques. Le T6SS intervient également dans l'élimination des bactéries concurrentes. En outre, le T6SS de DSM30011 est nécessaire pour la colonisation de *G. mellonella*. L'autotransporteur Ata du système de type V a été également caractérisé chez *A. baumannii*. Il s'agit d'une protéine membranaire trimérique qui assure la formation de biofilms, l'adhérence à des composants de la matrice extracellulaire tels que le collagène I, III et IV et la virulence dans un modèle murin d'infection à *Acinetobacter*. Une autre expérience utilisant un modèle d'infection à pneumonie chez des souris immunocompétentes et immunodéprimées a montré que l'Ata peut être utilisé comme un vaccin contre les infections à *A. baumannii*. Un système de sécrétion de type IV présent dans le plasmide a été identifié aussi chez *A. baumannii*, mais aucune preuve expérimentale décrivant sa fonction n'a été décrite [53].

#### ➤ **Protéine liant la pénicilline 7/8 (PBP7 / 8) et Bêta-lactamase PER-1**

Bien que les PBP soient communément impliquées dans la résistance aux Bêta-lactame, PBP7 / 8 codé par le gène *pbpG* est un facteur de virulence chez *A. baumannii*. La mutation de *pbpG* présente les mêmes propriétés de virulences que celles de la souche de type sauvage dans le milieu Luria-Bertani, mais les souches mutantes présentent une faible croissance dans le sérum humain et diminue significativement la survie d'*A. baumannii* dans les infections pulmonaires et des tissus mous de rat. L'étude de la morphologie bactérienne en utilisant la microscopie électronique a suggéré que la perte de PBP7 / 8 peut affecter la structure de peptidoglycane et la sensibilité aux mécanismes de défense de l'hôte [53].

#### ➤ **Pathogénicité induite par l'éthanol**

Chez *A. baumannii*, l'éthanol est assimilé à une source de carbone et il est considérée comme facteurs de virulence chez de nombreux pathogènes. Smith et al. (2004) ont observé que l'éthanol favorisait la croissance bactérienne lorsque l'isolat d'*A. baumannii* était co-incubé avec la levure et ils ont démontré également que de faibles concentrations d'éthanol stimulaient la croissance d'*Acinetobacter* et contribuaient à endurer le stress salin. Pour comprendre la virulence d'*A. baumannii* en présence d'éthanol, Camarena et al. (2010) ont caractérisé le profil transcriptionnel de ce microorganisme en présence et en l'absence d'éthanol. Ils ont trouvé 70 gènes dont l'expression était affectée par la présence d'éthanol dans le milieu de croissance et ont suggéré que la virulence d'*A. baumannii* en présence d'éthanol était due à une augmentation

de la capacité métabolique et à l'expression de certains facteurs liés aux réponses au stress. L'éthanol peut également augmenter la virulence d'*A. baumannii* en induisant des protéines de choc thermique telles que Hsp90, GroEL et Lon. En outre, l'éthanol favorise l'expression de *plcI* (AIS-0043) qui code pour la phospholipase C d'*A. baumannii*. Des gènes supplémentaires détectés dans des cultures en phase stationnaire cultivées en présence d'éthanol comprennent AIS-2381, qui est impliqué dans la synthèse d'acinetobactine, et AIS-2566 et AIS-2578, codant pour une protéine impliquée dans la synthèse des sidérophores et un récepteur sidérophore, respectivement, impliquées dans l'absorption du fer. Camarena et al. (2010) ont également démontré que l'éthanol induit une réponse au stress augmentant la capacité des bactéries à survivre chez l'hôte [49].

### ➤ **Quorum sensing**

Les bactéries élaborent des signaux chimiques excrétés à partir des cellules pour effectuer la communication intercellulaire et l'adaptation environnementale. Cette capacité des bactéries à surveiller la densité cellulaire avant d'exprimer un phénotype est connue sous le nom de « quorum sensing ». Le quorum sensing (QS) est un mécanisme de régulation largement répandu chez les bactéries à Gram négatif et se produit souvent à l'aide de molécules de signal analogues à l'acyl-homosérine-lactone (AHL). La modulation des processus physiologiques contrôlés par les HSL acylés et les systèmes non acylés se produit de manière dépendante de la densité cellulaire et de la phase de croissance. Le QS médié par les AHL a été associé à la production de facteurs de virulence, de motilité, de nodulation, de transfert plasmidique, de production d'antibiotiques, de production des émulsions, de bioluminescence et de formation de biofilm ; ces auto-inducteurs se lient aux protéines régulatrices transcriptionnelles et activent ou régulent l'expression des gènes dans l'organisme. Un système commun AHL de bactéries à Gram négatif est médié par deux protéines : les protéines LuxI qui interagissent avec la protéine LuxR. Ce complexe se lie à une séquence de promoteur spécifique connue sous le nom de lux-box, qui régule l'expression des gènes cibles QS. La protéine AbaR, qui est un récepteur auto-inducteur chez *A. baumannii*, interagit avec l'AHL et contrôle l'expression des gènes. Il a été montré que les signaux du QS chez *Acinetobacter* dépendent de la virulence des souches. D'autre part, la communication entre les bactéries est liée à la densité cellulaire et à la maturation du biofilm. La faible biodégradabilité des hydrocarbures était l'un des changements significatifs observés lorsque les signaux QS étaient éliminés, entraînant des altérations de l'hydrophobie bactérienne, de la motilité cellulaire par fimbriae ou pili, de la formation de biofilms et d'autres facteurs environnementaux [49].

➤ **L'acquisition du fer :**

Le fer est un élément important pour les bactéries mais n'est pas facilement disponible chez l'hôte, car il se trouve complexé avec l'hème, la lactoferrine et la transferrine. *A. baumannii* acquiert le fer en exprimant des systèmes de capture et d'utilisation de l'hème [54]. En outre, il est capable d'acquérir le fer via les sidérophores. Parmi eux, l'Acinetobactine est le sidérophore le plus caractérisé [55].

**Tableau III : Récapitulatif des facteurs de pathogénicité chez *A. baumannii* [46-46-47-48-49-50-51-52-53-54-55].**

<b>Facteurs de virulence</b>	<b>de Protéine</b>	<b>Rôle dans la pathogénèse</b>
<b>Protéine de la membrane externe</b>	OmpA	Induction de l'apoptose des cellules cibles, adhérence et invasion des cellules épithéliales, formation de biofilm, mobilité de surface, survie dans le sérum.
<b>Lipopolysaccharide</b>		Evasion de la réponse immunitaire de l'hôte, déclenchement de la réponse inflammatoire.
<b>Capsule</b>		Evasion de la réponse immunitaire, croissance dans le sérum.
<b>Phospholipases</b>	C/D	Survie dans le sérum, dissémination de la bactérie, apoptose des cellules ciblent.
<b>Protéine liant les pénicillines</b>	LPP 7/8	Biosynthèse de peptidoglycane, stabilité cellulaire, croissance dans le sérum.
<b>Les synthèmes de sécrétions</b>	OMV	Transfert des facteurs de virulence et des matériels génétiques dans le cytoplasme des cellules.
	T2SS	Production de lipases virulence atténuée en cas des mutations.
	Ata	Adhérence, formation des biofilms.
<b>Acquisition de fer</b>	Sidérophore	Survie chez l'hôte, apoptose cellulaire
<b>Formation de biofilms</b>		Survie en milieu hospitalière sur les surfaces biotiques et abiotiques.
<b>Quorum sensing</b>		Survie chez l'hôte, formation des biofilms.

## 4 LES ANTIBIOTIQUES :

### 4.1 Définitions et classification des Antibiotiques :

#### 4.1.1 Définition d'un antibiotique :

Au cours de son histoire plusieurs savants ont tant de définir les antibiotiques comme suite :

➤ Waksman (1943)

Toutes les substances chimiques produites par des micro-organismes capables d'inhiber le développement et de détruire les bactéries et d'autres micro-organismes

➤ Turpin et Velu (1957)

Tout composé chimique, élaboré par un organisme vivant ou produit par synthèse, à coefficient chimio thérapeutiques élevé dont l'activité thérapeutique se manifeste à très faible dose d'une manière spécifique, par l'inhibition de certains processus vitaux, à l'égard des virus, des micro-organismes ou même de certains être pluricellulaires.

Une telle définition s'est révélée trop restrictive car de nombreuses molécules obtenues par synthèse chimique ont également une activité sur les micro-organismes. Ainsi, actuellement, le terme antibiotique signifie toute substance d'origine naturelle ou synthétique ayant une toxicité sélective sur les micro-organismes visés et au contraire une toxicité suffisamment faible vis-à-vis de l'hôte humain, animal ou végétal pour que son administration puisse être réalisée par voie générale. Il en résulte deux corollaires importants :

- Les antiseptiques et désinfectants qui sont trop toxiques pour être administrés par voie générale ;
- Toutes les substances antibiotiques ne sont pas indistinctement actives sur les différents types de micro-organismes. Les antibiotiques antibactériens sont actifs contre les bactéries et les antibiotiques antifongiques contre les champignons. Il est possible selon cette définition d'assimiler aux antibiotiques des substances actives sur les virus (antiviraux) et des substances actives sur les parasites (antiparasitaires).

#### 4.1.2 La classification des antibiotiques :

Les antibiotiques peuvent être distingués sur la base du type d'activité, qu'ils exercent.

Soit une action :

- Bactéricide : l'action d'un antibiotique qui tue les bactéries ;
- Bactériostatique : l'action d'un antibiotique qui arrête la croissance des bactéries.

Tableau IV : Classification des antibiotiques selon leurs activités

Bactériostatiques	Bactéricides
Macrolides	Bêta-lactamines
Sulfamidés	Fluoroquinolones
Tétracyclines	Aminoglycosides
Lincosamides	Nitroimidazoles
Nitrofuranes	Glycopeptides
Phénicolés	Polymyxines
Ethambutol	Synergistines
	Acide fusidique
	Isoniazide
	Pyrazinamide

#### 4.2 Les Bêta-lactamines

Les Bêta-lactamines sont constitués de molécules à activité antimicrobienne caractérisées par la présence d'une fonction cyclisée (cycle Bêta-lactame), qui est responsable de l'activité antimicrobienne. Ils représentent 65 % des antibiotiques du marché mondial dont 50 molécules sont commercialisées [56].

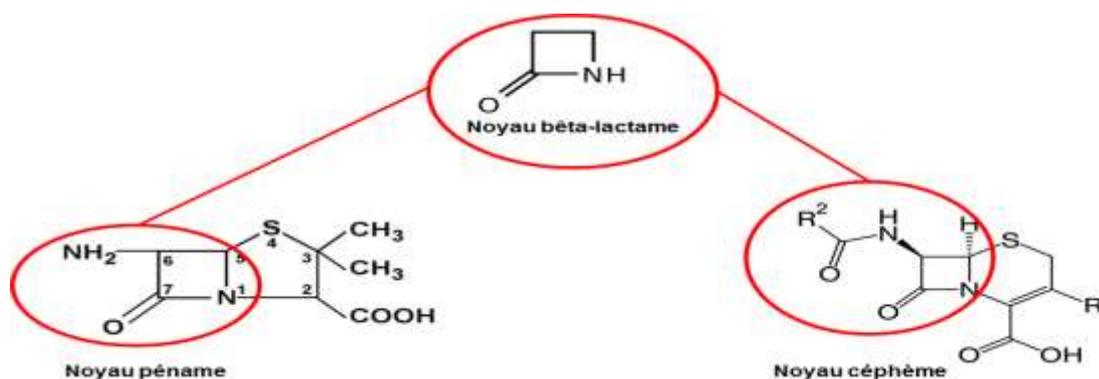


Figure 5 : Représentation des deux principales classes de Bêta-lactamines obtenues par substitution ou fixation d'hétérocycles du noyau Bêta-lactamines[56].

#### 4.3 Les aminosides

##### Définition

Les aminosides ou aminocyclitols sont constitués d'un ou plusieurs (habituellement deux) cycles glycosidiques liés à la streptamine ou la désoxystreptamine. La streptamine est l'aminocyclitol constitutif de la streptomycine et de la dihydrostreptomycine, premiers

aminosides utilisés en thérapeutique. La désoxystreptamine peut être substituée en position 4 et 6 (groupe des 4,6 di-O-glycosyles) ou en position 4 et 5 (groupe des 4,5 di-O-glycosyles).

**NB :** La nature des différents substituants portés sur les deux cycles glycosidiques et sur le noyau désoxystreptamine individualise ces différents produits. La spectinomycine présente une structure particulière par rapport à celle des autres aminosides.

#### 4.4 Les Fluoroquinolones

Les quinolones possèdent en commun un cycle A de type pyridinone 4 associé à un cycle aromatique B.

La nature du cycle B (pyridine, pyrimidine ou benzène) permet de distinguer trois sous-familles de quinolones :

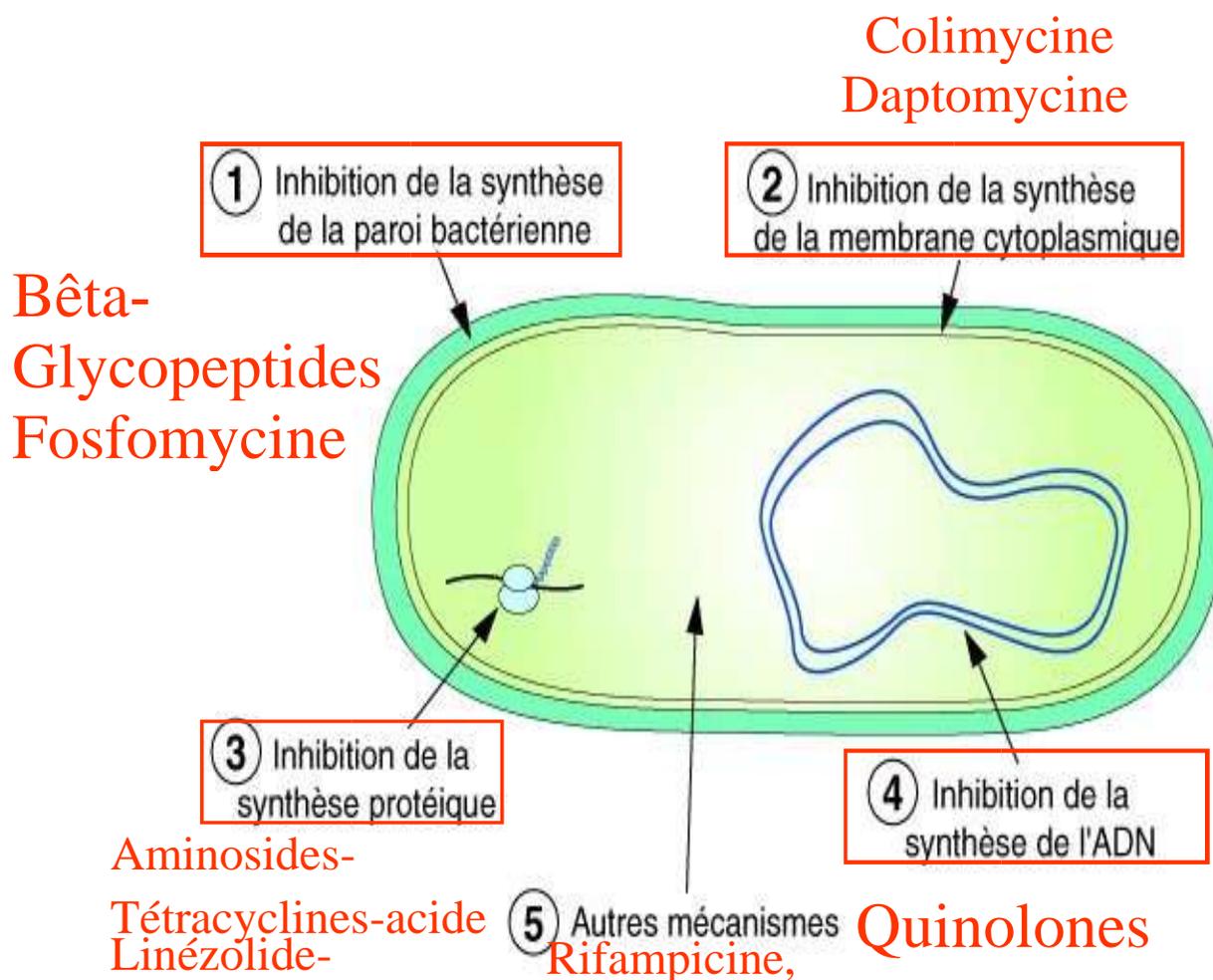
- Les naphtyridines : Acide nalidixique, énoxacine ;
- Les pyrimidino-pyridines : Acide piromidique, acide pipémidique ;
- Les quinoléines : Acide oxolinique, fluméquine, rosoxacine, norfloxacin, péfloxacin, ciprofloxacine.

Les fluoroquinolones, ainsi appelées car contenant un atome de fluor en position 6, dérivent de la quinoléine [57].

### 5 La résistance aux antibiotiques :

#### 5.1 Définition[3] :

La résistance d'une souche bactérienne à un antibiotique est un caractère qui confère à cette souche la capacité de croître en présence d'une concentration élevée ou inhabituelle de cet antibiotique. Bactériologiquement cette concentration est supérieure à celle qui inhibe la croissance de la majorité des souches appartenant à la même espèce bactérienne. Cliniquement elle est supérieure aux concentrations thérapeutiques c'est-à-dire celles qui peuvent être obtenues in vivo par un traitement à dose usuelle de l'antibiotique. La résistance des espèces bactériennes non incluses dans le spectre d'activité d'un antibiotique est dite résistance naturelle. L'utilisation d'un antibiotique contribue à sélectionner un autre type de résistance qui atteint les souches au sein d'une espèce incluse dans le spectre de l'antibiotique donc théoriquement sensible c'est la résistance acquise.



**Figure 6: Mécanisme de résistance lié au mode d'action de l'antibiotique [58].**

➤ **Antibiorésistance :**

La résistance aux antibiotiques (ou antibiorésistance) désigne la capacité des micro-organismes à survivre ou à proliférer en présence d'un antibiotique. L'utilisation abusive ou à mauvais escient d'antibiotiques favorise l'émergence et la propagation des micro-organismes qui y sont résistants, ce qui rend le traitement inefficace et représente une grave menace pour la santé publique[59].

**5.2 Notion de spectre d'activité :**

Le spectre d'activité d'un antibiotique, c'est la liste des espèces sur lesquelles il est actif. Le spectre d'activité d'un antibiotique est une notion théorique qui dépend de la résistance naturelle des souches dites sauvages mais diverses modifications génétiques peuvent entraîner une résistance acquise chez certaines souches dont la fréquence peut augmenter

considérablement grâce à la pression de sélection exercée par l'antibiotique au cours de son utilisation, limitant ainsi son spectre initial [60].

### 5.3 Définitions bactérie multi-résistante :

Une bactérie multi-résistante (BMR) aux antibiotiques se définit comme une bactérie qui n'est sensible qu'à un petit nombre de molécules utilisables en thérapeutique du fait de l'accumulation de résistances acquises à plusieurs familles d'antibiotiques [61].

La notion de pan résistance désigne la résistance à la totalité des antibiotiques disponibles [62].

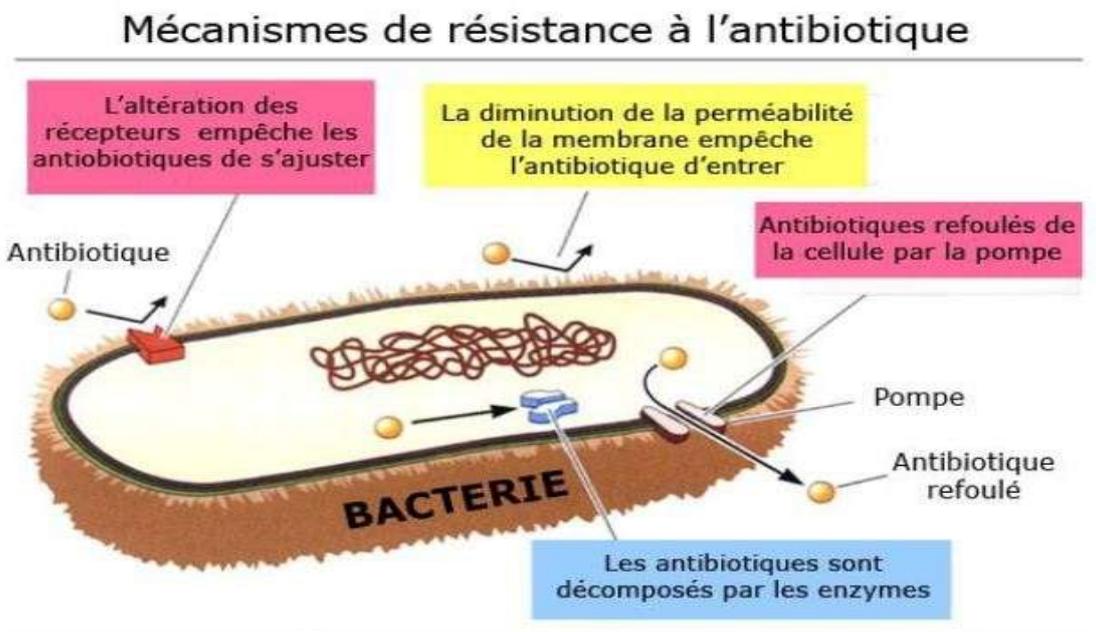
La colonisation est la présence de BMR dans un site de l'organisme où l'espèce est souvent présente mais non multi-résistante, ou absente, sans induction de symptômes. Dans le cas d'une colonisation, il n'y a pas de réaction inflammatoire et la réponse immunitaire spécifique est absente ou modérée [63]. Dans le cas d'une infection, la présence de BMR dans un site anatomique habituellement stérile est associée à des signes cliniques et les réponses inflammatoire et immunitaire spécifique sont importantes [63].

On distingue trois types de résistance microbienne : génétique, microbiologique et clinique [64].

- La résistance génétique peut être définie comme un changement dans le code génétique du micro-organisme, codant ainsi un gène altéré.
- La résistance microbiologique se traduit par la croissance ou l'absence de croissance d'une souche bactérienne en présence d'un antibiotique.
- La résistance clinique est la plus pertinente dans le cadre de la pratique médicale courante, puisqu'elle se traduit par l'échec clinique d'une antibiothérapie.

Dans la majorité des infections, un échec clinique se traduit par l'absence d'amélioration (fièvre, état général, etc.) après environ 72 heures de traitement et la prescription d'un deuxième antibiotique. Il existe plusieurs mécanismes de résistance, dont certains forts complexes, qui ne sont que le reflet de l'évolution et de l'adaptation du monde microbien envers les agresseurs que sont les antibiotiques. Il faut voir l'émergence de la résistance bactérienne comme la conséquence d'une réellement présents dans la nature et les bactéries existent depuis la nuit des temps [65].

## 5.4 Mécanisme de résistance :



**Figure 7: Mécanisme de résistance aux antibiotiques [66].**

Les conditions de l'activité d'un antibiotique peuvent être schématisées de la manière suivante [67] :

- Atteindre la cible ;
- Inactivation enzymatique de l'antibiotique ;
- Persister à des concentrations suffisantes :
  - Désorganiser la structure où
  - Perturber le métabolisme de la bactérie
- Reconnaître la cible [67].

Pour échapper à l'action létale des antibiotiques, les bactéries ont développé de très nombreux mécanismes biochimiques de résistance, associés à une grande ingéniosité génétique pour les acquérir et les diffuser. L'évolution vers la résistance des bactéries aux antibiotiques caractérise la fin du XXème siècle, avec la description de BMR (bactéries multirésistantes, totorésistantes), mais cette évolution est très inégale si l'on considère les différentes espèces bactériennes et les différents antibiotiques [67]. Les mécanismes de la résistance peuvent concerner une ou plusieurs de ces conditions.

Trois principaux mécanismes sont connus :

- **Inactivation enzymatique [3]:**

La bactérie synthétise des enzymes qui agissent en inactivant les molécules d'antibiotiques, c'est le cas des Bêta-lactamines, du chloramphénicol et des aminosides.

- **Modification de la cible [3] :**

Ceci se produit par une altération de la cible de l'antibiotique ; ou par simple déviation de la cible appelé By-pass. Ce By-pass entraîne une duplication de la cible de l'antibiotique.

- **Diminution de la concentration de l'antibiotique dans la bactérie [3] :**

Ceci se fait par deux mécanismes :

- ✚ Soit une imperméabilité des membranes cellulaires bactériennes à l'antibiotique ce qui empêche sa pénétration.
- ✚ Soit par le phénomène d'efflux qui correspond à une sortie de l'antibiotique en dehors de la bactérie.

### **5.5 Support génétique de la résistance [3]:**

Les mécanismes de la résistance sont l'expression de la modification du patrimoine génétique de la souche bactérienne. Au même titre que pour les autres informations de la vie cellulaire l'ADN est le support de la résistance bactérienne. Chez les bactéries l'ADN peut être rencontré sous diverses formes :

- Les chromosomes,
- Les plasmides ou fragments d'ADN extra chromosomique,
- Et les transposons ou gènes sauteurs.

La résistance peut donc être acquise essentiellement par mutation chromosomique ou par acquisition d'information extra chromosomique transférée par des plasmides d'une bactérie résistante à une bactérie sensible.

### **5.6 La résistance par mutation chromosomique [3]:**

La mutation chromosomique concerne surtout les informations génétiques qui contrôlent la pénétration de l'antibiotique. La survenue de la mutation est à une fréquence variable selon les bactéries.

- **Les caractères de la mutation chromosomique :**

- La mutation est spontanée c'est-à-dire non induite par l'antibiotique.
- La mutation est rare et sa fréquence moyenne est de  $10^{-7}$  à  $10^{-8}$  (variable selon les bactéries et les antibiotiques)

Exemple : Pour *Escherichia coli* à la rifampicine c'est  $10^{-9}$

- La mutation est spécifique c'est-à-dire qu'elle affecte un caractère précis qui intéresse en général un seul antibiotique.
- La résistance par mutation est discontinue : elle obéit à la loi de tout ou rien.
- Les mutations sont stables c'est-à-dire le caractère muté devient héréditaire (loi de la transmission verticale).
- La mutation est indépendante c'est-à-dire la mutation à 2 antibiotiques n'est pas liée.

➤ **Conséquences cliniques de la résistance chromosomique [3] :**

En raison même des caractères des mutants, les individus résistants préexistant au sein d'une population sensible en l'absence de tout traitement. L'antibiotique agit alors comme sélecteur des agents mutants résistants. Il est possible de prévenir ou de diminuer le risque d'apparition des mutants par traitement associant deux ou plusieurs antibiotiques de familles différentes. Ainsi en fonction de l'indépendance des mutations l'association d'au moins deux antibiotiques est obligatoire pour les produits ou les bactéries avec lesquelles les mutations sont très fréquentes.

**5.7 Résistance plasmidique [3] :**

Un plasmide contient deux ou plusieurs gènes de résistances. La résistance plasmidique a été découverte au Japon par Ochiai et Akisa au cours d'une épidémie de dysenterie bacillaire à *Shigella flexneri*. L'apparition de souches résistantes simultanément au chloramphénicol, au sulfamide, à la tétracycline et à la streptomycine ne pouvait être expliquée que par les mutants ; car le traitement de la dysenterie avait été fait par un seul antibiotique. Dans les selles des malades la présence d'*Escherichia coli* résistant aux mêmes antibiotiques et de souches de *Shigella* sensibles entraînait l'hypothèse d'un transfert de gène entre bactéries. Cette hypothèse fut vérifiée au laboratoire quelques années plus tard : la résistance acquise est transférable en bloc d'une bactérie résistante à une bactérie sensible par l'intermédiaire d'un plasmide.

➤ **Les caractères de la résistance plasmidique [3] :**

La résistance plasmidique est transférable de bactérie en bactérie, donc on dit qu'elle est contagieuse et épidémique. Elle concerne plusieurs antibiotiques à la fois, c'est la multi-résistance. Les gènes de résistance sont portés par les plasmides et codent le plus souvent pour les enzymes d'inactivations des antibiotiques. C'est la résistance acquise la plus fréquente (épidémique). La résistance plasmidique est instable c'est-à-dire une bactérie peut perdre son ou ses plasmides soit de façon spontanée avec une fréquence de  $10^{-2}$  à  $10^{-4}$  soit par un traitement ou cure plasmidique par divers agents chimiques (les sels d'acridine ou le bromure d'éthidium).

➤ **Les conséquences cliniques de la résistance plasmidique [3] :**

Elles sont nombreuses. La résistance plasmidique intéresse la plupart des antibiotiques ; toute fois elle n'a pas été prouvée pour la Rifamycine, la Polymixine, la Bacitracine, les Quinolones, les Nitrofuranes et la Vancomycine. Toutes les espèces bactériennes sont capables d'héberger un ou plusieurs plasmides. Il existe cependant de rares exceptions. Le transfert de plasmides est possible entre bactéries d'espèces différentes. L'utilisation d'un seul antibiotique peut être à l'origine d'une multi-résistance. Ainsi au cours des années l'emploi abusif des antibiotiques souvent à aveugle, a contribué à sélectionner de nombreux plasmides de résistances. Le phénomène est particulièrement important en milieu hospitalier où les bactéries résistantes échangent du matériel génétique avec une grande facilité.

**5.8 Evolution de la résistance [3]:**

Il s'agit d'une évolution des espèces bactériennes vers la résistance aux antibiotiques. Il est maintenant établi que l'usage de plus en plus répandu et parfois incontrôlé des antibiotiques abouti à une diminution rapide de leurs activités. Ainsi parmi les espèces sensibles apparaissent des pourcentages importants de souches résistantes. La résistance à la pénicilline est apparue très tôt dès 1946 ; elle est due à la production d'une pénicillinase.

**5.9 Les différents types de résistances [3] :**

- Résistance associée : Résistance à une autre famille antibiotique par un autre mécanisme de résistance ou par le même mécanisme de résistance (efflux actif, imperméabilité).

La résistance associée permet :

- D'évaluer la fréquence de la multi-résistance
  - De choisir les associations antibiotiques dans le cadre d'un traitement probabiliste
  - D'expliquer la sélection de souches résistantes à un antibiotique par utilisation d'un antibiotique d'une autre famille.
- Résistance croisée : Résistance aux antibiotiques de la même famille par le même mécanisme de résistance

Résistance = I+R

**6 Résistance chez *Pseudomonas aeruginosa* :**

**6.1 La résistance naturelle :**

Le *P. aeruginosa* possède une résistance naturelle à un grand nombre d'antibiotiques en raison de la production d'une Bêta-lactamase chromosomique inductible de classe C. Cette enzyme

n'est pas inhibée par le clavulanate. Cette résistance naturelle peut être due aussi à une mauvaise perméabilité membranaire.

## 6.2 La résistance acquise aux Bêta-lactamines :

### Résistance enzymatique :

Les bactéries peuvent synthétiser diverses substances telles que :

- Céphalosporinase (classe C)
- Pénicillinases (classe A)
- Oxacillinases (classe D)
- Carbapénémase ou métallo-β-lactamase (classe B)

Les β-lactamases sont des enzymes d'inactivation de type sérine (classes A, C et D) ou métallo-enzymes (classe B) dont les substrats sont des β-lactamines. L'inactivation enzymatique (perte de l'activité antibiotique) survient lors de l'ouverture du cycle β-lactame [68].

## 6.3 La résistance non enzymatique :

Selon deux manières :

- Perte de la porine chez *P. aeruginosa* :

Le principal mécanisme par lequel le *P. aeruginosa* acquiert une résistance aux carbapénèmes est la réduction de la perméabilité par perte de la porine OprD, voie préférentielle de pénétration des carbapénèmes. Ce mécanisme de résistance est stable depuis plusieurs années et est présent en France chez 15 à 20 % des souches. Cette perte de porine est en effet responsable d'une augmentation de la CMI, rendant la souche intermédiaire ou résistante aux carbapénèmes. Lorsqu'elle s'accompagne de l'hyperproduction de la céphalosporinase AmpC, ou de l'hyper-expression du mécanisme d'efflux mexAB-OprM, les CMI peuvent être encore plus élevées [69].

- Surexpression de système d'efflux :

Le système MexAB-OprM, cause une résistance naturelle à la plupart des β-lactamines ; par dérégulation génétique. Il occasionne une résistance acquise à ces molécules. Les systèmes MexCD-OprJ et MexEF-OprN ne se manifestent pas normalement, mais, suite à des mutations, peuvent être responsables de résistances acquises multiples, dont le spectre est légèrement différent [70].

## 7 Résistance chez *Acinetobacter baumannii* :

### 7.1 Résistance naturelle :

*A. baumannii* a une capacité exceptionnelle à accumuler différents mécanismes de résistance aux antibiotiques, qui combine avec sa résistance innée à la dessiccation, contribuent à sa survie et à sa persistance sous la pression sélective de l'environnement, ce qui fait de ce micro-organisme un pathogène nosocomial phénotypique [49].

Les souches sauvages d'*A. baumannii* produisent une Bêta-lactamase de type céphalosporinase (AmpC) non inductible, désignée également « *Acinetobacter*-derived cephalosporinase » (Adcs). Cette enzyme est capable d'hydrolyser de façon naturelle la pénicilline D, l'amoxicilline et les céphalosporines de première et deuxième génération. *A. baumannii* possède également de manière naturelle une oxacillinase ayant une faible activité Carbapénémase [OXA-69], mieux mise en évidence par la biologie moléculaire [51].

Des résistances naturelles d'*A. baumannii* sont décrites vis-à-vis des antibiotiques suivants [51].

- Pénicillines A [Ampicilline, amoxicilline]
- Céphalosporines de première et deuxième génération ;
- Ertapénème ;
- Fosfomycine ;
- Triméthoprim ;
- Furanes.

### 7.2 Résistance enzymatique :

Différents mécanismes de résistance aux Bêta-lactamines ont été signalés et identifiés chez *A. baumannii* liés principalement à la production de Bêta-lactamases. *A. baumannii* produit naturellement une céphalosporinase de type AmpC qui est normalement exprimé à bas niveau, et ne diminue pas l'efficacité des céphalosporines à large spectre (céfalotine) ou des carbapénèmes. L'insertion d'une séquence spécifique ISAbal en amont du gène blaAmpC favorise l'expression de cette Bêta-lactamase de type AmpC en fournissant des séquences promoteur ce qui entraîne la résistance à la Ceftazidime [71].

### 7.3 Résistance acquise aux carbapénèmes :

L'imipénème, ou encore le Méropénème sont commercialisés depuis plus de 15 ans et restent souvent comme dernier recours thérapeutique, ils étaient considérés comme traitement de choix des infections à *A. baumannii*. Cependant cette place est mise en cause, suite à la découverte d'enzymes nouvelles, dont la plupart sont transférables [72].

Les métallos Bêta-lactamases donnent une résistance élevée aux carbapénèmes ainsi qu'à toutes les autres Bêta-lactamines à l'exception de l'Aztréonam [72]. Elles posent un réel problème de santé publique comme le NDM-1 par leur grande capacité de dissémination [73]. Chez *A. baumannii*, les Carbapénémases sont essentiellement des enzymes particulières à cette espèce oxacillinases de types OXA23, OXA40, OXA45 [74]. Cette résistance aux carbapénèmes associe souvent la production de Carbapénémases à une imperméabilité membranaire expliquant le haut niveau de résistance aux antibiotiques [75].

#### 7.4 La résistance acquise aux Bêta-lactamines

La résistance acquise des bactéries aux Bêta-lactamines peut être la conséquence de 4 mécanismes distincts :

- L'inactivation de la molécule par une enzyme ouvrant le cycle Bêta-lactame (Bêta-lactamase)
- L'imperméabilité de la paroi à l'antibiotique
- La modification de l'affinité des PLP pour l'antibiotique
- Les systèmes d'efflux

Chez les bactéries à Gram négatif, les Bêta-lactamases sont très nombreuses dans le monde bactérien et sont localisées dans l'espace périplasmique, alors que chez les bactéries à Gram positif, elles sont sécrétées dans l'environnement bactérien. Schématiquement, les Bêta-lactamases peuvent être individualisées en pénicillinases et céphalosporinases. Les pénicillinases hydrolysent préférentiellement les pénicillines, tandis que les céphalosporinases inactivent non seulement certains céphalosporines mais aussi les pénicillines. Les gènes codant pour les pénicillinases sont portés par le chromosome bactérien, ou bien par des plasmides ou des transposons. Les gènes de résistance d'information chromosomique sont non transférables et spécifiques d'espèce, alors que ceux d'information plasmidique ou liés à un transposon peuvent diffuser entre souches de la même espèce, voire d'espèces différentes par transfert génétique. Les céphalosporinases sont retrouvées uniquement chez les bactéries à Gram négatif et leur synthèse est gouvernée par des gènes chromosomiques. Chez certaines espèces bactériennes, la céphalosporinase est produite en faible quantité, mais sa production peut être augmentée en présence de l'antibiotique (céphalosporinase inductible) : l'antibiotique inhibe alors le répresseur qui normalement assure la régulation de la synthèse de l'enzyme. L'imipénème, la céfoxitine, l'acide clavulanique sont de puissants inducteurs alors que la Pipéracilline et la céfopérazone sont peu inducteurs. Plus rarement, une céphalosporinase peut être « redéprimée », comme cela a été observé pour certaines souches de *P. aeruginosa*, d'*Enterobacter*, de

*Citrobacter* et de *Serratia*. Dans ce cas, le répresseur est inactif ou bien l'opérateur est devenu insensible au répresseur par mutation chromosomique : la céphalosporinase est alors produite indépendamment de la présence de la Bêta-lactamine. La possibilité de sélectionner au cours d'un traitement par une céphalosporinase des mutants << redéprimés >> existe donc et rend impérative l'association de cette céphalosporine avec un autre antibiotique (aminoside par exemple). L'association de ces mécanismes est possible. Ce type de résistance est dû à une mutation de gènes chromosomiques ou à l'acquisition de nouveaux gènes par transfert génétique. La résistance peut être liée à une mutation chromosomique affectant la synthèse d'une porine ou d'un lipopolysaccharide, réduisant ainsi la perméabilité de la membrane externe et perturbant le transport intra pariétal des Bêta- lactamines : l'antibiotique ne peut plus atteindre sa cible. Le système d'efflux est constitué par une pompe moléculaire qui permettrait aux bactéries d'une part de rejeter des composés toxiques endogènes, d'autre part de disposer d'un mécanisme de défense contre des substances exogènes libérées par l'environnement (antibiotique par exemple).

## **8 Mécanisme d'action des antibiotiques et leurs spectres d'activités :**

### **8.1 Les Bêta- lactamines**

#### **8.1.1 Mécanisme d'action**

Cette famille doit son nom au cycle bêta-lactame le noyau chimique des antibiotiques appartenant à la famille. Des sous-familles derivant de cette famille naissent de l'association de ce noyau avec d'autre molécules. Ce sont les :

- Les pénames,
- Les pénèmes,
- Les céphèmes et,
- Les monobactames.

Ils ont une activité sur la paroi bactérienne.

#### **8.1.2 Spectre d'activité :**

Les Bêta- lactamines sont des antibiotiques bactéricides qui inhibent la synthèse de la paroi bactérienne.

#### **8.1.3 Mécanisme de résistance**

Les transpeptidases et carboxypeptidases, enzymes associées à la membrane cytoplasmique, fixent de façon covalente ces antibiotiques. Cette liaison est due à une analogie structurale entre le substrat naturel de ces enzymes, l'acyl-D-alanyl-D-alanine et le cycle Bêta-lactame. Ces enzymes qui lient les pénicillines et les céphalosporines, sont également dénommées

protéines de liaison aux pénicillines (PLP). La nature de ces PLP est relativement spécifique d'espèce et leur nombre varie d'une espèce bactérienne à une autre. Chacune a une fonction bien définie, mais une ou plusieurs d'entre elles jouent un rôle prépondérant dans la synthèse du peptidoglycane. Les Bêta- lactamines atteignent facilement leur cible chez les bactéries à Gram positif car la diffusion de ces molécules à travers le peptidoglycane se fait passivement. En revanche, chez les bactéries à Gram négatif, ces antibiotiques doivent, avant de diffuser dans le peptidoglycane, franchir la membrane externe hydrophobe. Le passage à travers cette barrière des Bêta- lactamines, composés généralement hydrophiles, se fait par l'intermédiaire de véritables canaux protéiques, les porines.

#### ➤ **Les carboxypénicillines**

Les carboxypénicillines : Ticarcilline = Ticarpen ®

La Ticarcilline est actuellement commercialisée seule ou associée à l'acide clavulanique.

- **Mécanisme d'action**

Ils ont une activité sur la paroi bactérienne.

- **Spectre d'activité**

La Ticarcilline a un spectre d'activité plus étendu. Elle agit sur les Streptocoques A, B, C G, F, non groupable, *Streptococcus pneumoniae* pénicilline sensible, *Listeria monocytogenes*, *Corynebacterium diphtheria*, *Neisseria meningitidis*, *Bordetella pertussis*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium tetani*, *Peptostreptococcus*, *Actinomyces*, *Fusobacterium*, *E. faecalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenza*, *E.coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio cholerae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Proteus rettgeri*, *Morganella morganii*, *Providencia*, *Enterobacter*, *Serratia*, *C.freundii*, ***P. aeruginosa***, ***Acinetobacter***, *Bacteroides fragilis*.

#### ➤ **Les acylureidopénicillines :**

**Pipéracilline = Pipérilline®**

- **Mécanisme d'action**

**Inhibition de la paroi bactérienne.**

- **Spectre d'activité**

La Pipéracilline a un spectre d'activité similaire à celui de la Ticarcilline.

- **Mécanisme de résistance**

Ils ont une résistance naturelle aux carboxy-pénicillines et aux ureido-pénicillines.

➤ **Les céphalosporines :**

• **Mecanisme d'action**

La ceftazime a un spectre élargi à *P. aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* et *Burkholderia cepacia*, aux entérobactéries (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Proteus indologènes*, *Salmonella enterica*, *Shigella*), *Haemophilus influenza*, *Pasteurella*, *Yersinia enterocolitica*, *Bordetella pertussis*, aux cocci à Gram négatif (*Neisseria*), cocci anaérobies (*Peptococcus*, *Peptostreptococcus*), cocci à Gram positif (sauf *Staphylocoques méticillino-résistants* et *Entérocoques*), *Acinetobacter*, anaérobies stricts (*Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Veillonella*, *Actinomyces*).

• **Spectre d'activité**

**Ceftazidime = Fortum ®**

C'est une céphalosporine de troisième génération caractérisée par :

- Une bonne diffusion humorale et tissulaire au niveau des bronches, du LCR, de l'os, du péritoine, du muscle cardiaque, du placenta, du lait
- Une demi-vie d'élimination de 1,8 h
- L'absence de métabolisme
- Une liaison aux protéines plasmatiques de 10 p100
- Une élimination urinaire de 90 p100

• **Mecanisme de résistance**

Inhibition de la paroi bactérienne, ils sont inactifs sur les entérocoques, *Listeria*, *Legionella*, *Clostridium difficile*, *Mycobacterium*, *Chlamydia*. Ils sont inactifs sur les SARM, sur *Listeria monocytogenes* et sur *Acinetobacter*.

➤ **Les carbapénèmes :**

**Imipénème**

L'imipénème est utilisée en association avec la cilastatine sodique : Thiénam®.

• **Mecanisme d'action**

La cilastatine n'a pas d'activité bactérienne, c'est un inhibiteur compétitif réversible et spécifique de la déhydropeptidase, une enzyme rénale qui inactive l'imipénème.

• **Spectre d'activité**

L'imipénème a un spectre d'activité très large : les cocci à Gram positif (sauf *Staphylocoques méticillino-résistants*), et à Gram négatif, les bacilles à Gram positif et à Gram négatif (à l'exception de *B. cepacia* et *S. maltophilia*), les anaérobies à Gram positif et négatif dont *Bacteroides fragilis*.

- **Mécanisme de résistance**

Inhibition de la paroi bactérienne.

➤ **Les monobactams :**

- **Mécanisme d'action**

**Aztréonam = Azactam ®**

C'est une Bêta-lactamine monocyclique administrée par voie parentérale (résorption intestinale nulle).

Elle est caractérisée par :

- Une demi-vie plasmatique de 1,6 à 2 h
- Une fixation aux protéines plasmatiques de 56 p100
- Un faible métabolisme
- Une élimination urinaire principalement sous forme inchangée.

- **Spectre d'activité**

Les monobactams ont un spectre étroit sur les bactéries à Gram négatif aérobies ; *Enterobacteriaceae*, *Haemophilus influenza*, *P. aeruginosa*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Acinetobacter*, *Bordetella*, *Moraxella*.

- **Mécanisme de résistance**

Inhibition de la paroi bactérienne

➤ **Les aminosides**

- **Mécanisme d'action**

Le mode d'action des aminosides consiste en une inhibition de la synthèse protéique des bactéries. La streptomycine se fixe sur l'ARN 16 S de la sous-unité ribosomiale 30S. Les autres aminosides exercent des interactions sur de multiples sites ribosomiaux, certains se fixant à la fois sur les deux sous-unités ribosomiales. Alors que la streptomycine bloque la synthèse protéique principalement au stade de l'initiation, les autres aminosides agissent surtout à l'étape plus tardive de translocation.

- **Spectre d'activité**

Ils ont un spectre d'activité étroits.

- **Mécanisme de résistance**

La modification de l'antibiotique par des enzymes est de loin le mécanisme de résistance bactérienne acquise le plus fréquent. A la différence des Bêta-lactamases qui ont un site unique d'action, c'est-à-dire le noyau Bêta-lactame, les enzymes qui modifient les aminosides ont plusieurs cibles possibles : les différents groupements hydroxyles, qui peuvent subir une réaction de phosphorylation ou d'adénylation sous l'action de O-phosphotransférases ou de O-

adényltransférases ; les groupements aminés qui peuvent être acétylés par des N-acétyltransférases. L'enzyme ne détruit pas son substrat mais le modifie de telle façon que son transport à travers la membrane cytoplasmique est inhibé : l'aminoside modifié ne peut atteindre sa cible, le ribosome. La synthèse de ces enzymes est constitutive, c'est-à-dire non induite par la présence de l'antibiotique et plusieurs types d'enzymes peuvent coexister dans une même souche bactérienne. Elles sont largement répandues dans le monde bactérien et leur nature varie selon les espèces bactériennes. Leur synthèse est gouvernée par des gènes plasmidiques ou transposables. Par ailleurs, les bactéries peuvent résister à l'action des aminosides par suite d'une modification de la cible (protéines ou ARN ribosomiaux) ou d'une diminution de l'incorporation de l'antibiotique. Ce type de résistance, qui est beaucoup plus rare en clinique que le premier évoqué, résulte des mutations chromosomiques.

➤ **Classification des 4,6-di-O-glycosyles (Aminosides)**

**Gentamicine = Gentalline®**

Elle a été isolée en 1963 de *Micromonospora purpurea*.

• **Spectre d'activité**

La Gentamicine est active sur *Streptococcus D*, *Enterococcus*, les *Staphylocoques* Méricillino-sensibles, les bacilles à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Pseudomonas*), *Listeria*.

**La Kanamycine=Kamycine®**

La Kanamycine a été isolée de *Streptomyces kanamyceticus* en 1957.

• **Spectre d'activité :**

Très étendu pour les bacilles et coques à Gram négatif, le spectre est nettement plus étroit dans le domaine des coques à Gram positif, en effet seuls les *Staphylocoques* sont sensibles. La Kanamycine agit aussi sur *Mycobacterium tuberculosis*. Les anaérobies sont naturellement résistants à la kanamycine, de même que *P. aeruginosa*.

**Tobramycine = Nebcine®**

La Tobramycine est un aminoside dérivé de *Streptomyces tenebrarius*.

• **Spectre d'activité :**

Le spectre d'action de la Tobramycine est similaire à celui de la Gentamicine. Le *P. aeruginosa* est plus sensible à la Tobramycine qu'à la Gentamicine.

### **Amikacine =Amiklin®**

L'Amikacine est une molécule obtenue par semi-synthèse à partir de la kanamycine en y adjoignant une chaîne d'acide amino-alpha-hydroxybutyrique.

- **Spectre d'activité :**

Il est limité aux *Staphylocoques* Méricillino-sensibles, aux bacilles à gram négatif (*Escherichia coli*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, ***Pseudomonas***, ***Acinetobacter***)

### **Nétilmicine = Nétromicine®**

Dérivée d'hémisynthèse, la Nétilmicine est obtenue à partir de la sisomycine par alkylation du groupe aminé en 3.

- **Spectre d'activité :**

Elle a le même spectre avec un pourcentage de résistance compris entre celui de la Tobramycine et de l'Amikacine.

### ➤ **Les quinolones**

- **Mécanisme d'action**

L'action d'antibiotique de ces produits est due à une inhibition de la réplication de l'ADN bactérien par blocage de l'ADN gyrase. Des concentrations élevées de quinolones inhibent par ailleurs la synthèse des acides ribonucléiques.

- **Spectre d'activité :**

Elle est active sur les *Enterobacteriaceae*, les *Haemophilus*, les ***Pseudomonas***, les ***Acinetobacter***, les cocci à Gram négatif (*Neisseria*), les *Staphylocoques* et également les *Mycobactéries*.

- **Mécanisme de résistance**

La résistance acquise des bactéries aux quinolones est due dans la grande majorité des cas à une modification de l'ADN gyrase. Plus rarement, elle résulte d'une diminution de la perméabilité de la membrane externe et dans cette éventualité, la pénétration d'antibiotiques appartenant à d'autres est également perturbée. Ces deux mécanismes de résistance sont la conséquence de mutations de gènes chromosomiques.

### ➤ **Les polymyxines**

- **Définition**

Les polymyxines sont des antibiotiques polypeptidiques élaborés par des bactéries du genre bacillus, largement répandus dans la nature. Deux d'entre elles, la polymyxine B et la

polymyxine E ou Colistine sont utilisées en clinique humaine mais la seule disponible par voie générale est la Polymyxine E.

- **Mécanisme d'action**

L'activité bactéricide des polymyxines est le résultat de leur structure polypeptidique, riche en radicaux hydrophiles et hydrophobes. Elles agissent comme des détergents cationiques au niveau de la membrane cytoplasmique, que les bactéries soient en phase stationnaire ou non.

- **Spectre d'activité :**

La Colistine est active sur les bacilles à Gram négatif aérobies exception faite des *Serratia* et des *Proteus*.

- **Mécanisme de résistance**

La résistance aux polymyxines peut être naturelle ou acquise. Les bactéries à Gram positif et quelques genres d'entérobactéries (*Serratia*, *Proteus*, *Providencia*, *Edwardsiella*) sont naturellement résistants. La résistance acquise est une éventualité exceptionnelle quelle que soit l'espèce bactérienne envisagée aussi bien in vivo qu'in vitro. La résistance naturelle ou acquise serait due à un défaut de perméabilité de la membrane externe de la paroi des bactéries aux polymyxines empêchant l'antibiotique d'atteindre son site d'action, la membrane cytoplasmique. Cette altération de la perméabilité au moins chez *P. aeruginosa*, est liée à une diminution des lipopolysaccharides, des protéines D2F, H1 et H2, de la teneur en cations divalents ( $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ) et à des altérations des lipides de la membrane externe.

➤ **Les Sulfamides**

- **Spectre d'activité :**

Les sulfamides avaient, au début de leur utilisation thérapeutique, un large spectre d'activité antimicrobienne, s'exerçant aussi bien sur les bactéries à Gram positif que sur celles à Gram négatif. Actuellement, un pourcentage élevé de souches appartenant à de nombreuses espèces bactériennes résiste à l'action des sulfamides.

- **Mécanisme d'action**

Le mode d'action des sulfamides consiste en un blocage de la synthèse cellulaire de l'acide tétrahydrofolique, molécule qui sert de coenzyme dans de nombreuses réactions du métabolisme de plusieurs acides aminés (Sérine, Méthionine) et de celui des acides nucléiques (purines et pyrimidines). La plupart des micro-organismes sont en effet incapables d'incorporer l'acide folique exogène et la synthèse des folates s'effectue dans la bactérie à partir d'un dérivé de la dihydroptéridine. Par suite de leur analogie structurale avec l'acide para-amino-benzoïque, les sulfamides inhibent par compétition, la dihydroptéroate synthétase, enzyme qui assure la

formation d'acide dihydroptéroïque par condensation d'une molécule d'acide para-amino-benzoïque et de dihydroptéridine.

- **Mécanisme de résistance :**

La résistance acquise de ces micro-organismes à ces antibiotiques est la conséquence de mutations chromosomiques entraînant soit une hyperproduction d'acide para-amino-benzoïque, soit la synthèse d'une dihydroptéroate synthétase ayant une faible affinité pour les sulfamides ou produite en quantité anormalement élevée. Des plasmides peuvent également conférer aux bactéries qui les hébergent la capacité de produire un dihydroptéroate synthétase supplémentaire insensible aux sulfamides.

➤ **Triméthoprime**

Le Triméthoprime est une 2,4 -diaminopyrimidine.

- **Mécanisme d'action :**

Comme les sulfamides, le Triméthoprime exerce un effet habituellement bactériostatique, en inhibant la formation d'acide tétrahydrofolique. Le triméthoprime bloque en raison de son analogie stérique avec le noyau ptéridine de l'acide dihydrofolique, la dihydrofolate réductase, enzyme qui réduit l'acide dihydrofolique en acide tétrahydrofolique.

- **Spectre d'activité**

Le Triméthoprime a un spectre d'activité antibactérienne limité aux cocci à Gram positif (*Streptocoques*, *Pneumocoques*, *Staphylocoques*) et à certains bacilles à Gram négatif (*Enterobacteriaceae*, *Haemophilus*).

- **Mécanisme de résistance :**

La résistance acquise des bactéries au Triméthoprime peut être le résultat de mutations chromosomiques entraînant une imperméabilité bactérienne (par diminution quantitative d'une ou plusieurs porines de la membrane externe), une auxotrophie en Thymine ou Thymidine, une production augmentée de l'enzyme cible ou la synthèse d'une dihydrofolate réductase à faible affinité pour le Triméthoprime. Enfin, certaines bactéries peuvent héberger un plasmide codant pour une dihydrofolate réductase non inhibée par le Triméthoprime.

## 9 Méthodologies

### 9.1 Cadre d'étude :

Le laboratoire PA & KA a servi de cadre pour notre étude. Il s'agit d'un laboratoire privé biologie médicales situé sur la rive gauche de Bamako. Le choix de ce laboratoire a été motivé par le nombre de patients reçus pour des examens microbiologies.

#### Description du laboratoire PA&KA :

Le laboratoire PA & KA est un laboratoire de biologie médicale situé sur la rive gauche du fleuve Niger traversant la ville de Bamako. Il se trouve dans le quartier Hamdalaye ACI non loin du monument éléphant (appeler monument **SAMA BA**).

Le laboratoire PA & KA a été créé le **23 septembre 2002** par le décret du ministère de la santé sous le N° : **3844**, aujourd'hui dirigé par **Dr. Hadid Abdel Aziz** médecin biologiste et secondé par **Dr. Youssouf DEMBELE** médecin biologiste.

Le laboratoire PA & KA comprend :

- Une administration générale comprenant un service de qualité, bureau des biologistes, bureau du Directeur, contrôleur gestion/RH et la comptabilité.
- Un laboratoire d'analyses médicales avec des activités de routine comprenant six (6) unités entre autres :
  - Unité de microbiologie (bactériologie, mycologie et parasitologie),
  - Unité de PCR,
  - Unité de Biochimie,
  - Unité d'immuno-sérologie,
  - Unité d'hémostase,
  - Unité d'hématologie.
- Le personnel qui travaille dans le laboratoire de biologie médicale PA & KA de Bamako sont :
  - (4) médecins biologistes et un (1) pharmacien biologiste permanents,
  - Un (1) médecin biologiste vacataire,
  - Treize (13) techniciens biologistes,
  - Six (6) agents de prélèvement,
  - Sept (7) agents d'accueil
  - Un (1) agent de contrôleur gestion/Ressource humaine
  - Une (1) responsable qualité,

- Deux (2) agents comptables,
- Deux (2) chauffeurs
- Trois (3) agents de service maintenance et équipement,
- Quatre (4) agents d'hygiène,
- Cinq (5) agents de sécurité.

### **9.2 Type et periode d'étude :**

Nous avons réalisé une étude transversale, prospective portant sur les échantillons de *P. aeruginosa* et *A. baumannii* isolées de janvier 2020 à décembre 2020 au laboratoire PA & KA de Bamako.

### **9.3 Population d'étude :**

Notre étude a porté sur les résultats d'identification et d'antibiogramme des souches de *P. aeruginosa* et *A. baumannii* isolées chez les patients venus avec une demande d'examen bactériologique au laboratoire PA et KA pendant notre période d'étude.

### **9.4 Echantillonnage :**

Notre étude a concerné 103 patients chez qui nous avons isolé des souches bactériennes de (*P. aeruginosa* et *A. baumannii*) ayant bénéficié d'un antibiogramme pendant la période de notre étude au laboratoire PA & KA de Bamako.

### **9.5 Critère d'inclusion et non inclusion :**

#### **9.5.1 Critère d'inclusion :**

Notre étude concernait toutes les demandes d'examen bactériologique ayant permis d'identifier des germes bactériens appartenant au groupe des BGNnF (*P. aeruginosa* et *A. baumannii*) ayant fait l'objet de l'étude de leur comportement vis-à-vis des antibiotiques.

#### **9.5.2 Critère de non inclusion :**

N'ont pas été inclus dans notre étude tous les résultats ne répondant pas à nos critères d'inclusions.

### **9.6 Collect des données :**

La collecte des données a été fait à partir d'une fiche d'enquête préétablie sur laquelle toutes les informations nécessaires y étaient portées.

### **9.7 Variables étudiées :**

- Les variables sociodémographiques
  - L'âge des patients,
  - Le sexe des patients.

- Les données bactériologiques
  - La nature des prélèvements,
  - La provenance des produits pathologiques,
  - L'espèces identifiées,
  - Les résultats des tests de résistance aux antibiotiques,
  - Les phénotypes résistances,
  - Les résultats de l'antibiogramme des souches de *P. aeruginosa* et *A. baumannii*.

### 9.8 La mission du laboratoire PA & KA :

- **Les missions du laboratoire PA & KA :**

Contribuer au diagnostic et au suivi biologique des patients au mali en fournissant des résultats de quailté.

- **La vision du laboratoire PA & KA :**

Améliorer continuellement notre systtème afin d'être et rester l'acteur principal du diagnostic et suivi biologique des pantients au Mali.

### 9.9 Methodes d'études :

#### 9.9.1 Souches étudiées :

Les souches étudiées sont celles de *P. aeruginosa* et *A. baumannii* isolées pendant la période de l'étude.

#### 9.9.2 Produits pathologiques :

- Les prélèvements ont servi d'isoler les souches de *P. aeruginosa* et *A. baumannii* étaient constitués d'urine, de sang, prélèvements viginiaux et du pus.

#### 9.9.3 Matériels utilisé pour l'isolement des germes :

- Microscope optique,
- Anse d'noculation jetable,
- Bec bunsen,
- Pipette pasteur,
- Cellule de Malassez,
- Boites de Pétri,

- Etuve bactériologique,
- Distributeurs d'antibiotiques,
- Ecouvillon.

#### **9.9.4 Matériels utilisés pour l'identification des souches et l'antibiogramme**

- Automate VITEK® 2 Compact-Bio,
- Pince,
- Disques d'antibiotiques,
- Galerie API 20 E,
- Tubes à hémolyse,
- Embouts,
- Lames porte-objet et lamelles,
- Densicheck ?
- Carte d'antibiogramme.

#### **9.9.5 Matériels utilisés pour la conservation des souches, réactifs.**

- Réfrigérateur,
- Congélateur (-20°C) et (-80°C),
- Le bouillon glycérimé.

#### **9.10**

#### **Milieux de culture :**

##### ➤ **Milieux de culture solides**

- Gelose chocolat,
- Gélose Uri Select 4,
- Gélose Drigalski,
- TCS, GSF.

##### ➤ **Milieux de culture liquides**

- Bouillon (cœur-cervelle)
- Flacon d'hémoculture (aero-anaerobie)

#### **9.11 Réactifs**

- Réactif API 20 E,
- Réactif de catalase et d'oxydase,
- Coloration de Gram.

#### **9.12 La démarche de traitement des produits pathologique :**

##### **9.12.1 Cas des urines (ECBU) :**

### ➤ **Prélèvements des échantillons :**

Les prélèvements ont été effectués selon le code du bon prélèvement établi par le Laboratoire.

#### ➤ Prélèvement

#### **Chez l'adulte**

- Après lavage hygiénique des mains et toilette soignée (savon, lingette, compresse stérile, par exemple) du méat et de la région vulvaire d'un geste de l'avant vers l'arrière,
- Eliminer le premier jet (20 ml environ) d'urine pour ne recueillir dans un flacon stérile que les 20-30ml suivants, au maximum, en prenant soin de ne pas toucher le bord supérieur du flacon,
- Fermer hermétiquement le flacon, en nettoyant l'extérieure et réaliser un geste d'hygiène des mains,
- Remettre le prélèvement au préleveur pour identification,
- Si prélèvement extérieur, identifier le flacon et l'acheminer au laboratoire avec la prescription dans l'heure qui suit le prélèvement.

#### **Chez les patients avec une sonde à demeure**

La collection ne doit pas se faire au niveau du sac collecteur du fait de la pullulation bactérienne. Il ne faut pas non plus déconnecter le système de drainage. Le prélèvement se fait par ponction GLUCO en sur site spécifique de la sonde après clampage pendant au moins 10 minutes ensuite, désinfecter la sonde à l'alcool iodé puis ponctionner pour recueillir les urines qui se sont accumulées.

A l'occasion du changement de la sonde et de la poche collectrice, il est possible d'analyser les urines provenant de cette nouvelle poche.

#### **Chez le nourrisson et le jeune enfant**

- Désinfecter la peau à l'aide d'une solution de Dakin ou la Bétadine dermique, si c'est un petit garçon non circoncis dégager le gland avant de le nettoyer.
- Ce prélèvement nécessite un collecteur d'urine à usage unique adapté à l'anatomie,
- Désinfecter soigneusement la vulve, le méat urinaire et le périnée ou du gland et du prépuce avec Bétadine dermique,
- Placer la poche à urine, changer toutes les 30 mn jusqu'à émission des urines,
- Dès la miction terminée, plier la poche, l'introduire dans un pot stérile,
- Identifier le flacon avec nom, prénom, date de naissance, date et l'heure du recueil.

### ➤ **Analyse et traitement des échantillons**

L'analyse et le traitement des échantillons ont été effectués selon le monde opératoire établi par le laboratoire.

➤ **Examen macroscopique**

**Aspect :** les urines peuvent être claire, légèrement trouble, trouble, hématurique ou contenir un sédiment ou des filaments.

La présence de particules : filament, dépôt etc., est à signaler.

➤ **Examen microscopique**

- Etat frais

Homogénéiser les urines totales, remplir la cellule de Malassez et faire le dénombrement des éléments figurés.

**Cellule de Malassez**

La cellule de Malassez est composée de 100 rectangles dont les dimensions sont : Long.= 0,25 mm / larg.= 0,20 mm / Prof. = 0,20 mm. Le volume total de la cellule est de 1 mm<sup>3</sup> (100x2,5 x 0,2 x 0,20).

Le quadrillage est donc constitué de 10 bandes verticales (0,25 mm) et de 10 bandes horizontales (0,20 mm) formant ainsi 100 rectangles, On ne compte les cellules que dans 10 des 25 rectangles non contigus pris au hasard dans la cellule. On totalise le nombre de cellules présentes dans chaque rectangle.

**Arbitrairement, il est convenu de ne tenir compte que des cellules positionnées sur les côtés droits et inférieurs !**

On calcule le nombre moyen de cellules par rectangle (total des cellules observées dans 10 rectangles divisé par le nombre de rectangles comptés). On multiplie le nombre obtenu par 100 pour connaître le nombre d'entités cellulaires par mm<sup>3</sup> et multiplier encore par 1000 pour avoir le nombre d'entités cellulaire par ml.

**Les résultats sont enregistrés en ml.**

**9.12.2 Cas des pus :**

➤ **Prélèvement**

C'est un acte médical, le prélèvement a été fait par le médecin dans un pot stérile ou une seringue stérile ou encore des écouvillons stériles et envoyé au laboratoire accompagné d'une fiche de transmission contenant : la nature du prélèvement, la date et l'heure du prélèvements, les coordonnées du préleveur, le nom, le prénom la date et lieu de naissance du patient, le diagnostic clinique présomptif, le diagnostic clinique ou signe clinique ayant motivé le

prélèvements et l'existence d'une éventuelle antibiothérapie (préciser la nature de l'antibiotique utilisé).

Dès réception, le liquide d'épanchement est correctement identifié avant d'être envoyé au laboratoire.

#### ➤ **Analyse et traitement des échantillons**

L'analyse et le traitement des échantillons a été effectués selon le monde opératoire établi par le laboratoire.

#### **Examen macroscopique**

On note la consistance, la couleur, l'aspect, ainsi que la viscosité du pus.

Le pus peut être épais, visqueux, élastique, mélangé au sang ou non, fluide ou séreux.

La couleur varie de la teinte chocolat au blanc, certains pus sont verdâtres ou bleutés.

Lorsqu'un prélèvement est assez abondant, l'examen macroscopique (odeur, couleur de pus) peut fournir des renseignements intéressants :

- L'odeur nauséabonde des pus à anaérobies,
- L'aspect granuleux, mal lié, des pus à streptocoques,
- Les pus crémeux à Staphylocoques ou à Pneumocoques sont des éléments d'orientation dont il faut tenir compte.

#### **Examen microscopique**

Etat frais

Une goutte du prélèvement est déposée sur lame porte-objets.

On ajoute une lamelle puis on observe au microscope optique, au grossissement x40.

Cet examen permet de :

- Distinguer les cellules d'accompagnement : soit des polynucléaires neutrophiles ou des lymphocytes (étude qualitative et quantitative).
- Constater l'état des cellules (intactes ou altérées).
- Observer la morphologie et la mobilité des bactéries éventuelles.

L'examen cytologique consiste à apprécier le degré d'altération et le nombre des polynucléaires neutrophiles et, éventuellement, la présence d'autres cellules.

#### **9.12.3 Cas des hémocultures :**

##### ➤ **Prélèvement**

##### **Prélèvement sous vide**

- Se laver les mains au savon puis les aseptiser à l'alcool à 70°,
- Retirer la capsule des ballons et désinfecter le septum avec de l'alcool à 70 °, laisser le tampon de désinfection sur le ballon jusqu'au prélèvement,
- Attacher le garrot puis réaliser une désinfection large du site de ponction (du centre vers la périphérie en escargot) avec une solution alcoolisée (ex : alcool à 70°) et laisser sécher pendant 60 secondes.
- Mettre les gants à usage unique et pratiquer la ponction veineuse à l'aide du dispositif de prélèvement,
- Engager le ballon dans le corps de prélèvement en respectant l'ordre (aérobie puis anaérobie) puis relâcher le garrot dès que le sang afflue dans le premier ballon,
- Prélever le ballon en respectant le volume requis : Adulte (8 à 10 ml) et enfant(3ml),
- Agiter légèrement les 2 ballons en faisant 2 à 3 retournements.
- Dépiquer le patient et éliminer l'aiguille dans le container à aiguille puis comprimer le point de ponction,
- Nettoyer les flacons à l'aide de compresse imprégnées d'antiseptique puis enlever et jeter les gants.
- Identifier à l'aide de code à barre et faire parvenir au laboratoire pour une incubation rapide.

#### 9.12.4 Cas des prélèvements vaginal (PV) :

##### ➤ Prélèvement

##### Conditions :

Le prélèvement vaginal a été effectué par une technicienne ou un biologiste. Les conditions à respecter sont les suivantes :

- En présence d'une jeune fille ou d'une jeune femme, confirmer la virginité et ne pas poser de spéculum si c'est le cas,
- Ne pas être en période de règle au moment de l'examen,
- Ne pas faire de toilette intime le matin de l'examen,
- Ne pas avoir de rapport sexuels la veille ni le matin de l'examen,
- Ne pas suivre de traitement (ovules, crème, antibiotiques, antifongiques etc..), dans le cas contraire faire une fenêtre thérapeutique de 48 à 72 heures

## Technique

La mise en place du spéculum nécessite la confiance de la patiente qui doit être prévenue de la simplicité de l'examen et de son utilité. La taille du speculum sera choisie en fonction de l'âge et de la parité de la femme.

- Choisir des écouvillons et des tubes stériles, et les identifier avec les étiquettes de la feuille de prélèvement ;
- Dérouler un carré de papier blanc sur la table gynécologique ;
- Installer la patiente en position gynécologique ;
- Eclairer avec la lampe d'examen ;
- Porter les gants et introduire un speculum stérile dans le vagin ;
- Localiser le col de l'utérus et prélever les sécrétions avec un écouvillon au niveau du cul de sac postérieur ;
- Retirer le speculum ;
- Appliquer un papier PH sur les sécrétions collées au speculum, noter la valeur du PH sur la feuille de bactériologie ;
- Noter également l'aspect macroscopique des sécrétions collées et la muqueuse vaginale en cochant sur la feuille de bactériologie, ainsi que le code operateur et l'heure de prélèvement ;
- Jeter le papier d'examen utilisé dans la poubelle des objets non souillés ;
- Acheminer les prélèvements au laboratoire avec la fiche et si la femme est enceinte, le signaler.

### ➤ Analyse et traitement des échantillons :

L'analyse et le traitement des échantillons a été effectués selon le monde opératoire établi par le laboratoire.

### Examen macroscopique

La vulve peut être normale ou inflammatoire présentant des lésions.

La muqueuse vaginale normale est de couleur rose sans douleur au contact. La muqueuse inflammatoire est de couleur rouge, peut être douloureuse au contact et présentant des lésions.

L'endocol peut être normal ou présentant des lésions, saignant au contact.

Les sécrétions :

Abondance, les sécrétions peuvent être rares, peu abondantes, abondantes, très abondantes.

Consistance, les sécrétions peuvent être épaisses, adhérentes aux parois vaginales, caillébotées, liquides, glaireuses, bulleuses, purulentes.

La couleur de la leucorrhée, les sécrétions peuvent être blanchâtres, jaunâtres, verdâtres, grisâtres etc.

### **Examen chimique**

Mesurer le pH des sécrétions à l'aide du papier pH. Le pH normal est  $\leq 4,5$ .

### **Examen microscopique**

L'écouvillon urétral ou endocervical pour la recherche de *Neisseria gonorrhoeae* est étalé sur une lame propre bien dégraissée pour réaliser un frottis sec qui sera coloré au Gram. On recherche des polynucléaires, des diplocoques à Gram négatif intra ou extra leucocytaires, *Trichomonas vaginalis*.

Une goutte de suspension des sécrétions vaginales est placée entre lame et lamelle et observée au microscope à l'objectif 40. On recherche les éléments suivants :

Les cellules épithéliales : pour apprécier l'exfoliation de l'épithélium.

Les éléments parasitaires : les plus rencontrés sont les levures (*Candida*) et leurs filaments mycéliens, *Trichomonas vaginalis* reconnaissable par sa mobilité et ses flagelles.

La flore bactérienne : avec son abondance, sa morphologie (bacilles, cocci) et la mobilité. Les lames qui ont été confectionnés au moment du prélèvement seront colorés au Gram. On recherche des polynucléaires ; la morphologie et le type de flore, les levures et leur filament, les « Clues Cells » (cellules épithéliales tapissées par des coccobacilles à Gram négatif (*Gardnerella vaginalis*), bacilles à Gram négatif incurvés aux extrémités effilées (*Mobilincus spp*) ; Des diplocoques à Gram négatif intra ou extra leucocytaires.

La flore normale est constituée d'une prédominance de bacilles de Doderlein qui sont des lactobacillus. Une flore déséquilibrée est constituée d'une minorité ou d'une absence de bacilles de Doderlein. On distingue ainsi quatre types de flore :

Type I, présence exclusive de bacilles de Doderlein (flore normale)

Type II, prédominance de bacilles de Doderlein (flore normale)

Type III, prédominance d'une flore autre que la flore de Doderlein (flore déséquilibrée)

Type IV, absence de bacilles de Doderlein (flore déséquilibrée).

### **9.13 Procédure de traitement des échantillons sur BACTEC 9050**

La détection de microorganisme dans le sang de patient présente à la fois un intérêt diagnostic et pronostic. Les hémocultures sont essentielles dans le diagnostic et le traitement des agents

étiologiques des septicémies. Les septicémies bactériennes constituent l'une des principales maladies infectieuses, d'où l'importance de la détection et de l'identification rapide des germes en causes dans l'activité du laboratoire de microbiologie.

### **Principe :**

Le BD BACTEC 9050 est conçu pour la détection rapide des germes dans les échantillons biologiques. Les échantillons à tester seront inoculés dans des flacons d'hémoculture appropriés puis chargés dans l'instrument pour une incubation et une lecture périodique. Chaque flacon contient une sonde fluorescente sensible à la concentration en CO<sub>2</sub> résultante du métabolisme microbien et à la consommation d'oxygène nécessaire à la croissance des germes. La variation de fluorescence de la sonde est mesurée toutes les 10 mn par l'instrument. Cette fluorescence est aussi bien proportionnelle à l'augmentation du CO<sub>2</sub> qu'à la diminution de la quantité d'O<sub>2</sub> dans le flacon. Un flacon positif stipule donc une forte présomption de la présence de microorganismes viables dans le milieu.

### **Mode opératoire**

#### ➤ **Mise en marche du système**

Allumer l'interrupteur derrière l'appareil

#### ➤ **Pour insérer ou réintroduire un flacon**

- Ouvrir la porte du Bactec
- Appuyer sur la touche « Insertion flacon »
- Faire lire le code à barres du flacon devant le faisceau lumineux.
- Insérer le flacon dans l'alvéole indiquée sur l'écran.
- Reprendre les étapes 3 et 4 pour chaque nouveau flacon si d'autres flacons sont à introduire.
- Appuyer sur la porte présente sur l'écran pour terminer l'insertion du ou des flacons.

#### ➤ **Pour retirer un flacon positif**

- Ouvrir la porte.
- Appuyer sur la touche « Retrait des positifs »
- Retirer le flacon de l'alvéole indiquée à l'écran.
- Faire lire code à barres du flacon.

Reprendre les étapes 3 et 4 pour chaque nouveau flacon positif.

- Appuyer sur la porte présente sur l'écran pour terminer l'insertion du ou des flacons.
- **Pour retirer un flacon négatif**
  - Ouvrir la porte.
  - Appuyer sur la touche « Retrait des négatifs »
  - Retirer le flacon de l'alvéole indiquée à l'écran.
  - Lire le code à barres du flacon. Reprendre les étapes 3 et 4 pour chaque nouveau flacon négatif.
  - Fermer la porte.
- **Ensemencement des ballons positifs**
  - Ponctionner le ballon positif à l'aide d'une seringue stérile
  - Prélever quelques ml de surnagent et mettre dans un tube à hémolyse stérile.
  - Réaliser un état frais et une coloration de Gram, ensemercer les milieux correspondants à chaque type de bactérie observée.
  - Le lendemain, procéder à la lecture des boites, aux tests compléments puis lancer l'identification et/ou l'antibiogramme à l'aide du système VITEK® 2 Compact-BIO.

Il est important de prévenir le biologiste du résultat de la coloration de Gram des hémocultures.

#### **9.14 Culture et isolement des bactéries en fonction des produits pathologiques :**

La mise en culture a été réalisés sur des milieux de cultures non selectifs (géloses enrichie et ordinaire) et sélectifs (Drigalski) à la température de 37°C pendant 24 à 48 heures. La gélose lactosée de Drrigalski nous a permis d'isoler les bacilles à Gram négatif non fermentaires. Sur ce milieu nous pouvons distinguer les colonies qui fermentent le lactose (colonies jaunes) et les colonies qui ne le fermentent pas (colonies vertes ou bleues). En 24 h à 48 h, *Acinetobacter* forment des colonies bombées, brillantes, pouvant être légèrement jaunâtres et parfois muqueuses.

##### **9.14.1 Milieu de culture**

Nous avons utilisé les milieux des cultures suivante : géloses enrichie, géloses ordinaires, et Drigalski coulé dans une boîte de Pétri de façon uniforme et jusqu'à une épaisseur de 4 mm.

#### 9.14.2 Réalisation de l'inoculum bactérien

A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, on prélève une colonie bien isolée d'une culture de 24 h. Puis celle-ci est mise en suspension dans 5 ml de solution saline isotonique. Ensuite, on fait une nouvelle dilution en mettant 5 gouttes de la précédente suspension dans 10 ml d'eau distillée.

#### 9.14.3 Ensemencement par inondation :

L'inoculum est versé de façon à recouvrir entièrement la surface gélosée.

En inclinant la boîte de Pétri, on jette une première fois l'excès de l'inoculum.

#### ➤ En stries d'épuisement (méthode de cadrants) :

À l'aide d'une pipette Pasteur, on aspire pour éliminer tout le reste de l'inoculum.

Les boîtes ainsi ensemencées sont mises à sécher 15 mn à 37 °C.

#### 9.14.4 Dépôt de disques

Au bout de 15 mn de séchage, les disques choisis sont posés soit à la pince fine flambée, soit à l'aide d'un distributeur automatique.

#### Deux précautions importantes sont à respecter :

- Les disques doivent être parfaitement appliqués à plat sans glissement, en appuyant légèrement sur la surface de la gélose.
- Une distance de 15 mm doit séparer un disque périphérique au bord de la boîte et deux disques doivent être éloignés au moins de 30 mm centre en centre de sorte que les zones d'inhibition ne se chevauchent pas.

#### 9.14.5 Pré-diffusion et incubation

Il est important d'observer une pré-diffusion des antibiotiques de 30 mn à température ambiante avant de porter les boîtes à l'étuve à 37 °C pendant 18 h, couvercle en bas (position renversée).

#### 9.14.6 Lecture et interprétation

La lecture a été réalisée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition de chaque disque d'antibiotique à l'aide du pied à coulisse.

#### 9.14.7 Identification bactérienne :

L'identification des souches d'*A. baumannii* et de *P. aeruginosa* a été réalisée de façon semi-manuelle à la galerie API 20 E et confirmé sur l'automate vitek®2 COMPACT-BIO.

#### 9.15 L'automate Vitek ®2 COMPACT-BIO

Au laboratoire de biologie médicale PA & KA de Bamako, l'identification s'est reposée sur les caractères morphologiques, culturels, biochimiques et conventionnels standards.

Pour l'identification biochimique, les souches de « *A. baumannii* et de *P. aeruginosa* » avaient été identifiées par VITEK® 2 Compact-BIO ou les galeries API 20 E. L'automate

Vitek® 2 COMPACT-BIO permet à partir d'une suspension bactérienne de densité standardiser l'inoculation, l'incubation la lecture et l'interprétation des tests. Il existe différentes cartes selon la famille de germes à identifier. Chaque carte de test en plastique est remplie de milieux spécifiques déshydratés contenues dans un maximum de 64 puits. Les résultats obtenus entre 3 et 18 heures sont ensuite comparés aux bases de données informatisées et l'identification est rendue avec un score de fiabilité exprimé en pourcentage. L'appareil en même temps la sensibilité de la bactérie identifiée aux antibiotiques.



**Figure 8 : Vue photographique d'un Mini API [76].**



**Figure 9 : Vue photographique d'un Automate VITEK®2 Compact-BIO [76].**

### **Principe :**

Le système VITEK®2 COMPACT-BIO 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-BIO, un ordinateur et une imprimante. Le logiciel fourni pour le système VITEK®2 COMPACT-BIO inclut des programmes d'analyse, de gestion des données et un système de qualité afin de valider le kit test du VITEK®2 COMPACT-BIO.

### **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, 3 ml de la solution saline du Vitek 2 à l'aide de la dispensette préalablement réglée à 3 ml.

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

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

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

Homogénéiser la suspension et bien vortexer ;

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

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

Préparer la solution pour antibiogramme :

Si la bactérie à identifier est à : Gram positif, utiliser la micropipette calibrée à 280µl (bleue), Gram négatif, utiliser la micropipette calibrée à 145µl (rouge) ;

A partir de la suspension bactérienne, pipeter en fonction de la nature du germe suspecté BGN 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 GN et la carte pour l'antibiogramme AST- N en fonction de la nature du germe sur la cassette.

**NB :** la carte utilisée :

ID GN : réf 21341

**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-BIO,

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

Fermer le capot de remplissage ;

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

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

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

On attend le jour suivant où les résultats seront imprimés.

### **Résultats**

Le Vitek 2 Compact-BIO 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.

### **Gestion des déchets**

**Retrait des cartes éjectées :**

**Retrait du réceptacle collecteur de déchet**

**Identification bactérienne sur API 20 E :**

Le but de ce mode opératoire est de définir les règles, les moyens et les responsabilités nécessaires à l'identification des germes bactériens isolés en Microbiologie sur l'Api 20E.

### ➤ Principe

La galerie Api 20E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture de ces réactifs se fait à l'aide du tableau de lecture et d'identification.

**Tableau V:** Résultats de la galerie API 20 E d'une souche de *Pseudomonas.spp* [77].

Tests	ONPG	ODC	ADH	LDC	CIT	H <sub>2</sub> S	URE	TDA	IND	VP
Résultats	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tests	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
Résultats	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-

Les résultats de la souche 8 de la galerie API 20 E ne nous permet pas de la faire correspondre à aucune souche du catalogue analytique vu les résultats négatifs obtenus sur les différents tests.



**Figure 10 :** Résultat de la galerie API 20 E d'une souche de *Pseudomonas.spp* [77].

En marge de la galerie API 20 E nous avons pu correspondre une colonie présomptive à une souche de *Pseudomonas.spp* après isolement sur gélose nutritive et obtention d'un pigment verdâtre.

Mode opératoire

- **Test oxydase**

Le test oxydase doit être réalisé selon les instructions du fabricant, il constitue le 21<sup>ème</sup> test d'identification à noter sur la fiche de résultats.

- **Préparation de la galerie**

Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée (ou toutes eau sans additif ou dérivés susceptibles de libérer des gaz comme le Cl<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> etc.) dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

Inscrire le code sur la languette latérale de la boîte. Ne pas inscrire de code sur le couvercle.

Sortir la galerie de la boîte et la placer dans la boîte d'incubation.

- **Préparation de l'inoculum :**

Un tube contenant 5 ml d'eau physiologique stérile ou d'eau distillée stérile sans additif a été utilisé.

A l'aide d'une anse, une seule colonie a été isolée sur un milieu gélosé (culture jeune de 18 – 24h d'incubation).

Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries le milieu.

- **Inoculation de la galerie**

Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide de la même pipette (pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant) :

Pour les tests CIT, VP et GEL, remplir tube et cupule,

Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non les cupules),

Pour les tests : ADH, LDC, ODC, H<sub>2</sub>S, URE créer une anaérobiose en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.

Refermer la boîte d'incubation et incuber le à 36°C ± 2°C pendant 18 – 24 heures.

- **Lecture**

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en référant au tableau de lecture présent dans la notice ou sur le site de biomérieux.

Si 3 tests ou plus sont positifs, noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées puis révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs,

Test TDA : ajouter 1 goutte de réactif TDA. Une couleur marron-rougeâtre indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.

Test IND : ajouter 1 goutte de réactif de James. Une couleur rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats. Test à réaliser en dernier à cause de la libération de gaz pouvant altérer l'interprétation des autres tests. Ne pas remettre le couvercle d'incubation après l'ajout du réactif.

Test VP : Ajouter 1 goutte des réactifs VP1 et VP2. Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose ou rouge indique une réaction positive à noter sur la fiche des résultats. Une faible coloration rose apparaissant après 10 minutes doit être considérée négative. Si le nombre de tests positifs avant ajout des réactifs (y compris le test GLU) est inférieur à 3 :

Ré-incuber la galerie 24 h ( $\pm 2$ ) de plus sans rajouter les réactifs.

Révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs.

Pour compléter l'identification, il peut être utile de réaliser des tests complémentaires.

- **Interprétation des résultats**

L'identification est obtenue à partir du profil numérique :

- **Détermination du profil numérique**

Sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. La galerie API 20 E comportant 20 tests, en additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 7 chiffres ; la réaction de l'oxydase qui constitue le 21<sup>ème</sup> test est affectée de la valeur 4 lorsqu'elle est positive.

- **Identification**

Elle est réalisée à partir de la base de données (V4.1)

A l'aide du catalogue Analytique, Rechercher le profil numérique dans la liste des profils.

A l'aide du logiciel d'identification **apiweb<sup>tm</sup>** entrer manuellement au clavier le profil numérique à 7 chiffres. Par ailleurs dans certains cas, le profil à 7 chiffres étant insuffisamment discriminant, les tests complémentaires suivants sont nécessaires :

Réduction des nitrates en nitrites ( $\text{NO}_2$ ) et en azote ( $\text{N}_2$ ) : ajouter une goutte des réactifs NIT 1 et NIT 2 dans le tube GLU. Attendre 2 à 5 minutes. Une coloration rouge indique une réaction positive ( $\text{NO}_2$ ). Une réaction négative (coloration jaune) peut être due à la production d'azote (éventuellement signalée par la présence de microbulles) : ajouter 2 à 3 mg de réactif Zn dans la cupule GLU. Après 5 minutes, un tube resté jaune indique une réaction positive ( $\text{N}_2$ ) à noter sur la fiche de résultats. Si la cupule est orange-rouge, la réaction est négative, les nitrates encore présents dans le tube ont été réduits en nitrites par le Zinc. Cette réaction est intéressante pour les bacilles à Gram négatif oxydase positive.

- **Test de sensibilité aux antibiotiques : Antibiogramme**

Pour l'identification de nos souches, nous avons fait la coloration de Gram, la recherche du cytochrome oxydase et de la catalase, la mise en évidence des pigments et l'antibiotypie.

### **Coloration de Gram**

Les réactifs et matériels utilisés sont : le violet de gentiane, la solution iodo-iodurée (lugol), de l'alcool à 90°, la solution de safranine, l'eau du robinet, les lames porte-objet, les pipettes Pasteur stériles, le microscope et l'huile de cèdre.

- **Principe**

La coloration de Gram est une technique qui permet de classer les bactéries selon la structure de leur paroi en bactéries à Gram positif et à Gram négatif. En effet lorsque les bactéries sont mises au contact du violet de gentiane et ensuite soumises à l'action du lugol, il se forme un complexe colorant qui colore en viole tout le cytoplasme des bactéries. Cependant lorsque ces bactéries colorées sont lavées à l'alcool, seule la paroi des bactéries à Gram négatif, du fait de sa structure particulière (glucido-lipido-protéique) se laisse traversée par l'alcool et entraîne ainsi la décoloration de celles-ci qui seront ultérieurement colorées par la safranine en rouge. Ces dernières seront appelées bactéries à Gram négatif.

- **Technique**

A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, on prélève une colonie bien isolée pour faire un étalement mince sur une lame porte-objet.

Le frottis est fixé à la chaleur puis à l'alcool.

Puis il est entièrement recouvert de violet de gentiane pendant 1min.

On rince ensuite à l'eau de robinet.

Le frottis est ensuite recouvert de lugol pendant 1 min.

Puis on décolore à l'alcool (la décoloration est arrêtée au moment où l'alcool n'entraîne plus de colorant)

On lave rapidement à l'eau en vue d'arrêter l'action de l'alcool

Le frottis est enfin recouvert de safranine pendant 20 s, puis lavé à l'eau et séché.

Ensuite le frottis est examiné au microscope optique à l'objectif 100 et à l'immersion à l'huile de cèdre.

- **Résultat :**

Le *P. aeruginosa* est un fin bacille à Gram négatif.

Au niveau de la coloration Gram, les bactéries appartenant au genre *Acinetobacter* apparaissent comme des diplo-coccobacilles à Gram négatif, disposés en paires ou en courtes chainettes. Trente pour cent des souches d'*A. baumannii* possèdent une capsule, que l'on peut identifier à la coloration de Gram par le halo clair qui entoure la bactérie. Quelquefois de décoloration difficile, ils sont considérés à Gram variable. Ces bactéries peuvent apparaître à Gram positif et être confondues avec des staphylocoques [78]. *A. baumannii* peu se présente en coccobacille à Gram négatif

- **La recherche de l'oxydase**

Nous avons utilisé le réactif bactident oxydase des laboratoires MERCK- CLEVENOT (France).

- **Mode opératoire**

Avec la pipette Pasteur, une colonie isolée est placée dans la zone réactionnelle.

Après environ 20 à 60s, on compare avec l'échelle colorée.

La présence du cytochrome oxydase se manifeste dans la zone réactionnelle par une coloration bleue ou bleu-violette.

- **Résultat :**

Le *P. aeruginosa* est oxydase positive.

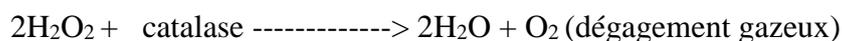
L'*A. baumannii* est aérobies strictes et oxydase négatives, ce dernier caractère permettant de le différencier des bactéries appartenant au genre *Pseudomonas*.

- **Recherche de la catalase**

Nous avons utilisé le réactif ID color catalase de bio-Mérieux (flacon compte-goutte contenant une solution d'eau oxygénée à 10 volumes, un agent épaississant et du bleu d'Evans).

- **Principe**

La catalase est une enzyme contenant du fer, qui catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en eau et en oxygène. Synthétisée par la plupart de bactéries aérobies, elle élimine le peroxyde d'hydrogène produit au cours du métabolisme aérobie. Le test de la catalase sert à détecter la présence de cette enzyme dans une souche bactérienne donnée.



La mise en évidence de la catalase est réalisée en présence d'eau oxygénée, par obtention d'un dégagement important d'oxygène naissant.

- **Mode opératoire**

A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, on prélève une colonie isolée que l'on disperse dans une goutte d'eau oxygénée précédemment déposée sur une lame porte-objet.

- **Lecture**

La présence de la catalase se traduit par le dégagement, en moins de 5 s, de bulles d'oxygène qui forment une mousse persistante.

- **Résultat :**

Le *P. aeruginosa* est catalase positive.

Les souches d'*A. baumannii* sont également des bactéries catalase-positives, strictement aérobies, non exigeant et non fermentant.

- **Mise en évidence des pigments**

Nous avons utilisé les milieux de King A (milieu Tech. Agar pH 7,2) et King B (milieu Flo. Agar pH 7,2), fabriqués par la société bio-Mérieux, pour la production de la pyocyanine et de la pyoverdine respectivement. Ces milieux sont fondus et coulés en pente dans des tubes en verre et déposés à l'air ambiant jusqu'à refroidissement. A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, on prélève une colonie isolée d'une culture de 24h. Puis celle-ci est mise en suspension dans quelques millilitres d'eau physiologique. Ensuite, on ensemence les deux milieux en déposant dans chaque tube une goutte de cette suspension sur la pente et au moyen de la même pipette, on fait des stries sur toute la surface de la gélose. Ces tubes sont placés dans l'étuve à 37° pendant 24 h à l'issue desquelles on fait la lecture. La production de la pyocyanine est maximale sur le milieu King A et celle de la pyoverdine sur le milieu King B.

- **Étude de la sensibilité**

Pour déterminer la sensibilité de *P. aeruginosa* et *A. baumannii* aux antibiotiques, nous avons eu recours à la méthode de diffusion en gélose de MUELLER-HINTON selon les recommandations du Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie [79]. Nous avons utilisé des disques imprégnés d'une certaine charge connue d'antibiotiques fabriqués par les laboratoires SANOFI DIAGNOSTICS PASTEUR.

**Tableau VI** : Les disques d'antibiotiques testés et leurs charges[79].

<b>Béta-lactamines</b>		<b>Aminosides</b>	
	<b>Pénicillines</b>	Amikacine	30µg
<b>Pipéracilline</b>	70µg	Gentamicine	10µg
<b>Pipéracilline+Tazobactam</b>	<b>75+10µg</b>	Tobramycine	10µg
		<b>Fluoroquinolones</b>	
<b>Ticarcilline</b>	75µg	Ciprofloxacine	5µg
<b>Céphalosporines</b>		Ofloxacine	5µg
		<b>Levofloxacine</b>	
<b>Cefotaxime :</b>	<b>30µg</b>	Fosfomycine	50µg
<b>Ceftazidine</b>	<b>30µg</b>	<b>Quelques autres</b>	
<b>Cefepine</b>	<b>30µg</b>	Nitrofurantoïne	300µg
<b>Carbapénèmes</b>		Colistine	10µg
<b>Ertapénème</b>	10µg		
<b>Imipénème</b>	10µg		

L'interprétation des résultats a été faite conformément aux recommandations du Comité de l'Antibiotique de la Société Française de Microbiologie [79]. *P. aeruginosa* et *A. baumannii* sont des bactéries qui produisent une céphalosporinase inductible. Aussi sont-elles résistantes aux aminopénicillines ainsi qu'aux céphalosporines de premières et deuxièmes générations. Les souches résistantes à la Ticarcilline et aux uréidopénicillines, mais sensibles aux autres Bêta-lactamines ont été considérées comme productrices de pénicillinases. Les souches productrices de céphalosporinase dérégulée sont résistantes aux céphalosporines de troisième génération ainsi qu'aux uréidopénicillines et aux carboxypénicillines.

La résistance à la Ceftazidime peut être due à la production d'une Bêta-lactamase à spectre élargi.

La résistance à l'imipénème s'explique par deux mécanismes :

- La production d'une enzyme, l'imipénémase ;
- La résistance par imperméabilité et /ou hyper-expression du système d'efflux : "résistance intrinsèque".

En ce qui concerne les aminosides, les phénotypes suivants ont été individualisés :

#### **Phénotype sauvage ou sensible :**

Il s'agit de souches sensibles à tous les aminosides testés à l'exception de la kanamycine (*P. aeruginosa* et *A. baumannii*) ont une résistance naturelle à la kanamycine).

#### **Phénotype G :**

Ce sont des souches résistantes à la Gentamicine, mais sensibles aux autres aminosides.

#### **Phénotype GT :**

Il s'agit de souches résistantes à la Gentamicine et à la Tobramycine, mais sensibles aux autres aminosides.

#### **Phénotype GTN :**

Ce phénotype correspond aux souches sensibles à l'Amikacine et résistantes aux autres aminosides.

#### **Phénotype GNA :**

Ce phénotype correspond aux souches sensibles à la Tobramycine et résistantes aux autres aminosides.

### **Phénotype GTNA :**

Il s'agit de souches résistantes à tous les aminosides testés. Les souches GTNA sont résistantes à l'isépamicine. Ce phénotype est le fait d'une imperméabilité ou l'association d'une imperméabilité à une acétylation.

### **Phénotype A**

Il s'agit des souches résistantes à la Tobramycine seulement.

### **Recherche de la production de Bêta-lactamases à spectre élargie (BLSE)**

Nous avons recherché la production de Bêta-lactamase à spectre élargie (BLSE).

Elle se traduit par une synergie entre un disque de céphalosporine de C3G (Ceftazidime) ou C4G (céfépime) ou d'aztréonam et un disque de Ticarcilline ou de Pipéracilline associé à un inhibiteur de Bêta-lactamases (acide clavulanique, Tazobactam). Les disques ont été déposés de la manière suivante chacun à 3 cm de disque contenant l'inhibiteur.

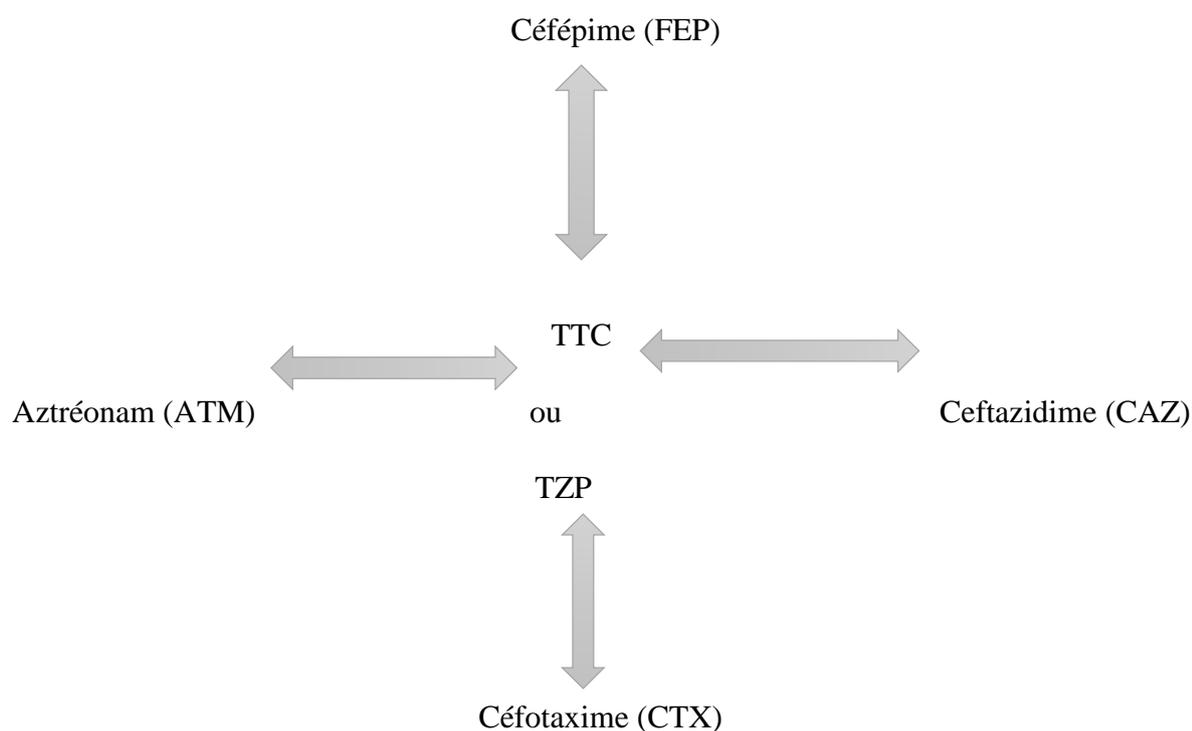


Figure 11 : Schéma de dépôt de disque pour la recherche de BLSE [80].

Tableau VII: Interpretation du phénotype par familles d'antibiotique[81-82-83].

Bêta_lactamine	Phénotypes						
	Sauvage	Céphalosporinase hyperproduite	Pénicilline (TEM)	Oxacilline (spectre étroit)	BLSE classe A (PE, R, VE, R)	BLSE classe D (type OXA)	Carbapénémase classe B (VIM, IMP)
TIC	S	R	R	R	R	R	R
TZP	S	S	S	S	S	S	S
PIP	S	I/R	R	R	R	R	R
CTX	S	R	S	I/R	I/R	I/R	R
CAZ	S	I/R	S	S	R	I/R	R

<b>IPM</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>R</b>
<b>Les Aminosides</b>	<b>Phénotypes</b>						
	<b>Sauvage</b>	<b>K</b>	<b>G</b>	<b>T</b>	<b>GTN</b>	<b>KTG</b>	
<b>Kanamycine</b>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>R</b>	
<b>AN</b>	<b>S</b>	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>R</b>	
<b>GM</b>	<b>S</b>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>R</b>	<b>R</b>	
<b>TOB</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>R</b>	
<b>Les floroquinolones</b>	<b>Phénotypes</b>						
	<b>Sauvage</b>	<b>II</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>	<b>Efflux</b>		
<b>CIP</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>R</b>	<b>R</b>		
<b>OFLX</b>	<b>S</b>	<b>I</b>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>S</b>		

### Legende

S = Sensible, R = Résistante, I = Intermédiaire, Cip= Ciprofloxacine, OFX= Ofloxacine,

TOB = Tobramicyne, GM = Gentamicyne, AN = Amicacyne, TIC= Ticarcilline, PIP= Piperacilline,

IMP: Imipénème, CXT= Céfotaxime, PZP = Pipéracilline+Tazobactam, CAZ = Céftazidine

VIM= Verona Imipénémase ; IMP= Imipénème Metallo-Bêta-lactamase.

### 9.16 Analyse et traitement des échantillons :

Nos données ont été saisie et analysées avec le logiciel SPSS version 25 et le logiciel Word 2016 à servi de traitement de texte.

### 9.17 Considérations éthiques :

Cette étude s’inscrit dans le cadre d’un travail de routine. Avec l’autorisation du responsable du laboratoire PA & KA de Bamako, nous avons veillé tout au long de notre étude au respect strict de la confidentialité des données et l’anonymat des patients a été respecté.

## 10 Résultats

### Résultats descriptifs :

#### 10.1 Tableau VIII: Fréquence d'isolement des BGNnF << *A. baumannii* et *P. aeruginosa* >> isolés au laboratoire PA et KA.

Espèces	Fréquence	Pourcentage
<i>A. baumannii</i>	56	54,4
<i>P. aeruginosa</i>	47	45,6
Total	103	100,0

L'effectif sur lequel a porté notre étude était de 103 souches de bacilles à Gram négatif non fermentaire (BGNnF) dont 54,34% (56) souches d'*A.baumannii* et 45,63% (47) souches de *P. aeruginosa* isolées des produits biologiques reçus au laboratoire PA et KA de Bamako pendant notre période étude.

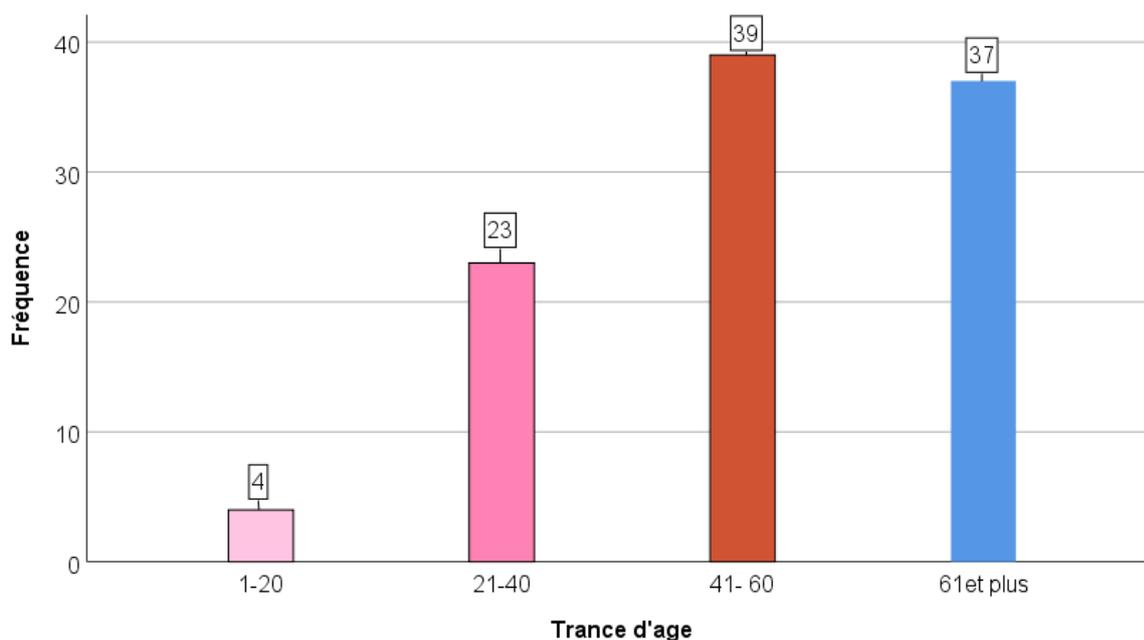
#### 10.2 Résultats des données socio-démographiques

##### Tableau IX : La répartition des patients selon le sex.

	Fréquence	Pourcentage
Masculin	59	57,3
Feminin	44	42,7
Total	103	100,0

La population d'étude est marquée par une prédominance de sex masculin 57, 3% de notre population d'étude avec un sex ratio de 1,3.

La majorité des souches d'*A.baumannii* et *P. aeruginosa* ont été isolée dans la tranche d'âge comprise entre 41 et 60 ans soit 37,9 % des cas de notre population d'etude. La tranche d'âge 0-20 ans était la moins représentée avec 3,9 % des cas (Figure 10). La médiane d'âge par espèces bacterienne est de 50 ans pour *A. baumannii* et 56 ans pour le *P. aeruginosa*.



**Figure 12 :** Répartition des patients selon la tranche d'âge.

**Tableau X :** Répartition des deux espèces bactérienne selon la nature du produit pathologique.

Espèces	ECBU	Hemoculture	Liquide d'asciste	Pus	PV	Total
<b>A.</b> <i>baumannii</i>	30,10% (n=31)	4,85 % (n=5)	1,94% (n=2)	16,50% (n=17)	0,97% (n=1)	54,4% (n=56)
<b>P.</b> <i>aeruginosa</i>	26,21% (n=27)	0,97 % (n=1)	0	15,53% (n=16)	2,91% (n=3)	45,6 % (n= 47)
<b>Total</b>	56,31 % (n=58)	5,83 % (n=6)	1,94% (n=2)	32,04% (n=33)	3,88% (n=4)	100% (n=103)

En général ces deux espèces ont révélé une prédominance dans les prélèvements des ECBU 56,31 % (n=58), suivis par les Pus 32,04 % (n=33). Les autres sites de prélèvements où *A.baumannii* et *p. aeruginosa* ont été isolés étaient représentés par les Hémocultures 5,83 % (n=6), les PV 3,88 % (n=4) et les liquides d'asciste 1,94 % (n=2).

### 10.3

### Résultats descriptif et analytique :

**Tableau XI :** Nature des produits biologique des sources bacteriennes isolées.

Prélèvements	Fréquence	Pourcentage
Urine	58	56,3
Pus	33	32
Hemoculture	8	7,7
Secretion vaginal	4	3,9
Total	103	100,0

Ce tableau montre que nos souches bactériennes sont majoritairement isolées des urines 56,3 % (58), suivis du Pus 32 % (33) et d'hémocultures 7,7 %, (8).

**Tableau XII:** Répartition des espèces isolées selon la provenance du produit pathologique pendant notre période d'étude.

Espèces	Communautaire	Hospitalier	Total
<i>A. baumannii</i>	25, 24 % (n=26)	29, 13 % (n=30)	54, 4 % (n=56)
<i>P. aeruginosa</i>	23, 30 % (n=24)	22, 33 % (n=23)	45, 6 % (n=47)
<b>Total</b>	48, 5 %(n=50)	51, 5 % (n=53)	100% (n=103)

Les souches d'*A.baumannii* et *P. aeruginosa* était d'origine hospitaliser dans 51, 5 % des cas étudiés avec une probabilité de  $P = 0, 64$ .

- **Résultats de l'antibiogramme pour les deux germes isolés au cours de notre études**

#### Les Bêta-lactamines :

**Tableau XIII :** Résistance des souches d'*A.baumannii* et *P. aeruginosa* aux Bêta-lactamines isolées au laboratoire pendant notre période d'étude.

Famille d'antibiotique	Molécules d'antibiotiques testées	<i>P. aeruginosa</i>	<i>A. baumannii</i>
		N=47 R (%)	N=56 R (%)
Bêta-lactamines	Piperacilline + Tazobactam	31 (65,96%)	42 (75%)
	Ticacilline	34 (72,34%)	42 (75%)
	Ceftazidime	15 (31,91%)	34 (60,71%)
	Imipénème	10 (21,28%)	16 (28,57%)

En plus de quelques résistances naturelles de nos souches sur certaines molécules d'antibiotique testées, les taux de résistance plus élevés au Bêta-lactamines a été retrouvé avec la Ticacilline pour les deux espèces à des fréquences variables soit **75 %** pour l'*A. baumannii* et **72,34 %** pour le *P. aeruginosa*. L'imipénème était la molécule la plus active sur les souches d'*A. baumannii* soit **28,57 %**.

#### Les aminosides :

**Tableau XIV :** Résistance des souches d'*A.baumannii* et *P. aeruginosa* aux aminosides isolés au laboratoire pendant notre période d'étude.

Famille d'antibiotique	Molécules d'antibiotiques testées	<i>P. aeruginosa</i>	<i>A. baumannii</i>
		N=47 R (%)	N=56 R (%)
Aminosides	Amikacine	11 (23,40%)	13 (23,21%)
	Gentamycine	18 (38,30%)	40 (71,43%)
	Tobramycine	15 (31,91%)	36 (64,29%)

Nous avons observé une résistance plus marquée de *P. aeruginosa* et *A. baumannii* respectivement de l'ordre de 38,3 % et **71,4 %** à la Gentamycine

**Les fluoroquinolones et autres molecules :**

**Tableau XV: Résistance des souches d'*A.baumannii* et *P. aeruginosa* aux fluoroquinolones et autres molecules isolés au laboratoire pendant notre période d'étude.**

Famille d'antibiotique	Molecules d'antibiotques testées	<i>P. aeruginosa</i>	<i>A. baumannii</i>
		N=47 R (%)	N=56 R (%)
Fluoroquinolones et autres molecules	Ciprofloxacine	23 (48, 94 %)	37 (66, 07 %)
	Ofloxacine	16 (34, 04%)	9 (16, 07 %)
	Fosfomycine	8 (17,02%)	RN
	Nutrofuratoine	9 (19,15%)	18 (32,14%)
	Colistine	0 (0)	2 (3, 57%)
	Sulfaméthoxazole/Trimétoprime	RN	47 (88,15%)
	Chloremphenicol	RN	55 (98,21%)

RN=Résistance naturel

Les souches des bacteries étudiées avaient une résistance de l'ordres de **16 à 66 %** pour *A. baumannii* et **34 à 49 %** pour *P. aeruginosa* pour les molecules testées de la famille des fluoroquinolones.

La colistine demere le seul antibiotique efficace avec une sensibilité de **100 %** pour le *P. aeruginosa* et **96,43 %** pour *A. baumannii*.

**Tableau XVI :** Fréquence de la résistance aux antibiotiques des souches isolées selon qu'elles soient communautaire ou hospitalière.

Famille d'antibiotique	Molécule d'antibiotiques testées	Communautaire		Hospitalier	
		<i>P.</i> <i>aeruginosa</i>	<i>A.</i> <i>baumannii</i>	<i>P.</i> <i>aeruginosa</i>	<i>A.</i> <i>baumannii</i>
		N=24	N=26	N=23	N=30
		R (%)	R (%)	R (%)	R (%)
<b>Bêta-lactamines</b>	Piperacilline + Tazoctam	17 (70,83)	18 (69,23)	14 (60,87)	24 (80)
	Ticacilline	14 (58,33)	17 (65,38)	20 (86,97)	25 (80,33)
	Ceftazidime	7 (29,17)	14 (53,85)	8 (34,78)	20 (66,67)
	Imipénème	4 (16,67)	9 (34,62)	6 (26,09)	7 (23,33)
<b>Aminosides</b>	Amikacine	5 (20,83)	4 (15,39)	6 (26,09)	9 (30)
	Gentamycine	8 (33,33)	16 (61,54)	10 (43,48)	24 (80)
	Tobramycine	8 (33,33)	14 (53,85)	7 (30,43)	22 (73,33)
<b>Fluoroquinolones et autres antibiotiques</b>	Ciprofloxacine	14 (58,33)	16 (61,54)	9 (39,13)	21 (70)
	Ofloxacine	9 (37,5)	4 (15,39)	7 (30,43)	5 (8,93)
	Fosfomycine	5 (20,83)	25 (96,15)	3 (13,03)	RN
	Nutrofuratone	4 (16,67)	5 (19,23)	5 (21,74)	13 (43,33)
	Colistine	0	1 (3,85)	0	1 (3,33)
	Sulfaméthoxazole/Triméthoprime	RN	23 (88,46)	RN	24 (80)
	Chloremphenicol	RN	25 (96,15)	22 (95,65)	RN

RN : résistance naturelle

Ce tableau révèle que les souches de *P. aeruginosa* et *A. baumannii* qu'elles soient isolées en milieu communautaire ou hospitalier la résistance aux Bêta-lactamines varie entre 16% et 80%, cette résistance est beaucoup marquée pour l'association Piperacilline + Tazoctam. Pour la famille des aminosides les résultats révèlent que les deux souches *P. aeruginosa* et *A. baumannii* étaient plus résistantes en milieu hospitalier que communautaire. La famille des

fluoroquinolones affichait une résistance variable dans les deux milieux aussi bien pour Ofloxacin que la Ciprofloxacin sur les deux souches étudiées.

**Tableau XVII:** Phénotype de résistance des souches de *P. aeruginosa* et *A. baumannii* aux Bêta-lactamines en milieu communautaire et en milieu hospitalier.

Phénotype de résistance aux Bêta-lactamines	Communautaires		Hospitalier	
	<i>P. aeruginosa</i> N=24	<i>A. baumannii</i> N=26	<i>P. aeruginosa</i> N=23	<i>A. baumannii</i> N=30
<b>Sauvage</b>	3 (12,5)	7 (26,92)	0	5 (16,67)
<b>BLSE CLASSE A (PER, VEB)</b>	4 (16,67)	5 (19,23)	2 (8,70)	6 (20)
<b>Carbapénémase classe B (VIN, IMP)</b>	4 (16,67)	9 (34,62)	6 (26,09)	9 (30)
<b>Céphalosporinase Hyperproduite</b>	0	1 (3,85)	3 (13,04)	7 (23,33)
<b>Penicillinase (TEM)</b>	8 (33,33)	4 (15,38)	11 (47,83)	3 (10)

Les phénotypes de résistance aux bêta-lactamines de nos espèces montre une dominance du phénotype Penicillinase (TEM) au niveau hospitalier pour le *P. aeruginosa* 47,83 % suivi par le phénotype Carbapénémase classe B (VIN, IMP) au niveau communautaire pour *A. baumannii* 34,62 %.

**Tableau XVIII :** Phénotype de résistance aux Aminosides des bactéries isolées chez les patients en milieu communautaire et hospitalier.

Phénotype de résistance aux Aminosides des antibiotiques testées	Communautaires		Hospitalier	
	<i>P. aeruginosa</i>	<i>A.baumannii</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>A. baumannii</i>
	N=24 (%)	N=26 (%)	N=23 (%)	N=30 (%)
<b>Sauvage</b>	14 (58,33)	9 (34,62)	14 (60,87)	5 (16,67)
<b>K</b>	0	1(3,85)	0	0
<b>G</b>	1(4,17)	2 (7,69)	3 (13,04)	3 (10)
<b>T</b>	1 (4,17)	0	0	1 (3,33)
<b>GT</b>	0	1 (3,85)	0	0
<b>KTG</b>	7 (29,16)	13 (50)	6 (26,09)	21(70)

G=Gentamicine résistant, GT = Gentamicine et toramicine sont résistantes, KTG =Amicacine seul est seneible, A = Amicacine résistant, T=Tobramicine résistant

Ce tableau montre que le phénotype KTG était plus retrouvé chez les souches isolées en milieu hospitalier soit 70 % pour *A. baumannii* suivi par le phénotype K 60,87 % pour *P. aeruginosa*. Par contre le phénotypes Sauvage à manifesté sa dominance au niveau communautaires pour *P. aeruginosa* d'ordre de 58,33 %.

**Tableau XIX:** Phénotype de résistance des bactéries aux fluoroquinolones en milieu communautaire et hospitalier.

Phénotype de résistance aux fluoroquinolones des antibiotiques testées	Communautaires		Hospitalier	
	<i>P. aeruginosa</i>	<i>A.baumannii</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>A. baumannii</i>
	N=24 (%)	N=26 (%)	N=23 (%)	N=30 (%)
<b>Sauvage</b>	8 (33,33)	2 (7,69)	<b>8 (34,78)</b>	0
<b>Efflux</b>	5 (20,83)	12 (46,15)	2(8,70)	<b>16 (53,33)</b>
<b>III</b>	2 (8,33)	6 (23,08)	6 (26,09)	7 (23,33)
<b>IV</b>	9 (37,5)	4 (15,38)	7 (30,43)	5 (16,67)

Efflux=Ofloxacine sensible et ciprofloxacine résistant, IV=tous résistantes III= Ofloxacine résistant et ciprofloxacine sensible.

Cette serie de phénotypage montre une dominance du phénotype Efflux d'ordre de 53,33% au niveau communautaire pour *A. baumannii* suivi par le phénotype sauvage d'ordre de 34,78% pour le *P. aeruginosa* au niveau hospitalier.

**Tableau XX:** Prévalence des bactéries multi-résistantes (BMR) au cours de notre période d'étude.

Souches	Nombre de bactéries isolées	BMR	
		Nombre	Pourcentage
<i>P. aeruginosa</i>	47	12	11,65
<i>A. baumannii</i>	56	34	<b>33,01</b>
<b>Total</b>	103	46	44,66

Ce tableau montre que 33,01 % des espèces d'*A. baumannii* sont multi-résistante, et 11,65 % de *P. aeruginosa* sont multi-résistante au cours de notre période d'étude. Dans l'ensemble de nos espèces 44,66 % était multi-résistante.

## 11 Commentaires et Discussion

### ➤ Difficultés

Le laboratoire où a eu lieu notre étude est une structure privée. Ce travail a été minutieusement élaboré cependant il présente quelques insuffisances liées essentiellement à la réalisation des bilans para cliniques.

- Le manque de certaines données des patients telles que : Une antibiothérapie en cours ; la durée de l'hospitalisation (patients hospitalisés) ; l'utilisation ou non des dispositifs médicaux invasifs ; les antécédents des patients (maladie chroniques). Ces informations pouvaient nous permettre de mieux comprendre la survenue des infections de ces bactéries.

### ➤ Frequence des germes isolés

Cette étude a permis d'étudier l'activité antibactérienne des antibiotiques sur les souches BGNnF (*P. aeruginosa* et d'*A. baumannii*) isolées pendant notre période d'étude. Elle nous a permis de déterminer la fréquence d'isolement des bactéries de la famille des BGNnF. Cette étude prospective portant sur le profil de résistance aux antibiotiques des souches de *P. aeruginosa* et d'*A. baumannii* isolées en routine au laboratoire PA & KA de Bamako.

Durant la période d'étude, les bactéries non fermentant représentées essentiellement par *A. baumannii* et *P. aeruginosa* étaient au nombre de 103 soit 3,86 % sur 2668 souches bactériennes isolées à la même période de notre étude. De toutes nos souches étudiées nous avons trouvé une fréquence de 54,37 % soit 56/103 pour *A. baumannii* et 45,63 % soit 47/103 pour le *P. aeruginosa*. Ce résultat est différent de celui rapporté par DEMBELE en 2019 au Mali qui a rapporté un taux d'isolement de 56/75 soit 75% pour *P. aeruginosa* et de 19/75 soit 25% pour *A. baumannii* [82]. Cependant SOGORE de 2015 à 2017 au Centre d'Infectiologie Charles Mérieux (C.I.C.M) a rapporté 74,36% d'*Acinetobacter spp* et 22,22% de *Pseudomonas spp* [80]. Ces différences pourraient s'expliquer par la taille de notre échantillonnage.

La moyenne d'âge des patients infectés par *A. baumannii* et *P. aeruginosa* dans notre étude était de 52,77 ans avec un écart type de 18,08 et une prédominance de sexe masculin. Ces taux sont superposables à ceux obtenus par Shojaei et al en 2016 en Iran soit une moyenne d'âge de 59,21±19,42 ans et une prédominance masculine soit 69 % [83]. Cette prédominance de sexe pourrait s'expliquer par le fait que l'infection due à ces deux espèces bactériennes est associée à certains facteurs de risque tels que : le tabagisme, l'alcool mais elle ne fait pas la règle car certaines études ont montré une prédominance féminine [84].

Dans la présente étude les isolats en provenance des cliniques étaient de 47, 60 % des isolats, soit 25, 24 % pour *A. baumannii* et 22, 33 % pour le *P. aeruginosa*. Une étude réalisée en Europe en Bosnie-Herzégovine par Rabic et al en 2018 ont trouvé une prédominance d'origine hospitalière des souches d'*A.baumannii* soit 62, 18 % [82].

*A. baumannii* résiste à l'action de beaucoup d'antiseptiques et possède un pouvoir remarquable de colonisation de l'environnement hospitalière grâce à la formation de biofilms. Cela explique sa forte prévalence dans les infections nosocomiales et sa multirésistance aux antibiotiques.

Une étude Iranienne menée par Hashemi et al en 2017 [85] qui confirme notre résultat les souches de *P. aeruginosa* avaient une prévalence élevée dans les échantillons des patients externe avec un taux d'isolement communautaire de 60,08 %. Cela est inquiétant car cette bactérie possède d'énormes mécanismes de résistance aux antibiotiques.

Dans notre étude 55, 36 % (31) d'*A. baumannii* a été la souche bactérienne la plus fréquemment retrouvée dans les urines, suivies du pus 30, 36 % (17) et d'hémoculture 8,93 % (5). Ces taux différents de ceux rapporté par SOGORE au Mali de 2015 à 2017 qui a obtenu 65,38 % dans les prélèvements du pus suivis des hémocultures 15,54 % les urines 11,54 % et cloturé par les liquides d'asiste et les expectorations soit 3,85 % [76]. Le *P. aeruginosa* a été le plus fréquemment retrouvée dans les prélèvements des urines 57, 45 % (27) suivi de pus 34, 04 % (16) et le P. V a récolté 8,51 % (4). Cette fréquence d'isolement des souches de *P. aeruginosa* dans les différente prélèvements est différent de ceux trouvé par DEMBELE au Mali en 2019 qui a trouvé 50 % dans les prélèvements bronchique, 26, 8 % dans les pus et 23, 2 % dans les urines [80]. Cette différence dans différentes études peu être due à la taille de notre échantillon.

### **Résistance aux antibiotiques des espèces isolés au cours de notre période d'étude :**

#### **➤ Résistance aux Bêta-lactamines :**

Notre étude révèle une résistance assez élevée des souches de *P. aeruginosa* aux pénicillines. Plus de 72 % de résistance à la Ticarcilline et Imipénème reste le plus efficace avec 21, 28 % de résistance dans la présente étude. Ces résultats sont supérieurs à ceux obtenus par DEMBELE au Mali en 2019 [80] qui a eu 34 % de résistance à l'association Pipéracilline +Tazobactam, 23,2 % de résistance à la Ceftazidime, 10,7 % pour Imipénème et 8,9 % pour Meropénème.Ces différences pourraient être expliqué par le choix de l'antibiotiques testé dans les laboratoires.

Pour *A. baumannii* des taux aussi élevés sont associés à la résistance aux Bêta-lactamines dans notre étude. Les résultats en termes de résistance aux antibiotiques retrouvés dans cette étude sont alarmants, et se résume comme suite 75 % de résistance à la Ticarcilline, et la Piperacilline

+Tazactam, et les carbapénèmes, à cloturé la serie des Bêta-lactamine. Le pourcentage d'isolement des souches résistantes a atteint 28,57 % (16) pour Inepénème qui reste la plus faible. Ces résultats montrent la place des carbapénèmes comme antibiotique de référence dans l'infection à *A. baumannii*. Mais il est remis en question depuis l'émergence, à partir des années 1990, de nombreuses épidémies dues à des souches résistantes à l'Imipénème décrites dans plusieurs pays sans répartition géographique particulière. Cette résistance est liée principalement à la production d'Oxacillinases ayant une activité Carbapénémase [86]. Ces pourcentages rejoignent ceux rapportés par SOGORE [76] au Mali en 2018 avec plus de 80 % de résistances aux Bêta-lactamine à l'esception de l'Imipénème la molécule la plus actif 17,65 %. Dembele [80] a fait un état de 47,4 % de résistance à Piperacilline +Tazactam et à la ceftazidine ; 52,6 % de résistance à la Ticarcilline et 31,6 % de résistance à l'Imipénème. En effet, *A.baumannii* possède naturellement des mécanismes de résistance aux Bêta-lactamines notamment l'hyperproduction de céphalosporinase chromosomique auxquels va se rajouter sa capacité à acquérir facilement de la résistance en impliquant plusieurs mécanismes de résistance : enzymatique, par efflux et par imperméabilité [87].

➤ **Résistance aux aminosides des espèces isolées :**

Pour le *P. aeruginosa* nous avons enregistré les résultats suivants 23, 40 % (11), 38, 30 % (18) et 31, 91 % (15) respectivement pour la Gentamicine, l'Amikacine et Tobramycine. Par ailleurs en 2018 en Jordanie Al Dawodeyah et Al [88] ont obtenu 50,8 % et 62,3 % de résistance aux aminosides respectivement à l'Amikacine et à la Gentamicine. Le mécanisme prédominant de la résistance aux carbapénèmes chez *P. aeruginosa* reste l'association d'une impernéabilité (défécite en porine et/ou augmentation de l'efflux) à la production de céphalosporinase chromosomique [89]. Ce qui peut expliquer la rareté de ces gènes impliqués dans la résistance aux carbapénèmes dans notre étude.

Pour *A. baumannii* nous avons enrésistré les resultats suivante 64, 29 % de résistance aux Tobramycine, 71, 43 % de résistance pour la Gentamicine et 23, 21 % de résistance pour l'Amikacine qui reste l'aminoside le plus efficace. Ces résultats sont proches de ceux trouvés par SOGORE au Mali [76] qui a fait un état de 62,5 % de résistance à la Gentamicine 39,13 % de résistance aux Tobramycine et cloturé par 28,53 % de résistance pour Amikacine. A noter que la dissémination de la résistance aux aminosides est rapide étant donné que les gènes codant pour les enzymes inactivatrices sont présents sur des plasmides, transposons ou cassettes au

niveau des intégrons [90]. Ces différences pourraient s'expliquer par la taille de notre échantillon et d'autre par un niveau élevé de la résistance plasmidique chez *A. baumannii*.

➤ **Résistance aux fluoroquinolones et autres antibiotiques des espèces isolées :**

Les résultats des Fluoroquinolones de notre étude sont pertinents et se révèlent comme suite la Ciprofloxacine et Ofloxacine de fréquence respective 48,94 % (23) et 34,04 % (16) pour ces deux antibiotiques. La résistance naturelle a été confirmée au Chloramphénicol et au CXT dans notre étude soit 100 % (47) de résistance pour CXT et 97,87 % (46) de résistance au Chloramphénicol suivi par 19,15 % (15) de résistance à la NTF. En fin la CT a été sensible à 100 % pour le *P. aeruginosa*. **DEMBELE** au Mali [80] a obtenu 21,4 % de résistance à la Ciprofloxacine et 30,3 % de résistance à l'Ofloxacine. Cette différence s'explique par la taille de notre échantillon. Le taux de résistance à la Ciprofloxacine rapporté dans cette étude est de 66,07 % et 16,07 % de résistance à Ofloxacine pour *A. baumannii*. **SOGORE** [76] a obtenu 26,09 % de résistance à la Ciprofloxacine et 73,91 % de résistance aux Pefloxacines. Ces taux sont proches de ceux rapportés par **DEMBELE** [80] plus de 50 % de résistance aux Fluoroquinolones. Des mutations dans la cible des quinolones que sont les topoisomérases (*gyrA*, *parC*) pour la ciprofloxacine et d'autre part la pression de sélection dues à l'usage abusif de ces antibiotiques pourrait expliquer cette différence. Quant à la colistine qui fait partie de la famille des Polymyxines elle est souvent la seule alternative thérapeutique pour les souches d'*A.baumannii* résistantes aux carbapénèmes. Les souches étudiées ont gardé une sensibilité constante sur l'antibiogramme. Mais nous avons récolté 32,14 % de résistance pour NTF, 88,15 % de résistance au CXT, 98,21 % de résistance à la chloramphénicol et 3,57 % de résistance pour la CT dans notre étude. Plusieurs études confirment ce résultat mais avec des taux de résistance un peu plus élevés. Une étude réalisée en Algérie rapporte une résistance de l'ordre de 6 % au CHU de Tlemcen et une étude menée en Inde en 2015 rapporte un taux de 4,2 % [91]. Le rapport de l'EARS de 2014 a relevé dans une étude menée sur la sensibilité de 2217 souches d'*A.baumannii* provenant de 17 pays de l'union européenne, que la résistance à la Colistine était de 5 % dont plus de 80 % des souches résistantes étaient rapportées en Grèce et en Italie [92]. Il existe effectivement une grande variabilité dans les taux de résistance aux antibiotiques entre les pays voire même entre les régions. Ce constat peut être expliqué partiellement par les différences entre la taille des populations ainsi que les différences de prévalence de l'infection à *A. baumannii* et l'existence, ou pas, de données nationales de

surveillance de l'*Acinetobacter*. Cette diversité reste surtout liée aux politiques d'utilisation des antibiotiques et aux pratiques d'hygiène au niveau de chaque structure hospitalière [93].

➤ **Résistance aux Bêta-lactamines des espèces isolées selon leur provenance**

Pour le *P. aeruginosa* plus de 50 % de résistance à la Piperacilline + Tazoctam et la Ticacilline aux niveau communautaire et hospitalière, et plus de 60 % de résistance à la Piperacilline +Tazobactam et la Ticacilline aux niveau communautaire et hospitalière pour *A. baumannii*.

➤ **Résistance aux aminosides des espèces isolées selon leur provenance**

A l'exception de la Tobramycine les autres Aminosides ont présenter un niveau de résistances plus élevé au niveau hospitalière pour *P. aeruginosa*. Mais *A. baumannii* a manifeste sa plus grande résistace au niveau hospitalier pour les aminosides.

➤ **Résistance aux fluoroquinolones des espèces isolées selon leur provenance**

Le *P. aeruginosa* et *A. baumannii* sont plus résistant au niveau communautaire qu'hospitalière mais une exception faite par Ofloxacine de l'espèce *A. baumannii*.

➤ **Résistance aux autres antibiotiques des espèces isolées selon leur provenance :**

La résistance naturel et l'efficacité de la colistine a été confirmé pour les deux espèces dans notre etude.

**Phénotype de résistance aux Bêta-lactamines des antibiotiques testés isolées chez les patients en milieu communautaire et hospitalière**

➤ **Les Bêta-lactamines**

Les phénotypes de résistance aux Bêta-lactamines de nos souches montre une dominance du phénotype penicillinase (TEM) au niveau hospitalière pour le *P. aeruginosa* 47,83% suivi par le phénotype Carbapénémase classe B (VIN, IMP) au niveau communautaire pour *A. baumannii* 34,62 %. Ce résultat est différent de SOGORE au Mali en 2018 qui a trouvé 85% du phénotype TIC/PIP [76]. Cette différence s'explique par la méthodologie adaptée.

➤ **Les Aminosides**

Pour les phénotypes de la famille des aminosides nous avons retrouvés que le phénotype GTN était plus retrouvé chez les souches isolées en milieu hospitalière soit 38,46% pour *A. baumannii*. Le phénotype sauvage à manifesté sa dominance au niveau communautaires pour *P. aeruginosa* d'ordre de 58,33 %. Notre résultat est différent de SOGORE [76] qui a trouvé 11,54 %. Cette différence peu être exepliqué par la taille de notre échantillon.

**Prévalence des bactéries multi-résistantes (BMR) au cours de notre période d'étude**

Dans notre étude 33,01 % des souches d'*A. baumannii* sont multi-résistante, et 11,65 % de *P. aeruginosa* sont multi-résistante. Dans l'ensemble de nos souches 44,66 % était multi-résistante. Ceci est différent de ce trouvé par DEMBELE [80] au Mali qui a recolté 31,57 % des souches d'*A.baumannii*.

## 12 Conclusion et Perspectives

### 12.1 Conclusion

L'*A.baumannii* et *P. aeruginosa* occupent une place importante en pathologie hospitalière en raison de leurs grandes capacités à coloniser et leurs persistances dans l'environnement hospitalière, leurs fréquences croissantes, leurs potentiel pathogènes et leurs capacités à acquérir continuellement des résistances. Par conséquent, ces bactéries doivent impérativement faire l'objet de programmes nationaux de surveillance dans tous les pays.

Cette étude a permis de réaliser une description du profil épidémiologique et de la résistance aux antibiotiques des souches d'*A.baumannii* et *P. aeruginosa* isolés au laboratoire PA & KA de Bamako sur une période de 12 mois.

Les résultats de cette étude ont montré la place importante qu'occupe l'infection nosocomiale à *A. baumannii* et *P. aeruginosa* au sein de cette structure privée, une prédominance manifeste au niveau des cliniques qui ont constitué la provenance de 47, 57 % (49) des isolats, soit 25, 24 % (26) pour *A. baumannii* et 22, 33 % (23) de *P. aeruginosa*.

Cette étude a permis de noter des niveaux très élevés de résistance aux antibiotiques en particulier les Bêta-lactamines, les Fluoroquinolones, la Gentamicine et la Ciprofloxacine.

Devant cette situation alarmante qui limite fortement l'arsenal thérapeutique et accroît le risque d'impasse en matière de traitement, il est impératif de rationaliser l'utilisation des antibiotiques et d'améliorer les mesures d'hygiène. La mise en place d'une stratégie de prévention en se basant essentiellement sur la surveillance épidémiologique et l'organisation des soins sont indispensables.

Le laboratoire de microbiologie peut permettre non seulement la surveillance des infections nosocomiales, l'une des pierres angulaires de la prévention, mais aussi peut développer des activités d'analyses complémentaires pour la maîtrise du risque infectieux dans les établissements de santé.

L'*A.baumannii* et *P. aeruginosa* restent les agents les plus redoutables dans les infections nosocomiales car se sont des adversaires difficiles à contrôler et à éliminer, et le traitement optimal des infections aux souches multirésistantes reste encore à établir.

### 12.2 Perspectives

Les données de cette thèse serviront de base pour l'étude moléculaire des gènes associés à la résistance d'*A. baumannii* et de *P. aeruginosa* au laboratoire PA et KA.

**Cette etude moleculaire portera sur :**

- Les genes de résistance associée à la résistance d’*A. baumannii* et de *P. aeruginosa* aux Bêta-lactamines.
- Les genes de résistance associée à la résistance d’*A. baumannii* et de *P. aeruginosa* aux Aminosides.
- Les genes de résistance associée à la résistance d’*A. baumannii* et de *P. aeruginosa* à la Ciprofloxacine et l’Ofloxacine.

## **Recommandations**

### **Au terme de cette étude nous recommandons**

#### ➤ **Au personnel soignant**

- Renouveler les voies veineuses périphériques toutes les 72 heures.
- Respecter les conditions d'asepsie lors de la pose de sonde urinaire et de cathéter.
- Respecter les protocoles de soins
- Gants à usage unique
- Lavage des mains
- Masques

#### ➤ **Aux populations**

- Limitation de l'antibiothérapie empirique à large spectre
- Lavage des mains
- Respecter les modalités d'administration des médicaments et éviter l'automédication.

#### ➤ **Au medecin**

- Demande l'antibiogramme avant toute antibiothérapie
- Adopter les bonnes pratiques de prescriptions et de dispensation des antibiotiques à la population.
- Prendre en compte les résultats des antibiogrammes

#### ➤ **Au ministère de la santé :**

- Mettre en place des programmes nationaux de surveillance et de lutte contre la résistance antimicrobienne.
- Doter les laboratoires de moyens suffisants permettant la surveillance épidémiologique de la résistance aux antibiotiques des souches bactériennes résistantes au laboratoire ;
- Mise en place d'un réseau d'information surtout des populations sur les conséquences d'une utilisation non rationnelle des antibiotiques.
- Mettre en place des comités locaux de lutte contre les infections nosocomiales.
- Assurer la formation continue des agents de santé à la gestion des déchets biomédicaux et à l'hygiène publique

### 13 References

1. Kunin M. Résistance to antimicrobial drugs-a worldwide calamity. *Annals of internal medicine* ; 1993;118(7):557-61.
2. Ouedraogo A ,Pierre HJ , Banuls A-L, Ouédraogo R, Gordreeuil S. Emergence et diffusion de la résistance aux antibiotiques en Afrique de l'Ouest : facteur favorisants et évaluation de la menace. *Med-Sante-Trop* 2017;27(2):147-54.
3. Keita.O. Etude de la sensibilité aux antibiotiques des germes isolés dans les infections ostéo-articulaires. [BAMAKO]: Faculté de médecine de Pharmacie et d'odonto-stomatologie; 2009.
4. Tenover FC. Développement et propagation de la résistance bactérienne aux antimicrobiens: Un aperçu. *Clin Infect Dis* 2001; 33 (Suppl 3): 108S-15S.
5. [www.infectiologie.org.tn/pdf/artescheri.pdf](http://www.infectiologie.org.tn/pdf/artescheri.pdf) consulté le 20/02/2021.
6. BERCHE P, GAILLARD JL ,et SIMONET M. Les bactéries des infections humaines. 1989;Paris : Flammarion(230-9):9.
7. LE MINOR L et VERON M. Bactériologie médicale. Pseudomonadaceae 1989.
8. ABDOU FOUSSAME-KOURAH SLM. Sensibilité et évolution de la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques a l'hôpital du point G [Bamako]: Faculté de médecine de Pharmacie et d'odonto-stomatologie; 2001N°02P53.
9. UWINGABIYE J. *Acinetobacter Baumannii*: Comparaison phénotypique et moléculaire des isolats colonisant et/ou infectant les patients et ceux contaminant l'environnement hospitalière .Univercité Mohamed V Faculté de Médecine et de Pharmacie -RABAT. 2018 N°03118 CSVS.[MAROC].
10. Vincent JL, Rello J, Marshall J, Silva E, Anzueto A, Martin CD, Moreno R, Lipman J, Gomersall C, Sakr Y, Reinhart K. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA* 2009;302(21):2323-9.
11. BRYSKIER A. Fluoroquinolones (I) classification, propriétés physicochimiques, activités antibactériennes et pharmacocinétiques. 1999.
12. Simor AE, Lee M, Vearncombe M, Jones-Paul L, Barry C, Gomez M, Fish JS, Cartotto RC, Palmer R, Louie M. An outbreak due to multiresistant *Acinetobacter baumannii* a burn unit: risk factors for acquisition and management. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2002;23(5):261-7.
13. Elouennass M, Sahnoum I, Zrara A, Bajjou T, Elhamzaoui S. Epidémiologie et profil de sensibilité des isolats d'hémoculture dans une unité de réanimation(2002-2005) *Med Mal Infect* 2008;38(1):18-24.
14. Lahsoun M, Boutayeb H, Zerouali K, Belabbes H, El Mdaghri N. Prévalence et état de sensibilité aux antibiotiques d'*Acinetobacter baumannii* dans un CHU marocain. *Med Mal Infect* 2007; 37(12):828-31.
15. Session spéciale sur la sécurité des patients et la lutte contre les infection dans les services de maternité en vue de l'attiente des OMD LIES au secteur de la santé en Afrique 2011.

16. Denis F, Ploy MC, Bingen C M E, Quentin R. Bacilles à Gram négatif non fermentaires. Bacteriologie Médicale techniques usuelles Masson; 2016;332-4.
17. Farrel PM. The prevalence of cystic fibrosis in the European Union. Journal of Cystic Fibrosis 2008 ;7(5):450-3.
18. *Pseudomonas aeruginosa*: [http://fr.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas\\_aeruginosa](http://fr.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas_aeruginosa), [Consulté le 29/06/2021 à 15h20 mn].
19. Kerem E, Corey M, Kerem B-s, Rommens J, Markiewicz D, Levison H, et al. The relation between genotype and phenotype in cystic fibrosis-analysis of the most common mutation. New England Journal of Medicine 1990;323(22):1517-22.
20. Ratjen F, Doring G. Cystic fibrosis. Lancet 2003;361(9358):681-9.
21. Bellis G, Lemonnier L, Moreau T, Rault G, Ravilly S, Scotet V. Registre français de la mucoviscidose-bilan des données 2007 vaincre la mucoviscidose et Inde Paris, 2010.
22. Dijkshoorn L, and Nemec A. The diversity of the genus *Acinetobacter*. In: Gerischer, U. (Ed), 2008.
23. Munoz-Price LS, Weinstein RA. *Acinetobacter* infection. N Engl J Med 2008 Mar 20; 358(12):1271-81.
24. Jung J, Park W. *Acinetobacter* species as model microorganisms in environmental microbiology: current state and perspectives. Appl Microbiol Biotechnol 2015; 99(6):2533-48.
25. Mosqueda N, Telli M, Huys G, Higgins PG, Seifert H, Lievens B, Roca I, Vila J. *Acinetobacter* *dijkshoorniae* sp. nov., a member of the *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex mainly recovered from clinical samples in different countries. 2016e éd. (Int J Syst Evol Microbiol vol. 66(10):4105-4111.
26. Dunlap CA, Rooney AP. *Acinetobacter* *dijkshoorniae* is a later heterotypic synonym of *Acinetobacter lactucae*. 18<sup>e</sup> éd. Int J Syst Evol Microbiol 2018;68(1):131-132.
27. Nemec A, Radolova-Krizova L. *Acinetobacter* *pakistanensis* Abbas et al .2014 is a later heterotypic synonym of *Acinetobacter bohemicus* Krizova et al . Int J Syst Evol Microbiol 2017;66(12):5614-5617.
28. Nemec A, Radolova-Krizova L Feng et al. *Acinetobacter* *guangdongensis* 2014 is a junior heterotypic synonym of *Acinetobacter indicus* Malhotra et al. 2012. Int J Syst Evol Microbiol 2017; 67(10):4080-4082.
29. Vaneechoutte M, De Baere T, Nemec A, Musilek M, van der Reijden TJ, Dijkshoorn L. Reclassification of *Acinetobacter grimontii* Carr et al 2003 as a later synonym of *Acinetobacter junii* Bouvet and Grimont 1986. Int J Syst Evol Microbiol 2008; 58(Pt 4):937-40.
30. NCBI Taxonomy browser. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/> [Accessed: 27th August 2015].
31. Van Looveren M, Goossens H. ARPAC Steering Group. Antimicrobial resistance of *Acinetobacter* spp. in Europe. Clin Microbiol Infect 2004; 10(8):684-704.

32. Arduino M-J, Carr J, Swenson J. Centers for Disease Control and Prevention. Public health image library, 2004. Disponible sur, <http://phil.cdc.gov/phil/details.asp?pid=6500>. Arduino M-J, Carr J, Swenson J. Centers for Disease Control and Prevention. Public health image library, 2004. Disponible sur <http://phil.cdc.gov/phil/details.asp?pid=6500>.
33. Juni E. Genetics and Physiology of *Acinetobacter*. *Annu Rev Microbiol* 1978; 32:34971.
34. Vila J, Martí S, Sánchez-Céspedes J. Porins, efflux pumps and multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59(6):1210-5.
35. Limansky AS, Mussi MA, Viale AM. Loss of a 29-kilodalton outer membrane protein in *Acinetobacter baumannii* is associated with imipenem resistance. *J Clin Microbiol* 2002; 40(12):4776-8.
36. Smith MG, Gianoulis TA, Pukatzki S, Mekalanos JJ, Ornston LN, Gerstein M, Snyder M. New insights into *Acinetobacter baumannii* pathogenesis revealed by high-density pyrosequencing and transposon mutagenesis. *Genes Dev* 2007; 21(5):601-14.
37. Gaddy JA, Tomaras AP, Actis LA. The *Acinetobacter baumannii* 19606 OmpA protein plays a role in biofilm formation on abiotic surfaces and in the interaction of this pathogen with eukaryotic cells. *Infect Immun* 2009; 77(8):3150-60.
38. Choi CH, Lee JS, Lee YC, Park TI, Lee JC. *Acinetobacter baumannii* invades epithelial cells and outer membrane protein A mediates interactions with epithelial cells *BMC Microbiol* 2008 ; 8 : 216.
39. Obeidat N, Jawdat F, Al-Bakri AG, Shehabi AA. Major biologic characteristics of *Acinetobacter baumannii* isolates from hospital environmental and patients' respiratory tract sources. *Am J Infect Control* 2014; 42(4):401-4.
40. Berrazeg M, Diene S, Medjahed L, Parola P, Drissi M, Raoult D, Rolain J. New Delhi Metallo- $\beta$ -lactamase around the world: An eReview using Google Maps. *Euro Surveill* 2014; 19(20):20809.
41. Kirkgöz E1, Zer Y. Clonal comparison of *Acinetobacter* strains isolated from intensive care patients and the intensive care unit environment. *Turk J Med Sci* 2014; 44(4):6438.
42. Wei WJ, Yang HF, Ye Y, Li JB. New Delhi Metallo- $\beta$ -Lactamase-Mediated Carbapenem Resistance: Origin, Diagnosis, Treatment and Public Health Concern. *Chin Med J* 2015; 128(14):1969–1976.
43. Kurcik-Trajkovska B. *Acinetobacter* spp. - A Serious Enemy Threatening Hospitals Worldwide. *Maced J Med Sci* 2009; 2(2):157–62.
44. Doughari HJ, Ndakidemi PA, Human IS, Benade S. The ecology, biology and pathogenesis of *Acinetobacter* spp.: an overview. *Microbes Environ* 2011; 26(2):10112.
45. Dijkshoorn L, Nemec A, Seifert H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Nat Rev Microbiol* 2007; 5(12):939-51.
46. Michel J, McConnell, Luis Actis & Jeronimo Pachon. *Acinetobacter baumannii*: human infections, factors contributing to pathogenesis and animal models. *FEMS Microbiol Rev* 2013; 37(2):130-55.
47. Henriksen J, Blom J. Correlation between twitching motility and possession of polar fimbriae in *Acinetobacter calcoaceticus*. *Acta Pathol Microbiol Scand B* 1975; 83(2):103-15.

48. Vijayakumar S, Rajenderan S, Laishram S, Anandan S, Balaji V, Biswas I. Biofilm Formation and Motility Depend on the Nature of the *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates. *Front Public Health* 2016; 4:105.
49. Roca I, Espinal P, Vila-Farrés X, Vila J. The *Acinetobacter baumannii* Oxymoron: Commensal Hospital Dweller Turned Pan-Drug-Resistant Menace. *Front Microbiol* 2012; 3:148.
50. Busscher HJ, Bos R, van der Mei HC. Initial microbial adhesion is a determinant for the strength of biofilm adhesion. *FEMS Microbiol Lett* 1995; 128(3):229-34.
51. Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol* 1995;49:711-45.
52. Stephen G.J.Smith, Vivienne Mahon, Matthew A. Lamber & Robert P. Fagan. A molecular Swiss army knife: OmpA structure, function and expression. *FEMS Microbiol Lett* 2007; 273(1):1-11.
53. Lee CR, Lee JH, Park M, Park KS, Bae IK, Kim YB, Cha CJ, Jeong BC, Lee SH. Biology of *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, Antibiotic Resistance Mechanisms, and Prospective Treatment Options. *Front Cell Infect Microbiol* 2017 Mar 13; 7:55.
54. Antunes LC, Imperi F, Carttotti A, Visca P. Deciphering the multifactorial nature of *Acinetobacter baumannii* pathogenicity. *PLoS One* 2001;6(8):e22674.
55. Gaddy JA, Arivett BA, Mc Connell MJ, Lopez-Rojas R, Pachon J, Actis LA. Role of acinetobactin-mediated iron acquisition function in the interaction of *Acinetobacter baumannii* strain ATCC 19606T with human lung epithelial cells, *Galleria mellonella* caterpillars, and mice. *Infect Immun* 2012;80(30):1015-24.
56. Poole K. Aminoglycoside resistance in *pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial agent and chemotherapy* 2005;49(2):479-87.
57. Dougherty TJ, Beaulieu D, Barrett JF. New quinolones and the impact on resistance. *Drug discovery today* 2001;6(10):529-36.
58. Binam JN, Place F, Kalinganine A, Hamade S, Boureima M, Tougiani A, Dakouo J, Mounkoro B, Diaminatou S, Badji M. Effets of farmer managed natural regeneration on livelihoods in semiarid west Africa. *Environmental Economics and policy studies* 17(4):543-575. 2015.
59. OMS. Plan National Antibiotiques. 2019.
60. Ben Hania Oum Elkhir et de Kadir Asma. Etude de la sensibilité aux antibiotiques des souches de *staphylococcus aureus* et d'enterobacteries isolées du lait canellin [thèse en Science en Biologies]. [algerie]: Univercité A-MIRA-Béjais; 2017.
61. Lemée, L. Quels critères microbiologiques pour définir une colonisation ou une infection à *Staphylococcus aureus* et à *Pseudomonas aeruginosa* ? *Rev. Mal. Respir* 2003, 20 (2), pp.69-78. [Bamako]: Faculté de médecine de Pharmacie et d'odonto-stomatologie;
62. Skurnik, D. et al. Andremont, Antibiothérapie sélectionnante. De la théorie à la pratique. *Réanim* 2006, 15 (3), pp.198-204.

63. Institut National de Veille Sanitaire. Résistance aux anti-infectieux, dossier thématique. 2009  
<http://invs.santepubliquefrance.fr/Dossiers-thematique/Maladies-Infectieuses/Résistance-aux-anti-infectieux/Contexte-enjeux-et-dispositif-de-surveillance/Réseaux-et-partenaires/EARS-NET-France> Consulté le 20/04/2021.
64. Houssni B, Herkli H, Madani H, Azzouzi A. Resistances-aux-antibiotique-une-responsabilite-partagee-officinal- Septembre-Octobre 2011,88.pdf.
65. Woiss K. La Resistance bacterienne la nouvelle guerre froide . Mar 2002. (Le Médecin de québec, volume 37) P 8.
66. [http://reflexions.ulg.ac.be/upload/docs/image/jpeg/200803/resistance\\_antibiotiquefr.jpg](http://reflexions.ulg.ac.be/upload/docs/image/jpeg/200803/resistance_antibiotiquefr.jpg).
67. Archambaud.A. Les antibiotiques mode d'action -mecanisme de resistance. Mars 2009;
68. Philippon A, Alert G.  $\beta$ -Lactamases de bacilles à Gram négatif : le mouvement perpétuel ! Ann Biol Clin (Paris) 2006;64[1]:37–51.
69. Livermore DM. Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in pseudomonas aeruginosa: our worst nightmare? Clinical infectious diseases 2002;34 (5)634 -40.
70. Pechère JC, Kohler T. Patterns and modes of beta-lactam resistance in pseudomonas aeruginosa. Clinical microbiology and infection 1999;5:S15-S8.
71. Rodriguez-Martinez J-M, Poirel L, Nordmann P. Molecular epidemiology and mechanisms of carbapenem resistance in pseudomonas aeruginosa. Antimicrobial agents and chemotherapy 2009;53 (11):4783-8.
72. Figueiredo S, Bonnin RA, Poirel L, Duranteau J, Nordmann P. Identification of the naturally occurring genes encoding carbapenem-hydrolysing oxacillinases from *Acinetobacter haemolyticus*, *Acinetobacter johnsonii*, and *Acinetobacter calcoaceticus*. Clin Microbiol Infect 2012;18[9]:907–13.
73. Cornaglia G, Giamarellou H, Rossolini GM. Metallo- $\beta$ -lactamases: a last frontier for  $\beta$ -lactams? Lancet Infect Dis 2011;11[5]:381–93.
74. Kim Y, Bae IK, Jeong SH, Yong D, Lee K. In Vivo Selection of Pan-Drug Resistant *Acinetobacter baumannii* during Antibiotic Treatment. Yonsei Med J 2015;56[4]:928–34.
75. Elabd FM, Al-Ayed MSZ, Asaad AM, Alsareii SA, Qureshi MA, Musa HA-A. Molecular characterization of oxacillinases among carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* nosocomial isolates in a Saudi hospital. J Infect Public Health 8[3]:242–7.
76. SOGORE.A. Surveillance de la résistance aux antimicrobiens des souches d'*Acinetobacter* isolées au laboratoire Rodolphe Merieux du centre d'infectiologie Charles Merieux de Bamako. FAPH;
77. Mahamadi S. Isolement et Etude de quelques Entérobacteries pathogènes dans les eaux usées d'oued Boumerzoug à constantine. [République Algérienne Démocratique et Populaire]: Université des Frères Mentouri Constantine;
78. Durante-Mangoni E, Del Franco M, Andini R, Bernardo M, Giannouli M, Zarrilli R. Emergence of colistin resistance without loss of fitness and virulence after prolonged colistin administration in

- a patient with extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Diagn Microbiol Infect Dis*. Elsevier 2015;82[3]:222–6.
79. Acar J, Carret G, Cavallo JD, Chardon H, Choutet P, Courvalin P et al. Communiqué 1999 du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. *Path Biol* 1999 ; 31p. 1999.
80. S.DEMBELE . Etude de la résistance aux antimicrobiens des souches de *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* isolées en routine à L'INRSPde Bamako. [MALI]: FAPH; 2019.
81. Acar J.H,Chardon P,Coutet P,Couvalin P,Drgeon H,Dubeuil I,Flandrois J.P,Goldstein F,Morel C,Phillippom A,RouveixB,Sirot J,and TABUTR About 9 . ' « Statement of antibiogram comitee of the french society for Microbiology »' *Patologie Biologie* ,43,(1995),pp.1-8.
82. Rebic V, Masic N, Teskeredzic S, Aljicevic M, Abduzaimovic A ,Rebic D. The Importance of *Acinetobacter* Species in the Hospital Environment. *Medical Archives* 2018 ;72(5):325.
83. Shojaei L , Mohammadi M, Beigmohammadi M-T, Doomanlou M,Abdollahai A, Feizabaadi MM et, al. Clinical response and outcome of pneumonia due to multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* in critically ill patients. *Iranian journal of microbiology* 2016;8(5):288.
84. Garcia-Garmendia J-L,Ortiz-Leyba C,Garnacho-Montero J, Jiménez F-J, Pérez-Paredes C, Barrero-Almodovar AE, et al. Risk factors for *acinetobacter baumannii* nosocomial bacteremia in crically ill patients.*Iranian journal of microbiology* 2016 ; 8(5):288.
85. Hashemi NS, Mojiri M ,Kachouyi PY, Eskandari S, Mohammadian M , Alavi L. Prevalence of antibiotic resistance and blaIMP-1 gene among *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burn and urinary tract infections in isfaham, central Iran. *Microbiology Research* 2017 ; 8 (2).
86. Mansour W, Bouallegue O, Jeday S, Naÿja W, Boujaafar N. Caracterisation clinico-épidémiologique des infections à *Acinetobacter baumannii* résistant à l'mipénème au CHU Sahloul, Tunisie. *Ann Biol Clin (Paris)* 2007;65[6]:593–9.
87. Correa AG. *Acinetobacter*. In: Feigin and Cherry's Textbook of Pediatric Infectious Diseases 2014; p. 1568–72.
88. Al Dawodeyah HY , Obeidat N,Abu-Qatouseh FL,Shehabi AA. Antimicrobial resistance and putative virulence genes of *pseudomonas aeruginosa* isolates from patients with respiratory tract infection . *Germs* 2018;8(1):31.
89. Nicolau DP. Carbapenems : a potent class of antibiotics. *Expert opinion on pharmacotherapy* 2008 ;9( 1): 23-37.
90. Coyne S, Courvalin P, Périchon B. Efflux-mediated antibiotic resistance in *Acinetobacter* spp. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55[3]:947–53.
91. BOUDIA M. Etude multicentrique de la résistance aux antibiotiques chez *Acinetobacter baumannii*. Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers; 2014;
92. High prevalence of oxacillinases in clinical multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from the Tshwane region, South Africa – an updateMichelle Lowings1\*, Marthie Magdaleen Ehlers1,2, Andries William Dreyer3 and Marleen Magdalena Kock1,292. *Astagneau P*.

Epidemiologie des infections nosocomiales. Infections nosocomiales. Rev Prat 15 septembre 1998; tome 48 n°=14 : 1525-1529.2015.

93. BOSCHER.C. Epidemie à Acinetobacter Baumannii multirésistant dans un service de reanimation polyvalente : évaluation par cas temoins de l'impact de l'antibiotherapie.2014.

## Annexes

### FICHE SIGNALETIQUE

**NOM :** DOUMBIA

**PRENOMS :** Assana

**Titre :** ETUDE DE LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES ESPECES DE « *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* » ISOLEES DE JANVIER 2020 A DECEMBRE 2020 DANS UN LABORATOIRE PRIVEE A BAMAKO (SUR UNE PERIODE DE 12 MOIS)

**ANNEE UNIVERSITAIRE :** 2021 – 2022

**VILLE DE SOUTENANCE :** Bamako

**NATIONALITE :** Malienne

**SECTEUR D'INTERET :** Epidémiologie -Microbiologie.

**LIEU DE DEPOT :** Bibliothèque de la faculté de Médecine, de pharmacie et d'odontostomatologie du Mali.

#### Introduction :

*A. baumannii* et *P. aeruginosa* sont des pathogènes opportunistes qui émergent ces dernières décennies comme agent d'infections nosocomiales. Leurs résistances naturelles et leurs capacités d'acquérir de nouvelles résistances aux antibiotiques font d'eux les bactéries pionnières dans la multi-résistance.

#### Objectif :

L'objectif de ce travail est de déterminer le profil épidémiologique, et la résistance aux antibiotiques des souches d'*A. baumannii*, et de *P. aeruginosa* isolées des prélèvements à visée diagnostique.

**Matériels et méthodes :** Il s'agit d'une étude rétrospective réalisée au sein du laboratoire PA & KA de Bamako, et portant sur 56 souches d'*A. baumannii* et 47 souches de *P. aeruginosa* isolées dans divers prélèvements hospitaliers et communautaires de Bamako.

L'étude a été conduite du 1er Janvier 2020 au 31 décembre 2020 sur une période de six (12) mois.

#### Résultats :

Au total sur les deux espèces choisies nous avons isolées 103 souches bactériennes durant la période d'étude, avec 56 germes d'*A. baumannii*, et 47 germes de *P. aeruginosa*.

L'analyse épidémiologique a révélé que l'âge moyen des patients infectés par *A. baumannii* et *P. aeruginosa* dans notre étude a été 56,66 avec un écart type de 16,53 pour le sexe masculin et 47,55 avec un écart type de 19,03 pour le sexe féminin et un extrême de 3 à 82 ans pour les deux espèces, le sexe ratio est à 1,34.

L'étude des facteurs de risque a objectivé le rôle majeur de l'immunodépression, l'antibiothérapie, et les procédures invasives.

Ces pathogènes proviennent de l'Urine 56,3 %, suivis par les Pus 32 % et les cliniques privées sont les principales sources d'isolement de ces deux espèces bactériennes.

Une multi résistance aux antibiotiques est très manifeste dans les prélèvements ambulatoires aux différents antibiotiques testés : 72,34 % à la Ticarcilline, la colistine garde une sensibilité à 100 % sur les espèces de *P. aeruginosa*. Pour *A. baumannii* la multi résistance aux antibiotiques est très manifeste dans les prélèvements hospitaliers aux différents antibiotiques testés : 75 % à la Ticarcilline et la colistine reste aussi sensible à 96,43%.

Pour ces deux espèces nous avons obtenus 51,46 % de source hospitaliser et 48,54 % de source ambulatoires dans l'ensemble des isolants.

**Conclusion :** Ces résultats montrent que la résistance des souches isolées est augmentée de façon inquiétante dans cet établissement, et leur émergence représente un sérieux problème thérapeutique et épidémiologique, d'où la nécessité de la mise en place d'un système de surveillance de l'environnement microbien de l'hôpital, les structures privées et l'application stricte des mesures d'hygiène.

**Mots clés :** Profil - *Acinetobacter baumannii* –*Pseudomonas aeruginosa*-Résistance aux antibiotiques-Bamako.

**Results :**

On the whole on the two species chosies we isolated 103 stocks bacterial during the study period, with 56 germs of *A. baumannii*, and 47 germs of *P. aeruginosa*.

The Analysis épidémio-private clinic revealed that the Middle Age of the patients infected by *A. boumannii* and *P. aeuginosa* in our study was 56,66 with a standard deviation of 16,53 fors the male sex and 47,55 with a standard deviation of 19,03 fors the female sex and extremes from 3 to 82 years for the two species, the sex ratio is at 1,34.

The study of the risk factors had objectified the important role of the immunodépression, the antibiothérapie, and the procedures invasive.

These pathogenic comes from the urine 56,3%, followed by the Puses 32% and the cliniques private ones are the independent sources of insulation of these two bacterial species.

A multi resistance to antibiotics is very manifest in the ambulatory taking away with various antibiotics tested : 72,34% with the Ticarcilline, the colistine guard a sensitivity to 100% on the species of *P. aeruginosa*. For *A. baumannii* the multi resistance to antibiotics is very manifest in the taking away hospital with various antibiotics tested : 75% with the Ticarcilline and the colistine remain also sensitive to 96,43%.

For these two species we obtained 51,46% source to hospitalize and 48,54% of source ambulatory in the whole of insulators.

**Conclusion :** These results show that the resistance of the isolated stocks is increased in a worrying way in this establishment, and their emergence represents a serious therapeutic and epidemiologic problem, from where need for the installation of a monitoring system of the microbial environment of the hospital, structures private and the strict application of measurements of hygiene.

**Key words :** Profile - *Acinetobacter baumannii* - *Pseudomonas aeruginosa*-Resistance to antibiotic-Bamako.

## **SERMENT DE GALIEN**

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

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

Je le jure.