



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Microbiologie

قسم : الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Ecologie et environnement

Spécialité : Ecologie Microbienne

Intitulé :

ENTEROBACTERIES UROPATHOGENES : EPIDEMIOLOGIE ET RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

Présenté et soutenu par : *M. BOUHEDJA Mohamed Laid*

Le : 03/07/2019

M. HADJI Mouatez

Jury d'évaluation :

Président du jury : *M^{elle} ARABET D* (MCA – UFM Constantine 1)

Rapporteur : *M^{me} HECINI-HANNACHI A* (MCA – U Saleh Bounbider Constantine 3)

Examineur : *M^{me} ZERMANE F* (MAA – UFM Constantine 1)

Année universitaire
2018 - 2019

TABLE DES MATIERES

DEDICACES ET REMERCIEMENTS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ANNEXES

LISTE DES ABREVIATIONS

RESUMES

INTRODUCTION	1
PARTIE I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	2
1. GENERALITES SUR LES INFECTIONS URINAIRES	2
1.1. Rappels sur l'anatomie de l'appareil urinaire	2
1.2. Caractéristiques de l'urine	3
1.2.1. Définition	3
1.2.2. Caractères physicochimiques	3
1.2.3. Principaux constituants.....	4
1.2.4. Comparaison entre urines normales et urines contaminées	5
1.3. Infections urinaires.....	5
1.3.1. Définition de l'infection urinaire.....	5
1.3.2. Différents types d'infections urinaires.....	6
1.3.2.1. L'urétrite	6
1.3.2.2. La cystite.....	6
1.3.2.3. La pyélonéphrite	6
1.3.2.4. La prostatite	7

2. GENERALITES SUR LES ENTEROBACTERIES.....	7
2.1. Définition	7
2.2. Taxonomie	8
2.3. Caractères biologiques	10
2.3.1. Caractères morphologiques	10
2.3.2. Caractères cultureux.....	10
2.3.3. Caractères biochimiques.....	10
3. GENERALITES SUR LES ANTIBIOTIQUES	10
3.1. Définition et classification	10
3.2. Différents modes d'action des antibiotiques	11
3.3. Nature des résistances des Entérobactéries aux antibiotiques	13
3.3.1. Résistance naturelle.....	13
3.3.2. Résistance acquise.....	13
3.4. Mécanismes de résistance des Entérobactéries aux antibiotiques	13
3.4.1. Résistance aux β -lactamines	14
3.4.2. Résistance aux aminosides	15
3.4.3. Résistance aux quinolones	15
PARTIE II. MATERIELS ET METHODES	17
1. Lieu et période d'étude	17
2. Population étudiée	17
3. Echantillonnage	17

3.1. Taille de l'échantillon	17
3.2. Critères d'inclusion	17
3.3. Critères d'exclusion	17
4. Examen cytobactériologique des urines (ECBU).....	17
4.1. Examen macroscopique avant culture.....	17
4.2. Examen microscopique	18
4.2.1. Examen cytobactériologique direct.....	18
4.2.2. Examen direct après coloration au bleu de méthylène	19
4.2.3. Examen direct après coloration de Gram	20
4.3. Mise en culture.....	20
4.4. Isolement	20
4.5. Identification	21
4.5.1. Examen macroscopique	21
4.5.2. Préparation de l'inoculum	21
4.5.3. Tests biochimiques.....	22
5. Etude de la sensibilité aux antibiotiques (Antibiogramme).....	27
5.1. Définition et principe.....	27
5.2. Antibiotiques utilisés	27
5.3. Technique de l'antibiogramme	29
5.3.1. Préparation et ajustement de l'inoculum	29
5.3.2. Ensemencement	29

5.3.3. Application des disques d'antibiotiques	30
5.3.4. Incubation	30
5.3.5. Lecture.....	30
6. Recherche de β -lactamases à spectre étendu (BLSE)	33
PARTIE III. RESULTATS ET DISCUSSION.....	34
1. CARACTERISTIQUES EPIDEMIOLOGIQUES.....	34
1.1. Fréquence des prélèvements à culture positive.....	34
1.2. Fréquence des infections urinaires en fonction de l'âge	35
1.3. Fréquence des infections urinaires en fonction du sexe	36
1.4. Fréquence des infections urinaires en fonction du service	37
1.5. Fréquence des infections urinaires en fonction du germe responsable	38
1.6. Fréquence des Entérobactéries selon l'espèce	39
2. RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES	40
2.1. Entérobactéries et résistance aux différents antibiotiques	40
2.1.1. Profil de résistance des souches d' <i>E. coli</i>	40
2.1.2. Profil de résistance des souches de <i>K. pneumoniae</i>	41
2.1.3 Profil de résistance des souches de <i>Proteus mirabilis</i>	42
2.2. Entérobactéries et multirésistance	45
2.2.1. Taux global de la multirésistance des Entérobactéries	45
2.2.2. Fréquence de la multirésistance des Entérobactéries en fonction de l'espèce	45
2.2.3. Fréquence de la multirésistance des Entérobactéries en fonction du service	46

2.3. Entérobactéries et BLSE.....	47
2.3.1. Fréquence des Entérobactéries productrices de BLSE.....	47
2.3.2. Fréquence des Entérobactéries productrices de BLSE selon l'espèce.....	48
CONCLUSION	51
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
ANNEXES	

DEDICACES ET REMERCIEMENTS

Ce travail est dédié à nos parents, qui ont toujours cru en nous.

Ce travail n'aurait pas été concrétisé sans le concours d'un bon nombre de personnes qui, chacune à sa façon, ont apporté une aide précieuse à sa réalisation. C'est pour cette raison que nous tenons à leur exprimer notre reconnaissance et notre profonde gratitude.

A Mademoiselle Dallel ARABET pour nous faire l'honneur de présider ce jury de mémoire.

A Madame Abla HECINI- HANNACHI pour avoir accepté d'encadrer ce mémoire, pour son aide, ses encouragements et sa patience.

Vous nous avez guidés tout au long de notre travail en nous apportant vos précieux conseils.

Nous vous remercions pour votre patience et votre soutien lors de la réalisation de ce travail.

A Madame Ferial Zermane pour avoir accepté de faire partie du jury.

Je vous remercie toutes pour l'honneur que vous nous avez fait en acceptant de d'évaluer notre travail.

Notre plus profonde reconnaissance au professeur Hichem Fendri pour nous avoir accueilli au laboratoire et à toute l'équipe du service de Microbiologie de l'Etablissement Hospitalier Didouche Mourad de Constantine, particulièrement, au docteur Hadjer Salhi et à monsieur Abdallâh Soltan pour leur aide dans les techniques bactériologiques au laboratoire.

A tous les membres de la famille pour leur soutien au quotidien depuis le début de notre mémoire, et pour leur compréhension.

A toutes nos amies de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie qui n'ont cessé de nous encourager.

LISTE DES FIGURES

	Pages
Figure 1. Schéma de l'appareil urinaire	2
Figure 2. Arbre phylogénétique construit selon la méthode UPGMA pour l'identification des Entérobactéries à partir des séquences d'ARNr 16S (1440 bases). Les valeurs de bootstraps sur 100 réplifications sont indiquées à chaque nœud. Echelle de temps (MA : millions d'années)	9
Figure 3. Mode d'action de l'antibiotique	12
Figure 4. Aspect trouble des urines	18
Figure 5. Aspect hématique des urines	18
Figure 6. Examen cytobactériologique direct	19
Figure 7. Coloration au bleu de méthylène	20
Figure 8. Exemple d'isolement sur milieu Chapman	21
Figure 9. Galerie API 20 E non ensemencée	23
Figure 10. Exemple d'un galerie API 20 E d' <i>E. coli</i>	23
Figure 11. Exemple des milieux de cultures utilisés dans la galerie classique	25
Figure 12. Exemple de l'aspect du test positif de catalase	26
Figure 13. Ajustement de l'inoculum à 0,5 Mc Farland	29
Figure 14. Exemple sur l'application des disques dans une boîte de pétri de 90 mm	30
Figure 15. Exemple de l'antibiogramme	31
Figure 16. Exemple des souches d' <i>E. coli</i> productrice de BLSE	33
Figure 17. Fréquence des prélèvements à culture positive	34
Figure 18. Fréquence des infections urinaires en fonction de l'âge	35
Figure 19. Fréquence des infections urinaires en fonction du sexe	36
Figure 20. Fréquence des infections urinaires selon le service	37

Figure 21. Fréquence des infections urinaires en fonction du germe responsable	38
Figure 22. Fréquence des Entérobactéries selon l'espèce	39
Figure 23. Profil de résistance des souches d' <i>E. coli</i> aux antibiotiques	40
Figure 24. Profil de résistance des souches de <i>K. pneumoniae</i> aux antibiotiques	42
Figure 25. Profil de résistance des souches de <i>Proteus mirabilis</i> aux antibiotiques	43
Figure 26. Taux global de la multirésistance des Entérobactéries (BMR : bactéries multirésistantes, NBMR : bactéries non multirésistantes)	45
Figure 27. Fréquence de la multirésistance des Entérobactéries en fonction de l'espèce	46
Figure 28. Taux de la multirésistance des Entérobactéries en fonction du service	46
Figure 29. Fréquence des Entérobactéries productrices de BLSE	47
Figure 30. Fréquence des Entérobactéries productrices de BLSE selon l'espèce	48

LISTE DES TABLEAUX

	Pages
Tableau 1. Différents caractères de l'urine	3
Tableau 2. Principaux constituants de l'urine	4
Tableau 3. Aspect des urines chez les sujets normaux et malades	5
Tableau 4. Antibiotiques testés pour les Entérobactéries	28
Tableau 5. Antibiotiques testés et diamètres critiques de la zone d'inhibition selon les normes du CLSI	32
Tableau 18. Profil de résistance aux antibiotiques des 4 souches BLSE	49

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1. MILIEUX DE CULTURES

Annexe 2. COLORANTS ET COLORATION

Annexe 3. TABLEAUX

Tableau 6. Fréquence des prélèvements à culture positive

Tableau 7. Fréquence des infections urinaires en fonction de l'âge

Tableau 8. Fréquence des infections urinaires en fonction du sexe

Tableau 9. Fréquence des infections urinaires selon le service

Tableau 10. Fréquence des infections urinaires en fonction du germe responsable

Tableau 11. Fréquence des entérobactéries selon l'espèce

Tableau 12. Profil de résistance des souches d'entérobactéries

Tableau 13. Taux global de la multirésistance des Entérobactéries

Tableau 14. Fréquence de la multirésistance des Entérobactéries en fonction de l'espèce

Tableau 15. Taux de la multirésistance des Entérobactéries en fonction du service

Tableau 16. Fréquence des Entérobactéries productrices de BLSE

Tableau 17. Fréquence des Entérobactéries productrices de BLSE selon l'espèce

LISTE DES ABREVIATIONS

ADH	Arginine dihydrolase
ADN	Acide désoxyribonucléique
AK	Amikacine
AMC	Amoxicilline + Acide clavulanique
AME	Enzyme modifiant les aminosides
AMX	Amoxicilline
ATM	Aztreonam
BGN	Bactérie gram négatif
BLSE	β -lactamases à spectre étendu
C	Chloramphénicol
C1G	Céphalosporine 1 ^{er} génération
C2G	Céphalosporine 2 ^{eme} génération
C3G	Céphalosporine 3 ^{eme} génération
CAZ	Céftazidime
CA-SFM	Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
CIP	Ciprofloxacine
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
COT	Cotrimoxazole
CT	Colistine
CTX	Céfotaxime
CZ	Céfazoline
ECBU	Examen cyto bactériologique des urines
F	Nitrofurantoïne

FO	Fosfomycine
FOX	Cefoxitine
GEL	Gélatine
GEN	Gentamicine
GN	Gélose nutritive
IMP	Imipenème
IU	Infection urinaire
LDC	Lysine décarboxylase
NA	Acide nalidixique
ODC	Ornithine décarboxylase
PH	Potentiel hydrogène
RM	Rouge de méthyle
TIC	Ticarcilline
UFC	Unite formant colonies
URE	Uréase
UPGMA	Unweighted pair group method with arithmetic mean
VP	Vosges-proskauer

Résumé

Les infections urinaires (IU), devenues fréquentes, occupent la seconde place après les infections respiratoires et constituent un véritable problème de santé publique à cause de leur difficulté de traitement. Notre travail avait pour objectifs, l'étude des caractéristiques épidémiologiques, du profil bactériologique et de la sensibilité aux antibiotiques des Entérobactéries responsables d'IU. C'est une étude réalisée à l'Etablissement Hospitalier Didouche Mourad, menée sur 217 prélèvements d'urines de patients hospitalisés et externes.

Notre travail consistait en l'examen cyto bactériologique des urines (ECBU) avec la mise en évidence des bactéries responsables d'IU notamment les Entérobactéries et l'étude de leur sensibilité à différents antibiotiques par la technique de diffusion en milieu gélosé. Les résultats obtenus ont montré que la fréquence de l'IU était plus importante chez le jeune enfant avec un taux de 44,19% avec une prédominance chez la femme dans 62,79% des cas. Les tests bactériologiques ont révélé que sur 43 souches isolées, 34 étaient des Entérobactéries soit une fréquence de 79,07% dont l'espèce bactérienne dominante était *Escherichia coli* (*E. coli*) (64,71%). L'étude de la résistance aux antibiotiques a montré que 100% des souches d'*E. coli* étaient résistantes aux pénicillines alors qu'elles restaient plus ou moins sensibles à l'amoxicilline-acide clavulanique et aux céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G). L'aztréonam et l'imipénème restaient très actifs. En ce qui concerne les autres antibiotiques, la plupart ne sont pas touchés par la résistance comme les aminosides, les fluoroquinolones, la fosfomycine, le chloramphénicol et la colistine. Les souches de *Klebsiella pneumoniae* présentaient des taux de résistance plus élevés surtout vis à vis des C3G et des aminosides. Le taux des souches productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) était de 14,70% dans notre étude. La prévalence croissante des BLSE pose un problème inédit qui est l'afflux de bactéries multirésistantes.

Mots clés : infection urinaire, Entérobactéries, résistance aux antibiotiques.

Abstract

Urinary tract infections becoming frequent occupy the second place after respiratory ones and are a real health problem because of their difficulty of treatment. Our work had for objectives the study of the epidemiological characteristics, bacteriological profile and Enterobacteria's sensibility to antibiotics responsible of these infections. It's a study done at the « Etablissement Hospitalier Didouche Morad » which carried out on 217 urine samples of hospitalized patients and external individuals. Our job consisted on the cytobacteriological urine examination (CBUE) with the identification of bacteria responsible of the UTI especially Enterobacteria and the study of their sensibility to different antibiotics by the technic of diffusion in agar medium. Results obtained have shown that the frequency of UTI has been more important among young children with a rate of 44.19% with a predominance in woman in 62.79% of cases. Bacteriological tests have revealed that among 43 isolated strains, 34 were Enterobacteria with a frequency of 79.07% of which the dominant bacterial specie was *E. coli* (64.71%). The study of the antibiotics resistance has shown that 100% of *E. coli* strains were resistant to Penicillin while they stayed more or less sensitive to amoxicillin-clavulanic acid and to C3G. Aztreonam and imipenem have remained very active. Regarding other antibiotics, mostly are not concerned by resistance such as aminosides, fluoroquinolones, fosfomycin, chloramphenicol and colistin. *K. Pneumoniae* strains have showed higher rates of resistance towards C3G and aminosides. In our study, the rate of β -lactamase productive strains with a broad spectrum was of 14.70%. The increasing prevalence of ESBL is a unprecedented problem which is the influx of multiresistant bacteria.

Key words: Urinary tract infections, Enterobacteria, antibiotics resistance.

ملخص

إن التهابات المسالك البولية أصبحت متكررة وتحتل المرتبة الثانية بعد التهابات الجهاز التنفسي وتشكل مشكلة حقيقية للصحة العمومية وذلك بسبب صعوبة علاجها. كان الغرض من عملنا هو دراسة الخصائص الوبائية للسمات البكتريولوجية وحساسية البكتيريا المعوية المسؤولة عن التهاب المسالك البولية للمضادات الحيوية. تم إنجاز هذه الدراسة في المؤسسة الاستشفائية ديدوش مراد، بحيث أجريت على 217 عينة بول لمرضى يعالجون بالمستشفى وآخرون خارجه. تركز عملنا في الاختبار البكتيري الخلوي للبول مسحوب بالكشف على البكتيريا المسؤولة عن التهاب المسالك البولية ولا سيما البكتيريا المعوية ودراسة حساسيتها لمختلف المضادات الحيوية من خلال تقنية الانتشار في وسط زرع أجار. أظهرت النتائج المتحصل عليها أن معدل الإصابة بالتهاب المسالك البولية كان أعلى عند الطفل الصغير بنسبة 44,19 % مع غلبة عند الإناث بنسبة 62,79 % من الحالات. كشفت الفحوص البكتيرية أنه من بين 43 سلالة معزولة كانت منها 34 بكتيريا معوية بنسبة 79,07 % بحيث كانت البكتيريا المهيمنة هي *E. coli* بنسبة 64,71 % . أظهرت دراسة مقاومة المضادات الحيوية أن 100 % من سلالة بكتيريا *E. coli* كانت مقاومة لل *Pénicillines* في حين بقيت أكثر أو أقل حساسية ل *amoxicilline – acide clavulanique* و *C3G* وبقي كل من *aztréonam* و *imipenème* نشيطين للغاية أما بالنسبة للمضادات الحيوية الأخرى فإن معظمها لا يتأثر بالمقاومة مثل *aminosides*, *colistine*, *chloramphénicol*, *fosfomycine*, *fluoroquinolones*, أظهرت سلالات *K. pneumoniae* مقاومة عالية جدا خاصة اتجاه *C3G* و *aminosides*. نسبة السلالات المنتجة لل β -lactamase على مجال واسع كانت 14,70 % في دراستنا. يعد الانتشار المتزايد لل *BLSE* مشكلة غير مسبوقه وهي تكاثر البكتيريا ذات المقاومة المتعددة.

كلمات مفتاحية: التهابات المسالك البولية، البكتيريا المعوية، مقاومة المضادات الحيوية.

INTRODUCTION

INTRODUCTION

L'intérêt porté ces dernières années aux infections urinaires (IU) et leur prise en charge en thérapeutique anti-infectieuse restent encore d'actualité. Les IU restent fréquentes et occupent la seconde place après les infections respiratoires (Caron, 2008). Cela constitue un véritable problème de santé publique tant par leur fréquence que par leur difficulté de traitement (Jantusch & Kher, 2017). L'IU touche principalement la femme et les personnes de tout âge. Souvent considérée comme banale, elle peut avoir des conséquences sévères, notamment chez la femme enceinte ou chez les patients âgés, ceux qui présentent une anomalie des voies urinaires et ceux ayant des antécédents ou immunodéprimés (Thirion & Williamson, 2003). Les IU sont fréquentes tant en milieu hospitalier qu'en milieu communautaire.

Les bacilles à Gram négatif sont les germes les plus incriminés dans les IU avec une prédominance des Entérobactéries dont *E. coli* (Strohmeier, 2014).

Les espèces de cette famille ont été depuis une vingtaine d'années largement exposées à une utilisation extensive des antibiotiques. Revers de la médaille, elles n'ont pas été épargnées par la résistance croissante aux molécules les plus fréquemment utilisées telles les β -lactamines. La résistance aux antibiotiques chez les Entérobactéries est un problème important qui nécessite une attention immédiate, plus particulièrement avec l'apparition des β -lactamases à spectre étendu (BLSE) (Paterson, 2006).

Nous proposons à ce propos cette étude qui présente les caractéristiques épidémiologiques et bactériologiques de 34 souches d'Entérobactéries uropathogènes non répétitives isolées chez des patients hospitalisés et des consultants externes au niveau de l'Etablissement Hospitalier Public Didouche Mourad dans le but d'évaluer leur épidémiologie locale et leur niveau de résistance aux antibiotiques couramment utilisés. Une telle étude, contribuerait à guider l'adaptation des stratégies thérapeutiques.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. GENERALITES SUR LES INFECTIONS URINAIRES

1.1. Rappels sur l'anatomie de l'appareil urinaire

L'appareil urinaire correspond à l'ensemble des organes qui élaborent l'urine et l'évacuent hors du corps.

Il est divisé en deux parties :

- Le bas de l'appareil composé de l'urètre et de la vessie.
- Le haut de l'appareil, bilatéral et symétrique, composé des uretères et des reins.

Ces derniers sont situés dans chaque fosse lombaire, de part et d'autre de la colonne vertébrale.

L'urine est élaborée par le parenchyme rénal et est ensuite filtrée dans les calices qui sont au nombre de trois en moyenne pour chaque rein et qui se réunissent pour former le bassin qui collecte l'urine.

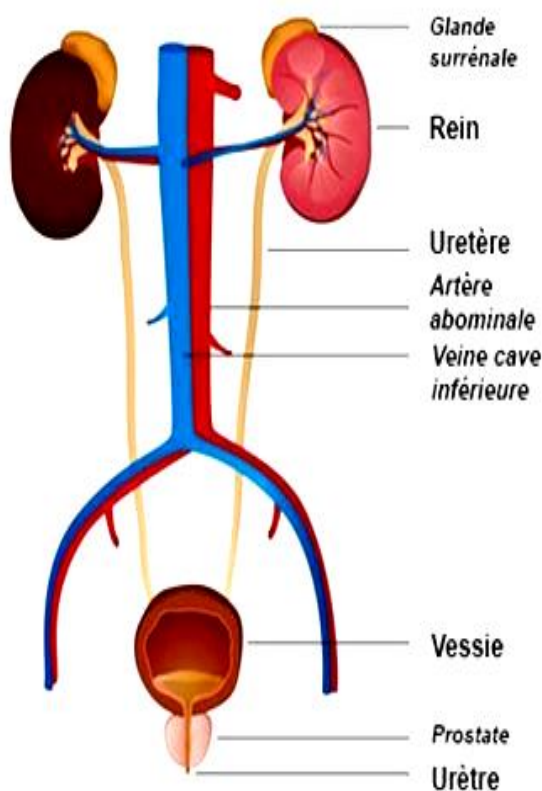


Figure 1. Schéma de l'appareil urinaire (Castagnola, 2010)

Quant aux deux uretères, qui font suite à chacun des deux bassinets, ils conduisent l'urine de manière continue du rein vers la vessie qui est un réservoir musculaire capable de se distendre et de se contracter pour permettre la miction de l'urine (Wainsten, 2017).

1.2. Caractéristiques de l'urine

1.2.1. Définition

L'urine est un liquide biologique composé de déchets de l'organisme, odorant, transparent, de couleur jaune ambré, sécrété par les reins par filtration du sang et éliminé par les voies urinaires hors du corps. Elle se caractérise par un pH de 5 à 6 et une densité de 1,016 à 1,020 avec une quantité en moyenne de 1500 cm³ par 24 heures (Lacombe, 2005).

1.2.2. Caractères physicochimiques (Lavigne, 2007)

L'urine à l'état normal présente plusieurs paramètres :

Tableau 1. Différents caractères de l'urine

Volume	1000-1600 ml en 24h. Ce volume peut être réduit de moitié environ à la suite de grandes chaleurs ou de divers exercices corporels.
Couleur	Jaune ambrée, couleur liée aux pigments qu'elle contient tels l'urochrome et l'uroerythrine.
Limpidité	L'urine normale fraîchement émise renferme toujours des cellules épithéliales, du mucus de sédiment, et constitue un dépôt floconneux. Les leucocytes qu'elle contient peuvent également de façon légère diminuer sa clarté.
Odeur	Légère, cependant des bactéries peuvent transformer l'urée en carbonate d'ammonium (Cas de cystite) et donner une odeur ammoniacale.
Poids	Déterminé à l'aide d'un pycnomètre, l'urine des 24 h recueillie pèse environ 1,020 kg.

1.2.3. Principaux constituants

L'urine d'une personne saine est composée de 95% d'eau dans laquelle les déchets du métabolisme sont dissouts. Les principaux constituants sont mentionnés dans le tableau 2 (Wainsten, 2017).

Tableau 2. Principaux constituants de l'urine

Constituants	Valeurs moyennes
Eléments minéraux	
Sodium	3 à 7 g / 24h
Potassium	2 à 4 g / 24h
Calcium	100 à 400 mg / 24h
Chlore	4 à 9 g / 24h
Eléments organiques	
Acide urique	0,35 à 1 g / 24h
Urée	10 à 35 g / 24h
Créatinine	0,5 à 2,5 g / 24h
Urobiline	0,2 à 3,5 mg / 24h
Constituants chimiques anormaux	
Glucose	Absence
Protéines	< 0,05 g / 24h
Corps cétoniques	Absence
Eléments cellulaires	
Cellules épithéliales	Quelques cellules
Cylindres	1 à 2 cylindres hyalins / min
Hématies	Inférieur à 5000 / min
Leucocytes	Inférieur à 5000 / min

1.2.4. Comparaison entre urines normales et urines contaminées

L'aspect des urines chez un sujet normal par rapport à un sujet malade fait intervenir plusieurs facteurs (Richet, 1988).

Tableau 3. Aspect des urines chez les sujets normaux et malades

Aspects des urines	Etat normal	Etat pathologique
Couleur	Jaune claire : Polyurie Jaune foncé : Oligurie	Jaune orange : Malade fébrile Rouge : Présence d'hémoglobine Brun verdâtre : Présence de pigments biliaires Noire : Anomalie enzymatique congénitale
Odeur	Difficile à définir	Acétonique : Diabète Fétide : Fièvre grave, cancer du rein et de la vessie
Transparence	Claire	Trouble : Présence de pus
Viscosité	Légèrement supérieure à celle de l'eau	Modification par présence de pus, de protéines et de graisses

1.3. Infections urinaires**1.3.1. Définition de l'infection urinaire**

C'est une infection du tractus urinaire, elle est très fréquente, notamment chez les femmes, elle est définie comme une colonisation bactérienne qui peut toucher une ou plusieurs parties de l'appareil urinaire : L'uretère et le rein (IU haute) et la vessie (IU basse) (Idatie, 1988 ; Mallaret *et al.*, 1996). Une IU significative présente en général au moins 10^5 UFC/ml d'une bactériurie accompagnée d'une leucocyturie pathologique supérieure ou égale à 10^4 par ml d'urine (Zitti, 2014). Les germes impliqués dans ce type d'infection proviennent le plus souvent de la flore digestive normale (*E. coli* par exemple). Ce type d'infections est considéré comme la première cause responsable d'infections nosocomiales (Michael & John, 2007).

1.3.2. Différents types d'infections urinaires

Trois types d'IU sont possibles, il s'agit de l'urétrite, de la cystite et de la pyélonéphrite, en plus de la prostatite chez l'homme. Le diagnostic dépend de la région touchée par l'infection :

1.3.2.1. L'urétrite

L'urétrite est une infection de l'urètre antérieur, canal qui relie la vessie au méat urinaire, le plus souvent sexuellement transmise. Courante chez les hommes, cependant les femmes peuvent aussi en souffrir. Différents agents infectieux peuvent causer l'urétrite. Les plus communs sont la *chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* et le gonocoque (Guy Albert, 2008). La colonisation et l'envahissement de ces agents infectieux entraînent une réaction inflammatoire plus au moins intense, avec gêne douloureuse à la miction (dysurie), pollakiurie et écoulement purulent.

1.3.2.2. La cystite : peut être simple ou compliquée

➤ Cystite simple

C'est la forme d'IU la plus fréquente, surtout chez les femmes. Il s'agit d'une atteinte isolée de la muqueuse vésicale et urétrale, sans répercussion systémique ni état fébrile sans facteur de risque, épisode isolé, en dehors de la grossesse, en absence de diabète, sans insuffisance rénale, sans anomalie de l'appareil urinaire et sans intervention endoscopique récente. Le diagnostic de cystite simple est clinique, l'ECBU est inutile (Thierry *et al.*, 1998).

➤ Cystite compliquée

Ce type d'infection survenant dans un contexte favorisant (geste chirurgical ou endoscopique, résidu vésical par obstacle ou dysfonctionnement) (Thierry *et al.*, 1998), entraîne une dysurie, une pollakiurie et des douleurs sus-pubiennes avec un aspect macroscopique trouble et l'absence de fièvre (Prudhomme *et al.*, 2010).

1.3.2.3. La pyélonéphrite : peut être simple ou compliquée

➤ Pyélonéphrite simple

La pyélonéphrite, définie comme une IU avec état fébrile et douleur à la percussion de la loge rénale et pyurie avec urines troubles (Guy Albert, 2008), peut ou non être précédée d'une cystite. Celle-ci est liée à la prolifération des bactéries de la vessie vers les reins. Cette infection entraîne une inflammation aiguë calicelle, pyélo-urétrale et parenchymateuse rénale d'origine bactérienne (Debré *et al.*, 1992).

➤ Pyélonéphrite compliquée

Une pyélonéphrite compliquée est une infection bilatérale considéré comme une complication de cystite, souvent à la faveur d'un reflux vésico-urétéral lié à un obstacle (lithiase, tumeur)

ou d'une diminution du péristaltisme urétéro-vésical (grossesses, paraplégie) ou chez un patient immunosupprimé. Il s'agit d'une infection grave qui doit être traitée en urgence (Chen *et al.*, 2010). Cette infection entraîne des douleurs lombaires habituellement unilatérales, irradiant vers les organes génitaux externes avec fièvre, pyurie et souvent des signes de cystite. (Anglaret & Mortier, 2003). Elle requiert dans tous les cas un bilan sanguin avec hémocultures, culture urinaire et bilan radiologique.

1.3.2.4. La prostatite : peut-être aiguë ou chronique

➤ **Prostatite aiguë**

La prostatite aiguë est une infection du parenchyme prostatique qui touche seulement les hommes, particulière chez les jeunes adultes (Wainsten, 2012). La maladie entraîne des douleurs abdominales sus-pubiennes avec fièvre élevée et la présence d'une dysurie, pollakiurie, sans signe de pyélonéphrite (Wyndaele, 2010).

➤ **Prostatite chronique**

La prostatite chronique est une maladie infectieuse difficile à diagnostiquer. Elle peut être bactérienne ou non, inflammatoire ou non. Généralement, elle est provoquée par une répétition d'IU avec le même germe. La prostatite chronique présente des syndromes douloureux chroniques sus-pubiens et récurrents (lors des crises) au niveau du bas ventre. Y sont parfois associés des troubles mictionnels et sexuels (Schaeffer, 2006).

2. GENERALITES SUR LES ENTEROBACTERIES

2.1. Définition

Les Entérobactéries forment une vaste famille de bactéries à Gram négatif (BGN), retrouvées partout dans le sol, l'eau et surtout dans l'intestin de l'homme et des animaux (Madigan & Martinko, 2007).

En fait, les Enterobacteriaceae ont une définition bactériologique (Bousseboua, 2005 ; Trystram, 2003). Ce sont des bactéries :

- Bacilles ou coccobacilles à Gram négatif (2 à 4 µ de long sur 0,4 à 0,6 µ de large).
- Mobiles avec ciliature péritriche ou immobiles.
- Non exigeantes, poussant sur milieux de culture ordinaires.
- Aérobie - anaérobie facultative.
- Fermentant le glucose avec ou sans production de gaz.
- Nitrate réductase positive (réduisant les nitrates en nitrites).
- Dépourvues d'oxydase.
- Possédant une catalase.

- Non sporulées.

2.2. Taxonomie (Denis *et al.*, 2007)

Règne : Bacteria

Embranchement : Protéobacteria

Classe : Gamma-protéobacteria

Ordre : Enterobacteriale

Famille : Enterobacteriaceae

Plus de 40 genres et plus de 1700 espèces différentes appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae et leur classification est en fonction de leurs caractères phénotypiques (fermentation de différents sucres, production ou non de sulfures, présence ou absence de certains enzymes du métabolisme), et/ou génotypiques (ribotypage, hybridation ADN/ADN).

Actuellement 12 genres de bactéries sont décrits au sein de la famille des Enterobacteriaceae et environ 100 espèces les plus fréquemment isolées en microbiologie clinique (Pilet *et al.*, 1979).

- **Groupe 1** : *Edwardsiella*, *Salmonella*.
- **Groupe 2** : *Escherichia*, *Shigella*, *Levinea*.
- **Groupe 3** : *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Erwinia*.
- **Groupe 4** : *Proteus*, *Providencia*.
- **Groupe 5** : *Yersinia*.

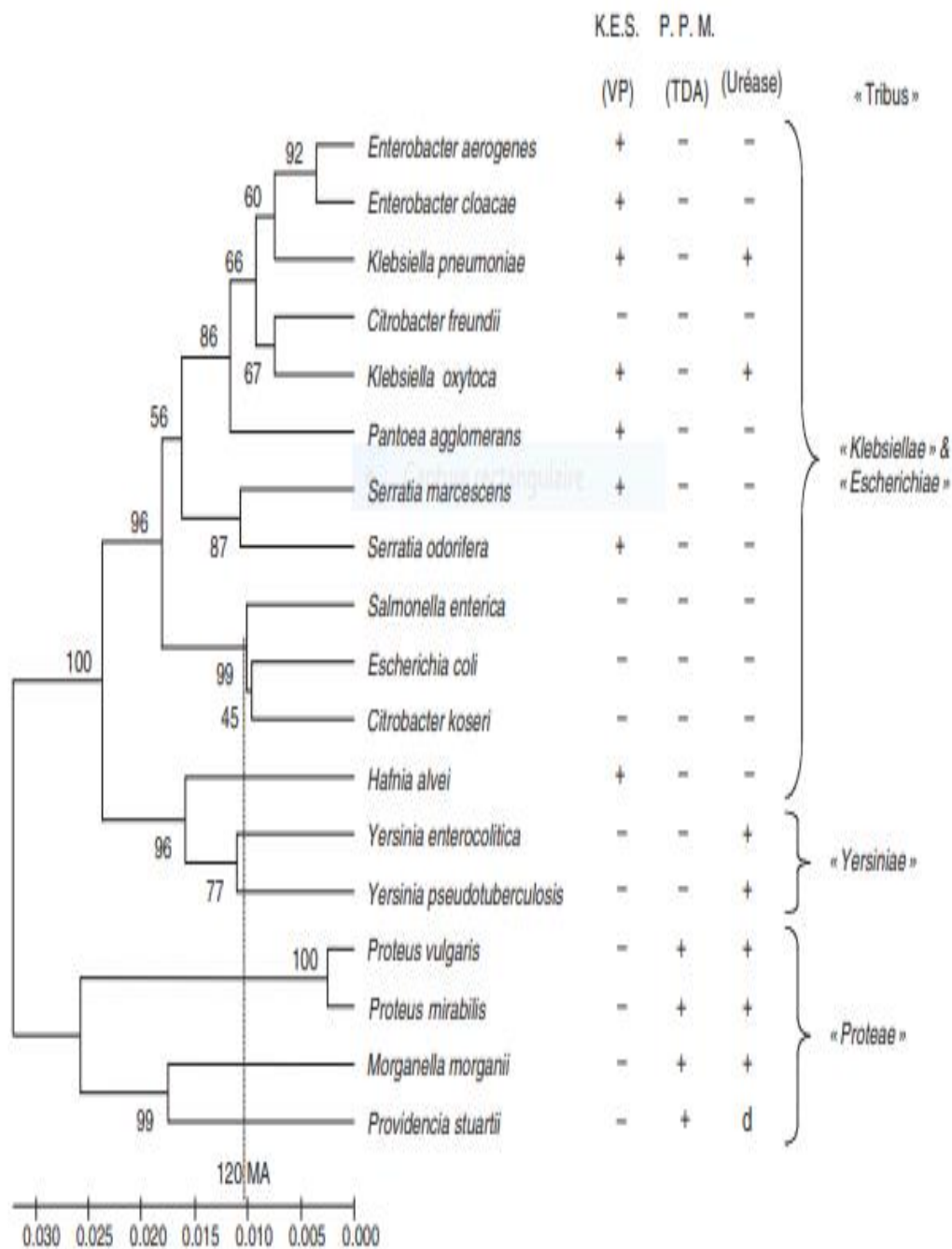


Figure 2. Arbre phylogénétique construit selon la méthode UPGMA pour l'identification des Entérobactéries à partir des séquences d'ARNr 16S (1440 bases). Les valeurs de bootstraps sur 100 répliques sont indiquées à chaque nœud. Echelle de temps (MA : millions d'années) (Ochman & Wilson, 1987).

2.3. Caractères biologiques

2.3.1. Caractères morphologiques

Les Entérobactéries sont des BGN dont la taille varie de 2 à 3 μm de longueur et environ 0,6 μm de largeur. La majorité sont mobiles grâce à une ciliature péritriche, certains sont immobiles tels que *Klebsiella sp* et *Shigella sp*. Une capsule volumineuse peut être facilement visible au microscope en contraste de phase ou après coloration à l'encre de chine (Le Minor & Veron, 1989), cette dernière est l'une des facteurs de virulence connue chez les Entérobactéries et est visible habituellement chez *Klebsiella sp* (Bakhoum, 2004 ; Bossert *et al.*, 1986 ; Le Minor *et al.*, 1989).

2.3.2. Caractères cultureux

Les Entérobactéries poussent aisément dans des milieux de culture ordinaire après 18 heures d'incubation à 37°C en aéro-anaérobiose. Les colonies sont réparties en trois types selon leur morphologie : les colonies Smooth (S) qui sont rondes, lisses et blanches voire même translucides et les colonies rugueuses (R) qui sont celles des bactéries vieilles ou anormales (sèches et irisées). Quant au dernier type qui représente les colonies muqueuses (M), elles sont plus grosses, larges et lissantes, cas de *Klebsiella sp* (Delarras, 2007).

Les souches de *Proteus* ont l'aptitude de coloniser la gélose et forment un tapis homogène (Bakhoum, 2004 ; Pilet *et al.*, 1979).

2.3.3. Caractères biochimiques

La famille des Entérobactéries est apte à fermenter le glucose (respiration aérobie le plus souvent et fermentation en anaérobiose), capable de réduire les nitrates en nitrites car elle dispose d'un complexe enzymatique appelé la nitrate réductase (ex : *Klebsiella sp* contrairement à d'autres ex : *Yersinia sp*, *Shigella sp*). Les Entérobactéries ont une catalase positive mais dépourvues d'oxydase (Kassama *et al.*, 2013).

3. GENERALITES SUR LES ANTIBIOTIQUES

3.1. Définition et classification

Un antibiotique est une substance antibactérienne d'origine biologique, c'est à dire produite par des micro-organismes ou de synthèse chimique et qui est capable d'inhiber la multiplication ou de détruire d'autres micro-organismes.

Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères : l'origine, la nature chimique, le mécanisme d'action et le spectre d'action.

Les principales familles sont les bêta-lactamines, les glycopeptides, les aminosides, les macrolides et les quinolones. A lesquelles il faut ajouter quelques antibiotiques isolés comme : l'acide fusidique, la fosfomycine, la novobiocine et les glycopeptides.

3.2. Différents modes d'action des antibiotiques (Yala & al., 2001)

➤ Action sur la paroi

L'action des antibiotiques permet d'empêcher la synthèse de la transpeptidase et donc celle du peptidoglycane. Après avoir inhibé la synthèse du peptidoglycane, la paroi ne peut plus être formée et la bactérie se désorganise. Ex : bêtalactamines, glycopeptides et fluoroquinolones.

➤ Action sur la membrane

Certains antibiotiques agissent grâce à des propriétés dites surfactants. Cette propriété leur permet de s'insérer entre les phospholipides externes. Cela entraîne une augmentation anormale de la perméabilité membranaire, générant une fuite de substances intracellulaires à travers la membrane plasmique et la mort des bactéries. Ex : polymyxines.

➤ Action sur l'ADN (acide désoxyribonucléique)

Les antibiotiques suivant ce mode d'action peuvent se fixer sur l'ADN et donc empêcher la progression de l'ADN polymérase sur L'ADN responsable de la réplication de l'ADN. Cela entraîne une inhibition de la réplication de l'ADN ce qui est indispensable à la formation de nouvelles bactéries. Ex : fluoroquinolones.

➤ Action sur la synthèse protéique

L'antibiotique inhibe la synthèse protéique de la bactérie en s'attaquant aux ribosomes. Il se fixe sur une des deux sous-unités (30S ou 50S) du ribosome afin d'empêcher la formation de la chaîne polypeptidique, c'est à dire de la protéine. Ex : aminosides, macrolides, tétracyclines, acide fusidique, linézolide et chloramphénicol.

➤ Action par inhibition compétitive

Les antibiotiques agissant par inhibition compétitive, sont des inhibiteurs enzymatiques (ou inhibiteurs compétitifs), c'est à dire des molécules ayant, généralement, une structure proche de celle du substrat, entrent en compétition avec le substrat pour se fixer sur les sites actifs des enzymes de la bactérie. Ex : sulfamides, rifampicine.

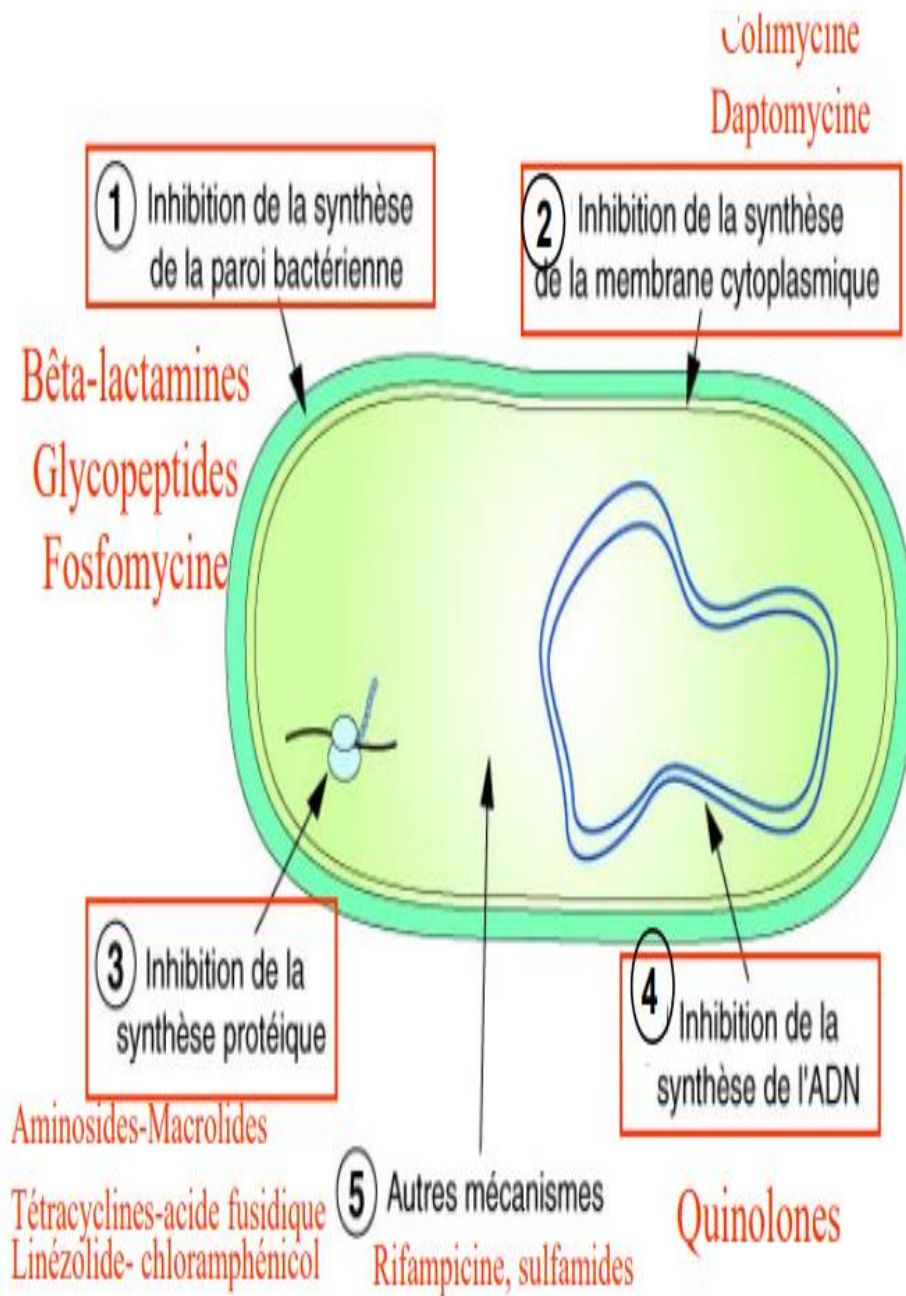


Figure 3. Mode d'action de l'antibiotique (Mainardi, 2015)

3.3. Nature des résistances des Entérobactéries aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques des bactéries peut être naturelle ou acquise (Philippon, 2008).

3.3.1. Résistance naturelle

La résistance naturelle est une caractéristique d'une espèce bactérienne, de support habituellement chromosomique qui délimite le spectre des antibiotiques et peut aider à son identification. La transmission de cette résistance est verticale, de la bactérie vers sa descendance.

3.3.2. Résistance acquise

La résistance acquise, de support chromosomique ou plasmidique, fait suite à une mutation ou une acquisition de gènes conférant la résistance. Cette résistance est transmissible à la descendance (verticale) ou à d'autres bactéries d'espèces différentes (transmission horizontale).

Les entérobactéries sont naturellement résistantes aux antibiotiques suivants : pénicilline G, oxacilline, macrolides, acide fusidique, glycopeptides, et oxazolidinones. Par ailleurs ils ont une sensibilité naturelle aux β -lactamines, aminosides, quinolones, sulfamides, tétracyclines, chloramphénicol, colistine et fosfomycine.

3.4. Mécanismes de résistance des Entérobactéries aux antibiotiques

Afin de pouvoir exercer son activité antibactérienne, un antibiotique doit :

- ✓ Atteindre sa cible, et donc pénétrer la membrane externe, la paroi, et la membrane cytoplasmique.
- ✓ Persister à des concentrations suffisantes.
- ✓ Reconnaître la cible.

Les bactéries développent des mécanismes afin d'empêcher l'une ou l'autre de ces étapes, et ainsi permettre l'émergence de résistances aux antibiotiques.

L'émergence de la résistance peut se produire par mutation spontanée dans l'ADN de la bactérie (chromosomique) et / ou par transfert de gènes résistants aux antibiotiques (chromosomique : plasmides, transposons, intégrons). Plusieurs mécanismes ont évolué au sein des bactéries pour leur conférer une résistance aux antibiotiques. Actuellement, 3 de ces mécanismes ont été mis en évidence et élucidés :

- ✓ La bactérie développe une aptitude à modifier chimiquement l'antibiotique, de telle sorte que ce dernier ne reconnaît pas la bactérie.

- ✓ Dans un autre mécanisme, la bactérie a développé la capacité de rendre l'antibiotique inactif par son enlèvement physique (efflux par pompage actif), hors de la cellule.
- ✓ Le troisième mécanisme implique la capacité de la bactérie à modifier le site cible sur la bactérie, de telle sorte que l'antibiotique n'est pas reconnu. Il s'avère que le mécanisme le plus fréquent est l'inactivation enzymatique de l'antibiotique.

Chez les Entérobactéries, on s'intéresse à trois familles d'antibiotiques : les bêta-lactamines, les aminosides et les quinolones (Fauchère, 1997).

3.4.1. Résistance aux β -lactamines

Parmi les mécanismes de résistance déployés par les Entérobactéries à l'encontre des β -lactamines la production d'enzymes inactivatrices, les β -lactamases, est le principal mécanisme (Bonnet, 2006).

Plus de 1300 β -lactamases ont été identifiées. Ces enzymes sont classées en fonction de leur spectre d'activité enzymatique ou de leur séquence en acides aminés (Ambler, 1980). La classification structurale d'Ambler distingue quatre classes. La classe A correspond aux « pénicillinases » inhibées par l'acide clavulanique, la classe B correspond aux « carbapénémases » inhibées par l'acide éthylène diamine tétra-acétique, la classe C regroupe les « céphalosporinases » non inhibées par l'acide clavulanique et la classe D correspond aux « oxacillinases » de sensibilité variable à l'acide clavulanique.

Dans les dernières décennies, de nombreuses études ont montré l'augmentation, de par le monde, des infections à *E. coli* productrices de BLSE (Pitoud & Laupland, 2008). Ces enzymes sont définies comme des β -lactamases appartenant à la classe A ou D de la classification d'Ambler, capables d'hydrolyser les pénicillines, les céphalosporines de 1^{ère} (C1G), 2^{ème} (C2G), 3^{ème} (C3G) et 4^{ème} génération et/ou les monobactames. Par contre, les céphamycines (céfoxitine, céfotétan et latamoxef) et les carbapénèmes restent actifs. Les BLSE sont inhibées par les inhibiteurs de β -lactamases. En effet, Pour les souches productrices de BLSE, il en résulte une synergie remarquée entre les C3G inactivées et l'acide clavulanique, ce qui est à la base du test de synergie utilisé pour leur détection.

Ces enzymes ont rapidement diffusé à travers tous les continents chez d'autres Entérobactéries comme *E. coli*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes* et *Serratia marcescens*. Actuellement, Plus de 600 BLSE ont été décrites à travers le monde et sont en général portées par des plasmides et des transposons, expliquant la rapidité de leur diffusion. En fonction de leurs séquences en acides aminés, ces enzymes ont été classées en 12 familles différentes : TEM, SHV, CTX-M, PER, VEB, GES, TLA, BES, SFO, IBC, BEL et OXA.

3.4.2. Résistance aux aminosides

La modification enzymatique de l'antibiotique est le mécanisme de résistance aux aminosides le plus fréquemment observé chez les Entérobactéries. Trois familles d'enzymes modifiant les aminosides (AME) ont été décrites et classées en fonction de la réaction qu'elles catalysent : acétylation d'un groupement aminé (AAC : aminosides N-acétyltransférases), phosphorylation (APH : aminosides O-phosphotransférases) ou nucléotidylation (ANT : aminosides O-nucléotidyltransférases) d'un groupement hydroxyle (Lambert, 2006).

Les gènes codant les AME sont généralement trouvés en tant que gènes cassettes dans des intégrons, sur des plasmides ou des transposons, souvent associés aux gènes de résistance aux β -lactamines et aux quinolones.

Les AAC constituent le groupe d'AME le plus diversifié tant par le nombre d'enzymes existantes que par la multiplicité de leurs hôtes. Il existe 4 classes d'acétyltransférases, les AAC (1), AAC (3), AAC (2') et AAC (6'). La classe des AAC (6'), la plus grande avec 26 gènes différents, est le mode de résistance le plus fréquemment rencontré parmi les AAC.

Les APH appartiennent à la famille des kinases et très répandues parmi les bactéries pathogènes. On dénombre sept classes de phosphotransférases : APH (3'), APH (2''), APH (3''), APH (7''), APH (4), APH (6) et APH (9), la plus importante étant la classe des APH (3').

Les ANT représentent la plus petite classe d'enzymes modificatrices des aminoglycosides avec seulement une dizaine de variants identifiés. Elles ont cependant un impact clinique important. Ces enzymes sont regroupées en cinq classes : ANT (2''), ANT (3''), ANT (4'), ANT (6) et ANT (9), les enzymes ANT (3'') sont les plus fréquentes.

3.4.3. Résistance aux quinolones

Cette résistance fait intervenir différents mécanismes chromosomiques et plasmidiques.

La résistance chromosomique aux quinolones chez les Entérobactéries, résulte essentiellement de mutations ponctuelles au niveau des gènes codant les cibles de ces molécules, les sous-unités A et B de l'ADN gyrase (GyrA et GyrB) et les sous-unités C et E de la topoisomérase IV (ParC et ParE) (Drlica & Zhao, 1997).

La résistance chromosomique aux quinolones peut également être associée à la diminution de la perméabilité membranaire et/ou à la surexpression des systèmes d'efflux.

La résistance plasmidique aux quinolones a été rapportée, les gènes *qnr* ont été identifiés chez différentes espèces d'Entérobactéries dans le monde entier et sont souvent associés à la production de β -lactamases à spectre étendu. Six déterminants Qnr (*qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *qnrC*, *qnrD* et *qnrVC*) ainsi que différents variants des protéines QnrA (n=8), QnrB (n=88), QnrS (n=9), QnrD (2) et QnrVC (7) ont été identifiés (Yanat & *al.*, 2016).

MATERIELS ET METHODES

1. Lieu et période d'étude

Notre étude a été réalisée au niveau du service de Microbiologie de l'Etablissement Hospitalier Public Didouche Mourad durant une période de deux mois s'étalant du 1^{er} Mars 2019 au 30 Avril 2019.

2. Population étudiée

Notre travail a porté sur des échantillons d'urines, prélevés de patients hospitalisés dans différents services de l'établissement hospitalier ainsi que de patients en ambulatoire (priorité aux malades hospitalisés). Il s'agit de patients appartenant aux deux sexes, enfants et adultes.

3. Echantillonnage

3.1. Taille de l'échantillon

217 échantillons d'urine ont été analysés durant la période de notre étude.

3.2. Critères d'inclusion

Ont été inclus dans notre étude tous les échantillons émanant de patients hospitalisés et externes. Chez les patients hospitalisés, nous n'avons pas pris en considération la notion d'infection nosocomiale.

3.3. Critères d'exclusion

Ont été exclu dans notre étude, les échantillons de plus de 2 heures.

4. Examen cyto bactériologique des urines (ECBU)

Cet examen constitue le diagnostic essentiel permettant d'affirmer ou d'infirmer toute IU.

L'objectif de ce dernier est de dévoiler la présence de germes responsables de cette infection.

L'ECBU doit être réalisé avant toute antibiothérapie et comporte plusieurs étapes :

4.1. Examen macroscopique avant culture

Il permet de mettre en évidence tous les changements visuels au niveau des caractères physiologiques de l'urine tels que l'aspect, la couleur et l'odeur. Les urines sont normalement de couleur jaune clair et doivent être limpides et transparentes. L'aspect trouble des urines suggère une IU, mais n'est cependant pas spécifique, elle peut être d'origine bactérienne et/ou leucocytaire et parfois liée à la présence de cristaux ou de pertes vaginales. L'aspect hématurique de l'urine permet de suspecter une hématurie (menstrues) ou dû à un traitement médicamenteux (figure 4 et 5).



Figure 4. Aspect trouble des urines

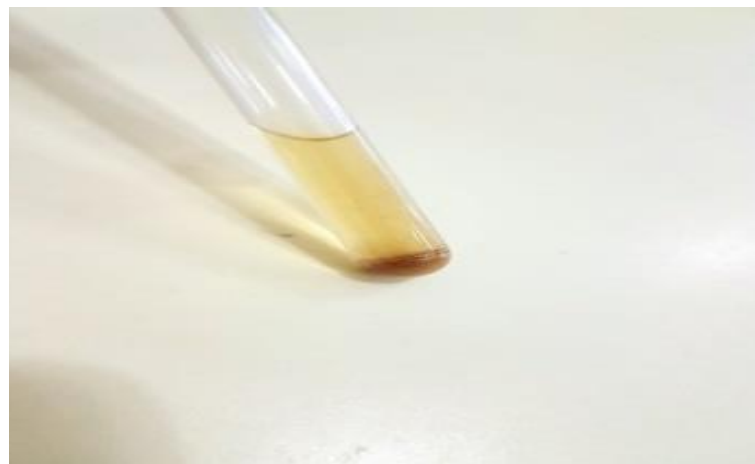


Figure 5. Aspect hématurique des urines

4.2. Examen microscopique

L'examen microscopique est une étape clé dans la démarche du diagnostic des IU.

4.2.1. Examen cytobactériologique direct

L'examen cytobactériologique doit répondre à deux objectifs :

- Il s'agit dans un premier lieu d'une analyse qualitative qui permettra de découvrir la nature des éléments qui peuvent être figurés dans un volume donné d'urine lorsque une réaction cellulaire aura été mise en évidence telle que : Les germes (Les bactéries : bacilles ou cocci), les leucocytes (Les globules blancs), Les hématies (Les

globules rouges), les cellules épithéliales, les cristaux, rarement des levures et des cylindres qui sont des éléments allongés en ruban, des spermatozoïdes et des polynucléaires.

- Il s'agit dans un deuxième lieu d'une analyse quantitative qui repose sur les dénombrements de chacun des éléments observés sous microscope optique.

L'examen direct est réalisé par une homogénéisation à l'aide d'un vortex de l'échantillon d'urine puis le dépôt d'une goutte à l'aide d'une pipette Pasteur stérile sur une lame de verre bien propre, recouverte par une lamelle en partant d'une position inclinée à 45° afin d'éviter la formation des bulles d'air. L'observation se fait à l'objectif X40. (Figure 6).

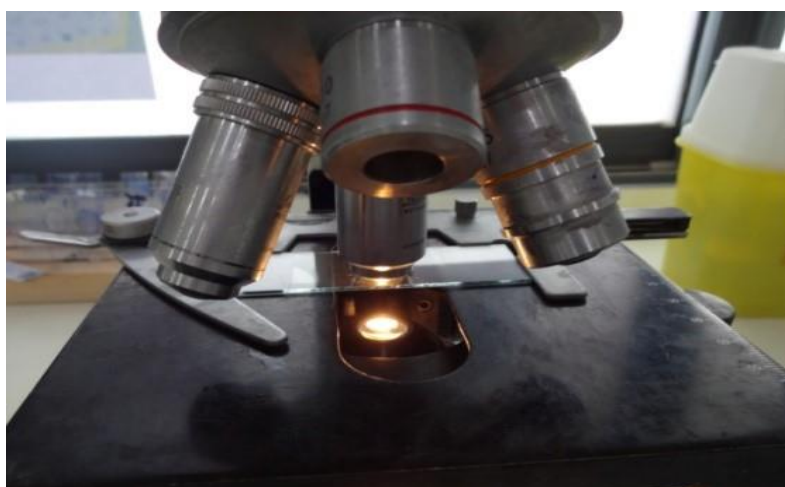


Figure 6. Examen cyto bactériologique direct

4.2.2. Examen direct après coloration au bleu de méthylène

Appelé aussi coloration non différentielle car elle ne permet pas de différencier les bactéries de même morphologie par contre elle est rapide et facile à réaliser et renseigne sur la morphologie et le mode de regroupement.

Cet examen est réalisé en faisant couler une solution de bleu de méthylène sur un frottis, composé de deux ml d'urine homogénéisée étalée en couche mince, séchée et fixée sous la hotte à flux laminaire, après 2 à 3 minutes de contact avec la lame qui est ensuite rincée à l'eau de robinet et séchée entre deux feuilles de papier (Figure 7).

L'observation microscopique se fait à l'objectif X100 à immersion, la structure colorable apparaît bleue (annexe 2).

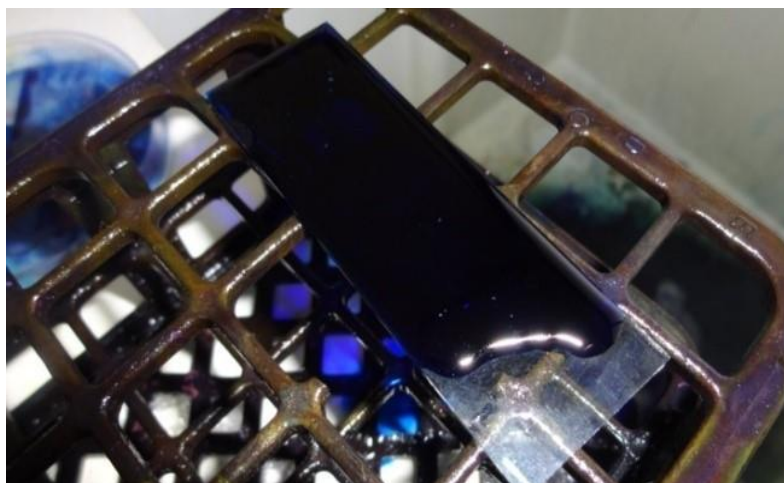


Figure 7. Coloration au bleu de méthylène

4.2.3. Examen direct après coloration de Gram

Appelé aussi coloration différentielle. Le frottis, composé de deux millilitres d'urine homogénéisée, et étalé en couche mince, séché et fixé sous la hotte à flux laminaire suivi d'une coloration de Gram qui est la coloration de référence de la bactériologie (Denis *et al.*, 2011). Ainsi, elle permet de différencier les bactéries d'après leurs formes, leurs affinités pour les colorants, liés à la structure générale de la paroi, en deux grands groupes, bactéries à Gram négatif et bactéries à Gram positif, d'orienter le choix des milieux de culture et de déterminer les antibiotiques adéquats à tester. L'observation microscopique se fait à l'objectif X100 à immersion (annexe 2).

4.3. Mise en culture

Après l'examen macroscopique de l'urine recueillie, on effectue un prélèvement à l'aide d'une anse de platine stérile et refroidie d'une goutte d'urine homogénéisée qu'on décharge en stries condensées sur toute la surface de la boîte de Pétri contenant de la gélose nutritive (GN) (Annexe 1). Ce milieu de culture permet à la fois de mettre en évidence la pureté de la souche responsable de l'IU et d'obtenir des colonies isolées permettant d'effectuer les tests d'identification ou d'étudier la résistance aux antibiotiques des germes incriminés dans les IU. L'incubation doit se faire à 37°C pendant 18 heures à 24 heures.

4.4. Isolement

Après 24 h d'incubation, la lecture des boîtes permet de distinguer les différentes colonies obtenues. Un repiquage est effectué sur différents milieux de culture. On cite :

- **Le milieu Hectoen** : est un milieu d'isolement des salmonelles et des shigelles ainsi que de nombreuses entérobactéries et autres bactéries à Gram négatif (annexe 1).
- **Le milieu Chapman** : est un milieu sélectif utilisé pour la mise en évidence des bactéries à Gram Positif et pour permettre la croissance et l'identification principale des genres *Staphylococcus*, *Micrococcus* et *Enterococcus* ainsi que les rares bactéries à Gram négatif (annexe 1) (Figure 8).



Figure 8. Exemple d'isolement sur milieu Chapman

- **La gélose au sang frais** : est milieu permettant la croissance des bactéries exigeantes grâce à la présence des facteurs de croissance contenus dans le sang (annexe 1).

4.5. Identification

4.5.1. Examen macroscopique

L'examen macroscopique après incubation permet de décrire l'aspect des colonies obtenues sur le milieu solide (forme, taille, couleur et viscosité).

4.5.2. Préparation de l'inoculum

La préparation de la suspension bactérienne doit être faite dans une zone stérile, elle consiste à transférer une colonie bien isolée d'un milieu GN ou d'un autre milieu vers un tube qui contient 1 à 2 ml d'eau physiologique stérile. Cette suspension a pour but d'ensemencer différents milieux de culture liquides afin de dévoiler les différents caractères biochimiques.

4.5.3. Tests biochimiques

En fonction de l'aspect, de la couleur des colonies bactériennes obtenues et de leurs morphologies après coloration, on peut s'orienter vers une famille bactérienne ou un genre bactérien donné. L'identification précise de l'espèce responsable de l'IU, fait appel à des galeries biochimiques.

➤ **Galerie API 20 E**

C'est un système standardisé pour l'identification des Entérobactéries et d'autres bacilles à Gram négatif selon la méthode à usage au laboratoire, elle comprend 21 tests biochimiques miniaturisés.

La galerie biochimique API (Appareillage et Procédés d'Identification) 20 E (Entérobactéries) est composée de 20 microtubes contenant des substances déshydratées pour la mise en évidence des acides aminés, des enzymes et de la fermentation des sucres (figure 9 et 10, annexe 3). Ces microtubes sont inoculés à partir de la suspension bactérienne déjà préparée, à l'aide d'une micropipette P200 de façon que l'embout soit à l'intérieur et sur le côté pour éviter la formation de bulles en suivant les règles suivantes (BioMérieux SA) :

Pour les tests ADH, LDC, ODC, H₂S et URE (les noms des tube soulignés), la cupule doit être remplie par l'huile de vaseline pour créer l'anaérobiose, garder le virage de l'indicateur de pH ainsi que maintenir en solution les ions volatils produits par la réaction.

Il faut remplir de suspension le tube et la cupule pour les tests suivants : CIT, VP et GEL (les noms des tubes encadrés).

Concernant les tubes ni soulignés ni encadrés, on remplit seulement le tube en laissant vide sa cupule.

A la fin, la galerie est incubée pendant 24 h à 37°C.

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs (figure 9,10).



Figure 9. Galerie API 20 E non ensemencée



Figure 10. Exemple d'un galerie API 20 E d'*E. coli*

➤ **Galerie classique**

L'identification biochimique par la galerie classique est un examen qui permet d'identifier une souche bactérienne en s'appuyant sur son métabolisme enzymatique et la mise en évidence d'un substrat dégradé ou d'un métabolite formé. Elle est essentiellement utile pour la différenciation des Entérobactéries. La réalisation de cette identification se fait par une méthode classique, en utilisant des tubes à essai contenant des milieux de cultures spécifiques (solide, semi solide et liquide) (figure 11). Dans notre étude, les tests réalisés sont :

✓ **Test mannitol mobilité**

Le mannitol mobilité est un milieu de culture semi solide caractérisé par l'utilisation de mannitol et de nitrate. C'est un milieu qui permet la mise en évidence de la mobilité bactérienne et voir le métabolisme énergétique des bactéries. L'ensemencement se fait par

piqûre centrale à partir de la suspension bactérienne et l'incubation est réalisée à 37°C pendant 24 h (Annexe 1).

- **Objectifs recherchés**

- Fermentation du mannitol.
- Mobilité de la souche.

- **Lecture**

- Mannitol + : Coloration jaune du milieu.
- Mobilité + : Apparition de la diffusion des bactéries dans la gélose de part et d'autre de la piqûre centrale.

- ✓ **Milieu Triple Sugar Iron (TSI).**

Le milieu TSI, est un milieu glucosé saccharosé semi solide, contenant du citrate de fer ammoniacal. C'est un milieu qui permet la recherche de plusieurs caractères biochimiques. Il est très utilisé dans l'identification des entérobactéries. L'ensemencement se fait au niveau de la pente gélosée par des stries serrées, puis le culot par piqûre centrale. L'incubation est réalisée à 37°C pendant 24 h (Annexe 1).

- **Objectifs recherchés**

- Fermentation de 3 sucres ; le lactose, le glucose et le saccharose.
- Production d'H₂S.

- **Lecture**

- Lactose + : Virage de la pente au jaune.
- Saccharose + : Virage au jaune au milieu du tube.
- Glucose + : Virage du culot au jaune.
- Production de gaz + : Apparition de bulles ou de poches gazeuses qui décalent la gélose de fond du tube.
- Production d'H₂S : Noircissement du milieu.

- ✓ **Milieu Citrate de Simmons**

Le milieu citrate de Simmons est un milieu semi solide. Il permet de mettre en évidence l'utilisation du citrate comme seule source de carbone et d'énergie. Ce caractère est intéressant pour discriminer les bactéries entre-elles et ainsi les identifier. L'ensemencement est effectué sur la pente de la gélose par des stries longitudinales. L'incubation est réalisée à 37°C pendant 24 h (Annexe 1).

- **Objectif recherché**

- Utilisation de citrate.

- **Lecture**

- Citrate + : Virage du milieu au bleu et une culture de colonie sur la pente.

- ✓ **Milieu de Clarck et Lubs**

Le milieu Clarck et Lubs est un milieu liquide. Il permet d'étudier une voie de fermentation du glucose : la voie du butane diol. L'étude de cette voie permet de différencier les bactéries de la famille des Entérobactéries (bacilles Gram -, oxydase -). L'ensemencement est effectué par l'ajout de quelques gouttes de la suspension bactérienne au milieu, puis incubé à 37°C pendant 24 h (Annexe 1).

- **Objectif recherché**

- Type fermentaire.

- **Lecture**

- Test VP + : Virage au rouge cerise après l'ajout des réactifs VP I et VP II.

- Test RM + : Coloration rouge après l'ajout du réactif RM.

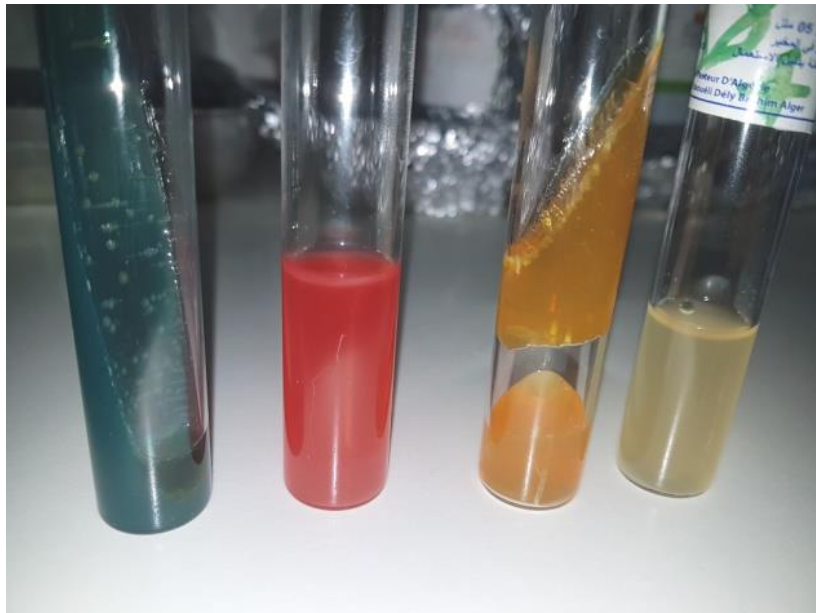


Figure 11. Exemple des milieux de cultures utilisés dans la galerie classique

✓ **Recherche de catalase**

Le test consiste à verser une à deux gouttes de peroxyde d'hydrogène sur une lame de verre propre. A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, on dépose une colonie bien isolée qu'on étale sur le milieu de culture (Figure 12).

• **Lecture**

L'apparition des bulles d'air signifie que la souche testée possède l'enzyme catalysant la réduction d'eau oxygénée en eau et dioxygène selon la réaction suivante :

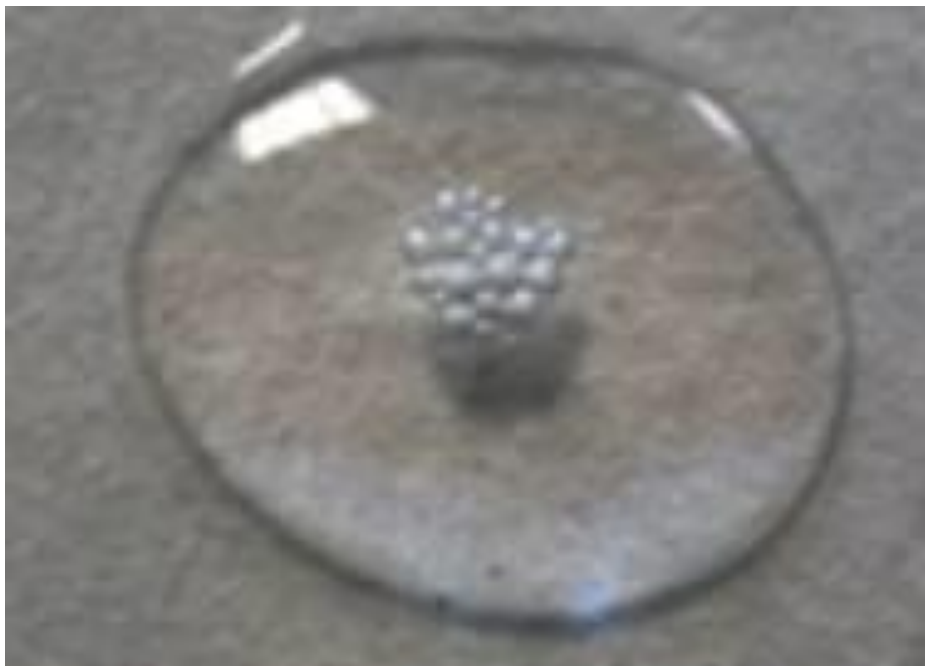
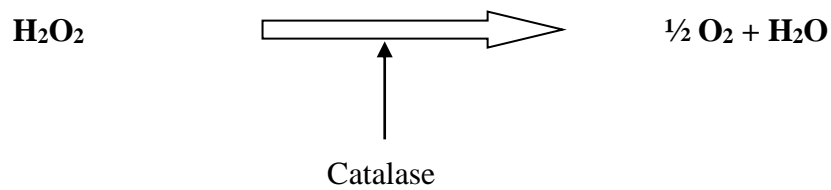


Figure 12. Exemple de l'aspect du test positif de catalase

✓ **Recherche d'oxydase**

C'est une technique rapide pour la mise en évidence de la capacité des bactéries à produire une enzyme appelée cytochrome-oxydase. La recherche d'oxydase est l'un des critères les plus discriminatifs pour identifier les bacilles à Gram négatifs. L'oxydase ou cytochrome oxydase est une enzyme présente dans certaines chaînes respiratoires bactériennes permettant

d'oxyder le N-diméthyl-paraphénylene diamine, ce qui donne des produits violacés (Denis *et al.*, 2007).

Après avoir fait sortir un disque du récipient à l'aide d'une pince stérile, on prélève une colonie isolée à soumettre au test qu'on frotte soigneusement sur le disque.

- **Lecture**

L'apparition d'une coloration rose violacée est due à la présence d'oxydase responsable d'oxydations de la forme réduite incolore des dérivés méthylés du paraphénylène diamine, en leur forme oxydée semi quinonique.

5. Etude de la sensibilité aux antibiotiques (Antibiogramme)

5.1. Définition et principe

C'est l'étude de la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'une gamme d'antibiotiques. Dans notre étude, nous avons utilisé la technique de l'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé car elle est couramment utilisée, plus rapide et facile à réaliser. Les disques de papier buvard utilisés et imprégnés d'antibiotiques à tester sont déposés à la surface d'une gélose Mueller-Hinton préalablement ensemencée avec une culture pure de la souche à étudier (Rahal, 2011) (annexe 1).

5.2. Antibiotiques utilisés

Les antibiotiques sont regroupés en plusieurs familles (Ait Miloud, 2011).

Tableau 4. Antibiotiques testés pour les Entérobactéries

Famille		Antibiotique	
β-LACTAMINES	PENICILLINES	Pénicillines A	Amoxicilline, Amoxicilline-acide clavulanique
		Carboxypénicillines	Ticarcilline
		Urédopénicillines	Pipéracilline
	CÉPHALOSPORINES	1 ^{ère} génération	Céfazoline
		2 ^{ème} génération	Céfoxitine
		3 ^{ème} génération	Céfotaxime, Céftazidime
	CARBAPÉNÈMES		Imipènème
	MONOBACTAMES		Aztréonam
	FOSFOMYCINES		Fosfomycine
	AMINOSIDES		Amikacine, Gentamicine
PHENICOLES		Chloramphénicol	
POLYPEPTIDES		Colistine	
SULFAMIDES ET ASSOCIES		Cotrimoxazole	
QUINOLONES		Acide nalidixique, Ciprofloxacine	
NITROFURANES		Nitrofurantoïnes	

5.3. Technique de l'antibiogramme

5.3.1. Préparation et ajustement de l'inoculum

L'inoculum est préparé à partir d'une culture jeune et pure de 18 à 24 h. Après avoir raclé à l'aide d'une pipette Pasteur trois colonies isolées et parfaitement identiques de la bactérie à étudier, on décharge la pipette dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile pour former une suspension. Cette dernière doit être bien homogénéisée, enfin l'inoculum est ajusté à l'étalon 0,5 Mc Farland (10^8 UFC/ml) (figure 13).



Figure 13. Ajustement de l'inoculum à 0,5 Mc Farland

5.3.2. Ensemencement

Nous avons utilisé la gélose Mueller-Hinton pour les bacilles à Gram négatif (les Entérobactéries). L'ensemencement est effectué par écouvillonnage stérile, d'abord il faut bien homogénéiser la suspension bactérienne, tremper l'écouvillon dans l'inoculum, puis bien l'essorer en le tournant contre la paroi interne du tube pour décharger au maximum, ensuite frotter l'écouvillon de haut en bas sur la surface de la gélose en stries serrées, en tournant la boîte 60° deux fois, en même temps pivoter l'écouvillon sur lui-même et sans oublier la périphérie de la gélose. Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois (Rahal, 2011).

5.3.3. Application des disques d'antibiotiques

Dans une boîte de Pétri de 90 mm, il ne faut pas mettre plus de 7 disques d'antibiotique. La pose des disques choisis se fait à l'aide d'une pince flambée ou stérile, puis ils sont appliqués à plat sans glissement en appuyant légèrement sur la surface de la gélose pour assurer la fixation de chaque disque. Les disques ne sont pas déplacés après application, Dans notre étude, nous avons utilisés des disques d'antibiotiques HIMEDIA INDIA (figure 14).

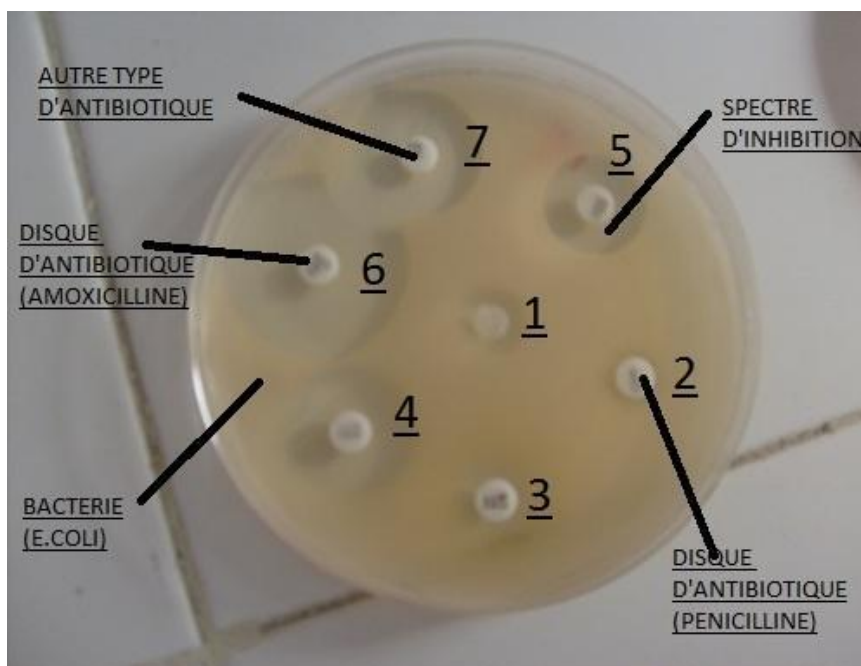


Figure 14. Exemple sur l'application des disques dans une boîte de pétri de 90 mm (Aarab *et al.*, 2010)

5.3.4. Incubation

L'incubation se fait dans l'étuve à 37 °C pendant 18 à 24 heures avec atmosphère ordinaire.

5.3.5. Lecture

L'inhibition de la poussée autour du disque d'antibiotique va se traduire par une zone circulaire dépourvue de culture. Les diamètres de cette inhibition sont mesurés à l'aide d'un pied à coulisse ou d'une règle graduée d'une manière précise, puis ils sont comparés aux diamètres critiques figurants dans les tables de lecture conformément aux normes du CLSI (figure 15, Tableau 5) (Rahal, 2014)

Le germe est qualifié de sensible (S), résistant (R) ou intermédiaire (I) (CLSI, 2011).

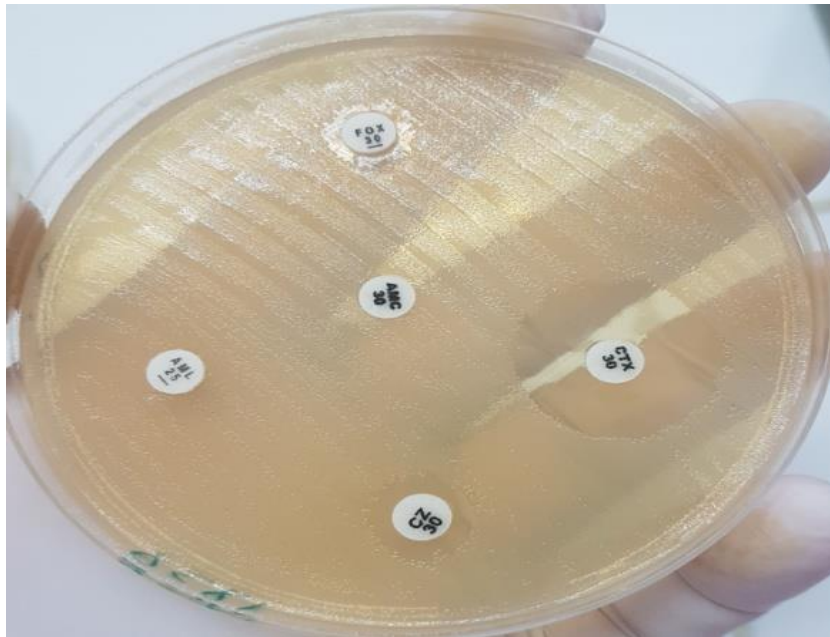


Figure 15. Exemple de l'antibiogramme

Tableau 5. Antibiotiques testés et diamètres critiques de la zone d'inhibition selon les normes du CLSI (Rahal, 2014)

ANTIBIOTIQUES TESTES	CHARGE DES DISQUES	DIAMETRE D'INHIBITION		
		R	I	S
Amoxicilline	10 μ g	≤ 13	14 - 16	≥ 17
Amoxicilline + acide clavulanique	20/10 μ g	≤ 13	14 - 17	≥ 18
Ticarilline	75 μ g	≤ 13	14 - 16	≥ 17
Pipéracilline	100 μ g	≤ 13	14 - 16	≥ 17
Céfazoline	30 μ g	≤ 19	20 - 22	≥ 23
Céfoxitine	30 μ g	≤ 14	15 - 17	≥ 18
Céfotaxime	30 μ g	≤ 22	23 - 25	≥ 26
Céftazidime	30 μ g	≤ 17	18 - 20	≥ 21
Imipenème	10 μ g	≤ 19	20 - 22	≥ 23
Aztréonam	30 μ g	≤ 17	18 - 20	≥ 21
Fosfomycine	200 μ g	≤ 12	13 - 15	≥ 16
Amikacine	30 μ g	≤ 14	15 - 16	≥ 17
Gentamicine	10 μ g	≤ 12	13 - 14	≥ 15
Chloramphénicol	30 μ g	≤ 12	13 - 17	≥ 18
Colistine	10 μ g	-----	-----	-----
Cotrimoxazole	25 μ g	≤ 10	11-15	≥ 16
Acide nalidixique	30 μ g	≤ 13	14 - 18	≥ 19
Ciprofloxacine	5 μ g	≤ 15	16 - 20	≥ 21
Nitrofurantoïne	300 μ g	≤ 14	15 - 16	≥ 17

6. Recherche de β -lactamases à spectre étendu (BLSE)

La recherche de β -lactamases est effectuée par la réalisation du test de synergie afin de confirmer la BLSE chez certaines souches d'Entérobactéries testées par antibiogramme.

Cette recherche n'est plus obligatoire dans le diagnostic clinique des malades, toutefois, elle garde tout son intérêt dans les études épidémiologiques et en hygiène hospitalière.

Test de synergie

Il se fait dans des conditions standards de l'antibiogramme, en utilisant les inhibiteurs de la β -lactamase. Un disque d'amoxicilline + acide clavulanique (AMC 20/10 μ g) doit être déposé au centre de la boîte entouré par 3 disques de C3G, céfotaxime (CTX 30 μ g), céftazidime (CAZ 30 μ g), céftriaxone (CRO 30 μ g) et un disque de monobactame, aztréonam (ATM 30 μ g) à une distance de 30 mm (Rahal, 2005).

- **Lecture**

La lecture consiste en l'apparition d'une image de synergie dite en « Bouchon de champagne » entre le disque AMC et CTX/ CAZ/ ATM/ CRO. Cela nous permet de confirmer la production de l'enzyme (β -lactamase) par la souche testée (figure 16).

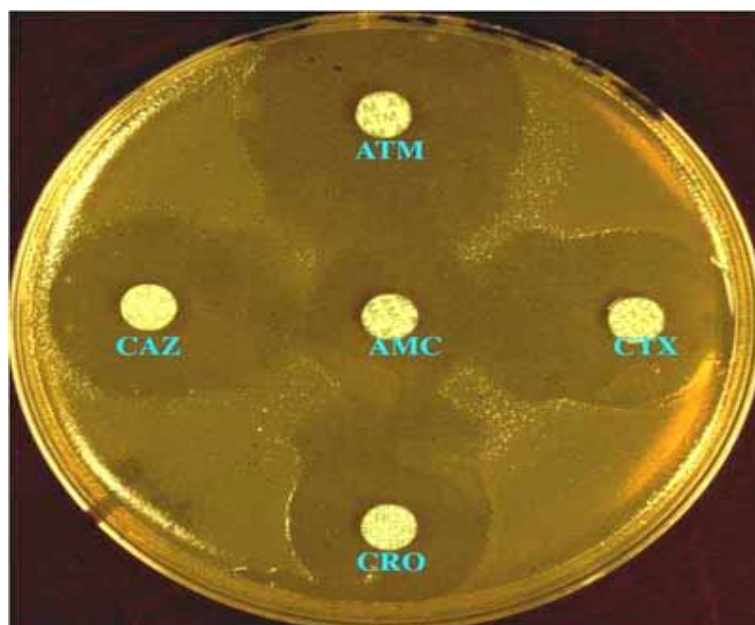


Figure 16. Exemple des souches d'*E. coli* productrice de BLSE (Philippon & Buré, 1986)

RESULTATS ET DISCUSSIONS

1. CARACTERISTIQUES EPIDEMIOLOGIQUES

1.1. Fréquence des prélèvements à culture positive

Durant notre période d'étude, 217 prélèvements sont analysés provenant de malades, hospitalisés ou en ambulatoire, Les résultats sont répartis en 3 catégories. Parmi les 217 cas étudiés, 19,81% (43 /217) sont positifs, plus de 56,68% (123/217) sont négatifs. Presque le quart des résultats (51 /217) n'ont pas pu être interprétés car contaminés (figure 17) (tableau 6, annexe 3).

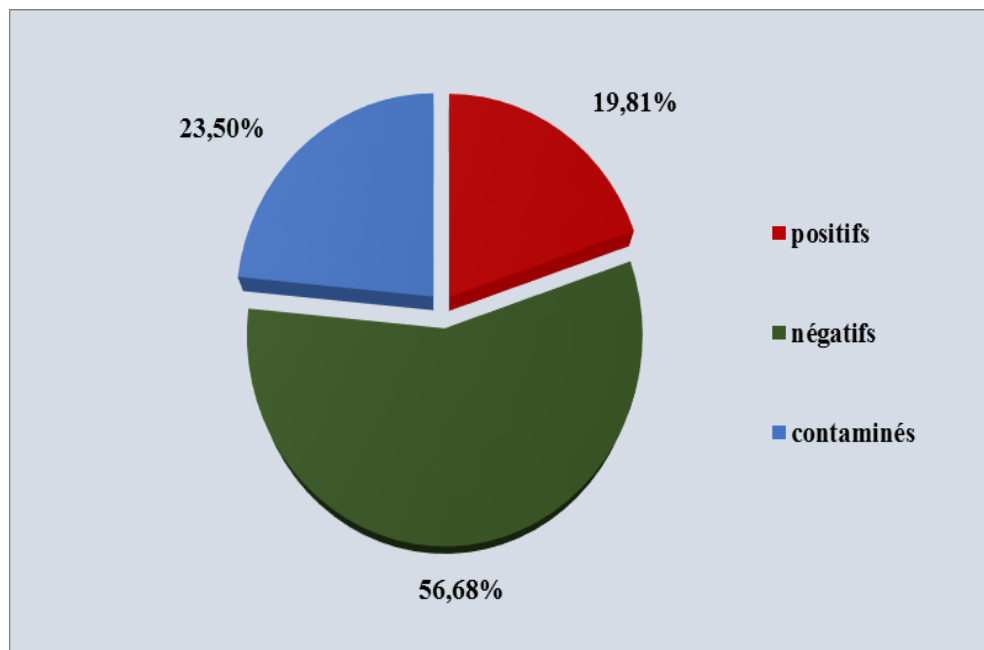


Figure 17. Fréquence des prélèvements à culture positive

Nos résultats sont proches de ceux signalés dans l'étude de Gasmi & Salhi (2018), le taux de prélèvements positifs a atteint 20%, alors que 19,17% sont contaminés. Alors que dans l'étude marocaine de Sekhsokh *et al* (2008), sur 7472 échantillons urinaires, 896 répondaient aux critères d'IU (12 % du total des prélèvements).

1.2. Fréquence des infections urinaires en fonction de l'âge

Concernant la figure 18 (tableau 7, annexe 3), notre échantillon n'est pas très important (43 cas) mais on peut constater que la répartition des IU varie en fonction de l'âge.

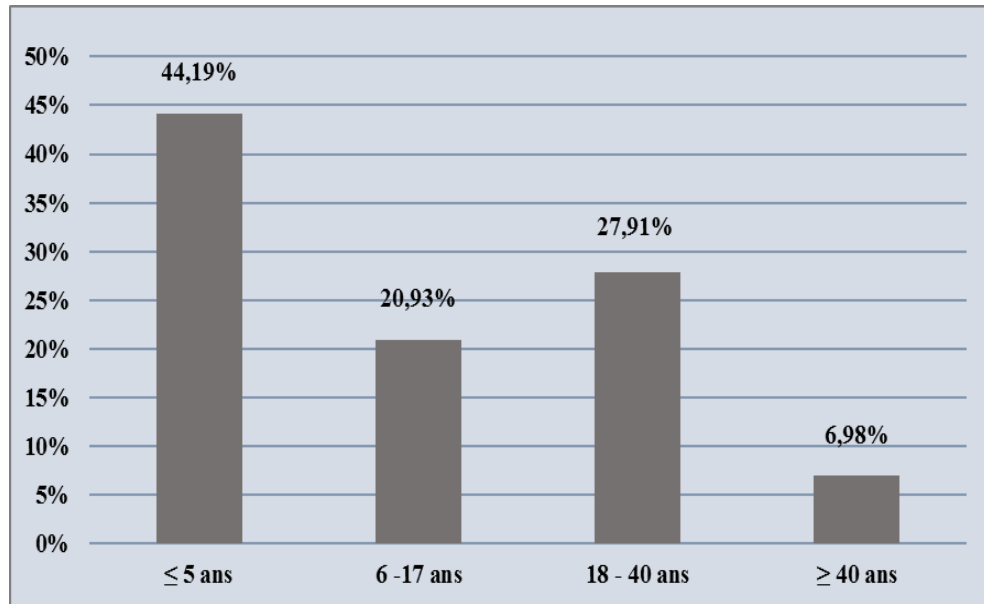


Figure 18. Fréquence des infections urinaires en fonction de l'âge

La fréquence des IU a atteint un taux maximal de 44,19% (19/43) chez le jeune enfant dont l'âge est égal ou inférieur à 5 ans. Les cas d'IU sont moins observés chez le grand enfant (6-17 ans) atteignant les 20,93% (9/43).

Chez l'adulte, la fréquence des IU a atteint 27,91% (12/43) chez les personnes âgées de 18 à 40 ans, alors qu'elle est rare chez les adultes de plus de 40 ans (6,98%).

Cela nous permet de déduire que l'IU touche beaucoup plus les nouveau-nés et les petits enfants par rapport aux autres populations d'âges étudiées, à cause de plusieurs facteurs favorisants comme : l'effet des médicaments et les antibiotiques sur le système immunitaire (baisse des défenses immunitaires) chez les enfants, la déshydratation, le régime alimentaire et le manque d'hygiène.

En comparant nos résultats à ceux observés dans une autre étude faite dans un service de néphrologie du CHU Ibn Rochd de Casablanca (Maroc), cette étude montre que le taux des IU est plus élevé chez les enfants et que la fréquence des IU diminue avec l'âge (Bourquia *et al.*, 1992). Les taux d'infections, y compris les IU, sont généralement plus élevés aux deux

extrémités de la vie, chez le jeune enfant de moins de 5 ans dont le système immunitaire est encore faible et chez le sujet âgé immunodéprimé.

1.3. Fréquence des infections urinaires en fonction du sexe

La figure 19 montre la répartition des IU en fonction du sexe (tableau 8, annexe 3).

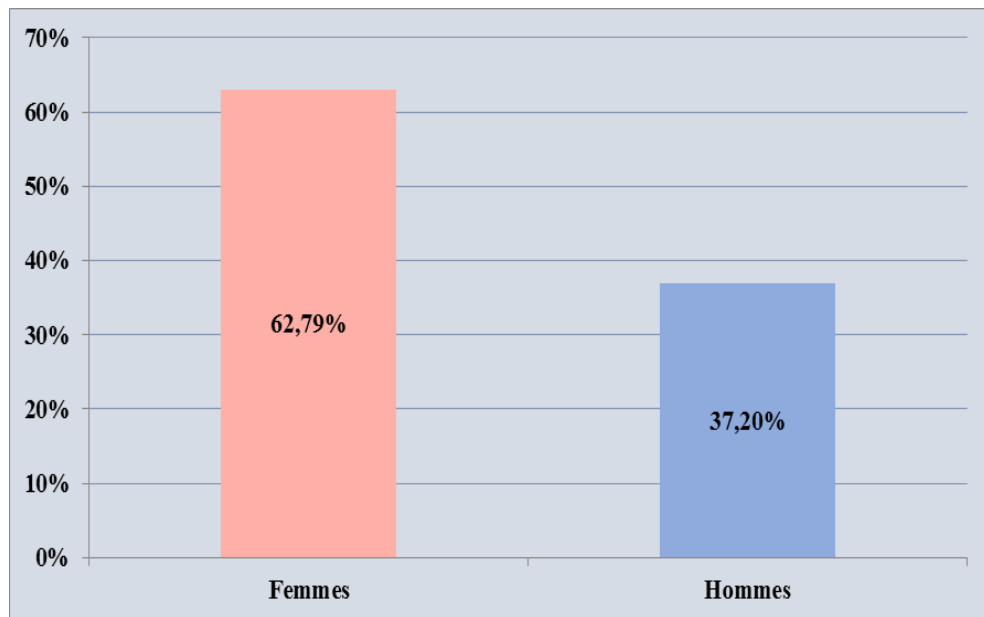


Figure 19. Fréquence des infections urinaires en fonction du sexe

Les IU sont plus fréquentes chez la femme. Leur taux a atteint 62,79% (27/43) chez la femme versus 37,20% (16/43) chez l'homme. Le sexe ratio homme/femme est de 0,59 (16/27). Ces données rejoignent celles rapportées dans une étude française réalisée à l'hôpital de Melun en 2013 où la fréquence des IU a atteint 78,5% chez la femme (Raghu, 2016).

Ceci peut être expliqué par le fait que les femmes, en général sont les plus ciblées dans ce type d'infection en raison d'un urètre court, s'ouvrant à la vulve au voisinage du vagin et de l'anus. Cela permet l'introduction des germes qui proviennent de la flore intestinale dans l'urètre et qui vont atteindre rapidement la vessie.

Chez l'homme, les conduits sont plus longs et son urètre peut être dix fois plus long que celui de la femme et plus éloigné de l'anus, donc le risque de l'atteinte de la vessie par les germes est assez faible.

D'un autre côté, dans cette même étude, chez le jeune nourrisson avant 3 mois, le sexe ratio est inversé. Cette plus forte proportion de garçons serait expliquée par une forte colonisation bactérienne du prépuce à cet âge. Cette constatation n'a pas été faite dans notre étude.

1.4. Fréquence des infections urinaires en fonction du service

La répartition des 43 cas d'IU en fonction des différents services est représentée sur la figure 20 (tableau 9, annexe 3).

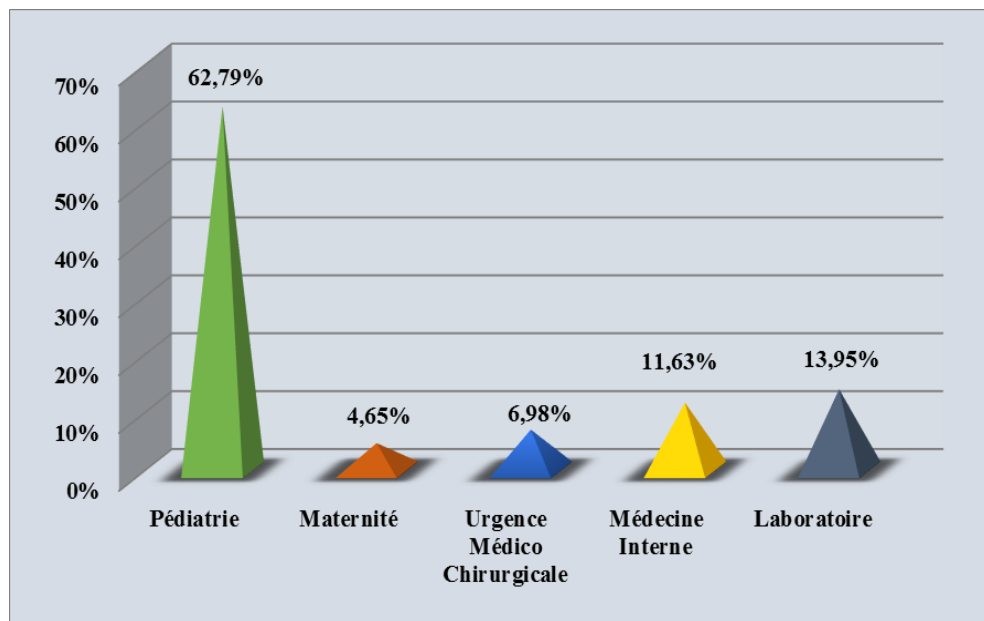


Figure 20. Fréquence des infections urinaires selon le service

La pédiatrie représente le service où la fréquence des IU est la plus élevée avec un taux de 62,79%, par contre la maternité est le service où les UI sont les moins présentes avec un taux de 4,65%.

En ce qui concerne les services des urgences médico-chirurgicales, de la médecine interne, les taux des UI varient entre 6,98% et 11,63%.

Notons enfin que chez les malades non hospitalisés (externes), le taux des IU est de 13,95%.

Dans une étude tunisienne en 2003, les IU provenaient surtout de consultants externes dans 69,1% des cas (Larabi *et al.*, 2003). Il faut noter que concernant nos données, les prélèvements pris en médecine ambulatoire étaient limités car les malades hospitalisés étaient prioritaires.

1.5. Fréquence des infections urinaires en fonction du germe responsable

La fréquence des 43 bactéries responsables d'IU est représentée dans la figure 21 (tableau 10, annexe 3).

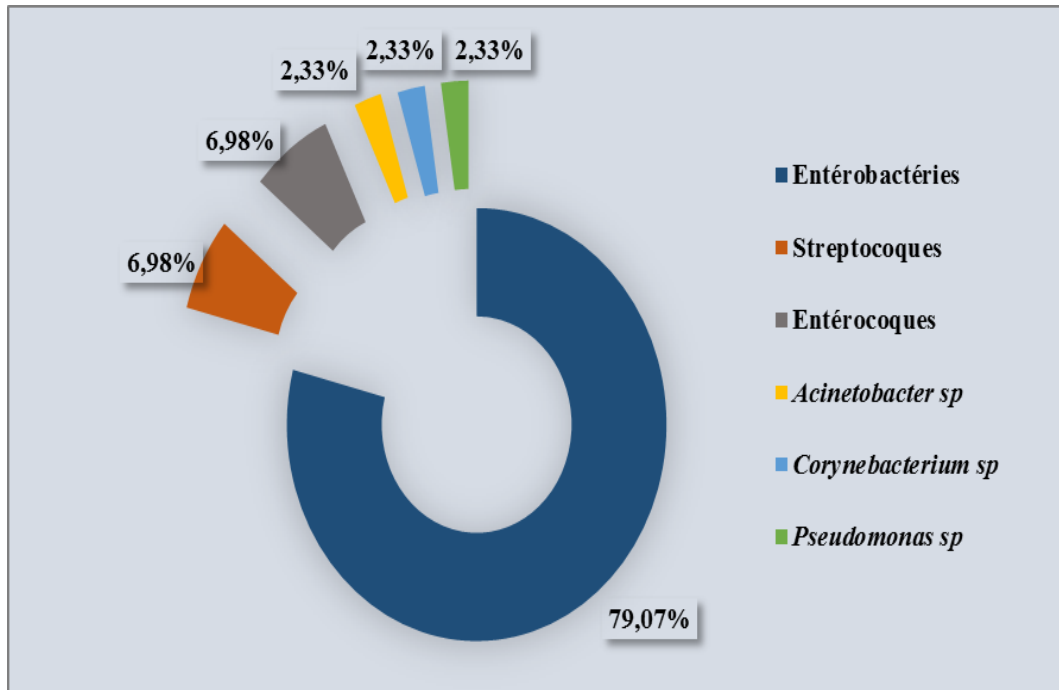


Figure 21. Fréquence des infections urinaires en fonction du germe responsable

On note en premier lieu que les Entérobactéries, les plus fréquemment rencontrées, sont incriminées dans 79,07% des cas (34/43), viennent ensuite les bactéries à Gram positif comme les Streptocoques et les Entérocoques, responsables d'environ 6,98% des IU chacun (3/43).

Les bacilles à Gram négatif non fermentant comme *Acinetobacter sp* et *Pseudomonas sp* sont rares, dans notre étude, puisqu'ils sont responsables de 2,33% des cas chacun uniquement.

Les IU à *corynebacterium sp* sont observées dans 2,33% des cas. Par contre, aucun cas d'IU à Staphylocoque n'a été répertorié.

Dans l'étude de Larabi *et al* (2003), l'étude bactériologique a montré qu'on isolait surtout des Entérobactéries dans 88 % des cas. Les Gram positifs qui représentaient 11,6 % des cas étaient dominés par *Staphylococcus saprophyticus* (3,1 %) (Sekhsokh *et al.*, 2008).

1.6. Fréquence des Entérobactéries selon l'espèce

La répartition des Entérobactéries selon l'espèce est représentée sur la figure 22 (tableau 11, annexe 3).

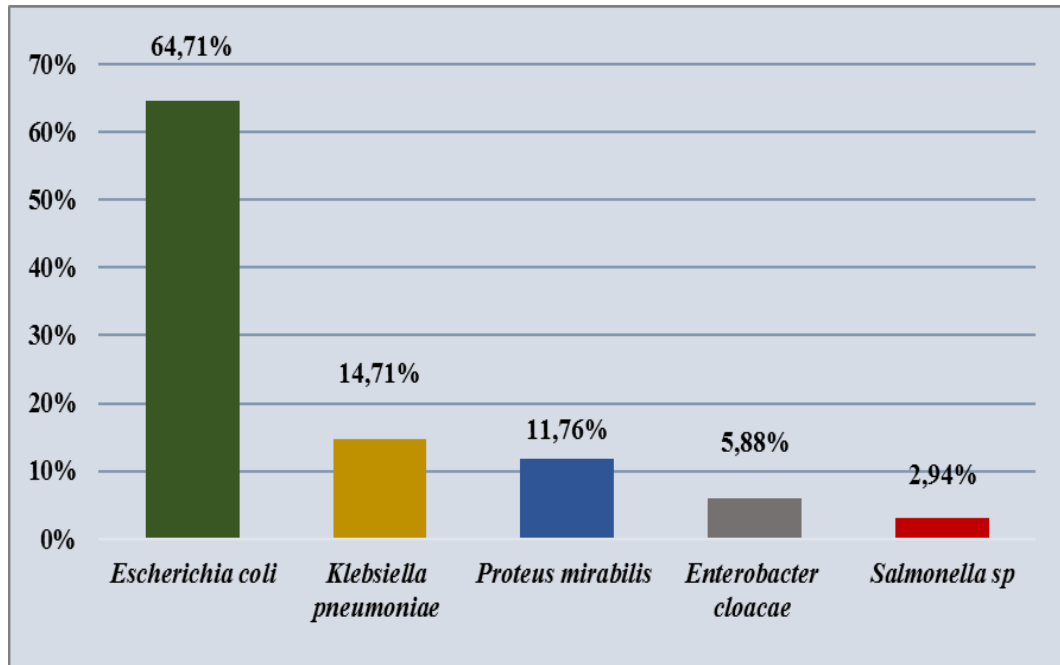


Figure 22. Fréquence des Entérobactéries selon l'espèce

Parmi les 34 cas d'IU à Entérobactéries, *Escherichia coli* (*E. coli*) est classé au premier rang avec un taux de 64,71% équivalant à 22 souches, viennent ensuite : *Klebsielle. Pneumoniae* (*K. pneumoniae*) dans 14,71% des cas (5 souches/34), *Proteus mirabilis* avec un taux de 11,76% (4 souches/34), *Enterobacter cloacae* est classé au 4^{ème} rang avec un taux de 5,88% (2 souches/34).

Un seul cas d'IU à *Salmonella sp* est observé (une souche/34).

Dans beaucoup d'études, *E. coli* est le germe le plus rencontré parmi les Entérobactéries responsables d'IU (AFSSPS, 2008). Ainsi *E. coli* a dominé le profil épidémiologique (55 %) suivi de *K. pneumoniae* (30 %) dans l'étude de Moutachakkir *et al* (2014) au Maroc.

Dans l'étude de Larabi *et al* en 2003, à partir de 1930 ECBU positifs, *E. coli* était incriminé dans 69,5 % des cas.

Les IU à salmonelles sont rares, donc la colonisation de l'urine par ce germe peut être secondaire grâce à une contamination de l'urètre distal par la flore fécale (Ramos, 1996).

2. RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

2.1. Entérobactéries et résistance aux différents antibiotiques

Dans notre étude, nous avons testé différents antibiotiques sur 34 souches d'Entérobactéries, nous n'avons pas présenté les résultats concernant *Enterobacter cloacae* et *Salmonella sp* vu la faible taille de l'échantillon. Les taux de résistance aux antibiotiques de chaque espèce sont présentés dans les figures 23 jusqu'à 25 (tableau 12, annexe 3).

2.1.1. Profil de résistance des souches d'*E. coli*

A partir de la figure ci-dessous, on remarque que concernant les β- lactamines, 100% des souches d'*E. coli* sont résistantes aux pénicillines (amoxicilline, ticarcilline, et pipéracilline).

Pour les céphalosporines, 50% des souches sont résistantes à la céfazoline, les souches restent sensibles aux céphalosporines de 2^{ème} et 3^{ème} génération, puisque 4,55% des souches seulement sont résistantes à la céfoxitine et 9,09% à la céftazidime et au céfotaxime. Un taux de résistance faible égal à 4,55% est observé pour l'amoxicilline-acide clavulanique.

L'aztréonam et l'imipénème restent très actifs sur les souches d'*E. coli*.

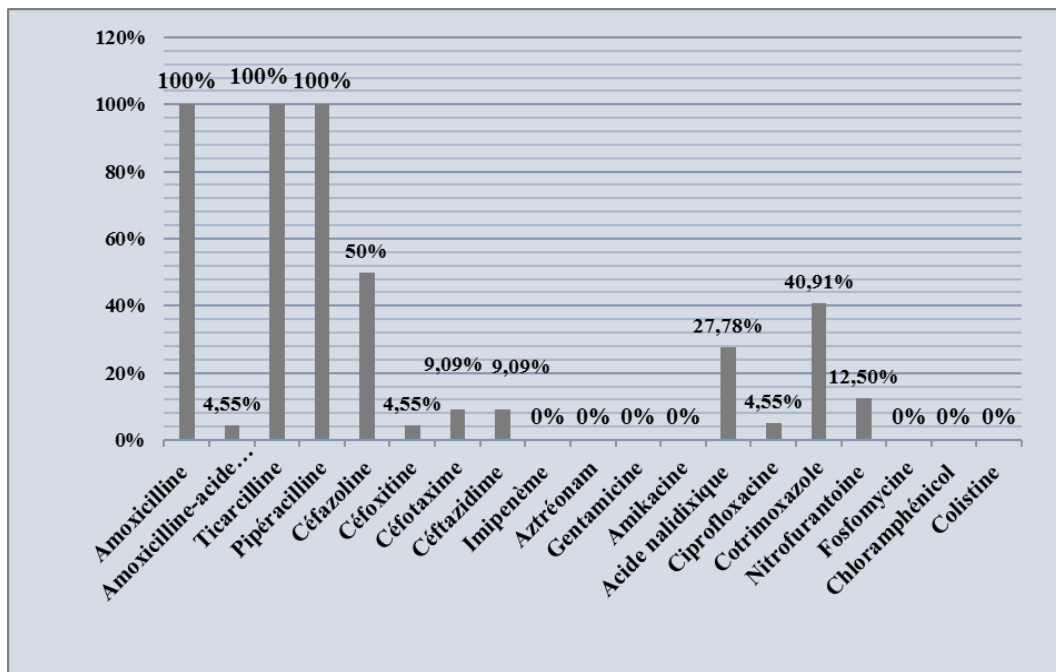


Figure 23. Profil de résistance des souches d'*E. coli* aux antibiotiques

En ce qui concerne les autres familles d'antibiotiques, les aminosides restent actifs (0% pour l'amikacine et la gentamycine), les quinolones sont touchées par la résistance puisqu'un taux de résistance de 27,78% est observé pour l'acide nalidixique, les souches n'étant résistantes à la ciprofloxacine que dans 4,55% des cas.

Pour ce qui est de la nitrofurantoïne, on observe un taux de résistance de 12,50% et un taux atteignant 40,91% pour le cotrimoxazole pour la même étude. Les autres antibiotiques comme la fosfomycine, le chloramphénicol et la colistine restent actifs (Figure 23, Tableau 12, annexe 3).

En Tunisie et au Maroc, les deux études de Boukadida *et al* en 2002 et celle de Ait Miloud en 2011 présentent des taux de résistance modérés pour l'amoxicilline (67,9% et 58,8%).

Pour l'association amoxicilline + acide clavulanique, le taux de résistance était plus élevé au Maroc atteignant les 65% par rapport à notre étude qui présente un taux faible (4,55%).

En ce qui concerne les C3G, nous avons trouvé des taux de résistances assez faibles : 9% pour le céfotaxime et la céftazidime. Ces résultats sont moins élevés que ceux observée dans l'étude marocaine avec 18,2% des cas.

Pour la gentamicine et l'amikacine, des résultats similaires sont retrouvés avec 3,6% et 5,3% des cas respectivement. Aucune des études sus-citées n'a rapporté de résistances à l'imipénème.

Pour le cotrimoxazole, le Maroc et la Tunisie ont publié des résultats proches de ceux observés dans notre étude (48,1% et 36,2%)

2.1.2. Profil de résistance des souches de *K. pneumoniae*

Les taux de résistance aux antibiotiques des souches de *K. pneumoniae* sont plus importants.

A partir de la figure 24, et concernant les céphalosporines, des taux de résistance élevés sont observés, 80% des souches sont résistantes à la céfazoline, 20% à la céfoxitine et 60% aux C3G. L'amoxicilline-acide clavulanique et l'imipénème restent actifs.

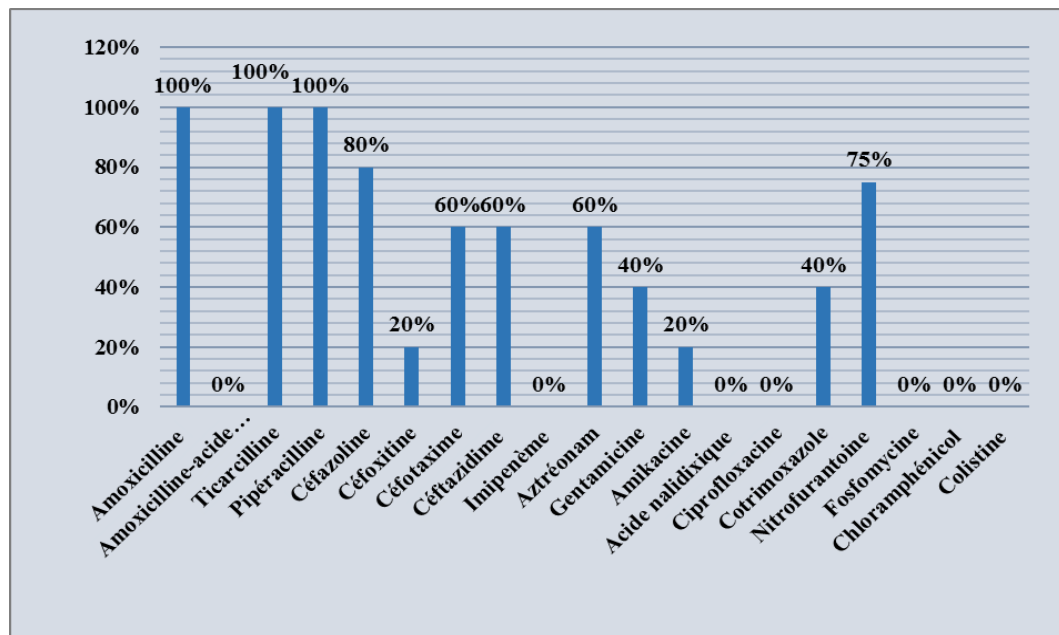


Figure 24. Profil de résistance des souches de *K. pneumoniae* aux antibiotiques

Les aminosides sont touchés par la résistance, 20% pour l'amikacine et 40% pour la gentamycine.

Concernant les autres antibiotiques, des taux de résistance de 40% et 75% sont observés pour le cotrimoxazole et la nitrofurantoïne. Aucun taux de résistance n'est observé pour les quinolones, la fosfomycine, le chloramphénicol et la colistine (figure 24, tableau 12, annexe 3).

Nos résultats sont compatibles avec ceux de Chekroud & Fethi (2017) concernant l'amoxicilline, la céfazoline, la céfoxitine, l'imipénème, les céphalosporines, le cotrimoxazole et la colistine où des taux de résistance similaires ont été retrouvés.

2.1.3 Profil de résistance des souches de *Proteus mirabilis*

La figure 25 nous permet d'observer que toutes les souches de *Proteus mirabilis* sont résistantes aux pénicillines (amoxicilline, ticarcilline et pipéracilline) mais aucune souche n'est résistante à l'association amoxicilline- acide clavulanique.

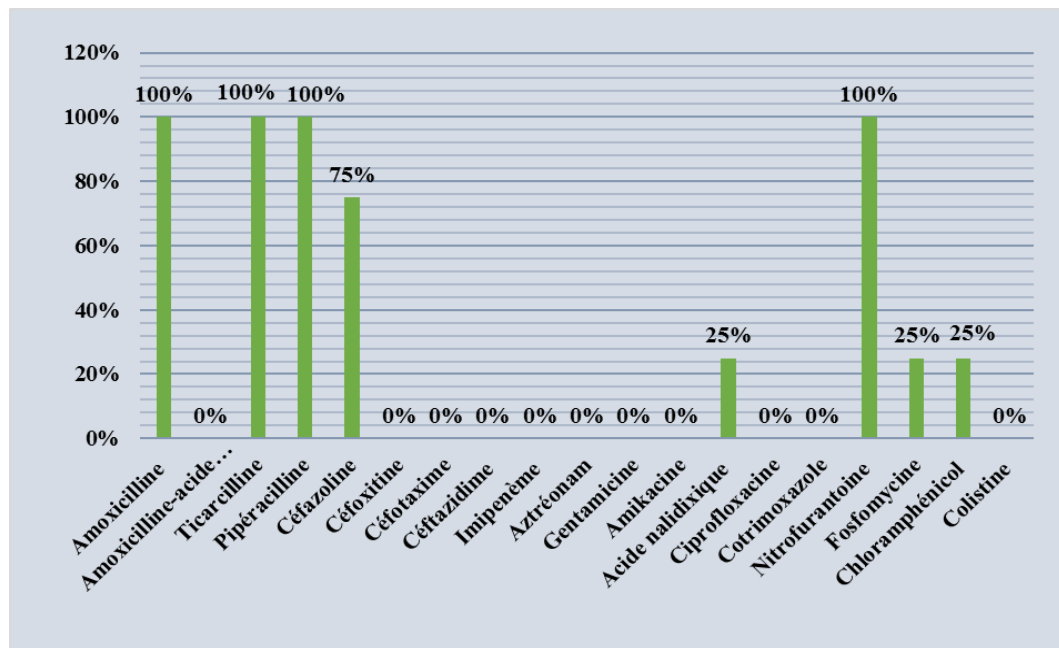


Figure 25. Profil de résistance des souches de *Proteus mirabilis* aux antibiotiques

Parmi 75% de résistance à la céfazoline, aucune souche n'est résistante aux autres céphalosporines. L'imipénème et l'aztréonam restent actifs. Concernant les aminosides, toutes les souches sont sensibles à l'amikacine et à la gentamycine, et pour les quinolones, un taux de 25% de résistance à l'acide nalidixique est observé, par contre aucune souche n'est résistante à la ciprofloxacine. Des taux de résistance de 100%, 25% et 25% sont notés concernant respectivement la nitrofurantoïne, le chloramphénicol et la fosfomycine.

Ce germe est signalé sensible vis-à-vis du reste des antibiotiques tels que le cotrimoxazole et la colistine (figure 25, tableau 12, annexe 3).

Nos souches de *Proteus sp* semblent plus sensibles que celles testées par Chekroud et Fethi en 2017, sauf pour l'amoxicilline et la céfazoline où nous avons obtenu des taux de résistance plus élevés (100% et 75% versus 55% et 36% respectivement). Notons par ailleurs la résistance de 9% des souches de *Proteus sp* à l'imipénème dans cette même étude, alors que dans notre étude, aucune souche d'Entérobactéries n'a présenté de résistance aux carbapénèmes.

Concernant l'état actuel de résistance des Entérobactéries uropathogènes aux antibiotiques, il faut savoir que les β -lactamines ont une bonne diffusion dans les voies urinaires. De ce fait, ils étaient depuis longtemps couramment utilisés dans le traitement de première intention de l'IU. Actuellement, l'augmentation de la résistance à cette famille est de plus en plus inquiétante.

La hausse de la résistance à l'amoxicilline a été notée à l'échelle mondiale amenant à l'élimination de cette molécule de la liste des traitements probabilistes recommandés dans l'IU (AFSSPS, 2008).

Une grande variabilité est rapportée dans la fréquence de la résistance aux associations β -lactamine et inhibiteur de β -lactamases. En raison de cette résistance élevée, ces antibiotiques ne sont plus des premiers choix dans le traitement empirique des IU (Ferdjani *et al.*, 2010).

La résistance des Entérobactéries uropathogènes aux C3G s'est amplifiée surtout par la production d'une β -lactamase à spectre étendu qui a un déterminisme plasmidique et donc un grand pouvoir de dissémination.

Les aminosides, notamment l'amikacine et la gentamycine, demeurent parmi les antibiotiques les plus actifs sur toutes les Entérobactéries uropathogènes, bien que leur prescription hospitalière soit en augmentation devant l'émergence d'IU à bactéries multirésistantes sans autre alternative thérapeutique. Ceci laisse espérer une prise de conscience quant à l'usage raisonné de ces molécules.

Le taux de résistance au cotrimoxazole est en augmentation ce qui plaide en faveur du grand intérêt qu'il faut porter à l'antibiogramme avant la prescription de cette molécule.

Les nitrofuranes gardent leur intérêt dans les traitements courts des IU basses, bien qu'ils soient moins efficaces que les autres molécules *in vitro*, de même que la fosfomycine, antibiotique peu consommé du fait de ses indications restreintes en matière d'IU.

L'utilisation abusive des fluoroquinolones en médecine humaine et vétérinaire a fait augmenter la résistance des Entérobactéries aux fluoroquinolones, notamment chez *E. coli*, au cours de la dernière décennie (Tagajdid *et al.*, 2010).

L'utilisation des fluoroquinolones et la durée du traitement par cette classe d'antibiotique semblent être les facteurs de risque les plus importants d'émergence de résistance aux fluoroquinolones et de résistance croisée.

D'autre part, l'utilisation de faibles posologies de fluoroquinolones est un facteur de risque important d'échec thérapeutique et d'émergence ultérieure de résistance.

2.2. Entérobactéries et multirésistance

Plusieurs définitions ont été adoptées, selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie, les souches résistantes à au moins un antibiotique de trois familles d'antibiotiques différentes parmi les suivantes : β -lactamines, quinolones, aminosides, sulfamides (cotrimoxazole), étaient définies comme multirésistantes (CA-SFM, 2008).

La multirésistance des bacilles à Gram négatif, y compris les Entérobactéries, est définie comme la résistance à au moins trois des classes d'antibiotiques suivantes : pénicillines, céphalosporines de troisième génération, carbapénèmes, quinolones et aminoglycosides (Lemmen *et al.*,2004).

2.2.1. Taux global de la multirésistance des Entérobactéries

En adoptant la définition de Lemmen, le taux d'Entérobactéries multirésistantes (BMR) dans notre étude est de 20,59% (7 souches sur 34) (figure 26) (tableau 13, annexe 3).

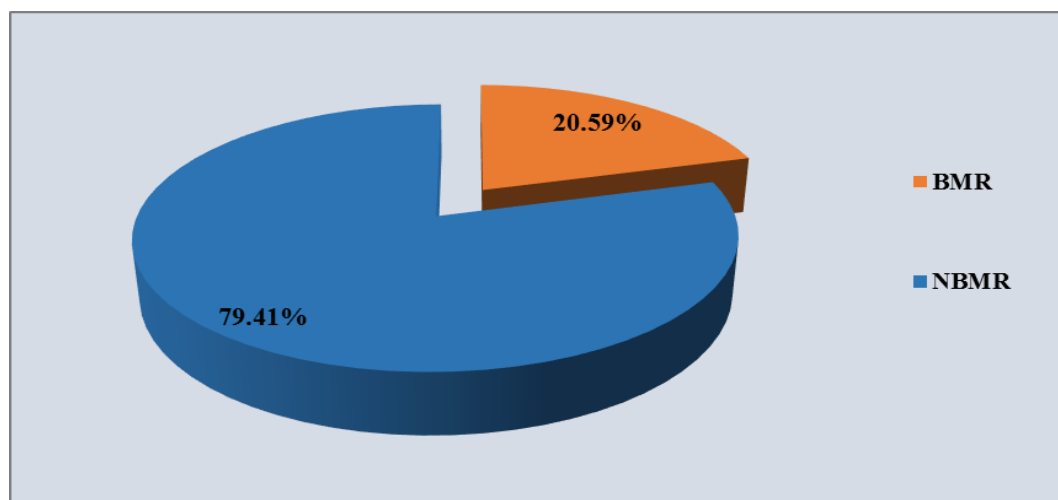


Figure 26. Taux global de la multirésistance des Entérobactéries (BMR : bactéries multirésistantes, NBMR : bactéries non multirésistantes)

2.2.2. Fréquence de la multirésistance des Entérobactéries en fonction de l'espèce

Il s'agit de trois souches de *K. pneumoniae* avec un taux de 42,85%, deux souches d'*E. coli* avec un taux de 28,57%, une souche d'*Enterobacter cloacae* et une souche de *Salmonella sp* (avec un taux de 14,29% chacune (figure 27, tableau 14, annexe 3).

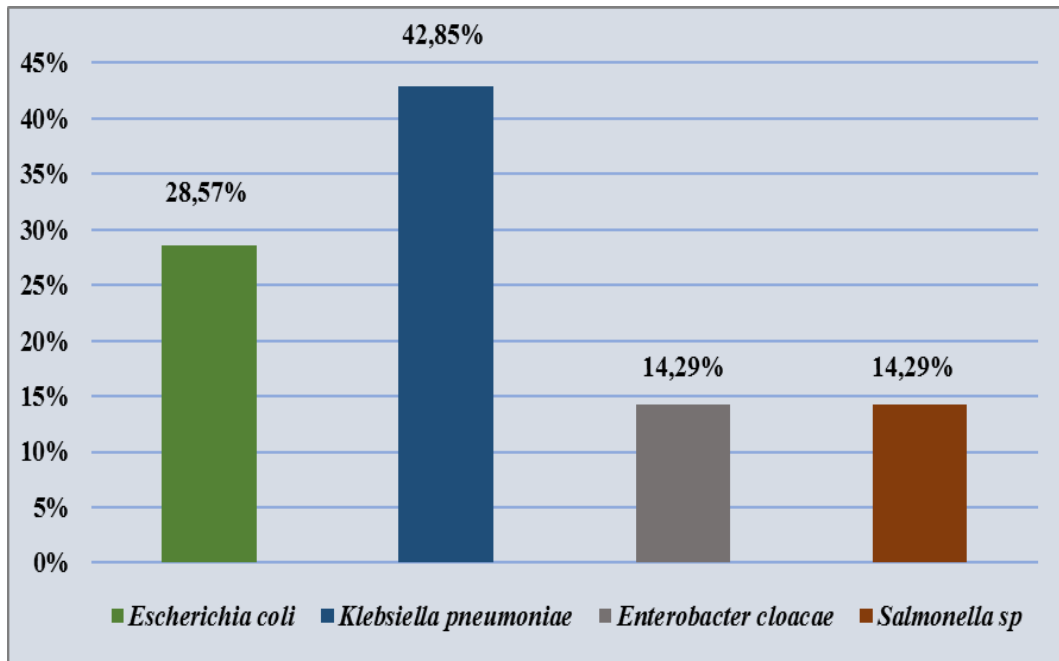


Figure 27. Fréquence de la multirésistance des Entérobactéries en fonction de l'espèce

2.2.3. Fréquence de la multirésistance des Entérobactéries en fonction du service

Nous avons étudié la résistance de nos souches à au moins trois familles d'antibiotiques en fonction des services. Cette étude est illustrée dans la figure ci-dessous (tableau 15, annexe 3):

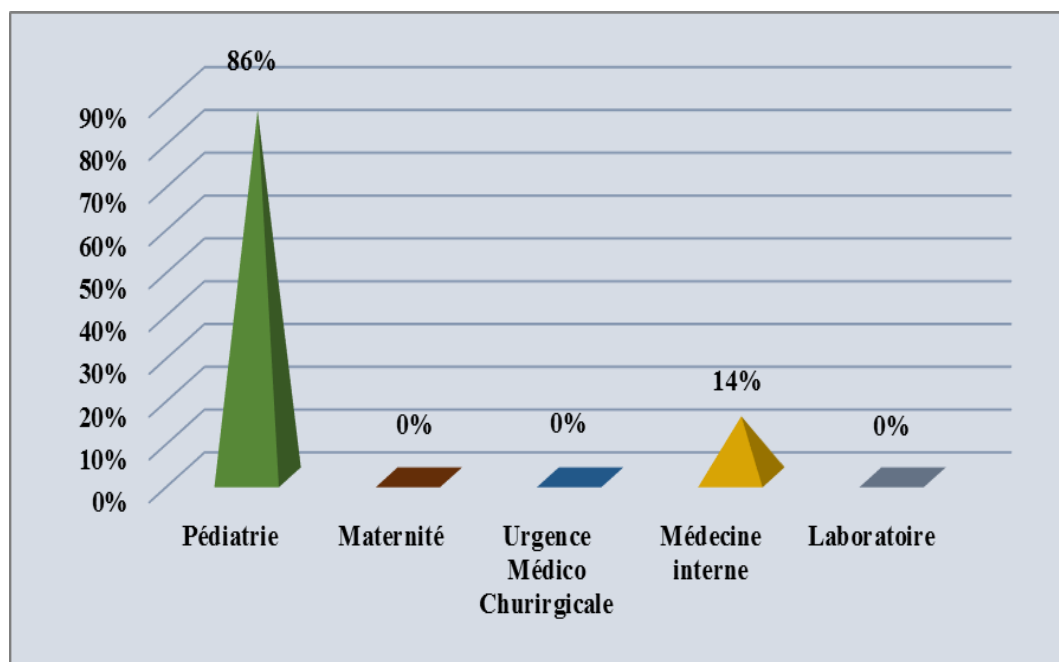


Figure 28. Taux de la multirésistance des Entérobactéries en fonction du service

La majorité des souches multirésistantes provient du service de pédiatrie dans 86% des cas. Une seule souche multirésistante est observée dans le service de médecine interne avec un taux de 14%.

Dans l'étude de Ben Ayed *et al* (2017), sur 739 cas d'IU, l'ECBU a révélé des BMR dans 222 cas (30 %) parmi lesquelles, *E. coli* et *K. pneumoniae* étaient respectivement isolées dans 440 cas (59,5 %) et 197 cas (26,6 %). Les BMR étaient généralement retrouvées au niveau des services à risques sévères comme le laboratoire, le service de la réanimation, les unités des soins, ou les services à très hauts risques comme celui de la néonatalogie.

2.3. Entérobactéries et BLSE

2.3.1. Fréquence des Entérobactéries productrices de BLSE

Parmi les BMR, le taux des souches productrices de BLSE obtenu dans notre étude est présenté dans la figure 29 (tableau 16, annexe 3). Nous avons noté que 11,76% des Entérobactéries ont produit une BLSE (4 /34).

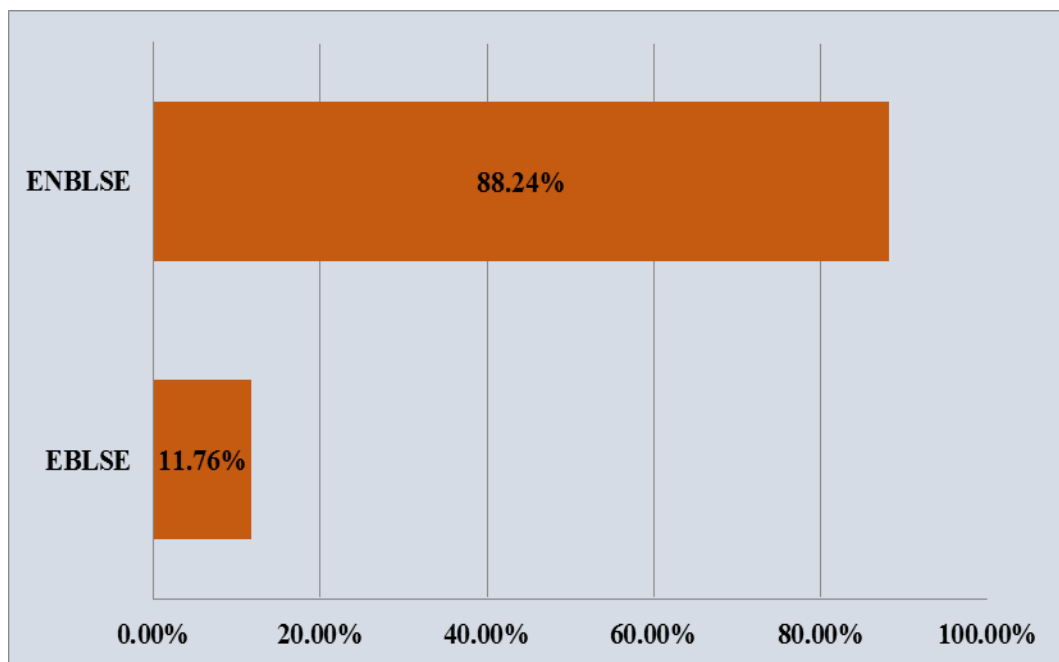


Figure 29. Fréquence des Entérobactéries productrices de BLSE

(EBLSE : Entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi, NBLEE : Entérobactéries non productrices de β -lactamases à spectre élargi)

2.3.2. Fréquence des Entérobactéries productrices de BLSE selon l'espèce

Quant aux espèces productrices des BLSE, on n'a pas remarqué une grande diversité car notre échantillon n'est pas très important. Toutefois, deux souches d'*E. coli* et deux souches de *K. pneumoniae*, présentant la même fréquence de 50%, sont productrices de BLSE dans notre étude (tableau 17, annexe 3).

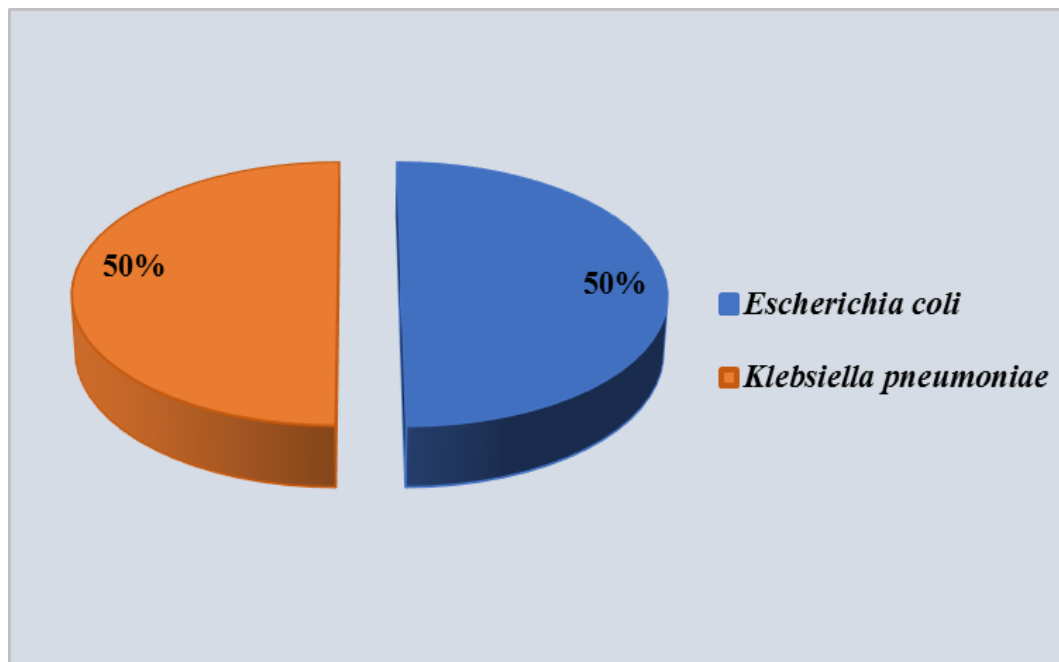


Figure 30. Fréquence des Entérobactéries productrices de BLSE selon l'espèce

Dans l'étude de Sekhsokh *et al* en 2008, la production de BLSE était présente chez 3,2 % des Entérobactéries, donc moins élevée que celle rencontrée dans notre étude. Elle atteint 9% dans l'étude de Lahlou *et al* (2009). La fréquence des Entérobactéries productrices de BLSE chez l'espèce *K. pneumoniae* était plus élevée dans beaucoup d'études.

Les IU posent un problème de prise en charge diagnostique et thérapeutique du fait des modifications perpétuelles de l'écologie bactérienne. L'émergence de bactéries multirésistantes aux antibiotiques aggrave le pronostic sur terrains particuliers.

La prévalence croissante des BLSE pose un problème inédit qui est l'afflux des bactéries multirésistantes de l'hôpital vers la communauté et vice versa. Cette dissémination est un phénomène de plus en plus signalé partout dans le monde, y compris dans les pays développés.

Tableau 18. Profil de résistance aux antibiotiques des 4 souches BLSE

Antibiotique	Nombre	%R
AMX	4	100
AMC	0	0
TIC	4	100
PIP	4	100
CZ	4	100
FOX	0	0
CTX	3	75
CAZ	4	100
IMP	0	0
ATM	2	50
FO	0	0
AK	0	0
GEN	1	25
C	0	0
CT	0	0
COT	1	75
NA	2	50
CIP	0	0
F	2	50

D'après le tableau 18, les EBLSE de notre collection ont généralement présenté des taux élevés de résistance aux β -lactamines utilisées, et des taux moindres aux autres familles d'antibiotiques. Toutes les souches ont été résistantes à l'amoxicilline, Ces souches ont également montré de forts taux de résistance à l'égard des antibiotiques : ticarcilline, piperacilline, céfazoline et céftazidime (100%), céfotaxime et cotrimoxazole (75%), aztréonam, acide nalidixique et nitrofurantoïne (50%), gentamycine (25%). Alors qu'aucune souche n'était résistante aux antibiotiques suivants : imipenème, colistine, fosfomycine, ciprofloxacine, amikacine et chloramphénicol.

Les Co-résistances aux autres familles d'antibiotiques sont souvent élevées chez les Entérobactéries productrices de BLSE. L'émergence de la multirésistance expose à de sérieux problèmes de prise en charge thérapeutiques ce qui mène à l'usage des carbapénèmes, souvent

RESULTATS ET DISCUSSIONS

seule alternative. C'est ainsi que la résistance à ces molécules a vu le jour. La production de carbapénémases est le mécanisme le plus dangereux car ses gènes sont situés sur des structures mobiles d'où le risque de dissémination rapide. Il est donc impératif de limiter la prescription de cette famille d'antibiotiques qui doit être systématiquement guidée.

CONCLUSION

CONCLUSION

Notre travail s'est porté essentiellement sur l'étude des Entérobactéries impliquées dans les IU. De l'ensemble des résultats obtenus de ce travail, il s'est dégagé une prédominance des IU chez le jeune enfant de moins de 5 ans, représentant une tranche d'âge non négligeable avec une fréquence de 44,19%. Normalement, les IU sont aussi fréquentes chez les personnes âgées (de plus 60 ans) à cause de l'affaiblissement de leurs systèmes immunitaires.

Nous avons également constaté que les IU étaient plus fréquentes chez les femmes, représentant un taux de 62,79%, ce qui pourrait s'expliquer par l'anatomie de leur appareil urinaire.

D'après les résultats de l'ECBU, Les bactéries isolées ont été pour la plupart des bacilles à Gram négatif avec une fréquence élevée des Entérobactéries dans 79,07% des cas, suivies par les bactéries à Gram positif comme les Streptocoques (6,98%), les Entérocoques (6,98%) et *Corynébactérium sp* (2,33%). Quant aux bacilles à Gram négatif non fermentant, *Pseudomonas sp* et *Acinetobacter sp*, présentaient des taux faibles (2,33%).

Parmi les Entérobactéries, *E. coli* était le germe le plus fréquemment isolé (64,71%). Venaient ensuite *K. pneumoniae* (14,71%), *Proteus mirabilis* (11,76%) et autres Entérobactéries. La prédominance d'*E. coli* pourrait s'expliquer par le fait que cette espèce est la plus dominante de la flore intestinale et pouvant facilement entrer dans la vessie.

Concernant le comportement des souches vis à vis des antibiotiques actifs, les résultats de l'antibiogramme ont permis de faire les constatations suivantes : 100% des souches d'*E. coli* étaient résistantes aux pénicillines (amoxicilline, ticarcilline, et pipéracilline). Les souches restent sensibles aux céphalosporines de 3^{ème} génération, puisque 9,09% des souches seulement étaient résistantes à la céftazidime et au céfotaxime. Les β -lactamines les plus efficaces étaient l'amoxicilline-acide clavulanique, l'aztréonam et l'imipénème.

En ce qui concerne les autres familles d'antibiotiques, les aminosides (0% pour l'amikacine et la gentamycine), les fluoroquinolones (4,55% pour la ciprofloxacine), la fosfomycine (0%), le chloramphénicol (0%) et la colistine (0%) sont restés actifs. Pour ce qui est de la nitrofurantoïne, on a observé un taux de résistance de 12,50% et un taux atteignant 40,91% pour le cotrimoxazole.

Les souches de *K. pneumoniae* présentaient des taux de résistance plus élevés surtout vis à vis des C3G et des aminosides.

Concernant la multirésistance, le taux d'Entérobactéries multirésistantes dans notre étude était de 20,59%. La fréquence des souches BLSE étant de 11,76%, elle concernait les souches de *E. coli* et *K. pneumoniae*.

Les β -lactamines ont une bonne diffusion dans les voies urinaires. Actuellement, l'augmentation de la résistance à cette famille est de plus en plus inquiétante.

CONCLUSION

La hausse de la résistance à l'amoxicilline a amené à l'élimination de cette molécule de la liste des traitements probabilistes recommandés dans l'IU.

La résistance des Entérobactéries uropathogènes aux C3G s'est amplifiée surtout par la production de BLSE à grand pouvoir de dissémination.

Les aminosides demeurent parmi les antibiotiques les plus actifs sur toutes les Entérobactéries uropathogènes, bien que leur prescription hospitalière soit en augmentation devant l'émergence d'IU à bactéries multirésistantes sans autre alternative thérapeutique.

L'utilisation des fluoroquinolones et la durée du traitement par cette classe d'antibiotique semblent être les facteurs de risque les plus importants d'émergence de résistance aux fluoroquinolones et de résistance croisée.

Les Co-résistances aux autres familles d'antibiotiques sont souvent élevées chez les Entérobactéries productrices de BLSE. L'émergence de la multirésistance expose à de sérieux problèmes de prise en charge thérapeutiques ce qui mène à l'usage des carbapénèmes, souvent seule alternative. C'est ainsi que la résistance à ces molécules a vu le jour.

Ceci laisse espérer une prise de conscience quant à l'usage raisonné de ces molécules.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSPS). Recommandations pratiques : diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires chez l'adulte. *Med Mal Infect* **2008**; 38S :203-52.

Ait Miloud K. L'infection urinaire. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université Mohammed V Rabat, Maroc **2011**.

Ambler RP. The structure of beta-lactamases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* **1980**; 289: 321-31.

Anglaret X, Mortier E. Maladies infectieuses. *Casablanca ESTEM : 3ème édition* **2003**; 109-110.

Bakhoum I. Contrôle de qualité et validation de différentes micro méthodes d'identification bactérienne. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal **2004**.

Ben Ayed H, Gargouri M, Ben Jemaa T, et al. Facteurs prédisposant d'infection urinaire à bactéries multi-résistantes aux antibiotiques. *Méd et Mal Infect* **2017**; 47 : S30.

Bonnet R. B-lactamines et entérobactéries. In: Courvalin P, Leclercq R, Bingen E. AntibioGramme. Paris. *ESKA: 2ème édition* **2006**; 15: 141-62.

Bossert I, Young L. Anaerobic oxidation of paracresol by a denitrifying bacterium. *Applied and environmental Microbiology* **1986**; 52 (5) : 1117-22.

Boukadida J, Boukadida N, Elraii S. Profil et sensibilité aux antibiotiques de 2063 bactéries uropathogènes isolées dans le centre de la Tunisie. *Bull Soc Pathol Exot* **2002**; 95 : 8-10.

Bourquia A, Ramdani B, Sahni K, Zaid D. Profil de l'infection urinaire dans un service de néphrologie. *Médecine du Maghreb* **1992**; 33: 11-16.

Bousseboua H. Elément de microbiologie. *Edition Campus-Club. 2ème Edition. 2005*.

Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM). Recommandations **2008**.

Caron F, Galperine T, Dumarcet N, et al. Recommandation de bonne pratique. Diagnostic et antibiothérapie des infections bactériennes communautaires chez l'adulte. *Méd et Mal Infect* **2008**; 28: 203-252.

Castagnola C. Urologie docteur clic service sante assistance **2010**. « www.docteurclic.com/encyclopedic/urologie.aspx »

Chekroud R, Fathi R. Étude du profil bactériologique et de la sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries responsables des infections urinaires. Mémoire de Master en Hygiène Hospitalière et Santé. Université des Frères Mentouri, Constantine, Algérie **2017**.

Chen K, Hung S, Seow V et al. The role of emergency ultrasound for evaluating acute pyelonephritis in the ED. *Am J Emerg Med* **2010**; 29: 721-4.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing in: Twenty-first informational supplement CLSI **2011**; M100-S21.
- Debré B, Teyssier P, Evrard P, Dufour B.** Urologie. *Paris. Masson* **1992**; 149-177.
- Delarras C.** Microbiologie Pratique Pour le Laboratoire d'Analyses ou de Contrôle Sanitaire. *Edition technique et documentation Lavoisier, Paris.* **2007.** p 128-347.
- Denis F, Poly MC, Martin C, et al.** In Bactériologie médicale. Techniques usuelles. *Casablanca Masson.* **2007**; 295.
- Drlica K, Zhao X.** DNA gyrase, topoisomerase IV, and the 4-quinolones. *Microbiol Mol Biol Rev* 1997; 61(3): 377-92
- Fauchère JL.** Bactériofiches. Techniques en Bactériologie Clinique. Edition Ellipses, 1997; 174p.
- Ferjani A, Marzouk M, Ben Moussa F, Boukadida J.** Résistance des souches d'*Escherichia coli* isolées de prélèvements d'origine urinaire vis-à-vis de l'association amoxicilline-acide clavulanique et divers antibiotiques. *J med mal* **2010**; 40(3): 129-84.
- Gasmi R, Salhi S.** Les infections urinaires à Ain M'lila. Mémoire de Master en Ecologie Microbienne. Université des Frères Mentouri, Constantine, Algérie **2018**.
- Guy Albert K.** Etude bactériologique des infections urinaires au centre Pasteur du Cameroun. Rapport de stage. Cameroun **2008**.
- Idatie JM.** Infections urinaires chez l'adulte. In : Richet G, Eds. Néphrologie. *Paris Ellipses* **1988**; 207-38.
- Jantausch B, Kher K.** Urinary tract infection In: Kher KK, Schnaper HW, Makker SP, eds. *Clinical paediatric nephrology. 2nd ed. UK* **2007**; 553-73.
- Kassama M, Hamadi S.** Evaluation de la résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées à l'établissement hospitalier spécialisé de Constantine. Mémoire de Master en Microbiologie et Hygiène Hospitalière. Université des Frères Mentouri, Constantine, Algérie **2013**.
- Lacombe M.** Précis d'anatomie et de physiologie humaine. *Paris Editions Lamarre : 28ème édition* **2005**.
- Lahlou A, Chegri M, L'Kassmi H.** Épidémiologie et résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées d'infections urinaires à l'hôpital militaire Moulay-Ismail de Meknès. *Antibiotiques* **2009**; 11(2): 90-96.
- Lambert T.** Aminosides et bactéries à Gram négatif. In. Courvalin P, Leclerc R., and Bingen E. *Antibiogramme. Paris ESKA 2ème édition* **2006**; 19: 227-46.
-

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Larabi K, Masmoudi A, Fendri C.** Étude bactériologique et phénotypes de résistance des germes responsables d'infections urinaires dans un CHU de Tunis : à propos de 1930 cas. *Méd et Mal Infect* **2003**; 33 (7): 348-352.
- Lavigne JP.** Effet des antibiotiques : mécanismes de résistance. Thèse de Doctorat en Médecine. Faculté de Médecine de Montpellier-Nîmes, France **2007**.
- Le Minor L, Veron M.** Bactériologie médicale. Médecine-Science, 2ème édition. *Edition Flammarion*. Paris. **1989**; 312-459.
- Lemmen SW, Häfner H, Zolldann D, et al.** Distribution of multiresistant Gram-negative versus Gram-positive bacteria in the hospital inanimate environment. *Journal of Hospital Infection* **2004**; 56:191-197.
- Madigan M, Martinko J.** Biologie des microorganismes. *PEARSON Education 11ème édition* France **2007**; 354-355.
- Mainardi JL.** Mécanismes d'action et de résistance aux antibiotiques. Unité Mobile de Microbiologie Clinique Hopital Europeen Georges Pompidou. Université paris V René Descartes Paris, France **2015**.
- Mallaret Mp, Bosseray A, Micoud M.** Infections nosocomiales. *Encycl. Med Chir, Maladies infectieuses*, **1996**.
- Michael M, John M.** In Brock : Biologies des micro-organismes. *Edition PEARSON Education*, **2007**; 794-95.
- Moutachakir M, Chinbo M, Elkhoudri N, Soraa N.** La résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries uropathogènes en milieu pédiatrique au CHU de Marrakech. *Journal de pédiatrie et de puériculture* **2014**; 28 (1) : 16- 22.
- Ochman H, Wilson C.** Evolution in bacteria : evidence for a universal substitution rate in cellular genomes. *J Mol Evol.* **1987**; 26: 74-86.
- Paterson DL.** Resistance in Gram-Negative Bacteria: Enterobacteriaceae. *The American Journal of Medicine* **2006**; 119 (6A): 20-28.
- Philippon A.** Résistance bactérienne : définitions, mécanismes, évolution. EMC, Paris, France; Maladies infectieuses **2008**; 8-006-N-10.
- Pilet C, Bourdon J, Toma B, et al.** Les Entérobactéries : Bactériologie médicale et vétérinaire : systématique bactérienne. *Doins*. Paris. **1979**; 109-187.
- Pitoud LD, Laupland KB.** Extended-spectrum betalactamase- producing Enterobacteriaceae: An emerging public-health concern. *Lancet Infect Dis* **2008**; 8: 159-66.
- Prudhomme C, Jeanmougin C, Geldreich MA.** Mémento de stage de l'infirmière–urologie Néphrologie. France *Edition Maloine: 2ème édition* **2010**; 19p.
-

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Rahal K.** Standardisation de l'antibiogramme en Médecine Humaine à l'échelle nationale selon les recommandations de l'O.M.S. *4ème édition*, **2005**; 195p.
- Rahal K.** Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale selon les recommandations de l'O.M.S., I.N.S.P. Algérie, **2011**; 192p.
- Rahal K.** Standardisation de l'antibiogramme en Médecine Humaine et vétérinaire à l'échelle nationale selon les recommandations de l'O.M.S. *7ème édition*, **2014**; 134p.
- Ramos JM, Aguado JM, Garcia- Corbeira P, et al.** Clinical spectrum of urinary tract infection due to nontyphoidal *Salmonella* species. *Clin Infect Dis* **1996**; 23: 388-390.
- Raghu F.** Epidémiologie de la résistance chez les entérobactéries isolées sur les ECBU réalisés dans un service d'urgence. Thèse de Doctorat en Médecine. Université Paris Diderot, Paris, France **2016**.
- Richet G.** Néphrologie. *Edition Ellipses* Paris, France **1988**; 211-227.
- Schaeffer A.** Chronic prostatitis and the chronic pelvic pain syndrome. *N Engl J Med* **2006**; 355:1690-8.
- Sekhsokh Y, Chadli M, El Hamzaoui SA.** Fréquence et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées dans les urines. *Méd et Mal Infect* **2008**; 38 (6): 324-327.
- Strohmeier Y, Hodson EM, Willis NS, et al.** Antibiotics for acute pyelonephritis in children. *Cochrane Database Syst Rev* **2014**; 7: CD003772.
- Tagajdid MR, Boumhil L, Iken M, et al.** Étude de la résistance des souches d'*Escherichia coli* isolées dans les urines aux fluoroquinolones et aux céphalosporines de troisième génération. *Méd et Mal Infect* **2010**; 40(2): 70-73.
- Thirion D J, Williamson D.** Les infections urinaires : une approche clinique. *Pharmacothérapie* **2003**; 36 (5) : 246-253.
- Thirry F, Amsellem D, Emmanuel H.** Mémento urologie. *Edition Maloine : 2ème édition* Paris, France **1998**.
- Trystram D.** Bactériologie. Université PARIS-VI Pierre et Marie Curie. Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière. **2003**; 61-72.
- Wainsten JP.** Le Larousse Médical. *Edition Larousse* Paris, France **2012**.
- Wainsten JP.** Le petit Larousse de la médecine. *Edition Larousse* Paris, France **2017**.
- Wyndaele JJ.** Complications of intermittent catheterization: Their prevention and treatment. *Spinal Cord* **2010**; 40: 536-41.
- Yala D, Merad AS, Mohamedi D, Ouarkorich MN.** Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb* **2001**; 91: 5-12.
-

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Yanat B, Rodríguez-Martínez JM., Touati A. Plasmid-mediated quinolone resistance in Enterobacteriaceae: a systematic review with a focus on Mediterranean countries. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **2016**; 36: 421-435.

Zitti TJZ. Mise en place de la surveillance des résistances aux antibiotiques des germes responsables d'infections urinaires. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Bamako, Mali **2014**.

[Http://tperesistpenicilline.doomby.com/pages/experiences/antibiogramme-definir-et-realiser-un-antibiogramme.html](http://tperesistpenicilline.doomby.com/pages/experiences/antibiogramme-definir-et-realiser-un-antibiogramme.html) consulté le 15.03.2019

[Http://www.microbes-edu.org/mecanisme/bla/generalites.html](http://www.microbes-edu.org/mecanisme/bla/generalites.html) consulté le 15.03.2019

ANNEXES

ANNEXE 1. MILIEUX DE CULTURES

Gélose nutritive

Composants	Quantité
Extrait de viande de bœuf	01 g
Extrait de levure	02 g
Peptone	05 g
Chlorure de sodium	05 g
Gélose	15 g
PH	7,4

Gélose Hektoen

Composants	Quantité
Protéose-peptone	12,0 g
Extrait de levure	3,0 g
Lactose	12,0 g
Saccharose	12,0 g
Salicine	2,0 g
Citrate de fer III et d'ammonium révélateur d'H ₂ S	1,5 g
Sels biliaires	9,0 g
Fuchsine acide	0,1 g
Bleu de bromothymol	0,065 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Thiosulfate de sodium précurseur d'H ₂ S	5,0 g
Agar	14,0 g
PH	7,6

Milieu Chapman

Composants	Quantité
Peptone	11 g
Extrait de viande	1 g
Na Cl	75 g
Mannitol	10 g
Rouge de phénol	0,025 g
Agar	15 g
Eau distillée	1 litre
PH	7,5

Gélose au sang frais

Composants	Quantité
Mélange spécial de peptones	23 g
Amidon	1 g
Na Cl	5 g
Agar	10 g
Sang de mouton	50 ml
Eau distillée	1 litre
PH	7,3

Gélose Mueller-Hinton

Composants	Quantité
Infusion de viande de bœuf	300 ml
Peptone de caséine	17,5 g
Amidon de maïs	1,5 g
Agar	10 g
PH	7.4

Milieu Mannitol-mobilité

Composants	Quantité
Peptone tryptique de viande	20 g
Agar	04 g
Mannitol	02 g
Nitrate de potassium	01 g
Rouge de phénol	04 ml
PH	7,6 à 7,8

Milieu Clark et Lubs

Composants	Quantité
Peptone	5 g
Glucose	5 g
Hydrogénophosphate de potassium	5 g
Eau distillée	1 L
PH	7,5

Milieu Triple Suger Iron

Composants	Quantité
Extrait de bœuf	03 g
Extrait de levure	03 g
Peptone	20 g
Chlorure de sodium	05 g
Lactose	10 g
Saccharose	10 g
Glucose	07g
Citrate de ferrique	03 g
Thiosulfate de sodium	03 g
Rouge de phénol	0,025 g
Gélose	12 g
PH	7,4

Milieu Citrate de Simmons

Composants	Quantité
Sulfate de magnésium	0,2 g
Phosphate mono ammoniacal	01 g
Phosphate bi potassique	01 g
Citrate de sodium	02 g
Chlorure de sodium	0,6 g
Bleu de bromothymol	15 g

ANNEXE 2. COLORANTS ET COLORATIONS**Bleu de méthylène**

Composants	Quantité
Bleu de méthyle	01 g
Eau distillée	20 ml
Acide lactique	20 g
Glycérol	40 g
Phénol	20 g

Violet de gentiane

Composants	Quantité
Violet gentiane	01 g
Ethanol a 90%	10 ml
Phénol	02 g
Eau distillée	100 ml

Lugol

Composants	Quantité
Iode	01 g
Iodure de potassium	02 g
Eau distillée	300 ml

Fuchsine

Composants	Quantité
Fuchsine basique	01 g
Alcool éthylique à 90°	10 ml
Phénol	05 g
Eau distillée	100 ml

Coloration de Gram

- Mettre une goutte d'urine fraîche sur une lame puis séchée à l'air et fixée.
- Verser du Violet de Gentiane et laisser en contact 1 minute (Toutes les bactéries doivent être colorées en violet).
- Rincer à l'eau distillée.
- Recouvrir la lame de réactif de Lugol pendant 1 minute.
- Rincer à l'eau distillée.
- Décolorer à l'alcool pendant 15 à 30 secondes.
- Rincer à l'eau distillée.
- Recouvrir la lame de fuchsine et laisser agir pendant 1 minute.
- Rincer à l'eau distillée puis sécher.
- Examiner au microscope, objectif 100 à immersion.

Lecture :

La lecture de la coloration de gram se fait sous microscope à l'objectif 100 à immersion, elle permet de classer les bactéries dans deux groupes :

- Bactéries à gram négatif apparaissent en rose, car elles possèdent une paroi formée d'une seule couche de peptidoglycane, cela facilite l'entrée de l'alcool pour décolorer le violet de gentiane.
 - Bactéries à gram positif apparaissent en violet à cause de l'épaisseur du peptidoglycane ne permettant pas à l'alcool de traverser cette paroi épaisse pour décolorer le violet.
-

ANNEXE 3. TABLEAUX

Tableau 6. Fréquence des prélèvements à culture positive

Résultats	Nombre de cas	Pourcentage
Positif	43	19.81%
Négatif	123	56.68%
Contamine	51	23.50%

Tableau 7. Fréquence des infections urinaires en fonction de l'âge

	Tranche d'âge			
	≤ 5 ans	6 -17 ans	18 - 40 ans	≥ 40 ans
Nombre de cas	19	9	12	3
Pourcentage	44.19%	20.93%	27.91%	6.98%

Tableau 8. Fréquence des infections urinaires en fonction du sexe

Sexe	Nombre de cas	Pourcentage
Hommes	27	62.79%
Femmes	16	37.20%

Tableau 9. Fréquence des infections urinaires selon le service

Service	Culture positive	Taux de positivité
Pédiatrie	27	62.79%
Maternité	2	4.65%
Urgence Médico Chirurgicale	3	6.98%
Médecine interne	5	11.63%
Laboratoire	6	13.95%

Tableau 10. Fréquence des infections urinaires en fonction du germe responsable

Souche	Effectif	Fréquences
Entérobactéries	34	79.07%
Streptocoques	3	6.98%
Entérocoques	3	6.98%
<i>Acinetobacter sp</i>	1	2.33%
<i>Corynebacterium sp</i>	1	2.33%
<i>Pseudomonas sp</i>	1	2.33%

Tableau 11. Fréquence des Entérobactéries selon l'espèce

Espèce	Effectif	Fréquences
<i>Escherichia coli</i>	22	64.71%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5	14.71%
<i>Proteus mirabilis</i>	4	11.76%
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	5.88%
<i>Salmonella sp</i>	1	2.94%

Tableau 12. Profil de résistance des souches d'Entérobactéries

Famille	Antibiotiques	<i>Escherichia coli</i>		<i>Klebsiella pneumoniae</i>		<i>Proteus mirabilis</i>	
		N=22		N=5		N=4	
		N	%	N	%	N	%
Bêtalactamines	Amoxicilline	22	100%	5	100%	4	100%
	Amoxicilline-acide clavulanique	1	4,55%	0	0%	0	0%
	Ticarcilline	22	100%	5	100%	4	100%
	Pipéracilline	22	100%	5	100%	4	100%
	Céfazoline	11	50%	4	80%	3	75%
	Céfoxitine	1	4,55%	1	20%	0	0%
	Céfotaxime	0	9,09%	3	60%	0	0%
	Céftazidime	1	9,09%	3	60%	0	0%
	Imipenème	0	0%	0	0%	0	0%
	Aztréonam	0	0%	3	60%	0	0%
Aminosides	Gentamicine	0	0%	2	40%	0	0%
	Amikacine	0	0%	1	20%	0	0%
Quinolones	Acide nalidixique	5	27,78%	0	0%	1	25%
	Ciprofloxacine	1	4,55%	0	0%	0	0%
Sulfamides associés	Cotrimoxazole	9	40,91%	2	40%	0	0%
Nitrofuranes	Nitrofurantoïne	2	12,50%	3	75%	3	100%
Fosfomycines	Fosfomycine	0	0%	0	0%	1	25%
Phénicolés	Chloramphénicol	0	0%	0	0%	1	25%
Polypeptides	Colistine	0	0%	0	0%	0	0%

Tableau 13. Taux global de la multirésistance des Entérobactéries

	BMR	NBMR
Nombre de souches	7	27
Pourcentage	20,59%	79,41%

Tableau 14. Fréquence de la multirésistance des Entérobactéries en fonction de l'espèce

Espèce	Nombre d'espèce	Pourcentage
<i>Escherichia coli</i>	2	28,57%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3	42,85%
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	14,29%
<i>Salmonella sp</i>	1	14,29%

Tableau 15. Taux de la multirésistance des Entérobactéries en fonction du service

Service	Nombre d'espèce	Pourcentage
Pédiatrie	6	86%
Maternité	0	0%
Urgence Médico Chirurgicale	0	0%
Médecine interne	1	14%
Laboratoire	0	0%

Tableau 16. Fréquence des Entérobactéries productrices de BLSE

	Nombre	Pourcentage
EBLSE	4	11,76%
ENBLSE	30	88,24%

Tableau 17. Fréquence des Entérobactéries productrices de BLSE selon l'espèce

Espèce	Nombre	Pourcentage
<i>Escherichia coli</i>	2	50%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	50%

**ENTEROBACTERIES UROPATHOGENES :
EPIDEMIOLOGIE ET RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES**

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Ecologie Microbienne

Résumé

Les infections urinaires (IU), devenues fréquentes, occupent la seconde place après les infections respiratoires et constituent un véritable problème de santé publique à cause de leur difficulté de traitement. Notre travail avait pour objectifs, l'étude des caractéristiques épidémiologiques, du profil bactériologique et de la sensibilité aux antibiotiques des Entérobactéries responsables d'IU.

C'est une étude réalisée à l'Etablissement Hospitalier Didouche Mourad, menée sur 217 prélèvements d'urines de patients hospitalisés et externes.

Notre travail consistait en l'examen cytotbactériologique des urines (ECBU) avec la mise en évidence des bactéries responsables d'IU notamment les Entérobactéries et l'étude de leur sensibilité à différents antibiotiques par la technique de diffusion en milieu gélosé.

Les résultats obtenus ont montré que la fréquence de l'IU était plus importante chez le jeune enfant avec un taux de 44,19% avec une prédominance chez la femme dans 62,79% des cas. Les tests bactériologiques ont révélé que sur 43 souches isolées, 34 étaient des Entérobactéries soit une fréquence de 79,07% dont l'espèce bactérienne dominante était *Escherichia coli* (*E. coli*) (64,71%).

L'étude de la résistance aux antibiotiques a montré que 100% des souches d'*E. coli* étaient résistantes aux pénicillines alors qu'elles restaient plus ou moins sensibles à l'amoxicilline-acide clavulanique et aux céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G). L'aztréonam et l'imipénème restaient très actifs. En ce qui concerne les autres antibiotiques, la plupart ne sont pas touchés par la résistance comme les aminosides, les fluoroquinolones, la fosfomycine, le chloramphénicol et la colistine. Les souches de *Klebsiella pneumoniae* présentaient des taux de résistance plus élevés surtout vis à vis des C3G et des aminosides. Le taux des souches productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) était de 14,70% dans notre étude. La prévalence croissante des BLSE pose un problème inédit qui est l'afflux de bactéries multirésistantes.

Mots clés : Infection urinaire, Entérobactéries, résistance aux antibiotiques.**Laboratoire de recherche :** Laboratoire de Bactériologie de l'Etablissement Hospitalier D. Mourad.

Jury d'évaluation :

Président du jury : M^{elle} ARABET D

(MCA – UFM Constantine 1)

Rapporteur : M^{me} HECINI-HANNACHI A

(MCA – U Saleh Boubnider Constantine 3)

Examineur : M^{me} ZERMANE F

(MAA – UFM Constantine 1)

Date de soutenance : 03/07/2019