

REPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER

EN BIOLOGIE SANTE ET SUBSTANCES

NATURELLES D'INTERETS

OPTION : PHYTOTHERAPIE ET PHARMACOLOGIE DES

SUBSTANCES NATURELLES

Par

DIARRA SAIBA

Année Académique

2021-2022

Numéro d'ordre :

122 / 2022

THEME :

Evaluation de la résistance aux antibiotiques des bactéries isolées dans les unités de soins du Centre Hospitalier Régional de Daloa, Côte d'Ivoire

Date de soutenance : 03 /10/ 2022

Jury

M. ACKAH Jacques Auguste A B Maitre de conférences, UJLOG, **Président**

M. KPOROU Kouassi Elisée, Maitre de Conférences, UJLOG, **Directeur**

M. AKRE Djako Sosthène Thierry, Maitre-Assistant, UJLOG, **Encadreur**

M. EHOUMAN ANO Guy serge Maitre-Assistant, UJLOG, **Examineur**

DEDICACE

Je dédie ce mémoire :

Au tout **Puissant** et **Miséricordieux** : Pour m'avoir accordé la force pour accomplir ce travail.

Je m'incline devant Votre Grâce, Seigneur, car Votre Bénédiction m'a permis de mener à terme ce travail et de le présenter. Fasse qu'en aucun moment je n'oublie Votre Miséricorde et Votre Clémence.

REMERCIEMENTS

Nous ne saurons soumettre ce mémoire à l'appréciation du jury sans manifester toute notre reconnaissance à l'endroit de certaines personnes sans lesquelles le travail n'aurait pu être fait.

-Madame TIDOU Abiba Sanogo, Epouse KONE, Professeur Titulaire d'Ecotoxicologie, Présidente de l'Université Jean Lorougnon Guédé pour les efforts qu'elle fait quotidiennement en vue de la bonne marche de l'institution ;

- Monsieur KONE Tidiani, Professeur Titulaire d'Hydrobiologie, Vice-président chargé de la Pédagogie, de la Vie Universitaire, de la Recherche et de l'Innovation Technologique à l'Université Jean Lorougnon Guédé qui a toujours été disponible pour répondre à nos préoccupations au niveau académique ;

-Monsieur AKAFFOU Doffou Sélastique, Professeur Titulaire de Génétique, Vice-président chargé de la Planification, Programmation et des Relations Extérieures de l'Université Jean Lorougnon Guédé pour son implication au bien-être des étudiants ;

- Madame TONESSIA Dolou Charlotte, Maître de Conférences de Phytopathologie, Directrice de l'UFR Agroforesterie pour sa bonne gestion de l'UFR et son attention aux étudiants ;

- Docteur MONTHAUT Sylvia, Responsable de laboratoire au Centre Hospitaliers Régional de Daloa

- Docteur ACKAH Jacques Auguste Alfred Bognan, Maître de Conférences de biochimie à l'UFR Agroforesterie de l'Université Jean Lorougnon Guédé, responsable de la filière, pour sa disponibilité et ses sages conseils dont nous avons bénéficiés durant toutes ces années ;

-Monsieur KPOROU Kouassi Elisée, Maître de Conférences de Pharmacologie à l'UFR Agroforesterie de l'Université Jean Lorougnon Guédé et Directeur Scientifique de ce travail, pour sa disponibilité, sa rigueur et son sens du travail bien fait.

-Docteur AKRE Djako Sosthène Thierry, Maître-Assistant, qui a bien voulu accepter le volet encadrement de ce travail. Nous vous remercions Docteur pour votre disponibilité et vos critiques pertinentes. Merci infiniment pour votre inestimable soutien scientifique et moral, pour vos précieux conseils et pour votre sympathie ! Vous nous avez beaucoup appris. Merci pour tout ! Que vous prospériez à tous égards !

Monsieur ACKAH Jacques Auguste Alfred Bognan Président du jury de ce mémoire pour avoir accepté de présider, de juger et d'apporter des critiques scientifiques à ce travail.

Monsieur. EHOUMAN ANO Guy serge. Examineur de ce mémoire pour avoir accepté de présider, de juger et d'apporter des critiques scientifiques.

-A tous mes parents sans exception pour tout le soutien dont nous avons bénéficié durant cette quête du savoir, à ma mère mes frères, mes cousins et mes nièces avec qui nous vivons au quotidien. Que DIEU vous le rende au centuple. Je vous souhaite longévité, pour que vous puissiez bénéficier un jour du fruit de mon travail.

Ces bénédictions vont aussi à l'endroit de tous les étudiants de la Biologie santé (2020-2021) sans oublié tous ceux qui ont contribué discrètement à la réalisation de ce mémoire.

TABLE DES MATIERES

DEDICACE.....	i
REMERCIEMENTS	ii
Introduction	1
PREMIERE PARTIE : Généralités.....	3
1. Principales bactéries responsables des infections hospitalières.	3
1.1 <i>Acinetobacter baumannii</i>	3
1.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3
1.3 <i>Escherichia coli</i>	3
1.4 <i>Staphylococcus aureus</i>	4
2. Antibiotiques	4
2.1 Définition et classification des antibiotiques selon leurs familles	4
2.2 Classification et mode d'action des antibiotiques selon leurs familles.	4
2.3 Les conditions d'action des antibiotiques.....	6
3. Résistance bactérienne.....	6
3.1 Phénotypes de la résistance bactérienne des principales bactéries d'infections	6
3.2 Types de résistances bactériennes.....	7
3.2.1 Résistance naturelle des principales bactéries infectieuses.	7
3.2.2 Résistance acquise des principales bactéries infectieuse.	7
4. Facteurs de développement de la résistance bactérienne.....	9
4.1 Prescription inappropriée des antibiotiques.....	9
4.2 Automédication et mauvais usage des antibiotiques.	9
4.3 Mondialisation et augmentation des voyages.	9
5. Antibiogramme par la méthode de diffusion en milieu gélosé.....	9
6. Mécanisme de résistance	11
6.1 Résistance par modification de la cible des antibiotiques	11
6.2 Résistance par diminution de la perméabilité	11

6.3 Résistance par production d'enzymes inactivant les antibiotiques.	12
DEUXIEME PARTIE : Matériel et Méthodes.....	14
2.1 Matériel.....	14
2.1.1 Site et durée de l'étude.....	14
2.1.2 Matériel biologique.....	14
2.1.3 Matériel technique	14
2.1.3.1 Matériel de prélèvement	14
2.1.3.2 Milieux de culture	14
2.1.3.3 Disques antibiotiques.....	15
2.1.3.4 Appareils.....	15
2.2 Méthodes	16
2.2.1 Caractéristiques épidémiologique des souches cliniques	16
2.2.2 Isolement et identification des souches bactériennes issues des surfaces hospitaliers	
2.2.2.1 Mode d'échantillonnage.	17
2.2.2.2 Détermination des caractères cultureux et biochimiques.	17
2.2.3 Etude de la résistance des souches aux antibiotiques par la méthode de diffusion en milieu gélosé.....	20
TROISIEME PARTIE : Résultats et discussion	21
3.1 Résultats.....	21
3.1.1 Caractéristiques épidémiologiques des souches cliniques.....	21
3.1.2 Répartition générale des échantillons en fonctions des services.	21
3.1.3 Profils de résistance des souches cliniques.....	21
3.1.3.1 Profils de résistance des isolats en fonction des services	21
3.1.3.2 Profils de résistance aux antibiotiques testés sur <i>E. coli</i>	22
3.1.3.3 Profils de résistances aux antibiotiques testés sur <i>Klebsiella sp</i>	23
3.1.4 Phénotypes de résistances des souches cliniques	23
3.1.4.1 phénotypes des souches <i>E.coli</i> en fonction des services	23
3.1.4.2 Phénotype de résistance des souches de <i>Klebsiella sp</i> en fonction services	23

3.1.5 Caractères-culturels et biochimiques des souches environnementales.....	24
3.1.5.1 Répartition des échantillons selon les différents sites de prélèvements	24
3.1.5.2 Isolement et Identification des souches bactériennes	26
3.1.6 Profils de résistance des souches environnementales.....	27
3.1.6.1 Tests de sensibilité des souches environnementales.....	27
3.1.6.2 Profils de sensibilités des isolats selon les services hospitaliers.....	27
3.1.6.3 Profils de sensibilités des isolats Non Entérobactéries isolée en Pédiatrie.....	28
3.1.6.4 Profils de sensibilités des isolats de <i>Enterococcus sp</i> isolée en Diabétologie	28
3.1.7 Analyse comparative des profils de résistances des souches cliniques et environnementales	29
3.2 Discussion.....	30
Conclusion.....	32
Perspectives	32
ANNEXE : Matériels utilisés.....	xi

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

- **ATB** : Antibiotique
- **BLSE** : Bêta-Lactamases à Spectre Etendu
- **BMR** : Bactéries multirésistances
- **C1G** : Céphalosporine de première Génération
- **C2G** : Céphalosporines de deuxième Génération
- **C3/4G** : Céphalosporine de 3/4ème Génération
- **C3G** : Céphalosporines de troisième Génération
- **C4G** : Céphalosporines de quatrième Génération
- **CCLin** : Centre de Coordination de la lutte contre les Infections nosocomiales.
- **CHR** : Centre Hospitalier Régional
- **InVS** : Institut national de Veille Sanitaire.
- **OMS** : Organisation Mondiale de la santé
- **PLP** : Protéines Liant les Pénicillines
- **Raisin** : Réseau d'alerte, d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales.
- **SARM** : Staphylocoque aureus Résistant aux Méthicillines
- **SFM-CA** Société Française de Microbiologie-Comité de l'Antibiogramme
- **PDR** : Pan Drug Resistant

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Antibiotiques ciblant la paroi	5
Tableau II : Antibiotiques ciblant les ribosomes.....	5
Tableau III : Répartition des examens bactériologique sur une période de cinq mois.....	21
Tableau IV : Sites de prélèvement dans les différents services de santé	25
Tableau V: Caractères cultureux et biochimiques des isolats en fonction des services hospitaliers	26

LISTE DES FIGURES

Figure 1: AntibioGramme par méthode de diffusion sur gélose de Muller-Hinton.....	10
Figure 2 Mode d'action et stratégies de résistance des bactéries	13
Figure 3: Répartition des services en fonction des services.....	22
Figure 4: Histogramme des profils de résistances aux ATB testés sur <i>E.coli</i>	22
Figure 5 : Histogramme des Profils de résistance aux antibiotiques testés sur la souche de <i>Klebsiella sp</i>	23
Figure 6 : Phénotype de résistance de la souche <i>E. coli</i> dans les services	24
Figure 7 : Phénotype de résistance de <i>klebsiella sp</i>	24
Figure 8 : Profils de sensibilité des souches d' <i>E coli</i> isolées dans l'environnement hospitalier dans le service de chirurgie	27
Figure 9 : Profils de sensibilité des souches <i>K. pneumoniae</i> isolées dans l'environnement hospitalier au service de chirurgie.....	28
Figure 10 : Profils de sensibilité des souches non entérobactéries isolées dans le service de Pédiatrie.....	28
Figure 11 : Profils de sensibilité de la souche <i>Enterococcus sp</i> isolée dans l'environnement hospitalier au service de Diabétologie	29
Figure 12 : Histogramme de taux de similitude des phénotypes résistants dans les différents services	29

INTRODUCTION

Introduction

La découverte des antibiotiques a révolutionné les pratiques de la médecine et ont laissé croire que le combat contre les infections bactériennes était gagné (Avorn & Solomon, 2000). Toutefois, l'avancée médicale extraordinaire de l'ère des antibiotiques est aujourd'hui mise en danger par la menace grandissante que constitue la résistance bactérienne aux antibiotiques. (Avorn & Solomon, 2000). En effet l'émergence et la diffusion de ces résistances bactériennes aux antibiotiques représentent une réelle menace pour la santé publique mondiale. Par ailleurs, les données récentes de la bibliographie abordant la description de bactéries multirésistantes voire toto-résistantes aux antibiotiques dont le nombre ne cesse de croître aussi bien dans les pays industrialisés que dans les pays en développement (Rossolini & Montengoli, 2008). C'est ainsi que, la résistance à la pénicilline s'est développée dans les années 1950, aux céphalosporines de première génération, dans les années 1970 aux céphalosporines de deuxième génération et dans les années 1990 aux céphalosporines de troisième génération. Au cours des dernières années, la fréquence et l'ampleur des infections causées par ces bactéries résistantes ont augmenté autant en milieu hospitalier qu'en milieu communautaire (Conly, 2002).

Aujourd'hui cette résistance bactérienne peut être observée chez presque toutes les bactéries potentiellement pathogènes. Il est également à constater qu'en milieu hospitalier, les surfaces sont régulièrement colonisées par des microorganismes, qui sont d'origines diverses, et peuvent être issus des patients, du personnel soignant ou des visiteurs (Bertrou, 2000). Ces surfaces constitueraient une niche écologique de bactéries multirésistantes pouvant être un réservoir à partir duquel des infections nosocomiales peuvent se contracter selon (Talon, 1999). Or Les études épidémiologiques récentes montrent l'implication de la surfaces dans la survenue des infections nosocomiales reste encore mal documentée, à l'exception des cas sporadiques de légionellose, d'aspergillose ou de mycobactérioses dues à des *Mycobactéries atypiques* (Alberti *et al.*, 2001). Malgré cette situation, les pays développés ont intégré la surveillance des surfaces de l'environnement hospitalier dans la prévention des infections nosocomiales (Breack, 1981).

En Côte d'Ivoire, la résistance des bactéries aux antibiotiques est une véritable préoccupation pour le personnel soignant et pour les malades, comme l'atteste plusieurs publications (Guessennd *et al.*, 2004; Gbonon *et al.*, 2007; Guessennd *et al.*, 2008). La présence des bactéries résistantes dans les unités de soins hospitaliers pourrait donc être un

maillon important dans la dissémination et la circulation des gènes de résistance véhiculés par ces bactéries. C'est ainsi que l'on se pose la question de savoir :

Les bactéries qui circulent dans les unités de soins du Centre Hospitalier Régional de Daloa sont-elles résistantes aux antibiotiques ?

Enfin d'édifier ce problème, l'objectif de notre travail visera à évaluer la résistance aux antibiotiques des bactéries isolées dans les unités de soins du Centre Hospitalier Régional de Daloa, Côte d'Ivoire

De façon spécifiquement il s'agira de :

- Décrire les caractéristiques épidémiologiques des souches cliniques.
- Isoler et identifier les souches microbiennes dans l'environnement hospitalier
- Comparer les profils de résistance des souches cliniques et des souches environnementales.

Outre l'introduction, ce présent mémoire est structuré en trois parties. La première aborde les généralités, la seconde décrit le matériel et les méthodes utilisés et la troisième rend compte des résultats et discussion qui leurs sont appliqués. Enfin il terminera par une conclusion et des perspectives

PARTIE I : GENERALITES

PREMIERE PARTIE : Généralités

1. Principales bactéries responsables des infections hospitalières.

1.1 *Acinetobacter baumannii*

A. baumannii est un coccobacille à Gram négatif ubiquitaire commensal des zones humides de la peau et du tube digestif (Nordman, 2004). *Acinetobacter baumannii* est un pathogène opportuniste qui émerge comme agent d'infections nosocomiales (Elbaaj *et al.*, 2003) ; sa capacité d'acquérir et d'accumuler les facteurs de résistance à de nombreux antibiotiques s'ajoute à un fort potentiel épidémique, ces caractéristiques en font un agent d'infections nosocomiales de prédilection particulièrement chez les sujets fragilisés hospitalisés en soins intensifs ou en chirurgie (Benhaj & Khedher, 2010). Cette bactérie peut causer des pneumopathies chez les patients ventilés, septicémies. Ces infections peuvent évoluer sur un mode épidémique dans le service de réanimation (Benhaj et Khedher, 2010).

1.2 *Pseudomonas aeruginosa*

P aeruginosa est un bacille à Gram négatif, saprophyte de l'environnement, et peut coloniser certains appareils comme l'appareil respiratoire, le tractus urinaire ou certaines plaies cutanées chroniques (Pier et Ramphal, 2005). D'un point de vue de sa pathogénicité, *Pseudomonas aeruginosa* est considéré comme une bactérie opportuniste, provoquant des infections chez des patients ayant une diminution de leur système de défense immunitaire mais également physique (Navon-Venezia *et al.*, 2005). *Pseudomonas aeruginosa* est le troisième germe pathogène responsable d'infections nosocomiales après *E. coli* et *Staphylococcus aureus*. Le taux de prévalence des infections nosocomiales en réanimation est de 29% avec une prédominance de pneumopathies (33%) ; *Pseudomonas aeruginosa* est aussi responsable de 22% des infections respiratoires (Raisin, 2001).

1.3 *Escherichia coli*

C'est une entérobactérie mobile, commensale du tube digestif, représente l'espèce dominante de la flore intestinale aérobie, où il participe à la barrière intestinale (Faure, 2009). Elle se trouve sous forme de bacille à bout arrondi, Gram négatif, qui ne possède pas de capsule (Haouzi, 2013). *E. coli* est la bactérie qui cause le plus souvent les infections urinaires communautaires qu'elles soient basses (cystite) ou hautes (pyélonéphrite), l'infection des voies urinaires se fait en général par voie ascendante et elle est plus fréquente chez la femme en raison de la brièveté de l'urètre. Chez l'homme, l'infection est généralement secondaire à

un obstacle sur les voies urinaires, et peut entraîner des prostatites. Elle est également impliquée dans les infections urinaires nosocomiales (Breche *et al.*, 1988).

1.4 *Staphylococcus aureus*

C'est une bactérie commensale de la peau et des muqueuses dont la niche principale est la fosse, la colonisation est définie comme le portage asymptomatique de la bactérie et concerne environ 30 à 50% de la population générale au niveau nasal. D'autres sites peuvent également être colonisés par *Staphylococcus aureus* tels que le pharynx, l'intestin, le périnée, la peau et les aisselles. Si l'être humain est le principal réservoir, ces bactéries sont également retrouvées dans l'environnement (eau, air, surfaces, aliments) et chez l'animal, notamment d'élevage (Alexander *et al.*, 2011). Bien qu'étant commensal, *Staphylococcus aureus* est également responsable d'un grand nombre d'infections, notamment des infections cutanées et des infections des muqueuses (Reo, 1963).

2. Antibiotiques

2.1 Définition et classification des antibiotiques selon leurs familles

Un antibiotique est une substance chimique produite par un microorganisme (le plus souvent un champignon) et capable de détruire (bactéricide) ou d'empêcher la croissance d'autres microorganismes (bactériostatique). Par extension, toute substance synthétique susceptible d'empêcher le développement des microorganismes est appelée antibiotique. Le premier antibiotique connu, la sulfanilamide (sulfamide) a été isolé en 1935 (Mazri, 2015).

2.2 Classification et mode d'action des antibiotiques selon leurs familles.

Les différents antibiotiques exploités en médecine thérapeutique peuvent être classés par famille chimique et par leurs modes d'action. Les cibles décrites jusqu'à présent sont la paroi, la membrane, l'acide nucléique et les ribosomes des micro-organismes (Bégué & Astruc, 1999). Celles qui ciblent la paroi bactérienne ont trois modes d'action représentés dans le tableau I (Bégué & Astruc, 1999)

Tableau I : Antibiotiques ciblant la paroi

Modes d'actions	familles
Inhibiteurs de la transpeptidase	Pénicilline : Céphalosporines de 1 ^{ère} , 2 ^{ème} et 3 ^{ème} générations
Inhibiteurs de la polymérisation du peptidoglycane	Glycopeptides
Inhibiteurs de la formation d'acide N-acétyl muramique	Fosfomycine

Les antibiotiques qui ciblent la membrane plasmique sont de type polypeptidique présentent une toxicité lors de leur administration. Ce sont des molécules naturelles produites par des bactéries du genre *Bacillus*. On peut citer pour ce genre d'antibiotiques les polymexines B et les Erythromycines. (Bégué & Astruc, 1999).

Les antibiotiques qui ciblent les ribosomes interfèrent avec la synthèse protéique en induisant des erreurs de synthèse ou en inhibant cette synthèse. La cellule bactérienne est ainsi dans une incapacité de synthétiser des protéines qui lui sont vitales. Les familles des antibiotiques concernées ainsi que leur mode d'actions sont présentées par le Tableau II (Bégué & Astruc, 1999).

Tableau II : Antibiotiques ciblant les ribosomes

Mode d'actions	Familles
Inducteurs d'erreur de décodage	Aminosides
Inhibition de l'élongation par cible P	Macrolides Lincosamides Synergisines
Inhibition de l'activité de la peptidyl-transférase	Phénicoles
Inhibition de la fixation de l'ARN de transfert	Cyclines

En ce qui concerne les antibiotiques qui ciblent l'ARN et l'ADN, on en dénombre la famille des rifamycines et la rifabutine qui sont des molécules hémi synthétisées à partir de la rifamycine B. En se liant à l'ARN polymérase, ces antibiotiques bloquent la formation de la

chaîne d'ARN messager. Par conséquent, on assiste à un arrêt de la synthèse protéique. Les rifamycines sont des antibiotiques actifs sur les bactéries à Gram positif, sur *Mycobacterium*, quelques bactéries à Gram négatif et surtout les *Neisseria meningitidis* (méningocoque). L'ADN est la cible des quinolones, qui forment une large famille d'antibiotiques de synthèse et dérivent de l'acide nalidixique. Ils sont caractérisés par un large spectre d'activité, une bonne biodisponibilité orale, et une bonne diffusibilité dans les tissus (Bégué & Astruc, 1999).

2.3 Les conditions d'action des antibiotiques.

Les conditions pour qu'un antibiotique agit sur sa cible ; il faut qu'il possède d'abord, une cible bactérienne spécifique. Ensuite demeurer sous forme active sur la cible puis accéder à cette cible enfin d'interagir efficacement, en l'inactivant. Si l'une des conditions n'est pas respectée alors la bactérie développe des stratégies pour devenir résistante (Monique, 2015).

3. Résistance bactérienne

En thérapie, une souche est dite « résistante » lorsque la concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter est notablement plus élevée que la concentration atteignable in vivo (Haskouri, & Weiss 2002).

En clinique, une bactérie est dite « résistante » quand elle échappe à l'action de l'antibiotique supposé actif, prescrit au malade. Elle se manifeste par un échec clinique relatif ou absolu de l'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 (Haskouri, & Weiss 2002).

En génétique, une bactérie est dite « résistante » quand elle héberge des gènes codant pour cette résistance, ce qui se traduit comme un changement dans le code génétique du micro-organisme, codant ainsi un gène altéré (Haskouri, & Weiss 2002).

3.1 Phénotypes de la résistance bactérienne des principales bactéries d'infections

La lecture de l'antibiogramme permet d'obtenir l'expression phénotypique, c'est-à-dire de déterminer la sensibilité de la souche vis-à-vis d'un nombre déterminé d'antibiotique. Si la souche n'exprime que des résistances naturelles, on dit qu'elle appartient au phénotype "sauvage" ou sensible. Si elle exprime un phénotype acquis de résistance identifiable on doit tenter d'en déterminer le mécanisme. Ces phénotypes sont souvent désignés par les initiales des antibiotiques devenus inactifs : ainsi une souche résistante à la

kanamycine, à la tobramycine et à la gentamicine appartient au phénotype KTG (Lahlou & Baaj, 2002).

3.2 Types de résistances bactériennes

3.2.1 Résistance naturelle des principales bactéries infectieuses.

Si les antibiotiques, molécules naturelles, sont synthétisés par la plupart des micro-organismes pour supplanter d'autres micro-organismes dans un environnement donné, ces substances peuvent ne pas être actives sur tous les micro-organismes. On dira que ces micro-organismes ont une résistance naturelle vis-à-vis de cette molécule. La résistance naturelle à un antibiotique donné est un caractère présent chez toutes les souches de la même espèce. C'est ainsi que, les bacilles à Gram négatif sont naturellement résistants aux antibiotiques hydrophobes car ces molécules ont des difficultés à passer la membrane externe de leur paroi. Les mycoplasmes, bactéries dépourvues de parois présentent une résistance naturelle aux bêta-lactamines, puisque le mode d'action de cette famille d'antibiotique consiste à inhiber la synthèse du peptidoglycane. Ce type de résistance est détecté dès les premières études réalisées afin de déterminer l'activité antibiotique, et contribue à définir son spectre antibactérien (Henriques & Normar, 2002)

3.2.2 Résistance acquise des principales bactéries infectieuse.

La résistance bactérienne acquise à un antibiotique est un phénomène qui apparaît au niveau des souches d'une espèce donnée, normalement sensible à cet antibiotique. C'est l'acquisition d'un facteur génétique qui se traduit par une réduction de la sensibilité à la molécule qui lui était fatale. Elle peut donc se faire soit par mutation chromosomique, soit par acquisition des gènes transférés d'un autre microorganisme-(Henrique *et al.*, 2002).

3.2.2.1 Résistance par mutation chromosomique

Les résistances bactériennes par mutation chromosomique sont induites par des modifications structurales pouvant se traduire soit par un problème de perméabilité à un ou plusieurs antibiotiques, soit en rendant les cibles spécifiques des antibiotiques indifférentes. La résistance chromosomique est un phénomène qui présente plusieurs caractères exceptionnels. Il s'agit premièrement de sa rareté puisqu'il intervient en moyenne tous les 105 à 110 divisions de la bactérie. Ensuite, elle possède un caractère aléatoire car l'antibiotique n'est par une molécule mutagène, donc n'induit pas de mutation chez la bactérie. Cependant, l'antibiotique participe à la sélection des bactéries mutantes. On note aussi son caractère spécifique (affecte un antibiotique ou une famille d'antibiotiques qui ont le même mécanisme d'action), son indépendance et son absence de transmissibilité (Courvalin *et al.*, 2001)

3.2.2.2 Résistance par acquisition de gènes

Il s'agit ici de la résistance par un gain d'ADN extra-chromosomique le plus souvent un plasmidique. Le plasmide est un fragment d'ADN extra-chromosomique. Ces fragments d'ADN peuvent être transmis d'une bactérie donneuse à une autre bactérie dite receveuse ; cette transmission peut se faire entre deux espèces différentes de bactéries. A travers ce mécanisme, on se trouve face à une facilité d'acquisition de résistance et même de multi-résistance contrairement à celle acquise par mutation d'ADN chromosomique. Ce mode d'acquisition de résistance peut se faire selon trois mécanismes différents dont la transduction (avec un bactériophage comme vecteur), la transformation (capture d'ADN par la bactérie) et la conjugaison (transfert de plasmide d'une bactérie à une autre qui peut être d'espèce différente) (Baudry & Brézellec, 2006).

- **Transduction**

Dans la transduction, un virus bactériophage incorpore une séquence d'ADN d'une bactérie ; et la transmet à une autre bactérie (figure 1). Du fait de la spécificité des bactériophages, ce phénomène n'a lieu que pour les bactéries de la même espèce (Baudry & Brézellec, 2006).

- **Transformation**

La transformation est le résultat d'un réarrangement de séquences d'ADN échangées entre 2 bactéries. On peut alors obtenir de nouveaux gènes de résistance. Ce processus se fait généralement entre bactéries de genre proche car il doit y avoir une forte analogie entre les séquences nucléotidiques pour permettre la recombinaison (Baudry & Brézellec, 2006).

- **Conjugaison**

Dans le phénomène de conjugaison, une bactérie donneuse transmet à une bactérie receveuse une copie de son plasmide porteur de gène de résistance (appelé plasmide R ou facteur R). Ce mécanisme peut s'effectuer entre bactéries de la même espèce, au sein d'un même genre, ou parfois entre bactéries de genres différents d'où son efficacité. Par exemple, *Staphylococcus aureus* peut échanger du matériel génétique avec *E. coli*. Un plasmide peut contenir différents gènes de résistance. L'utilisation d'un seul des antibiotiques contre lesquels le plasmide est efficace permet alors sa sélection et son maintien dans son intégralité (Baudry & Brézellec, 2006).

4. Facteurs de développement de la résistance bactérienne.

Les gènes de résistance aux antibiotiques se dissémineraient dans le monde principalement par deux voies: par diffusion clonale d'une bactérie résistante et par transferts horizontaux, puisque la plupart des gènes de résistance ont été identifiés sur des éléments génétiques mobiles (Transposons, cassettes de gène, plasmides, etc.). Toutefois, de nombreux facteurs, dus à l'Homme ou à l'environnement, peuvent favoriser cette dissémination (Allen *et al.*, 2010).

4.1 Prescription inappropriée des antibiotiques.

En milieu hospitalier, la plupart des malades atteints d'infections sont admis en urgences et souvent examinés par les médecins jeunes et moins expérimentés et par conséquent sont les plus sujets aux prescriptions inappropriées. Parmi ces dernières, on cite les mauvaises indications, l'inadéquation en posologie, en mode d'administration et en durée du traitement (Serragui *et al.*, 2013).

4.2 Automédication et mauvais usage des antibiotiques.

L'automédication antibiotique se caractérise par un traitement injustifié, un choix inapproprié de l'antibiotique, l'emploi de doses insuffisantes et une durée de traitement inadéquate. L'utilisation inappropriée des antibiotiques augmente le risque de sélection de bactéries résistantes conduisant à l'émergence de résistance bactérienne. De plus, les souches bactériennes résistantes se propagent rapidement entre individus dans des environnements où les conditions sanitaires sont défectueuses (Hounsa *et al.*, 2010).

4.3 Mondialisation et augmentation des voyages.

La mondialisation et l'augmentation des voyages peuvent être également mises en cause dans la diffusion des résistances aux antibiotiques. Dans les pays en développement, les traitements des maladies infectieuses ne sont pas toujours adéquats ou respectés comme ils le devraient par manque de moyens financiers, ou une sous-utilisation des souches résistantes. L'augmentation du transit entre ces pays et les pays développés favoriserait ensuite la dissémination de ces bactéries résistantes aux autres continents (MacPherson *et al.*, 2009).

5. Antibiogramme par la méthode de diffusion en milieu gélosé

L'antibiogramme est l'analyse permettant de déterminer la sensibilité d'une bactérie à un panel d'antibiotiques. L'une des techniques de base utilisée est l'antibiogramme par la méthode de diffusion en milieu gélosé utilisant des disques calibrés imbibés d'antibiotique.

Pour se faire, on dépose un inoculum standardisé de la bactérie à étudier sur une gélose Mueller-Hinton (MH). La composition de ce milieu (que ce soit pour les méthodes en milieu gélosé qu'en milieu liquide) est standardisée, notamment en ions calcium, magnésium et en thymine. Cette gélose peut être additionnée de sang de cheval défibriné et bêta-NAD pour les bactéries de croissance exigeante comme le pneumocoque ou les streptocoques *Haemophilus influenzae*.

Pour certaines bactéries, un milieu différent que le milieu MH est utilisé : *Neisseria gonorrhoeae* avec une gélose chocolat Polyvitex® et pour les anaérobies, avec une gélose additionnée de sang de mouton, vitamine K1 et hémine. Pour certaines bactéries, un milieu différent que le milieu MH est utilisé (*Neisseria gonorrhoeae* : gélose chocolat Polyvitex® et pour les anaérobies, gélose Brucella additionnée de sang de mouton, vitamine K et hémine).

La gélose imprégnée de disques est ensuite mise à incuber dans une étuve à $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant $20\text{h} \pm 4\text{h}$. Les diamètres d'inhibition présents autour du disque sont mesurés, lus et interprétés selon les recommandations et les critères de l'EUCAST, par comparaison avec des diamètres critiques (Delarras, 2007).

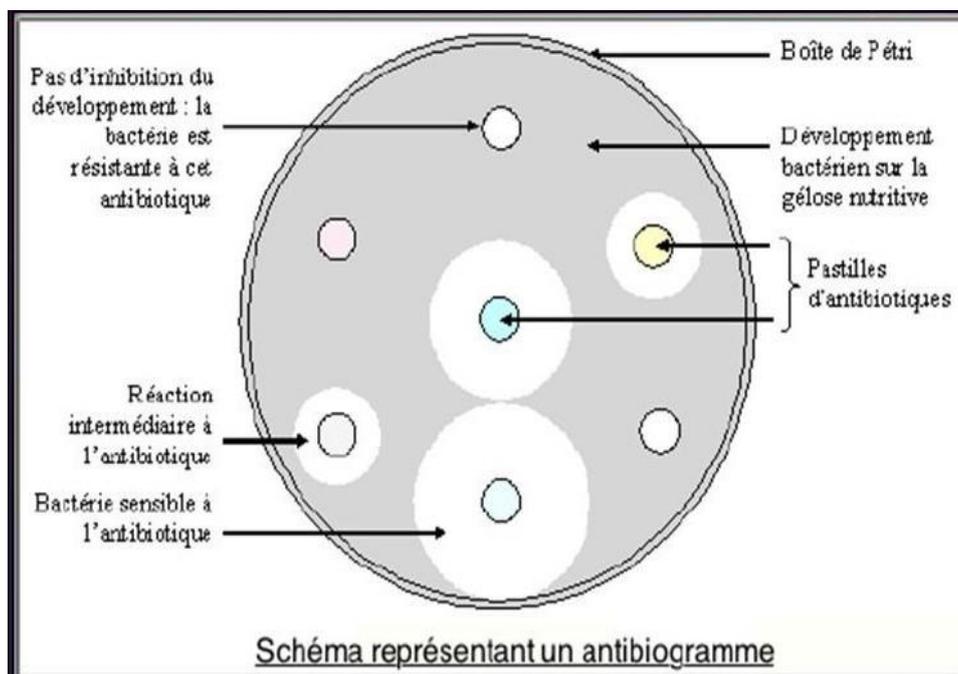


Figure 1: Antibiogramme par méthode de diffusion sur gélose de Muller-Hinton (Haute garonne. Gouv. Visite sanitaire, 2019)

6. Mécanisme de résistance

6.1 Résistance par modification de la cible des antibiotiques

Exemple modification des PLP.

Les PLP sont des enzymes qui catalysent l'étape finale de la biosynthèse du peptidoglycane (paroi bactérienne) ; et qui sont la cible des bêta-lactamines : (en se fixant aux PLP les bêta-lactamines les empêchent de jouer leur rôle ; la synthèse du peptidoglycane est donc entravée). Trois mécanismes peuvent intervenir :

diminution de l'affinité des PLP pour le bêta-lactamase ex. : *Streptococcus pneumoniae*; les bêta lactamines ont du mal à se fixer aux PLP qui restent disponibles pour la synthèse du peptidoglycane, ensuite augmentation de la synthèse des PLP existantes avec hyperexpression de PLP possédant naturellement une faible affinité pour les bêta lactamase ex. : *Enterococcus spp* ; cf. cas précédent avec en plus une augmentation du nombre de PLP disponibles pour la synthèse du peptidoglycane ce qui conduit à une impossibilité pour une même dose de bêta-lactamines de toutes les bloquer enfin synthèse de plusieurs nouvelles PLP insensible aux bêta-lactamases ex *Staphylococcus aureus*

L'acquisition et l'intégration dans le chromosome d'un gène (*mecA*), d'origine mal connue, induit la synthèse d'une nouvelle PLP. La PLP 2a confère une résistance à toutes les bêta-lactamines, et une diminution de la production de la PLP1a a été associée à la résistance à l'imipénème et au mecillinam chez *Proteus mirabilis*. Ces mutations restent rares chez les entérobactéries (Robina *et al.*, 2012).

6.2 Résistance par diminution de la perméabilité

L'efflux repose sur une pompe insérée dans la membrane et capable d'éjecter l'antibiotique hors de la bactérie grâce à un canal ; cet efflux conduit à une diminution de la concentration intracellulaire de l'antibiotique. La modification ou la perte de porines est assez fréquente chez les entérobactéries. Trois phénotypes de résistances sont associés à ces modifications : (i) une résistance de bas niveau à la céfoxine, associée ou non à une résistance de bas niveau aux Céphalosporines de 1^{ère} et 2^{ème} générations ,(ii) une résistance isolée aux Céphalosporines de 4^{ème} génération chez des souches hyper-productrices de Céphalosporinases, et (iii) une résistance au Carbapénèmes chez des souches hyper-productrices de Céphalosporinases ou de BLSE (Robina *et al.*, 2012).

L'implication des systèmes d'efflux dans la résistance aux β -lactamines a été clairement identifiée dans plusieurs études en particulier chez *Klebsiella pneumoniae*.

Cependant, ce type de mécanisme touchant préférentiellement la céfoxitine et les Céphalosporines de 2^{ème} génération semble difficile à distinguer du point de vue phénotypique des résistances par modification des porines (Robina *et al.*, 2012).

6.3 Résistance par production d'enzymes inactivant les antibiotiques.

Exemple production de bêta-lactamases codées par des plasmides ou des éléments génétiques transposables. Le nombre des bêta-lactamases plasmidique est très élevé et elles sont classées selon leurs vitesses d'hydrolyse, leurs constantes d'affinité pour les bêta-lactamines, leur faculté à être inhibée par les inhibiteurs tel que l'acide clavulanique. Sur un plan pratique, les bêta-lactamases peuvent être regroupées en 4 catégories (Robina *et al.*, 2012).

5.3.1 Catégorie des Pénicillinase acquises.

La production de pénicillinase acquise confère différents niveaux de résistance en fonction de la quantité d'enzyme produite. Le phénotype peut donc varier entre une résistance limitée aux amino et carboxypénicillines,. Dans de rares cas, l'hyperproduction de pénicillinase engendre une diminution de sensibilité à la ceftazidime, associée à une résistance à toutes les pénicillines, seules ou associées aux inhibiteurs et aux céphalosporines de 1^{ère} et 2^{ème} génération. Ce dernier phénotype de résistance se distingue difficilement de celui conféré par les BLSE acquises (Robina *et al.*, 2012,).

6.3.2 β -lactamase à spectre étendu (BLSE).

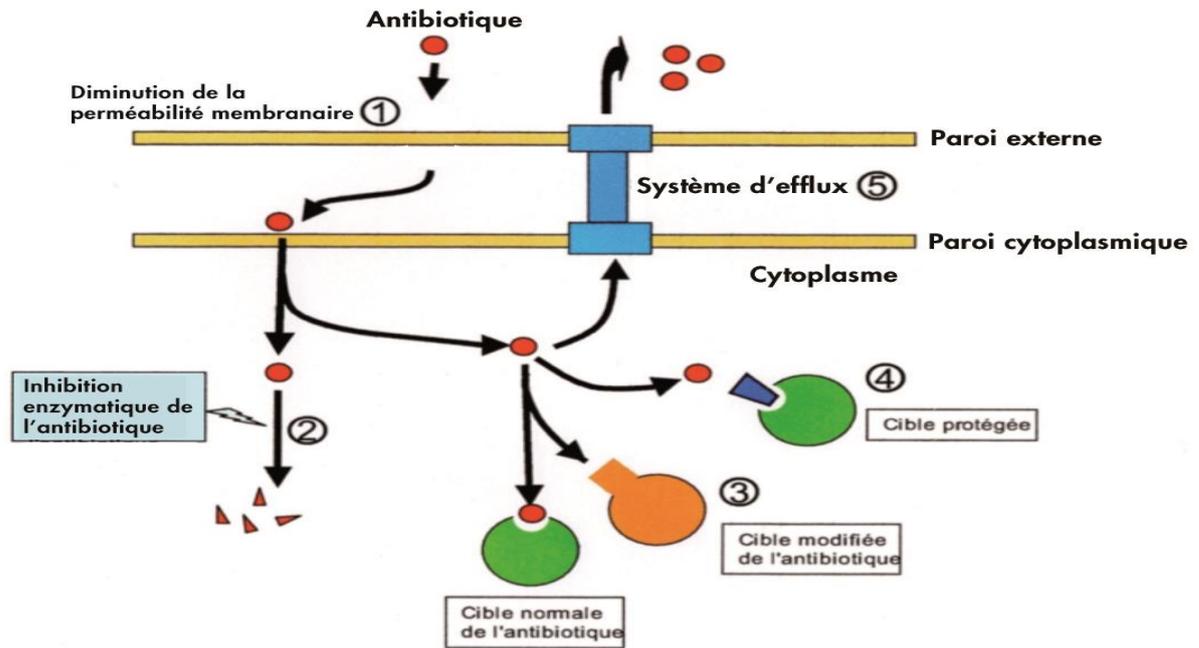
Elles dérivent des enzymes précédentes par mutation des gènes codant pour les bêta lactamases à spectre élargi. Le profil de résistance conféré est identique à celui conféré par les bêta-lactamases à spectre élargi mais, il s'étend aux céphalosporines de 3^{ème} génération et à l'aztréonam. Les BLSE restent sensibles aux inhibiteurs.

Les bêta-lactamases résistantes aux inhibiteurs; elles dérivent de certaines bêta-lactamases à spectre élargi par mutations ponctuelles. Le profil de résistance conféré est identique à celui des bêta-lactamases à spectre élargi mais ces enzymes ne sont pas inhibées par l'acide clavulanique, le sulbactam ou le tazobactam (Robina *et al.*, 2012).

6.3.3 Hyperproduction d'enzymes chromosomiques

Chez certaines espèces, l'hyperproduction de l'enzyme chromosomique par mutation du promoteur ou du système de régulation peut aboutir à des phénotypes proches voire identiques à ceux conférés par les BLSE plasmidiques. Dans le cas de *Klebsiella oxytoca*, on

observe cependant un phénotype typique associant une résistance à toutes les pénicillines seules ou en association avec des inhibiteurs et une résistance prédominante à l'aztréonam, plus rarement aux céfotaxime et ceftriaxone et pratiquement jamais à la ceftazidime. Pour les autres espèces, le phénotype est difficile à distinguer de celui d'une BLSE plasmidique, mais ces dernières restent peu prévalentes dans ces espèces (Robin *et al*, 2011 ; Robina *et al*, 2012).



- (1) Diminution de la pénétration de l'antibiotique dans la bactérie.
- (2) L'antibiotique peut être inactivé par l'action d'une enzyme.
- (3) La modification de la cible empêche la fixation de l'antibiotique.
- (4) La protection de la cible empêche la fixation de l'antibiotique.
- (5) Les systèmes d'efflux provoquent une élimination de l'antibiotique hors de la cellule.

Figure 2 Mode d'action et stratégies de résistance des bactéries

PARTIE II : MATERIEL ET METHODES

DEUXIEME PARTIE : Matériel et Méthodes

2.1 Matériel

2.1.1 Site et durée de l'étude

IL s'agit d'une étude bactériologique réalisée au laboratoire du Centre Hospitalier Régional de Daloa. Elle s'est effectuée sur une période de deux mois, du 01 juin au 30 juillet 2022.

2.1.2 Matériel biologique

Le matériel biologique était composé de souches bactériennes cliniques et issues de prélèvements des échantillons de surface.

2.1.3 Matériel technique

Il était composé de matériel de prélèvements, des milieux de cultures, de réactifs et d'appareils.

2.1.3.1 Matériel de prélèvement

Pour le prélèvement, des écouvillons stériles, de l'eau physiologique, des gants, des bavettes stériles ont été utilisés. Une glacière a servi pour le transport des échantillons.

2.1.3.2 Milieux de culture

Les milieux de culture et d'isolement des souches hospitalières ont été utilisés-Il s'agit de :

- la Gélose ordinaire(GO) utilisée pour la culture des germes peu exigeants,
- le milieu UriSelest (URI) utilisé pour l'isolement des germes halophiles ;
- le milieu Biles Esculin Azid (BEA) utilisé pour l'isolement des *streptococcus* du groupe D (entérocoques et non entérocoques) ;
- le milieu chapman (CHAP) utilisé pour l'isolement des bactéries du genre *Staphylococcus* mais aussi les *Micrococcus les Enterococcus* et les *Bacillus* ;
- le milieu Eosine bleu de Méthylène (EMB) utilisé pour l'isolement des bacilles Gram-.
- Enfin le milieu Cétrimide (CET) sélectifs utilisé pour l'isolement des *Pseudomonas* notamment des *Pseudomonas aeruginosa* ;
- et la Gélose de Mueller Hinton (MH), utilisée pour les tests de sensibilité des bactéries aux antibiotiques.

En outre, pour l'identification biochimique des souches, les milieux de la galerie le portoir de Le Minor ont été utilisés :

- Milieu Hajna Kliger : est un milieu d'identification des entérobactéries sur la base de leur capacité à fermenter le glucose, à oxyder le lactose, à produire du gaz et de l'Hydrogène sulfureux (H₂S) ;
- Milieu de Citrate de Simmons : est un milieu solide qui permet de mettre en évidence l'utilisation du citrate comme seule source de carbone et d'énergie. Seules les bactéries possédant un citrate perméase seront capables de se développer sur ce milieu.
- Milieu de Lysine de fer : est un milieu d'identification des entérobactéries sur la base de leur capacité à produire une lysine décarboxylase, une lysine désaminase et à produire l'hydrogène sulfureux (H₂S) ;
- Milieu de Liquide Urée Indole : Le milieu urée-tryptophane, improprement appelé urée-indole est un milieu de culture synthétique utilisé en bactériologie permettant la mise en évidence simultanée de l'hydrolyse de l'urée (par une uréase) ; et la production de l'indole (par hydrolyse du tryptophane par la tryptophanase) ;

2.1.3.3 Disques antibiotiques

Les disques d'antibiotiques utilisés sont constitués des β -lactamines (Amoxicilline AM20, Amoxicilline+Acide clavulanique AMC20, ticarciline [TE]), des Céphalosporines (Cefoxitine FOX30, Céfépime FEP30, Ceftazidime CAZ10, Ceftriaxone CRO30, Cefuroxime CXM30), de Carbapénèmes(Imipénème IMP10) de Fluoroquinolones (Acide nalidixique NAL30, ofloxacin OFX10) de Monobactames (Aztreonam ATM30) des Macrolides (Clindamycine CM2, Erythromycine E15) des Aminosides (Amikacine [AK] Gentamicine GMI10, Tobramycine TM10) des Tétracycline (Monocycline MNO30, Tigécycline TGC30, Tétracycline TE30) et Autres (Fosfomycines FOS200, Acide fusidique FA10). Les Réactif utilisés sont Kovacs, le BCC. Huile à émulsion, les colorants, Eaux oxygénée.

2.1.3.4 Appareils

Les appareils utilisés sont, l'autoclave de marque Thermo; le Bain mair de marque MEMMER WNE-22, les Balance de précision de marque sartorius;, l'étuves de marque thermo et des divers matériels qui sont le bec Bunsen, l'anse de platine pipettes, micropipettes, béchers, portoir, boîtes de Pétri, pipettes Pasteur, vortex de marque stuart, réfrigérateur de marque nasco; pince, microscope optique, lames et lamelles (voir annexe 1).

2.2 Méthodes

2.2.1 Caractéristiques épidémiologique des souches cliniques

Dans les bases de données au laboratoire, une analyse a été effectuée, sur des examens demandés en bactériologie provenant des différents services (Médecine, Chirurgie, Pédiatrie, Gynécologie Diabétologie et de l'extérieur) datant de janvier à Mai. Cette analyse a pris en compte le nombre d'échantillons, le taux d'échantillons négatif et le taux d'échantillon positif. Après la connaissance de ces résultats, les échantillons positifs obtenus ont été étudié pour la suite de notre étude.

Le taux de positivité à permis de déterminer le taux des isolats bactériens, le profil de résistances aux antibiotiques, les phénotypes de résistance et le taux de similitude des profils de résistance à partir des tests de sensibilité (antibiogrammes) de ces souches isolées dans le laboratoire.

-Pour le taux des isolats bactériens :

$$T = \frac{\text{Nombre de souche par service}}{\text{Nombre total des souches}}$$

- Pour le profil de résistances aux antibiotiques d'une classe dans un service :

$$P = \frac{\text{Nombre de résistants des antibiotiques}}{\text{Nombre total d'antibiotique réalisé}}$$

- Phénotype de résistant des souches

$$F = \frac{\text{Nombre de phénotypes par service}}{\text{Nombre total de phénotype résistants}}$$

-taux de similitude des profils de résistance :

$$S = \frac{\text{Nombre de résistant}}{\text{Nombre total des disques}} - 100$$

2.2.2 Isolement et identification des souches bactériennes issues des surfaces hospitaliers

2.2.2.1 Mode d'échantillonnage.

Les prélèvements ont été effectués à l'aide d'écouvillons humidifiés à l'eau physiologique stérile. Les différents échantillons ont été prélevés aseptiquement par écouvillonnage de surface dans: la Diabétologie, la Chirurgie, et la Pédiatrie. Dans des conditions d'hygiène et dans le respect des consignes sécuritaires, les prélèvements ont été réalisés selon le protocole suivant : D'abord, porter des gants et un cache-nez, marquer les différents tubes spécifiques à chaque partir d'écouvillon à l'aide d'un marqueur (E1, E2, E3...). Après avoir trempé l'écouvillon dans de l'eau physiologique stérile dans une boîte, les échantillons sont récoltés par écouvillonnage de surface en Chirurgie en Diabétologie et de Pédiatrie sur les différents sites des lieux. Les écouvillons sont conservés dans leurs tubes, et portés au laboratoire dans un système de froid.

2.2.2.2 Détermination des caractères cultureux et biochimiques.

●Culture et isolement des souches

Cette méthode consiste à ensemencer successivement sur la surface des boîtes de pétri contenant des milieux gélosés sélectifs suivants: Chapman, cétrimine, BEA, et EMB. Puis le tout est incubé pendant 24h à 37°C

Après une observation macroscopique les différentes colonies suspectes obtenues sont ré-isolées sur le même milieu afin d'obtenir des souches pures.

●Identification des souches.

L'identification des souches a porté sur une série de tests préliminaires (examen macroscopique et examen microscopique), la catalase, l'oxydase, les tests biochimiques et un antibiogramme.

●Recherche de l'oxydase

L'oxydase du cytochrome assure la fixation de l'oxygène moléculaire sur le cytochrome réduit. En la mettant en présence de la di ou tétra-méthyl para-phénylène-diamine, une coloration violette apparaît due à la formation d'indol-phényl.

Le disque de papier filtre imprégnés de réactif de l'oxalate de N-diméthyl para-phénylène diamine est déposé sur une lame propre, imbiber la avec une goutte d'eau physiologique stérile. Après avoir prélevée une partie de la colonie à l'aide d'une pipette stérile, étaler sur le disque. Si la coloration est rose violette présence de germe vivant, et si la réaction est brun foncé, germe morts, absence de coloration pas de germe.

● Recherche de la catalase

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en eau (H₂O) et en oxygène gazeux (O₂) dégagement d'oxygène.

Déposer sur une lame propre une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes et prélever à l'aide d'une pipette pasteur un peu de la colonie suspecte sur la gélose, si il y'a un dégagement de bulbe de gag indique la présence de catalase.

● Recherche de l'utilisation du glucose, lactose, production de gaz et H₂S sur le milieu Hajna Kliger.

Ce milieu d'identification permet de mettre en évidence-la fermentation du glucose de gaz, la dégradation du lactose et la production de H₂S. Il permet aussi la recherche de la β-galactosidase au 2^{ème} jour. Ce milieu contient deux glucides, le glucose et le lactose présents à des concentrations différentes : [glucose] < [lactose]. Le glucose est toujours utilisé en premier par la bactérie, jusqu'à épuisement car le glucose inhibe les enzymes nécessaires à l'utilisation du lactose.

Ensemencer abondamment la surface par stries serrées ou par inondation puis le culot par simple piqure centrale à l'aide d'une anse afin d'avoir une culture en nappe avec la souche bactérienne à tester. Ne pas revisser à fond le bouchon du tube. Incuber à 37°C pendant 24 heures. Lorsque le culot et la pente virent au jaune Glucose et Lactose +. Absence de coloration jaune, Glucose et Lactose -

● Recherche de l'utilisation du citrate de Simmons

Les bactéries capables d'utiliser le citrate de sodium comme seule source de carbone pourront se développer sur ce milieu. La fermentation du citrate de sodium entraîne alors une acidification qui provoque une coloration bleue du milieu en présence de bleu de bromothymol (indicateur de pH).

La pente du milieu est ensemencée par strie longitudinale, réalisé à l'anse à partir d'une suspension de la culture solide. Mettre à l'étuve pendant 24 heures à 37°C. Lorsqu'il vire au bleu, il y a alcalinisation- du milieu et la souche est de citrate S+.

● Lysine de fer

C'est milieu enrichi de lysine qui permet une étude de l'attaque des constituants en aérobiose et anaérobiose. En aérobiose, il peut y avoir production de lysine decabaxylase

(LDC), les Cétoacides avec les sels de fer donnant une coloration rouge veineuse à la surface de la pente. En anaérobiose, le glucose fermenté acidifie le milieu. Dans ce cas, la lysine décarboxylase est activée ; et la production de cadavérine qui réacanalise le milieu peut y avoir production H₂S révéler par formation des sulfures noirs.

Ensemencer le tube contenant la lysine de fer par des stries après le culot par piqure centrale et mettre à l'étuve pendant 24 heures. à 37°C,

● Recherche de l'indole et mise en évidence de l'uréase

Les bactéries possédant une uréase transforment l'urée en carbonate d'ammonium, entraînant une alcalinisation qui provoque une coloration rouge violacée du milieu en présence de rouge de phénol (indicateur de pH). La production d'indole est mise en évidence par l'addition de réactif de Kovacs (code 55313) qui agit avec l'indole en donnant une coloration rouge dans la partie supérieure du milieu en cas de réaction positive. La présence de tryptophane désaminase (TDA) est mise en évidence par addition de perchlorure de fer qui provoque une coloration brun rouge du milieu en cas de réaction positive.

Ensemencer le milieu urée-indole avec quelques colonies de la souche à étudier et incubé pendant 24 heures à 37°C. Coloration rouge urée +, formation d'un anneau rouge à la surface indole +

● Autres tests d'identification : décarboxylase, ODC LDC, et des dihydrolases ADH bactériennes

Les bacilles à gram (-) aéro-anaérobies facultatifs à métabolisme fermentatif (Enterobacteriaceae et Vibrionaceae) fermentent le glucose, ce qui entraîne une acidification du milieu et une coloration jaune du milieu en présence de pourpre de bromocrésol (indicateur de pH). A pH acide, les décarboxylases et les dihydrolases présentent une activité maximale. Si les bactéries étudiées possèdent la décarboxylase ou la dihydrolase appropriée, l'activité enzymatique sera alors mise en évidence par la formation de métabolites aminés qui alcaliniseront le milieu, et entraîneront un nouveau changement de coloration du milieu en mauve. Au contraire, les bacilles à gram (-) aérobies stricts à métabolisme oxydatif (*Pseudomonas*, *Alteromonas*, *Flavobacterium*, *Xanthomonas*, *Alcaligenes*, *Acinetobacter*) dégradent les glucides par voie oxydative en ne produisant que peu de catabolites acides : il s'ensuit que la coloration des trois milieux demeure pratiquement inchangée, mauve pâle à violet foncé après 24 à 48 heures d'incubation.

Milieu de moeller est ensemencé avec une goutte de suspension. Après, agiter (si le tube n'est pas plein le recouvrir de vaseline stérile) et fermer le tube entièrement enfin de créer une anaérobie relative. Mettre à l'étuve pendant 24h à 37°C. Après si la coloration est jaune la bactérie est absente et si la coloration est violette présence de bactérie.

2.2.3 Etude de la résistance des souches aux antibiotiques par la méthode de diffusion en milieu gélosé

Un inoculum bactérien à 0.5 de Mc Farland est préparé à l'aide de l'eau physiologique. Puis, la suspension bactérienne (inoculum) est ensemencée sur la surface de la gélose Mueller-Hinton préalablement préparé par précaution, l'excès d'eau est évacué. Les disques antibiotiques sont posés sur la gélose en prenant soins de disposer les C2G atour de l'AMC pour la recherche de bétalactamase induite. Puis, les géloses sont incubés à 37°C/24 heures. La lecture se fait par la mesure directe des diamètres d'inhibition autour des disques. Les interprétations sont basées sur les recommandations de CASFM

PARTIE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION

TROISIEME PARTIE : Résultats et discussion

3.1 Résultats

3.1.1 Caractéristiques épidémiologiques des souches cliniques

3.1.2 Répartition générale des échantillons en fonctions des services.

La figure 3 illustre la répartition des examens bactériologiques sur une période de cinq mois (du 01 janvier au 30 Mai 2022) sur des échantillons provenant de différents services du CHR. Au total, 198 prélèvements ont été effectués en vue d'un examen bactériologique, dont 182 négatifs et 16 positifs. Ces Prélèvements sont issus des différents services tels que la gynécologie avec 46 échantillons dont 43 négatifs et 03 positifs, en Diabétologie, 08 échantillons avec 07 négatifs et 01 positif, en médecine 70 échantillons dont 02 taux de négativité et 02 positifs, en chirurgie 04 échantillons dont 02 négatifs et 02 positifs et en Pédiatrie 10 échantillons dont 07 négative et 03 positifs.

Tableau III : Répartition des examens bactériologique sur une période de cinq mois

Services	Nombres d'échantillons	Taux de négativité	Taux de positivité
Chirurgie	4	2	2
Médecine	70	64	6
Gynécologie	46	43	3
Diabétologie	8	7	1
Pédiatrie	60	59	1
Extérieur	10	7	3
Total	198	182	16

3.1.3 Profils de résistance des souches cliniques.

3.1.3.1 Profils de résistance des isolats en fonction des services

La figure 4 montre la répartition des espèces en fonction des services. Espèce *E.coli* est la plus répandue dans les services avec une fréquence de 13% en chirurgie et en Gynécologie, en Médecine 19%, et 12% venus de l'extérieur. Pour les espèces *Klebsiella sp*, 6%, en

provenance de diabétologie et de l'extérieur. Pour les espèces *Staphylococcus Aureus* : 6% en pédiatrie et 19% en provenance de médecine.

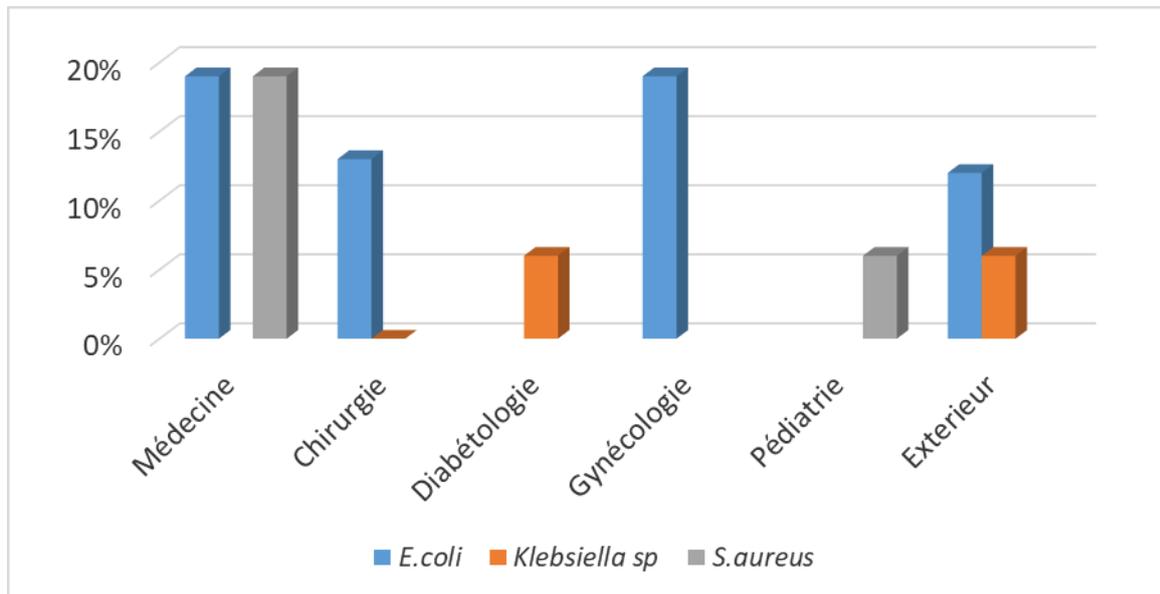


Figure 3: Répartition des services en fonction des services

3.1.3.2 Profils de résistance aux antibiotiques testés sur *E. coli*.

La figure 5 montre histogramme des profils de résistance aux antibiotiques testés sur *E. coli*. Les souches *E. coli* sont de plus en plus résistantes aux différents classes antibiotiques. Cette résistance varie de 10 à 65% en fonction des services.

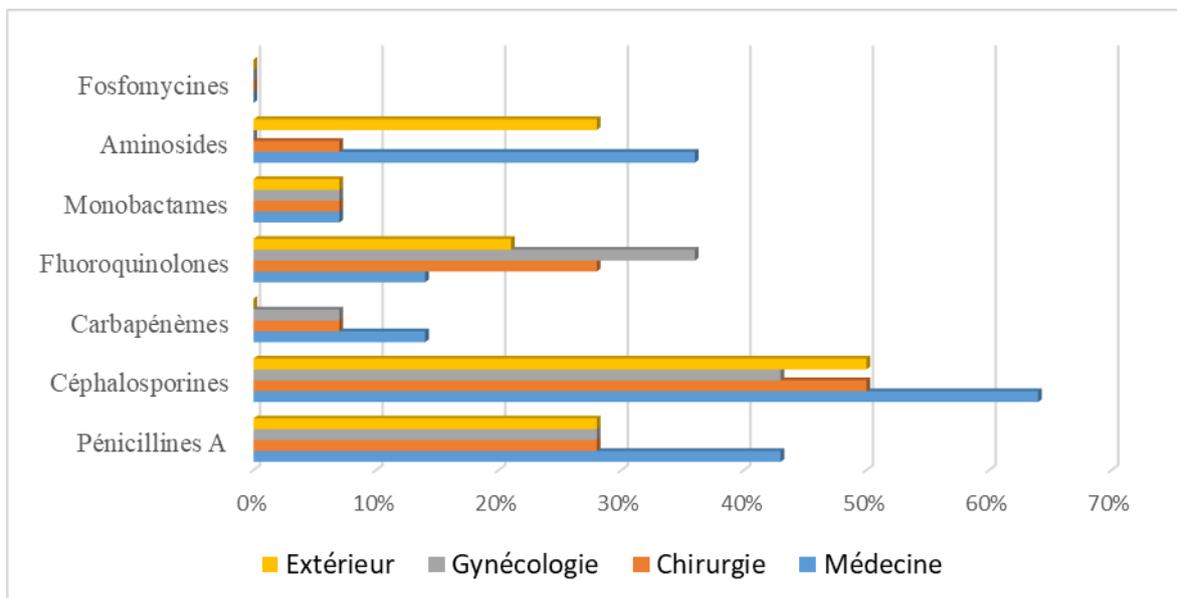


Figure 4: Histogramme des profils de résistances aux ATB testés sur *E. coli*

3.1.3.3 Profils de résistances aux antibiotiques testés sur *Klebsiella sp.*

Les profils de résistance aux antibiotiques testés sur les souches de *Klebsiella sp.* Sont présentés par la figure 6. Il ressort que les souches de *Klebsiella* provenant de l'Extérieur est plus résistants aux antibiotiques que la souche provenance de la Diabétologie avec un taux qui varie de 9 à 38%

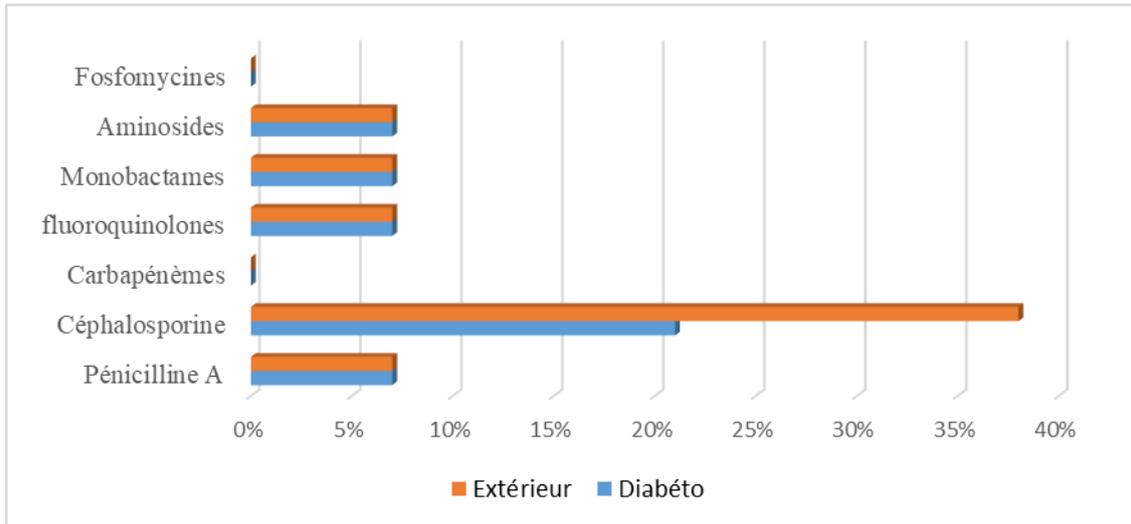


Figure 5 : Histogramme des Profils de résistance aux antibiotiques testés sur la souche de *Klebsiella sp*

3.1.4 Phénotypes de résistances des souches cliniques

3.1.4.1 phénotypes des souches *E.coli* en fonction des services

La figure 7 illustre les Phénotype de résistance de *E. coli* dans les différents services. Il en ressort que le phénotype Céphalosporinase de haut (CHN) est beaucoup plus élevé que le BLSE, avec 25% en Médecine, Gynécologie et en Chirurgie face à 10% de BLSE en médecine et 25% de l'extérieur.

3.1.4.2 Phénotype de résistance des souches de *Klebsiella sp* en fonction services

Phénotypes de résistance de *Klebsiella sp* en fonction des services, illustrés par la figure 8 montre une résistance égale de 50% de céphalosporinase de haut niveau (CHN) en provenance de l'Extérieur et 50% de BLSE en provenance de Diabétologie.

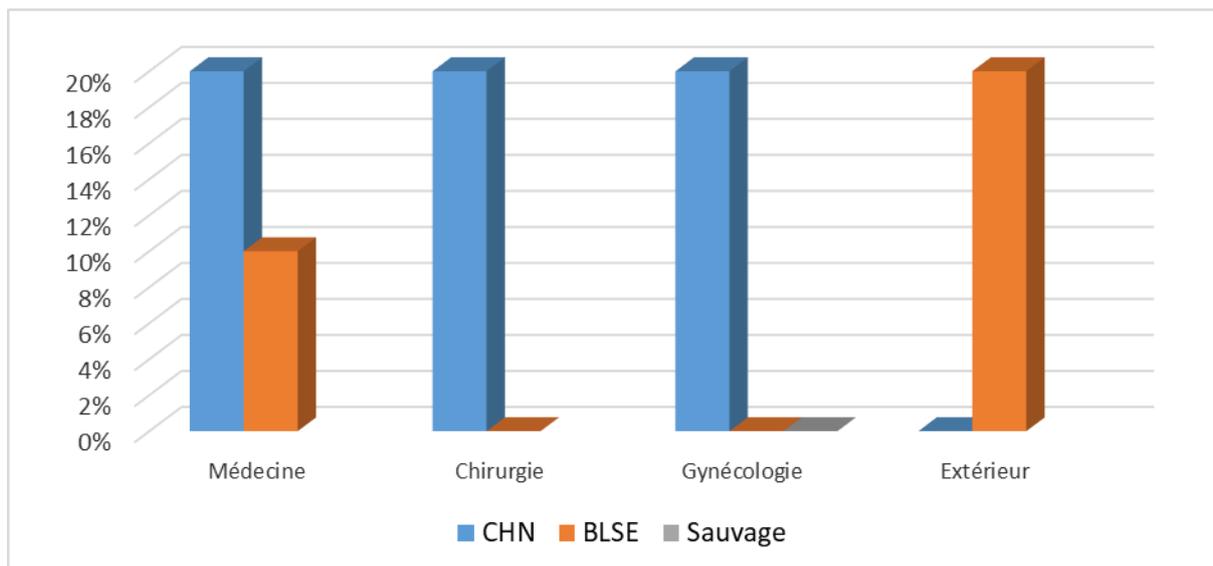


Figure 6 : Phénotype de résistance de la souche *E. coli* dans les services

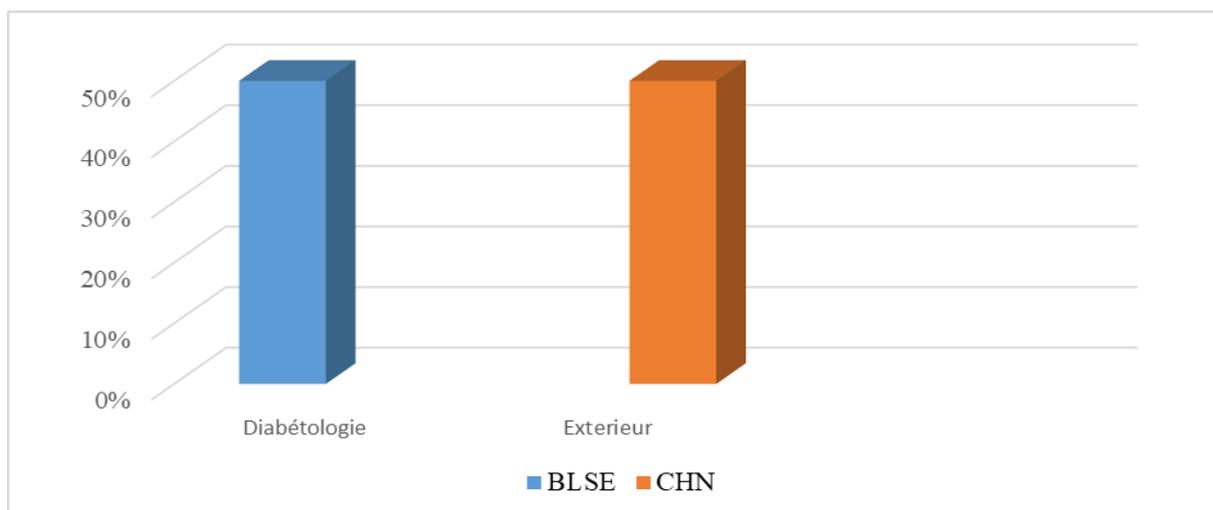


Figure 7 : Phénotype de résistance de *klebsiella sp*

3.1.5 Caractères-cultureux et biochimiques des souches environnementales

3.1.5.1 Répartition des échantillons selon les différents sites de prélèvements

Les échantillons ont été prélevés à partir des surfaces dans différentes unités de soins du CHR de Daloa. Ainsi, dans le bloc opératoire en Chirurgie, 5 prélèvements ont été effectués dans deux salles de pansement, 3 en salle d'anesthésie et 2 les portes. En ce qui concerne le service de diabétologie, 7 prélèvements ont été effectués, 2 sur des matelas, 2 sur les bords de lit, 2 sur les potences et un sur le poignet interne des toilettes. En Pédiatrie, 6 prélèvements en salle d'urgence, 1 en Hospitalisation couveuse, 5 en salle de réanimation et 1 sur la table de soins (voir tableau III)

Tableau IV : Sites de prélèvement dans les différents services de santé

Services hospitalier	Unité de soins N=28	Site de prélèvement	Taux de positivité	
Chirurgie	Bloc opératoire (04)	Aspirateur (TBA)	+	
		Aspirateur(ES)	+	
		Potence (TBE)	-	
	Salle de passement (2)	Chariot(SPCHA)	-	
		Lit (SPM)	-	
	Salle anesthésie(3)	Matelas(SAM)	-	
		Potence(SAP)	-	
		Porte(SAPOR)	-	
	Portes (2)	Battant sortant(BS)	-	
		Battant entrant(BE)	-	
	Diabétologie	Matelas(2)	DM1	+
			DM2	-
Bord du lit(2)		DB1	-	
		DB2	+	
Potence(2)		DP1	-	
		DP2	-	
Poignet inter des toilettes(2)		DT1	-	
		DM2	-	
Pédiatrie	Salle d'urgence (03)	Poignet1 (SUP1°)	-	
		Aspirateur (As)	+	
		Robinet (SURo)	-	
	Table de réanimation (05)	Matelas(TM)	-	
		Bort du lit (TB)	-	
		Aspirateur (TA)	+	
		Oxygénateur(TOX)	-	
	Table de soins (01)	Matelas (TSM)	-	

NB : (+) positive ; (-) absent

3.1.5.2 Isolement et Identification des souches bactériennes

Le tableau IV illustre les caractères cultureux et biochimiques des isolats en fonction des services hospitaliers. Ainsi en Chirurgie, on obtient deux souches qui sont *E.coli* et *Klebsiella pneumoniae* en Pédiatrie on obtient quatre souches qui sont *Klebsiella sp*, *entérobacter sp* et 02 souches non entérobactéries. En Diabétologie on obtient une souche *enterococcus sp*. Au total 07 souches ont été isolées et identifiées

Tableau V : Caractères cultureux et biochimiques des isolats en fonction des services hospitaliers

Caractères cultureux et biochimique	Chirurgie			Pédiatrie			Diabétologie		
	ES EMB	TBA EMB	SU _{as} EMB Gc	TA EMGc	TA cet	SUASE MBpc	SU _{as} cet	DM1 BEA	
EMB	+	+a	+	+	-	+	-	-	
Chapman	-	-	-	-	-	-	-	+	
Uriselet	-	-	-	-	-	+	-	-	
BEA	-	-	-	-	-	-	-	+	
Cétrimine	+	-	-	-	+		+		
Gram	BG-	BG-	BG-	BG-	BG-	BG-	BG-	CG+	
Oxydase	-	-	-	-	-	-	-	-	
Catalase	+	-	-	-	-	+	-	-	
Mobilité	-	-	-	+	+péri	+ Péri	-		
Hajna Kliger	Glu	+	+	+	+	-	+	-	NR
	Lac	-	+	+	+	-	-	-	NR
	Gaz	+	+	+	+	-	-	-	NR
	H ₂ S	-	-	-	-	-	-	-	NR
Lysine de fer	LDC	+	+	+	-	+	+	+	NR
	LDA	-	-	-	-	+	-	-	NR
Citrate	S	-	-	+	-	+	-	+	NR
Urée		-	+	-	-	+	-	+	NR
Indole		+	-	-	-	-	+	-	NR
Isolats	<i>E. coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella sp</i>	<i>Entero bacter</i>	NE	<i>E.coli</i>	NE	<i>Enterococcus sp</i>	

NB : LDC : Lysine décarboxylase ; LDA : Lysine dihydrolase ; ADH : Arginine dihydrolase ;
ODC : Ornithine décarboxylase ; NR : Non Réalisé ; BG- : Bacilles Gram négatifs ; CG+ :
Cocci gram positifs ; Absence (-) ; Positifs (+) ; Péri ; Pérित्रiche NE : Non Entérobactéries.
ES EMB : Aspirateur

3.1.6 Profils de résistance des souches environnementales.

3.1.6.1 Tests de sensibilité des souches environnementales

3.1.6.2 Profils de sensibilités des isolats selon les services hospitaliers

Souche de *E. coli* et *K. pneumoniae* isolées en chirurgie

Les figures 9 et 10 présentent les profils de sensibilité de la souche de *E coli* et *K. pneumoniae* isolées dans l'environnement hospitalier dans le service de Chirurgie. La souche de *E. coli* montre un aspect caractéristique en bouchon de champagne, type des souches productrices d'enzyme de type betalactamase à spectre étendu inductible en présence d'inhibiteur.

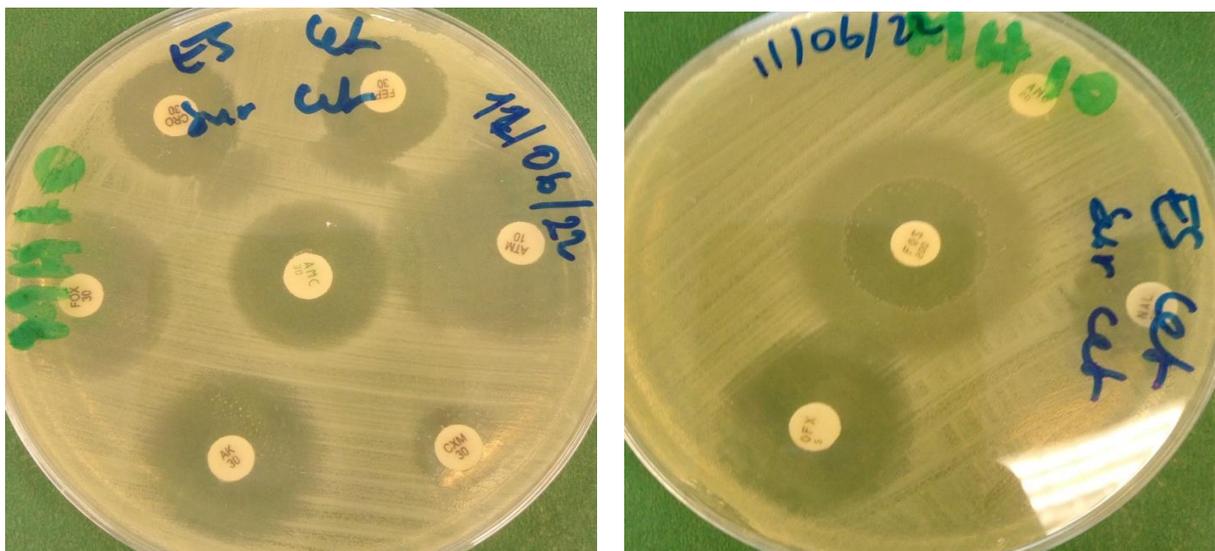


Figure 8 : Profils de sensibilité des souches d'*E coli* isolées dans l'environnement hospitalier dans le service de chirurgie

La figure 9 illustre le profil de sensibilité des souches de *K. pneumoniae*. On remarque qu'en chirurgie la souche de *K pneumoniae* est une multi-résistance. Elle est complètement résistante aux bêta-lactamines sauf à l'imipénème. Elle est résistante aux aminosides. Il s'agit d'une souche productrice d'enzyme betalactamase de type céphalosporinase de haut niveau.

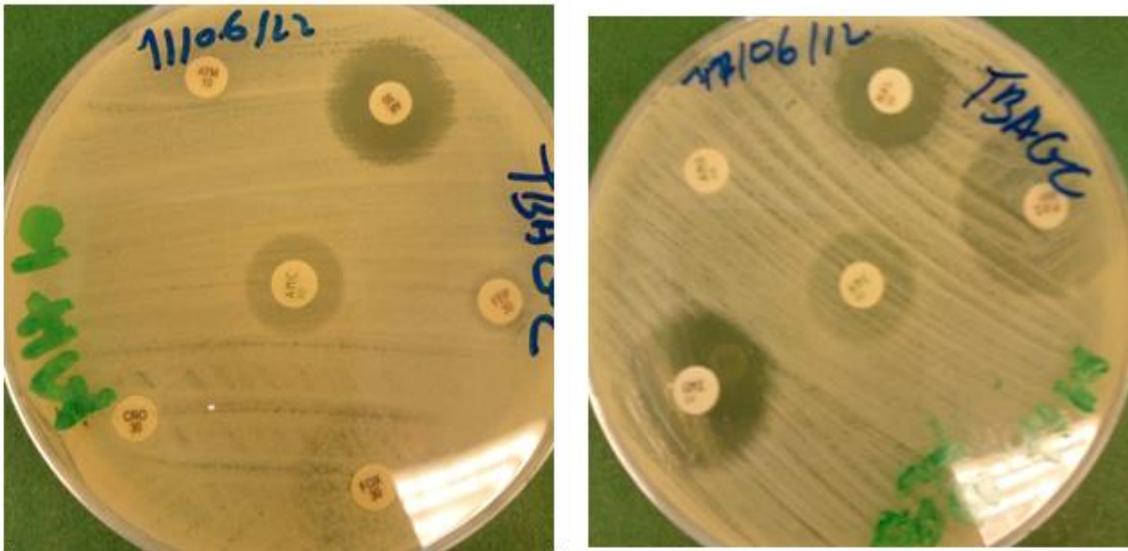


Figure 9 : Profils de sensibilité des souches *K. pneumoniae* isolées dans l'environnement hospitalier au service de chirurgie

3.1.6.3 Profils de sensibilités des isolats Non Entérobactéries isolée en Pédiatrie

Figure 11 montres le Profils de sensibilité des souches non entérobactéries isolées dans le service de Pédiatrie. Ainsi, Les souches *SUascet* et *TAcet* sont multirésistance aux différents antibiotiques testés

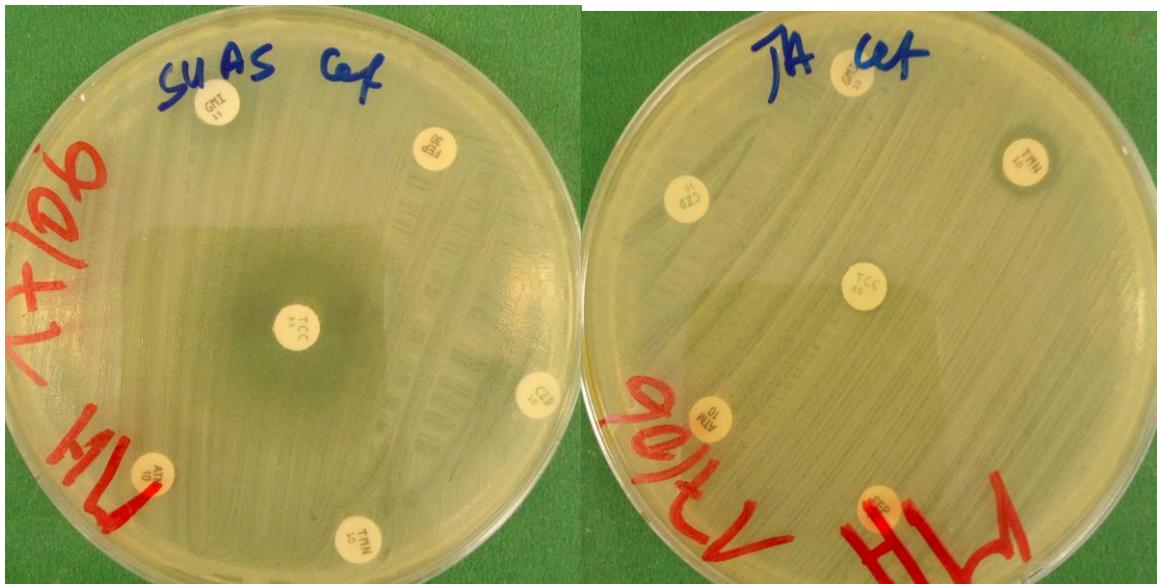


Figure 10 : Profils de sensibilité des souches non entérobactéries isolées dans le service de Pédiatrie

3.1.6.4 Profils de sensibilités des isolats de *Enterococcus sp* isolée en Diabétologie

La souche de *Enterococcus sp* est une souche sauvage. Elle présente des zones inhibitions large, et est complètement sensible aux antibiotiques (voir figure 12).



Figure 11 : Profils de sensibilité de la souche *Enterococcus sp* isolée dans l'environnement hospitalier au service de Diabétologie

3.1.7 Analyse comparative des profils de résistances des souches cliniques et environnementales

La figure 13 montre le taux de similitude générale des phénotypes résistants dans chaque service. Remarquons que les souches possédants le phénotype « céphalosporinase de haut niveau (CHN+KTG) » est plus fréquent dans les services sauf en Chirurgie où les phénotypes environnement en Chirurgie possèdent que un phénotype bêtalactamase (BLSE) et Case plasmidique (Case P). Le taux de similitude pour le phénotype BLSE en Médecine, de l'Extérieur et environnement en Chirurgie, est estimé de 70 à 84%. En Médecine, Gynécologie, Chirurgie clinique et Diabétologie, le phénotype CHN + KTG est estime de 40 à 86 %.

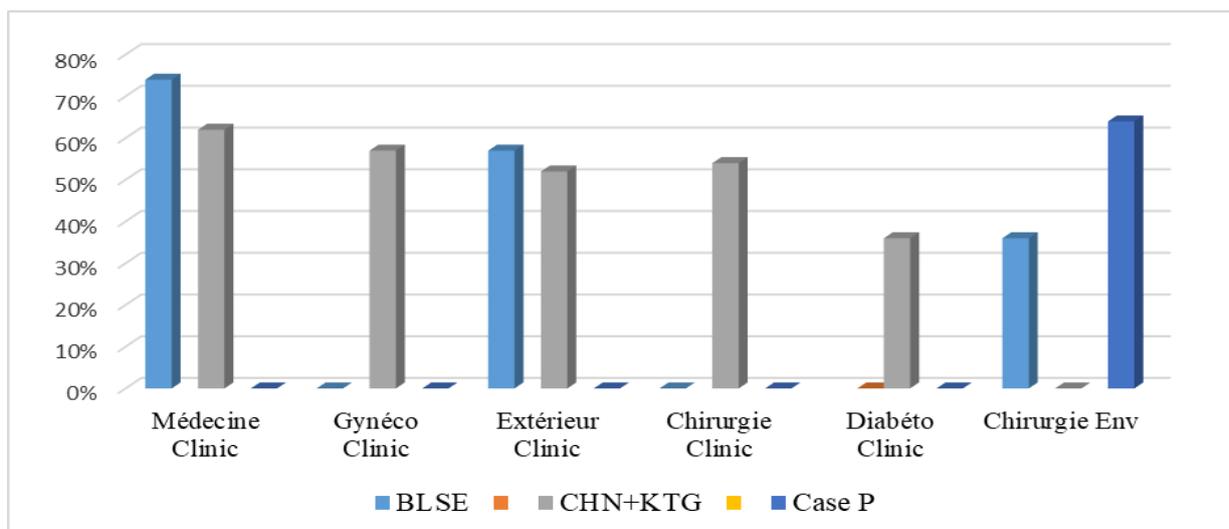


Figure 12 : Histogramme de taux de similitude des phénotypes résistants dans les différents services

3.2 Discussion

L'étude menée a permis de constater la manière dont les bactéries développent des résistances aux antibiotiques et leur impact sur la santé des patients.

Dans les souches isolées à l'hôpital, les germes *Escherichia coli* étaient les plus répandus avec 13% en Chirurgie et en Gynécologie, en Médecine 19%, et 12% venus de l'extérieur (voir figure 4). Ces résultats sont comparables à ceux de Dali et Ali qui trouvent 6% du total des germes *E.coli* identifiés dans l'étude menée à l'EHUO (Dali, 2015). En effet ces résultats montrent la dominance de *E. coli* dans les infections des souches cliniques à l'hôpital.

Les souches *E.coli* et *Klebsiella sp* étaient résistantes à la fois à toutes les classes antibiotiques ; (aux Fosfomycine, aminosides, Monobactames, Fluoroquinolones, Carbapénèmes, Céphalosporines et Pénicillines) avec un taux qui varie de 10 à 65% (voir figure 5 et 6). Ces résultats sont comparables à ceux d'Islam *et al* qui ont trouvés dans leurs travaux des bactéries multirésistantes à 5 familles d'antibiotiques avec un taux de résistance de 100% à la ciprofloxacine, à la tétracycline à la pénicilline et à l'érythromycine. Par contre les taux étaient de 50% et 90% respectivement pour la gentamycine et le chloramphénicol (Islam *et al.*, 2008). Cette résistance est la preuve que ces souches sont des multirésistantes. En effet cela s'explique par le fait que les antibiotiques font partie des molécules les plus prescrites en Afrique et parmi ces antibiotiques les bêta-lactamines venaient en tête (Dosso *et al.*, 2000). Selon Philippon & Lagrange, 1994, les bactéries productrices de BLSE, de par leur déterminisme génétique sont souvent résistantes à plusieurs autres antibiotiques

Ces souches cliniques produisaient aussi une bêta-lactamase à spectre élargi (BLSE), et des céphalosporinases de haut niveau (voir figure 7 et 8). Comme le montre les travaux de Guessennd *et al* en 2008 et de Dadié *et al* en 2003. Les travaux des auteurs ont montrés que *E. coli* et *Klebsiella sp* produit une bêta-lactamase à spectre élargi (BLSE) d'origine humaine isolée à Abidjan. En effet L'observation de cette multi-résistance traduit bien la présence des BMR chez les patients à l'hôpital. En effet cela pourrait s'expliquer aussi d'une part par la pression de sélection exercée par les praticiens et d'autres part par la présence de faibles concentrations d'antibiotiques non métabolisés rejetés par l'hôpital (Jeannette *et al.*, 2007 ; Thomas *et al.*, 2007 ;)

Dans les services sensibles tels que le bloc opératoire de chirurgie, les salles d'urgences, les salles de réanimation en pédiatrie ont fait l'objet de notre études, du fait des leurs fortes

fréquentations. Ces mêmes choix ont fait par les auteurs tels que Randrianirina(2010) à Madagascar et Tudela(2008) en France, qui ont réalisés des prélèvements de surfaces dans des services similaires dont les unités de soins intensifs et le service de Pédiatrie. En effet, la prévalence élevée des infections nosocomiales sont détectées dans les services de pédiatrie, et les services de Chirurgie. Concernant les bactéries isolées une forte proportion des bacilles à Gram négatif est notée. Selon la littérature, la technique par écouvillonnage humide semble mieux détecter les bacilles à Gram négatif (Lemmen, 2001). Cette proportion élevée serait due à la méthode de prélèvement.

Dans l'environnement hospitalier en chirurgie, les résultats ont montré la présence de *E. coli* et de *K pneumoniae* résistantes aux antibiotiques avec des phénotypes respectives bêta-lactamases(BLSE) et case plasmidique de haut niveau comme nous montre la figure (9 et 10). Cette présence de germe est la preuve que les personnels soignants et les patients sont exposés à un réel danger infection nosocomiale. Ainsi, des nombreux auteurs ont démontré dans leurs travaux que dans les années 2000 ont été marquées par l'évolution mondiale des souches d'*E. coli* produisant un nouveau type de β -lactamase à spectres étendu (CTX-M) aussi bien dans les hôpitaux qu'au sein des communautés (Robin et al. 2012; Baba & Arlet, 2014).

Dans environnement hospitalier en pédiatrie, les résultats ont montré la présence des non entérobactéries présenté dans la figure (11 et 12). En effet ses souches produisaient une multirésistance aux différents antibiotiques qui sont Aztréonam, Céfépime Tycarcylène Céftazidine Gentamycine et Tobramycine Le risque sanitaire que font craindre la présence des non entérobactéries multi résistants est le transfert de ces gènes de résistances aux souches hospitalières. Ainsi la résistance des non entérobactéries aux nombreux antibiotiques a été aussi observée dans des études avec le taux de résistance de 90% à 95% pour les aminosides et de 90% pour les fluroquinolones (Berche et al., 1998).

Conclusion

Au terme de ce travail, nous pouvons dire que la présence des bactéries résistantes aux antibiotiques dans les unités de soins hospitaliers est le témoin d'une réelle menace dans les centres de service de santé et un problème majeur de santé publique. En effet, la forte présence de bactéries multi-résistantes dans les souches cliniques et au niveau des surfaces de l'environnement hospitalier montrent le danger auxquels sont liés les patients et les personnels soignants. Cependant il serait important d'évaluer la résistance aux antibiotiques des bactéries isolées dans les services hospitaliers, dans le but de prévenir et lutter contre les germes résistants et aussi la mauvaise hygiène de l'environnement hospitalier. Ainsi face à cette situation inquiétante, une prise de conscience est indispensable et c'est les habitudes qu'il faut aujourd'hui changer. Il est grand temps que toutes les instances concernées, et à leur tête les médecins, les pharmaciens et les patients, prennent conscience de la gravité du problème de la résistance aux antibiotiques dans les unités de soins hospitaliers. En plus cette étude doit s'intégrer dans une politique globale de démarche qualité dans les établissements sanitaires en Côte d'Ivoire.

Perspectives

Pour la suite de notre travail, il serait important d'abord de réaliser une étude génétique sur ces souches en fin de connaître leur support génétique et faire une étude comparative entre ces souches et entre les souches de l'environnement hospitalier. Ensuite développer et mettre en place des outils de détection et de surveillance en temps réel. Enfin sensibiliser et former les personnels soignants dans l'usage des règles de bonnes pratiques d'hygiène et de biosécurité.

REFERENCES

- Akoua-Koffi C., Guessenn N., Gbonon V., Faye Ketté H. & Dosso M. (2004). Methicillin resistance of *Staphylococcus aureus* in Abidjan: A new hospital problem. *Medecine et maladies infectieuses*, 34(3): 132-6.
- Alberti C., Bouakline A., Ribaud P., Lacroix C., Rousselot P. & Leblanc T. (2001) Aspergillus study group. Relationship between environmental fungal contamination and the incidence of invasive aspergillosis : in haematology patients. *Journal Hospital Infection*, 48(3): 198-206.
- Alexander E.L., Daniel J.M., Scott A.W., Janice M.Z., Anna K., Jeffrey M., Yolanda B., Jose R.M., Barry R.M. & Kyu Y.R. (2011). Prévalence, persistance et microbiologie du portage nasal de *Staphylococcus aureus* chez des patients hémodialysés dans l'hôpital de New York. *Diagnostic Microbiology & Infectious Disease*, 70(1) : 37– 44.
- Allen H.K., Donato J., Wang H.H., Cloud-Hansen K.A., Davies J. & Handelsman J. (2010). Call of the wild : antibiotic resistance genes in natural environments [en ligne]. *Nature Reviews Microbiology*. 8(4) : 251-259
- Aminov R.I. (2009) The role of antibiotics and antibiotic resistance *In : nature. Environmental Microbiology*, 11(12) : 2970-2988.
- Avorn JL. & Solomon DH. (2000). Cultural and economic factors that (mis) shape antibiotic use: the nonpharmacologic basis of therapeutics. *Annals of Internal, Medecine*, 133(2) : 128-35.
- Baba Ahmed-Kazi., Tani Z. & Arlet G. (2014) Actualité de la résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif en Algérie. *Pathologie Biologie* 62 (3):169-178.
- Bush K., Jacoby G A & Medeiros A A. (1995) A functional classification scheme for bêta-lactamases and its correlation with molecular structure *Antimicrob Agents Chemother* Jun;39(6):1211-33.
- Baudry C. & Brézellec H. (2006). Microbiologie, immunologie. 2ème édition. *Groupe Liaisons*, 6(1) : 14-29.
- Bégué P. & Astruc. T. (1999). Pathologie infectieuse de l'enfant [en ligne]. 2ème édition, Masson, paris (France), 612p.

- Ben Haj Khalifa A. & Khedher M. (2010). Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches d'*Acinetobacter baumannii* isolées à la région de Mahdia (Algerie). *Médecine et Maladies Infectieuses*, 40: 126-8.
- Bertrou A., Chapuis C. & Hajjar J. (2000). Relation entre contamination et environnement hospitalier. *Hygiènes*, 8(3) : 143-6.
- Berche., Jean L. & Michel S. (1988). Les bactéries des infections humaines. Paris(France). *Flammarion médecine-science*. 660p.
- Conly J. (2002). Antimicrobial resistance. *Canadian Medical Association Journal*, 167(8): 885-91.
- Dadie A. T., Guessenn N., Tiekoura B., Faye-Kette H. & Dosso M. (2003). Résistance aux bêta-lactamines d'*Escherichia coli* d'origine alimentaire et humaine isolés à Abidjan. *Journal. Sciences. Pharmaceutical. Biological*. 4 (1) :62-69.
- Dali A.A. (2015). Infections nosocomiales à Bactéries multirésistantes (BMR) en réanimation adulte à EHUO, Profil épidémiologique, facteurs de risque et facteurs pronostiques. *Thèse de doctorat en Sciences Médicales*. Oran, Algérie, 214p.
- Dantas G., Sommer M.O.A., Oluwasegun R. D. & Church G. M. (2008). Bacteria subsisting on antibiotics. *Science*, 320(5872) : 100-103.
- Delarras C. (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. *Edition Techniques et Documentation Lavoisier*, Paris, 247p.
- Dellit T.H., Owens R.C., McGowan J.E., Gerding D.N., Weinstein R.A. Burke J.P., Charles Huskins W., . Paterson D.L., Fishman N.O., Carpenter C.F., Brennan P.J., Billeter M., Hooton T.M. (2007). Infectious diseases society of America and the society for health care epidemiology of America guidelines for developing an institutional program to enhance antimicrobial stewardship. *Clinical Infectious Diseases*, 44(2) : 159–177.
- Dosso M., Bissagnene E. & Coulibaly M. 2000. Résistances Acquisées et Prescriptions d'antibiotiques en Afrique : quelles adéquations ? *Medicine Maladies Infectieuses*, 30 :197-204.
- Elbaaj A., Elouennass M., Bajou T., Lemnouer A.H., Foissaud V. & Hervé V. (2003). *Acinetobacter baumannii*: Etude de la sensibilité des souches isolées à l'hôpital militaire

- d'instruction Mohammed V, Rabat, Maroc. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 33(7) : 361-4.
- Faure S (2009). Transfère d'un gène de résistance aux B-lactamines blaCTX-M-9 entre *Salmonella* et les entérobactéries de la flore intestinale humaine. Thèse de doctorat. Université de Renne, Renne, France, 184 p.
- Ferroni A., Sermet-Gaudelus I., Abachin E., Quesnes G., Lenoir G., Berche P. & Gaillard J.L. (2003). Caractéristiques phénotypiques et génotypiques des souches atypiques de bacilles à Gram négatif non fermentants isolées chez des patients atteints de mucoviscidose. *Pathologie Biologie*, 51 (7): 405-411...
- Friedman N.D., Temkin E. & Carmeli Y. (2016). The negative impact of antibiotic resistance. *Clinical Microbiology and Infection* 22(5):416–22.
- Gbonon V.C., Guessennd K.N., Kouassi-M'bengue A., Kacou-N'douba A., N'guessan K.R., Kette F.H., Dosso M. & Mignonsin D. (2007). Contrôles bactériologiques de l'environnement des blocs opératoires dans un pays en développement : cas du CHU de Treichville à Abidjan. *Revue Biologie-Africa*, 4(4) : 7-11.
- Guessennd K. N., Loubienga S. W., Gbonon V., Kouassi M'Bengue A., Kacou N'Douba A. & Dosso M. (2004). Résistance aux antibiotiques de 241 souches d'*Escherichia coli* isolées des infections urinaires des patients hospitalisés au CHU de Cocody à Abidjan. *Journal Science Biologie*, 5(1) : 38-45.
- Guessennd N. S., Bremont V., Gbonon A., Kacou N'Douba E., Ekaza. T., Lambert M., Dosso P. & Courvalin. (2008). Résistance aux quinolones de type *qnr* chez les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi à Abidjan en Côte d'Ivoire. *Pathologie Biologie* 56(1) : 439-446.
- Guiraud J-P. (2003). Microbiologie alimentaire. DUNOD, Masson, Paris(France). 696p
- Haouzi R (2013). Etude biologique des effets des microondes sur *Escherichia coli*. Université des sciences et de la technologie d'Oron (Algérie) Mohamed Boudiaf. 60 p..
- Haskouri S. (2002). Résistance aux antibiotiques : mécanismes et évolution. *Thèse doctorat en Pharmacie*. Université Mohammed V, Rabat, Maroc, 104p.

- Hounsa A., Kouadio L. & De Mol P. (2010). Automédication par les antibiotiques provenant des pharmacies privées de la ville d'Abidjan en Côte d'Ivoire. *Médecine et Maladies Infectieuses*. 40(6) : 333-340.
- Islam M. J., Uddin M. S, Hakim M. A, Das K. K, & Hasan M. N. (2008). Role of untreated liquid hospital waste to the development of antibiotic resistant bacteria. *Journal. Innovations. Développement. Strategy*, 2(2): 17-21.
- Jarvis W R, Edwards J R, Culver D H, Hughes J M, Horan T, Emori T G, Banerjee S, Tolson J, Henderson T. & Gaynes R P. (1991). Nosocomial infection rates in adult and pediatric intensive care units in the United States. National Nosocomial Infections Surveillance System. . *American Journal of Medicine*, 91(3): 185-191.
- Jeannette M., Alan W., Gemmill J L., Bilszta B H., Bryanne B B., Jennifer E., David E. & Anne B. (2008). Facteurs de risques prénatals de dépression postnatale : une vaste étude prospective 108(2):147-57
- Lahlou-Amine I. & Baaj A.J. (2002). Résistance bactérienne aux antibiotiques. *Animalis*, 1(3) : 8-16.
- Lemmen S.W., Hafner H., Zolldann D., Amedick G. & Lutticken R. (2001). Comparison of two sampling methods for the detection of gram-positive and gramnegative bacteria in the environment: moistened swab versus Rodac plates. *Int. J. Hyg Environ Health*; 203: 245-248.
- MacPherson D. W., Gushulak B. D., Baine W. B., Bala S., Gubbins P. O., Holtom P. & Segarra-Newnham M. (2009). Population mobility, globalization, and antimicrobial drug resistance. *Emerging Infectious Diseases*. 15(11): 1727-1732.
- Martinez J. L. (2008). Antibiotics and antibiotic resistance genes in natural environments. *Science*, 321 (32) : 365-367.
- Mazri R. (2015). Nouvelle approche des relations structures activités dans des molécules antibiotiques [en ligne]. *Thèse de doctorat en Science.*: Université Mohamed Khider Biskra, Biskra, Algérie, 89p.
- Meité S., Boni-Cisse C, Guei M.C., Houedanon C., Faye-Kette H. (2007). Evaluation du risque infectieux au laboratoire d'analyses médicales : exemple du CHU de Yopougon (Abidjan, Cote d'ivoire) en 2006. *Revue BioAfrica*, 4 :16-22.

- Meunier O., Hernandez C., Piroird M., Heilig R., Steinbach D. & Freyd A. (2005). Prélèvements bactériologiques des surfaces : importance de l'étape d'enrichissement et du choix des milieux de culture. *Annale de Biologie Clinique*, 63(5): 481-6.
- Monique C. (2015). Antibiotiques. MCU-PH *Faculté de Médecine Lyon-Sud Charles Mérieux*, 52p.
- Munoz-Aguayo J, Lang K.S., Lapara T.M., Gonzalez G. & Singer R.S. (2007). Evaluating the Effect of Chlortetracycline on the proliferation of Antibiotic-resistant bacteria in a stimulated river water ecosystem. *Applied and Environmental Microbiology*. 73 (7): 5421-5425.
- Navon-V S., Ronen B A. & Yehuda C. (2005). Mise à jour sur les infections à *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* en milieu de soins de santé. *Infectious Diseases* 18(4): 306–13.
- Nordman, (2004). *Acinetobacter baumannii*: Agent d'infections nosocomiales par excellence. *Pathologie biologique*, 52(6) : 301-3.
- Normark B H. & Normark S. (2002). Evolution and spread of antibiotic resistance. *Journal of internal medicine*, 252: 91-106.
- Oie S. (2002). Contamination of room door handles by methicillin-sensitive / methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal Hospital Infections*, 51: 140 -3.
- Philippon A., Arlet G. & Lagrange P.H. (1994). Origin and impact of plasmid-mediated extended spectrum beta lactamases. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 13(1): 17-29.
- Pier, G.B. & Ramphal, R. (2005) *Pseudomonas aeruginosa*. *Principles Practice of Infectious Disease*, Churchill Livingstone, New York, 28 : 2587-2615.
- R.A.I.S.I.N. (Réseau d'alerte, d'investigation et de surveillance des infections nosocomiale). (2001) Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales Résultats, Saint-Marie (France) Institut de veille sanitaire,. Octobre 2003 : 84p
- Randrianirina F., Vaillant L., Ramarokoto E., Rakotoarijaona A., Andriamanarivo L.M. & Razafimahandry H. (2010). Antimicrobial resistance in pathogens Causing nosocomial infections in surgery and intensive care wards in Antananarivo Madagascar. *Journal Infection Developpent Countries*; 4(2): 74-82.

- Reo W. (1963). Transport sain de *Staphylococcus aureus*: prévalence et importance. *Bacteriological Reviews*, 27: 56 –71.
- Robina F., Gibolda L. & Bonneta. R. (2012). Résistances naturelles et acquises aux bêta-lactamines chez les entérobactéries : comment les identifier en pratique quotidienne ? *Revue francophone des laboratoires*. 445 : 47-58.
- Robina F., Gibolda L.& Bonneta, R. (2012) Résistances naturelles et acquises aux bêta-lactamines chez les entérobactéries : comment les identifier en pratique quotidienne ? *Revue francophone des laboratoires*. 445(5) : 47-58.
- Rossolini G.M. & Mantengoli E. (2008) Antimicrobial resistance in Europe and its potential impact on empirical therapy, *Clinical Microbiology and Infection*, 14 (6): 2-8.
- Serragui S., Derraji S., Mahassine F. & Cherrah Y. (2013). Résistance bactérienne : états des lieux au Maroc. *Maroc Médical*, 35(3) : 199-205.
- Talon D. (1999). The role of the hospital environment in the epidemiology of multiresistant bacteria. *Journal of Hospital Infection*, 43(1): 13-7.
- Thomas S., Holger V., Slike K., Wolfagang K., Katja S., Bernd J. & Ursula O. (2007). Detection of antibiotic-resistant bacteria and their resistance genes in waster, surface water and drinking water biofilms, *Federations of European Microbiological Societies Ecology*. 43(3): 325-335
- Tudela E., Croizé J., Lagier A., Mallaret M.R. (2008). Microbiological monitoring of milk samples and surface samples in a hospital infant formula room. *Pathologie biologique*: 56(5): 272-8.

RÉSUMÉ

La recrudescence de la résistance microbienne aux antibiotiques en Côte d'Ivoire est devenue une véritable préoccupation dans le domaine de santé. C'est ainsi que notre objectif consiste à évaluer la résistance aux antibiotiques des bactéries isolées dans les unités de soins du Centre Hospitalier Régional de Daloa. Cette étude s'est réalisée en 2 étapes. D'abord une étude rétrospective sur les bases de données au laboratoire de bactériologie du CHR de Daloa. Ensuite, écouvillonnage des surfaces dans les services Hospitaliers. Ainsi les échantillons ont été ensemencés sur les milieux gélosés, les souches identifiées et les profils de résistance sont analysés selon les recommandations de CA-SFM. Seize(16) souches bactériennes ont été obtenues au niveau des bases de données dont *E.coli*, *Klebsiella sp* et *S.aureus*. Pour les études environnementale (7 souches dont *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Entérobacter sp*, *Klebsiella sp*, *Enterococcus sp* et deux non entérobactéries) ont été isolées. Pour les souches *E.coli*, les phénotypes résistants observés sont Case de haut niveau. Pour ce phénotype, on trouve (25%) en Médecine, gynécologie et en Chirurgie, pour le phénotype BLSE on trouve 10% en Médecine et 25% à l'extérieur. Pour les souches de *Klebsiella sp* on trouve (50%) en Diabétologie et Extérieur. Les services les plus incriminés au CHR sont la Médecine, la Gynécologie et la Chirurgie. Le taux de similitude pour le phénotype BLSE en Médecine, de l'Extérieur et environnement en Chirurgie, est estimé de 70 à 84%. En Médecine, Gynécologie, Chirurgie clinique et Diabétologie, le phénotype CHN + KTG est estimé de 40 à 86 %. Cette étude a montré qu'il existe plusieurs souches multi-résistantes chez les malades et dans l'environnement hospitalier au CHR de Daloa. Ceci est une alerte pour la mise en place d'un réseau de surveillance de la résistance microbienne dans l'environnement Hospitalier pour limiter la dissémination et la prolifération des germes résistances au sein de l'hôpital.

Mots clés : Phénotype résistant, *E coli Klebsiella sp* BLSE, CHN CHR, Daloa

Abstract

The resurgence of microbial resistance to antibiotics in Côte d'Ivoire has become a real concern in the field of health. Thus, our goal is to assess the antibiotic resistance of bacteria isolated in the care units of the Daloa Regional Hospital Center. This study was carried out in 2 stages. First, a retrospective study on the databases at the bacteriology laboratory of the CHR of Daloa. Then, swabbing of surfaces in hospital departments. Thus, the samples were seeded on the agar media, the identified strains and the resistance profiles are analyzed according to the recommendations of CA-SFM. Sixteen (16) bacterial strains were obtained from databases including *E.coli*, *Klebsiella sp* and *S.aureus*. For environmental studies (7 strains including *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter sp*, *Klebsiella sp*, *Enterococcus sp* and two non-enterobacteria) were isolated. For *E.coli* strains, the resistant phenotypes observed are high-level Case. For this phenotype, we find (25%) in Medicine, Gynecology and Surgery, for the ESBL phenotype we find 10% in Medicine and 25% outside. For strains of *Klebsiella sp* we find (50%) in Diabetology and Exterior. The most incriminated services at the CHR are Medicine, Gynecology and Surgery. The similarity rate for the ESBL phenotype in Medicine, Outdoor and Environment in Surgery, is estimated at 70 to 84%. In Medicine, Gynecology, Clinical Surgery and Diabetology, the CHN + KTG phenotype is estimated at 40 to 86%. this study showed that there are several multi-resistant strains in patients and in the hospital environment at the Daloa CHR. This is an alert for the establishment of a microbial resistance monitoring network in the hospital environment to limit the spread

Keywords: Resistant phenotype, *E coli Klebsiella sp* BLSE, CHN CHR, Daloa

ANNEXE : Matériels utilisés

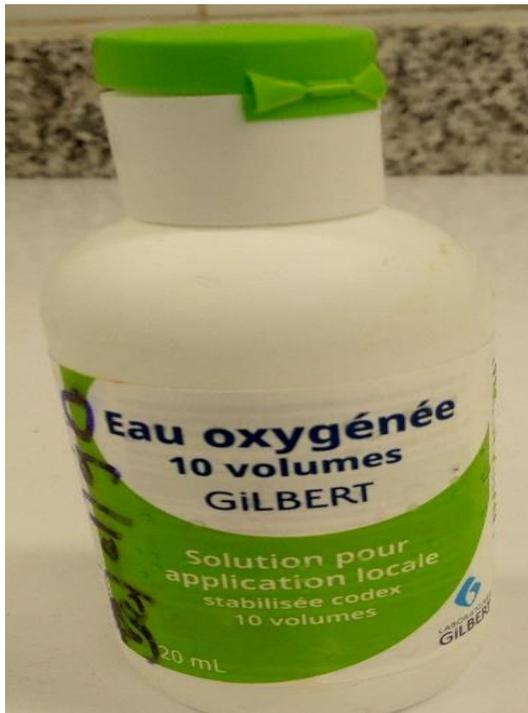


Figure 13: Eau oxygénée



Figure 14: Des écouvillons



Figure 15: Microscope optique



Figure 16: Les matériels d'antibiogrammes



Figure 17: Le portoir de L'Eminor



Figure 18: Réactif de kovac's



Figure 19: Un réfrigérateur



Figure 20 : Etuve