



**Université sidi Mohamed Ben Abdellah
Faculté des sciences et techniques, Fès
Département des sciences de la vie**

PROJET DE FIN D'ETUDES
Licence en Sciences & Techniques :
Sciences Biologiques appliquées et Santé



✓ **Présenté par : Azhar CHERRADI**

✓ **Encadré par :**

1. Pr. Mahmoud Mustapha (Laboratoire du CHU Hassan II Fès).
2. Pr. Bahafid Wifak (FST Fès).

1. **Soutenu le : 16/06/2015**

Devant le jury composé de :

- I. Pr. Bahafid Wifak (FST Fès).
- II. Pr. Bekhti Khadija (FST Fès).
- III. Pr. Mahmoud Mustapha (Laboratoire du CHU Hassan II Fès).

Année Universitaire : 2014-2015

REMERCIEMENT

Au terme de ce projet de fin d'étude, je tiens à exprimer mes sincères remerciements :

A Pr. Mahmoud Mustapha (Laboratoire du CHU Hassan II).

Mes remerciements vont également à Monsieur M.FERRAT le technicien pour son aide, et tout le personnel du laboratoire de l'hôpital HASSAN II.

A Mme WIFAK BAHAFID, veuillez bien recevoir l'expression de ma reconnaissance pour la qualité scientifique de vos recommandations aussi bien que pour votre directive précieuse qui m'a accompagné durant tout mon stage.

Aux membres de jury : Pr MAHMOUD, Pr BEKHTI, Pr BAHAFID, pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant de juger ce projet de fin d'études. J'associe à ces remerciements Mr. Le Doyen de la FST Fès ainsi que l'ensemble du corps professoral du LST Sciences Biologiques Appliquées & Santé (SBAS) pour le rôle important qu'ils aient joué pour notre formation et les connaissances acquises tout au long de la durée de nos études.

Mes remerciements s'adressent également à M.ABDELALI TAZI Chef de la filière, M.RACHID BENCHHEIKH chef du département des sciences de la vie et la terre à tous nos professeurs pour leur générosité et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges académiques et professionnelles.

Enfin, je n'oublierai pas d'exprimer ma reconnaissance pour tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

DEDICACE

Je dédie ce travail :

A ma mère, pour la tendresse et le grand amour dont vous m'entourez, pour votre soutien et prières, vous m'avez Toujours épargné de toutes sortes de contraintes à même absorber mon Stress. Jamais je ne trouverais de mots pour exprimer ma profonde affection et mon grand amour.

A mon père, à qui je fais le témoignage de mon profond amour, ma gratitude pour les sacrifices qu'il m'a fait afin que je puisse achever mes études dans les meilleurs conditions, et qui m'a tellement supporté et soutenue tout au long de mon parcours d'étude.

A mes frères, ma sœur, vous avez été toujours avec moi, par votre cœur et votre esprit, vous avez effectivement contribué à ma réussite. A toute ma famille.

A mes meilleures ami(e)s les plus proches de mon cœur et mes collègues du LST Sciences Biologiques et Appliquées (SBAS) avec lesquels j'ai passé des moments agréables.

A tous ceux que j'aime et qui m'aiment.

Présentation du lieu de stage

Le Laboratoire Central d'Analyses Médicales est conçu comme un pôle d'activité hospitalière comportant plusieurs spécialités d'analyses médicales :

- Anatomie pathologique
- Bactériologie-Immunoanalyses
- Parasitologie
- Biochimie et pharmaco-toxicologie
- Hématologie
- Génétique médicale et biologie moléculaire.

Le laboratoire se compose de :

- Salle de réception
- Salle de prélèvements
- Laboratoire de biochimie/Pharmacotoxicologie
- Laboratoire d'hématologie
- Laboratoire de bactériologie /Immunologie
- Laboratoire de parasitologie
- Laboratoire de génétique
- Laboratoire d'anatomie pathologique.

La création d'un laboratoire central d'analyses médicales au sein du CHU est une première nationale. Cette conception adoptée récemment dans les laboratoires hospitaliers internationaux permet de :

- ✓ Optimiser les moyens techniques et le budget de fonctionnement du laboratoire;
- ✓ Offrir des plateaux techniques spécialisés de grande qualité ouverts à toutes les disciplines biologiques;
- ✓ Par une communication informatique inter laboratoires, un échange continu d'informations et une complémentarité dans les bilans réalisés;



Figure 1 : Organigramme du CHU HASSAN II.

Sommaire

Introduction

Revue bibliographique

1. Infection urinaire.....	2
1.1. Définition.....	2
1.2. Types d'infection urinaire.....	2
1.3. Symptômes de l'infection urinaire.....	2
2. Ethologie.....	3
2.1. Bacille Gram négatif.....	3
2.2. Cocci gram positif	4
3. Traitement : Antibiothérapie.....	4
3.1. Définition des antibiotiques.....	4
3.2. Résistance aux antibiotiques.....	5
3.3. Types de résistance.....	5
3.3.1. Résistance acquise.....	5
3.3.2. Résistance naturelle.....	5
4. Diagnostique.....	6
4.1. Diagnostique clinique.....	6
4.2. Diagnostique microbiologique.....	6
4.2.1. Bandelettes urinaires.....	6
4.2.2. Examen cyto bactériologique.....	7
4.2.3. Antibio gramme.....	7

Matériel et méthode

1. Etude prospective.....	9
2.1. Prélèvement.....	9
2.2. Examen cyto bactériologiques des urines (ECBU).....	10
2.2.1 Aspect macroscopique.....	10
2.2.2. Etude cytologique.....	10
2.2.3. Etude bactériologiques.....	12
2.2.3.1. Mise en culture.....	12
2.2.3.2. Dénombrement des microorganismes.....	13

2.2.3.3. Identification bactérienne.....	14
2.2.4. Antibiogramme.....	16

Résultat et discussion

❖ Répartition épidémiologique de l'infection urinaire.....	18
1. Fréquence des infections urinaires.....	18
2. Répartition des infections urinaires selon le sexe.....	18
❖ Répartition des microorganismes responsables des infections urinaires.....	20
1. Répartition en fonction des caractères morphologiques.....	20
2. Fréquence des microorganismes identifiés.....	21
❖ Profil de sensibilité des microorganismes identifiés.....	22

Conclusion

Références bibliographiques

Introduction

L'intérêt porté ces dernières années aux infections urinaires et leur prise en charge en thérapeutique anti-infectieuse restent encore d'actualité. Elles constituent un véritable problème de santé publique tant par leurs fréquences que par leur difficulté de traitement.

En effet, l'infection urinaire est une pathologie fréquemment rencontrée aussi bien chez l'adulte que chez l'enfant. En conséquence, l'absence de traitement efficace de cette pathologie peut entraîner des complications très graves notamment des atteintes rénales avec un risque d'insuffisance rénale ou d'hypertension artérielle à long terme (1).

Les bactéries qui proviennent de la flore intestinale ou de la flore périnéale sont à l'origine de la plupart des infections urinaires et l'antibiothérapie reste le moyen le plus prescrit pour le traitement de ce type d'infection. Toutefois, la diffusion des mécanismes de résistance aux antibiotiques au sein des espèces bactériennes limitent l'efficacité du traitement et les échecs thérapeutiques connus dernièrement deviennent de plus en plus inquiétants (1).

La surveillance de cette résistance est, ainsi, nécessaire pour vérifier la validité des protocoles de traitement de première intention et de proposer d'éventuelles mesures susceptibles de contrôler cette évolution. C'est dans ce cadre que s'inscrit ce travail qui consiste à étudier la sensibilité des bactéries responsables d'infections urinaires communautaires vis-à-vis des antibiotiques couramment utilisés.

Dans ce présent travail, nous allons en premier lieu réaliser une étude de l'infection urinaire enregistrée au laboratoire CHU de Fès. En deuxième lieu, nous allons nous intéresser à travers une étude prospective à :

- ✓ déterminer le pourcentage de patients ayant une infection urinaire
- ✓ déterminer la prévalence des bactéries responsables d'infection urinaire.
- ✓ évaluer leur profil de résistance aux antibiotiques les plus couramment utilisés.

Ce travail est divisé en trois parties. Dans une première partie nous proposons une synthèse bibliographique sur les infections urinaires et la résistance bactérienne. La deuxième partie décrit les méthodes de diagnostic des infections urinaires. La troisième partie concerne les résultats trouvés.

Revue Bibliographique

3. Infection urinaire (IU)

1.1. Définition

L'infection urinaire est définie par la présence d'un nombre significatif de germes dans les urines (bactériurie) associée à des signes fonctionnels urinaires avec éventuellement leucocyturie (voie pyrie) tels que des brûlures mictionnelles, une pollakiurie (mictions anormalement fréquentes et peu abondantes), une impériosité des besoins mictionnels, etc.

Elle regroupe un ensemble hétérogène d'infections de l'un des constituants du tractus urinaire ou de ses annexes : rein, vessie, urètre ou prostate chez l'homme (2).

1.2. Types d'infections urinaires

Selon une nouvelle nosographie l'IU est divisée en deux groupes.

- ✓ Infection urinaire simple (IUS) : lorsque le sujet atteint n'a aucun facteur de risque.
- ✓ Infection urinaire compliquée (IUC) : lorsque le sujet atteint avec un facteur d'infection urinaire.

Or, l'infection de l'appareil urinaire regroupe plusieurs entités en fonction de la zone de l'arbre urinaire infectée(3). Ainsi, selon la localisation, les principaux types d'infection sont :

- La cystite : Inflammation de la vessie.
- L'urétrite : Infection de l'urètre.
- La pyélonéphrite: Inflammation du bassinet et du rein.

1.3. Symptômes de l'infection urinaire

Suivant les patients et le type d'infection urinaire, les symptômes peuvent être d'intensité variable, aussi bien généraux que locaux. Ils se manifesteront au niveau des voies urinaires et/ou au niveau de l'abdomen. Le tableau 1 présente les différents signes cliniques d'une IU.

Tableau1 : Les différents signes cliniques d'une IU.

Localisation	Signes cliniques
Urinaire	<p>Troubles mictionnels :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pollakiurie - Brûlure - Mictions impérieuses - Enurésie - Incontinence - Hématurie avec ou sans pyurie <p>Algies lombaires Algies pelviennes</p>

A ces signes peuvent alors être associés des frissons, des sueurs et une altération de l'état général (4).

4. Etiologie

Les bactéries responsables de l'IU sont presque toujours d'origine digestive. Les micro-organismes retrouvés le plus fréquemment chez les patients présentant une infection urinaire sont décrits comme uropathogènes (16). Ceci inclut :

2.1. Bacille Gram négatif

La plupart des infections urinaire sont dues à la propagation par voie ascendante des bactéries d'origine intestinale (17), d'où la prédominance des Entérobactéries au sein desquels on trouve:

- ✓ *Escherichia coli* (le plus souvent mis en cause 60 à 80 %)
- ✓ *Proteus* (*Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Proteus rettgeri*)
- ✓ *Klebsiella* (*Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*)
- ✓ *Enterobacter* (*Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*,...)
- ✓ *Providencia stuartii*
- ✓ *Morganella morganii*

Par ailleurs, d'autres bacilles à Gram négatif tel que *Pseudomonas aeruginosa* sont responsables des infections urinaires iatrogènes, résultant d'une contamination par manœuvres instrumentales endo-urinaires (sonde à demeure, uréthro-cystoscopie ...) (17).

2.2. Cocci Gram positif

Les infections urinaires à Cocci Gram Positif sont rares. Les plus répondu sont :

- ✓ *Staphylocoques* : *S. saprophyticus*, *S. haemolyticus*, *S. epidermidis* et *S. aureus*.
- ✓ *Streptocoques* des groupes D sont rares (17).
- ✓ *Streptocoques* des groupes B.

5. Traitement: Antibiothérapie

La grande fréquence de l'infection urinaire chez certains patients, ont conduit les spécialistes et les médecins hospitaliers à prescrire des antibiotiques.

3.1. Définition des antibiotiques

Un antibiotique est une substance qui a une action spécifique de blocage ou même de destruction des bactéries. Cette substance peut avoir une action toxique directe, c'est-à-dire bactéricide ; son efficacité peut être également limitée à empêcher le développement des micro-organismes (action bactériostatique) (11).

Selon leur mode d'action les antibiotiques sont divisés en plusieurs Familles :

- ❖ Beta-lactamines
 - ✓ Les pénicillines : Ils inhibent la formation de la membrane bactérienne et sont donc bactéricides (18).
 - ✓ Les céphalosporines : Ils ont une structure qui interfère avec la synthèse de la paroi bactérienne (18).
- ❖ Les aminosides : Ils ont un spectre d'action étroit, et inhibent la synthèse des protéines des staphylocoques et des Bacilles Gram négatif (18).
- ❖ Les tétracyclines : Antibiotiques bactériostatiques synthétiques à spectre large, et inhibent la fixation de l'aminocyl-tARN sur son site ribosomal(18).

- ❖ Les quinolones et fluoro-quinolones : Antibiotiques de synthèse chimique, qui inhibent la synthèse de l'ADN (18).
- ❖ Les phénicolés: Antibiotiques bactéricides (18).
- ❖ Les polypeptides : ils ont une action sur la paroi cellulaire de la bactérie en inhibant sa formation (17).

3.2. Résistance aux antibiotiques

Les antibiotiques ont permis de faire considérablement reculer la mortalité associée aux maladies infectieuses au cours du 20ème siècle. Hélas, leur utilisation massive et répétée a conduit à l'apparition de bactéries résistantes à ces médicaments(12).

Ainsi, Trois mécanismes de résistance d'importance variable sont décrits [19]:

- ✓ Diminution de la perméabilité des bacilles Gram négatif.
- ✓ Modification du site de l'action et l'augmentation de l'efflux actif.
- ✓ Inactivation enzymatique.

3.3. Types de résistance

3.3.1. Résistance naturelle

La résistance naturelle ou intrinsèque correspond à la l'insensibilité aux antibiotiques, existant naturellement chez tous les membres d'un genre ou d'une espèce bactérienne. Elle est généralement due soit à une absence de cible pour l'antibiotique soit une imperméabilité de la paroi à l'antibiotique. La résistance naturelle fait partie du patrimoine génétique habituel de l'espèce(19).

3.3.2. Résistance acquise

La résistance acquise correspond à l'acquisition de nouveaux gènes capables de rendre la bactérie insensible à un antibiotique ou à un groupe d'antibiotique. Ce nouveau gène peut être obtenu soit par mutation au niveau du chromosome qui est un phénomène rare soit par transfert d'ADN de plasmide conjugatif (transfert de l'information génétique à d'autres bactéries par conjugaison, transduction ou transformation) ou transposons (intégration de fragments d'ADN « sauteurs» soit dans le chromosome soit dans les plasmides d'autres bactéries)(19).

4. Diagnostique

4.1. Diagnostique clinique

L'examen clinique comprend l'interrogatoire (antécédents, symptômes...) du patient et son examen physique. Il s'agit de rechercher la présence de signes cliniques de l'IU et d'éventuels facteurs de complication. Cet examen est important pour l'orientation de la prise en charge du diagnostique. Si des signes cliniques de l'IU sont retrouvés au cours de cet examen clinique, des examens complémentaires sont nécessaires pour pouvoir confirmer le diagnostic d'IU et le préciser.

4.2. Diagnostique microbiologique

En présence de signes cliniques évoquant une infection urinaire, deux examens biologiques sont pratiqués:

- Test de bandelette urinaire (BU).
- Test cyto bactériologique des Urines (ECBU).

4.2.1. Bandelettes urinaires

La bandelette urinaire (BU) est un test simple, rapide (1 à 2 minutes) et pratique. Il permet de détecter une éventuelle leucocyturie, notamment la présence de leucocytes et de nitrites dans les urines. La présence d'une leucocyturie à un taux supérieur à 10^4 leucocytes/ml (seuil de sensibilité des bandelettes) témoigne d'une inflammation (7).

Son utilisation a un fort impact sur l'économie hospitalière en permettant, ainsi, de réduire le tiers des ECBU réalisés. Cependant, une bandelette urinaire positive ne confirme pas une infection urinaire. Ainsi, afin d'affirmer le diagnostic, il est nécessaire de réaliser un examen cyto bactériologique (27).

4.2.2. Examen cyto bactériologique

L'ECBU est l'examen de biologie médicale le plus utilisé pour détecter une infection urinaire en déterminant notamment la numération des hématies, des leucocytes, des bactéries et la présence ou non de cristaux et de germes dans l'urine (8).

Ce test permet aussi l'identification des bactéries en cause, et leur sensibilité aux antibiotiques (8).

4.2.3. Antibiogramme

L'antibiogramme est une analyse bactériologique du laboratoire qui permet d'apprécier in vitro la sensibilité ou la résistance de l'agent infectieux à plusieurs antibiotiques. Le procédé consiste à tester l'efficacité de divers antibiotiques sur les colonies obtenues. Il existe de nombreuses méthodes pour réaliser un antibiogramme dont les plus répandus sont : la méthode par diffusion en milieu gélosé et diffusion en milieu liquide (le plus souvent automatisée) (28).

Matériel

Et

Méthodes

2. Etude prospective

Cette étude est menée sur une période d'un mois et demi de 06 avril au 31 mai 2015. Notre étude a porté sur les adultes et les enfants des deux sexes hospitalisés présentant des symptômes d'une infection urinaire et dont l'examen cyto bactériologique des urines (ECBU) a été demandé.

1.1. Prélèvement

Le prélèvement des urines est effectué avec beaucoup de soin car il conditionne la qualité de l'analyse et de son résultat.

Les urines sont recueillies de préférence le matin ou après avoir séjourné au moins 3 heures dans la vessie. Après une toilette soignée au savon du périnée, le premier jet de la miction est éliminé, puis le patient recueille ses urines du milieu du jet (20 à 30 ml) dans un flacon stérile de 40 ml. Le flacon est identifié et immédiatement acheminé au laboratoire. Lorsque tous les prélèvements ne pouvaient être analysés immédiatement, ils étaient conservés à 4°C au réfrigérateur pendant 4-6 heures au maximum.

➤ Cas particuliers:

- ✓ **Porteur de sonde:** Le prélèvement se fait par ponction directe dans la sonde après désinfection (15).
- ✓ **Nourrisson :** Chez le petit enfant on doit utiliser un collecteur stérile spécifique. Ce dispositif à usage unique adapté à l'anatomie est posé après désinfection locale puis maintenu en place pendant moins d'une heure.

Nous avons effectué un échantillonnage en fonction de l'arrivée des échantillons d'urine au Laboratoire. Ainsi, un ensemble de 1272 échantillons d'urines a été choisi.

1.2. Examen cytobactériologique des urines (ECBU)

1.2.1. Etude cytologique

➤ Analyse de l'aspect quantitatif

L'analyse cytologique des urines est réalisée par une méthode manuelle microscopique. L'**UF-1000i Sysmex** est l'automate destiné à l'analyse de l'ECBU. Il effectue la numération des globules rouges, des globules blancs, des bactéries, des cylindres et des cellules épithéliales. Il permet également d'effectuer des alarmes quantitatives pour les cristaux, les levures, les spermatozoïdes, les cylindres pathologiques, les petites cellules rondes ainsi que le mucus.

Cette machine mélange, aspire, dilue, analyse et identifie les différentes particules dans les échantillons d'urines par la combinaison de deux principes: **Coulter** (détection volumétrique) et la **cytométrie en flux** (détection optique); elle permet aussi l'affichage des résultats sur ordinateur. L'automatisation de l'appareil permet de standardiser cet examen (11).

Interprétation :

Tableau 2 : Interprétation de l'ECBU.

Bactérie/ml	Leucocyturie	
	Non significative <10 ⁴ /ml	Significative >10 ⁴ /ml
Absence de bactérie	Absence d'infection urinaire.	-Traitement antibiotiques en cours. -Tuberculose urinaire. -Prélèvement défectueux.
10 ² <bactériurie<10 ⁴ Monomicrobien	Contamination ou infection débutante.	-Infection traitée par antibiotiques ou par diurèse abondante. -Infection urinaire débutante -Prostatite, urétrite. -Infection sur sonde.
>10 ⁵ Monomicrobien	-Prélèvement défectueux -Infection débutante -Infection sur terrain particulier.	-Infection urinaire.
10 ² <bactériurie<10 ⁴ Polymicrobien	Souillure probable	-Souillure ou infection sur sonde.
>10 ⁵ Polymicrobien	Souillure ou infection urinaire	-Probable si anomalies urologiques -Contamination possible.

➤ **Analyse de l'aspect qualitatif**

Après avoir récupéré l'urine, celle-ci est centrifugée pendant 5min à vitesse moyenne (4500 tr/min). Un frottis bactérien est réalisé à partir du culot obtenu, puis séché, fixé et coloré à l'aide d'une coloration de Gram.

Interprétation :

L'observation du frottis coloré au microscope optique à l'objectif $\times 100$ nous a permis de déterminer :

- Type de bactérie (gram positif ou négatif).
- Forme de la bactérie (bacille ou cocci).
- Morphologie du germe (en grappe, en amas, en chaînette ...).

Les bactéries qui apparaîtront en violet sont des bactéries à Gram positif, alors que celles qui apparaîtront en roses sont à Gram négatif. Aussi, le résultat de l'examen direct nous oriente vers le choix des milieux de culture selon la morphologie et l'affinité tinctoriale des microorganismes trouvés.

1.2.2. Etude bactériologique**1.2.2.1. Mise en culture**

L'isolement a été pratiqué sur différents milieux notamment :

- ✓ Milieu CLED : Milieu non sélectif, différentiel très utilisé dans l'étude des bactéries (Gram+ et Gram-) contenues dans l'urine.
- ✓ Milieu Mueller-Hinton: le milieu Mueller-Hinton est une gélose riche pour la réalisation de l'antibiogramme.

La culture sur ces deux milieux donne des colonies assez caractéristiques pour orienter le diagnostique. Ainsi, l'isolement est pratiqué à partir de l'urine entière (27). L'ensemencement de ces différents milieux est réalisé par la méthode d'épuisement (figure 1):

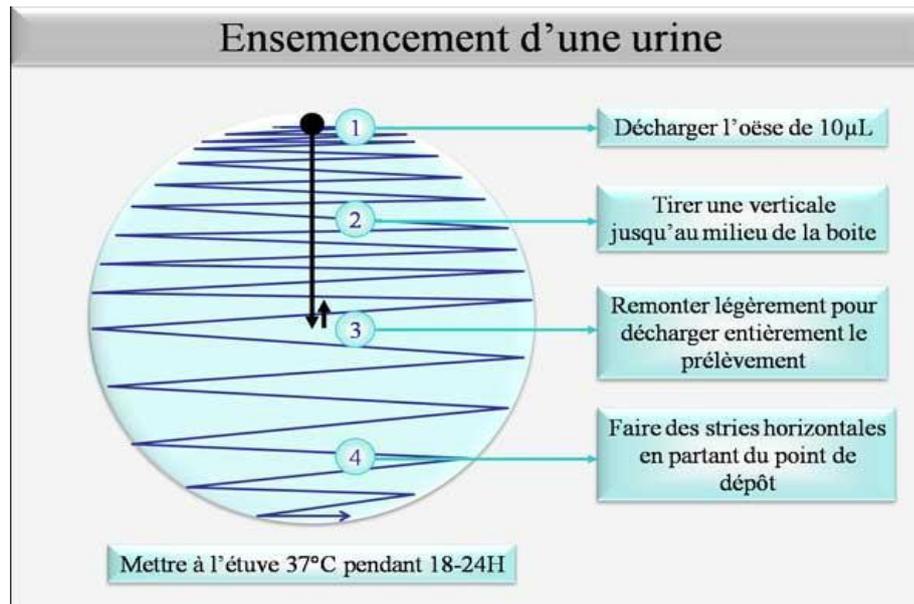


Figure 2 : schéma de technique d'ensemencement.

L'incubation des boîtes ensemencées se fait à 37°C pendant 24h.

1.2.2.2. Dénombrement des microorganismes

La numération bactérienne sur les milieux gélosés se fait après l'incubation à 37°C. Ainsi une estimation de la numération bactérienne est établie selon la figure 2 :

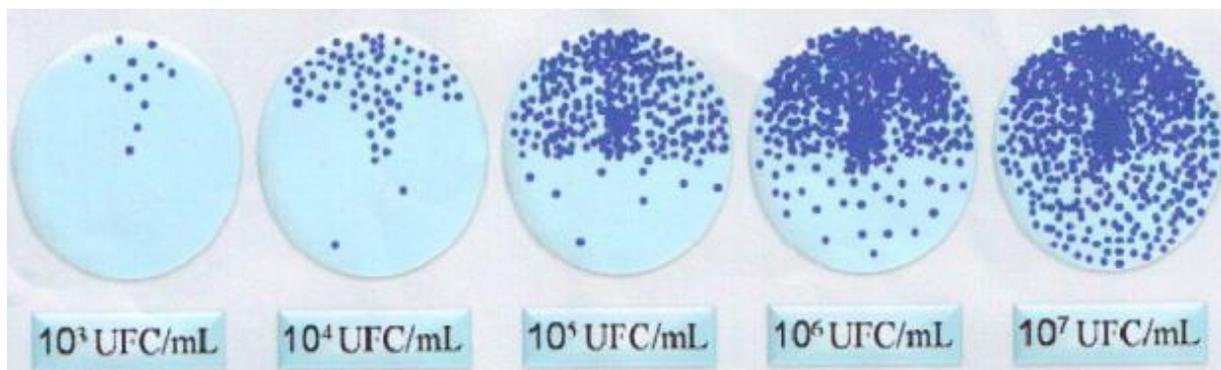


Figure 3 : Dénombrement des microorganismes urinaires.

Interprétation :

- ✓ Bactériurie < 10³ CFU / ml : absence d'infection.
- ✓ Bactériurie > 10⁵ CFU / ml : infection probable.
- ✓ Entre 10³ et 10⁴ CFU / ml : zone d'incertitude.

1.2.2.3. Identification bactérienne

✓ Identification macroscopique des colonies

L'étude de la morphologie bactérienne est le premier acte de diagnostique effectué pour identifier des souches isolées. Pour cela nous avons procédé à l'observation macroscopique des colonies en déterminant l'aspect, la forme, la couleur, ...etc.

Tableau 3 : Identification morphologiques des microorganismes sur CLED.

Milieu	Morphologie des colonies	Couleur	Aspect	Bactérie suspectée
CLED	Grandes colonies de 2mm de diamètre	Jaunes	Mâtes	<i>E. coli</i>
	Grandes colonies de 2 mm de diamètre.	Jaunes	Muqueuses	<i>Klebsiella</i> <i>Pneumonia</i>
	Grandes colonies de 1 à 2mm de diamètre en œil de poisson.	Brunâtres à halo bleu		<i>Pseudomonas</i> <i>Aeruginosa</i>
	Petites colonies de 1mm de diamètre.	Jaunes pâles	Mâtes	<i>Entérocooccus</i>

✓ Identification microscopique des cellules

Nous avons procédé à une coloration de Gram comme il a été décrit précédemment. Cette technique qui permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne, et d'utiliser ces propriétés pour distinguer entre les bactéries Gram + et Gram -. Toutefois, l'identification macroscopique des colonies ou microscopique des cellules n'est pas toujours suffisante, d'où la nécessité d'une identification biochimique.

✓ Identification biochimique

Une identification biochimique préliminaire a été réalisée selon la démarche suivante:

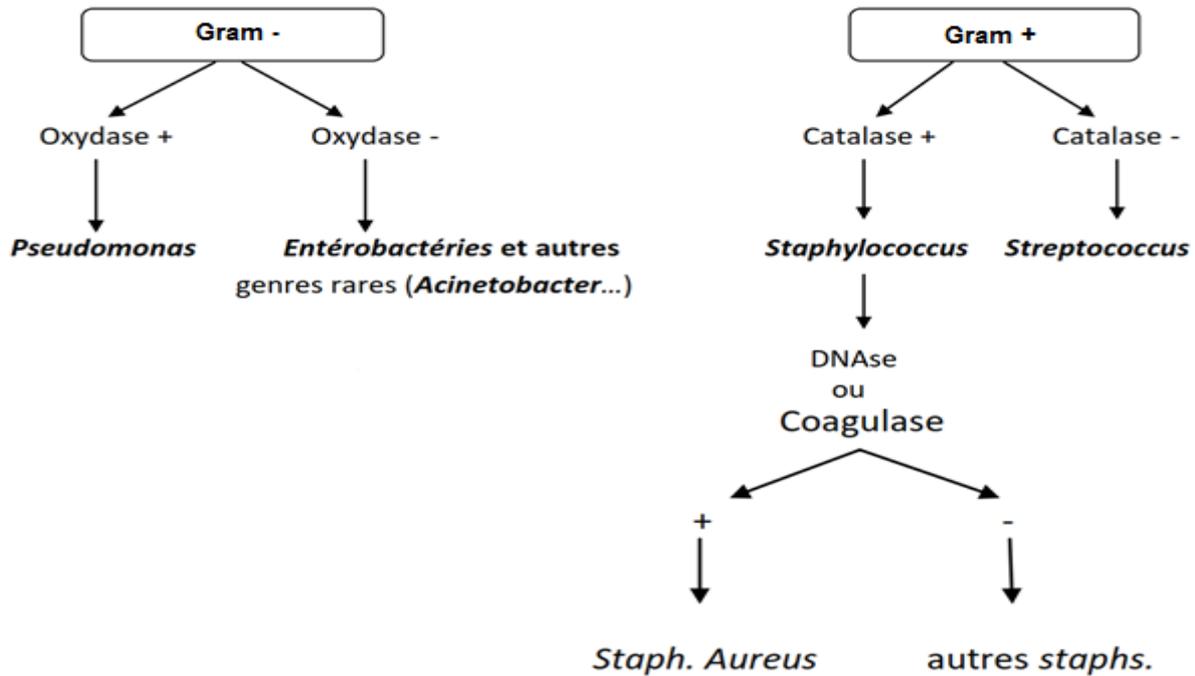


Figure 4: Schéma du déroulement d'une identification biochimique.

- **Test catalase :** Ce test est à la base de l'identification des bactéries Gram +.
 - ✚ **Technique:** A l'aide d'une pipette pasteur, une colonie est prélevée puis déposée sur une lame contenant une goutte de l' H_2O_2 . La réaction se traduit par le dégagement de gaz en bulles.

- **Test oxydase :** Ce test est à la base de l'identification des bactéries Gram -. Il permet de mettre en évidence l'enzyme phénylène-diamine-oxydase. Cette enzyme est capable d'oxyder le réactif N diméthylparaphénylène diamine contenu dans le milieu de culture (CLED).
 - ✚ **Technique:** Une colonie de germes à étudier est ainsi prélevée et écrasée avec une effilure de pipette pasteur sur un papier sous forme de disque pré-imprégné par le réactif. Le test positif se traduit par l'apparition d'une tache violette sur le disque.

- **Test DNase :** Ce test est utilisé spécialement pour l'identification de *Staphylococcus aureus*.
 - ✚ **Technique:** La mise en évidence de cette enzyme se fait par ensemencement d'une culture sur la gélose à l'ADN. Après incubation à 37°C pendant 24 heures la

dégradation de l'ADN contenu dans la gélose par cette enzyme se traduit par la formation d'un halo clair autour de la colonie.

▪ Test coagulase

Consiste à rechercher la coagulase produite en 24 h par les *Staphylocoques aureus*. Cette enzyme est capable in vitro de coaguler le plasma.

✚ **Technique:** Dans un tube à hémolyse stérile, 0,5 ml de plasma oxalaté est introduit puis additionné de 0,5 ml de la suspension bactérienne. Le mélange est incubé à 37°C. Des lectures sont effectuées pendant les cinq premières heures après le test. la coagulation du plasma implique la présence de l'enzyme Coagulase produite par *Staphylococcus aureus* (4).

1.2.3. Antibiogramme

La méthode que nous avons utilisée est la méthode par diffusion en milieu gélosé. Celle-ci consiste à déposer à la surface d'une gélose préalablementensemencée avec la bactérie à étudier des disques de papier imprégnés d'antibiotiques en respectant des règles de distance. Le tout est incubé par la suite pendant 24h à 37°C. Chaque antibiotique diffuse au sein de la gélose à partir du disque. La suspension va entrer en contact avec des concentrations variables de l'antibiotique et la croissance sera inhibée là où sera atteinte la concentration minimale d'inhibition (CMI). En cas de sensibilité du germe aux antibiotiques testés, le résultat se traduit par l'apparition de zone d'inhibition circulaire autour du disque, correspondant en une absence de culture. Les diamètres d'inhibition sont par la suite mesurés.

Les antibiotiques ont été testés à différentes concentrations selon une liste des distributeurs disponible au laboratoire. Chaque distributeur est spécifique pour une souche donnée.

Résultats Et Discussion

Dans le but de mesurer la fréquence de l'infection urinaire chez les patients hospitalisés, de déterminer les microorganismes en cause, 230 échantillons sont analysés durant une période d'un mois et demi de stage au sein du laboratoire de microbiologie CHU.

1. Répartition épidémiologique de l'infection urinaire

1.1. Fréquence des infections urinaires

Un premier examen, dit examen direct nous a permis de révéler la présence de bactéries (bactériurie >), de quantifier la leucocyturie et par conséquent, le taux de positivité des échantillons analysés. Les résultats sont présentés dans le tableau 5 :

Tableau 5 : Fréquences des Infections Urinaires.

ECBU étudiés	Effectifs	Pourcentages (%)
Cas positifs	230	18.08
Cas négatifs	1042	81.92
Total	1272	100

D'après les résultats présentés dans le tableau 5 et 6, nous pouvons constater que parmi les 1272 ECBU effectués 230 des cas sont révélés positifs et 1042 sont révélés négatifs.

1.2. Répartition des infections urinaires selon le sexe

La prévalence de l'infection urinaire selon le sexe est également déterminée. Les résultats de la répartition sont présentés dans le tableau 6 :

Tableau 6 : Répartition de l'IU selon le sexe.

Sexe	Effectifs	Pourcentages(%)
Féminin	140	64.34
Masculin	82	35.66
Totale	230	100

D'après ces résultats obtenus, on remarque que les femmes sont les plus touchées par l'IU en présentant un pourcentage de 64%, alors que les hommes touchés par l'IU n'ont représenté que

35,66%. Les résultats de cette étude rejoignent et confirment ceux donnés par l'étude 2014 (figure 5).

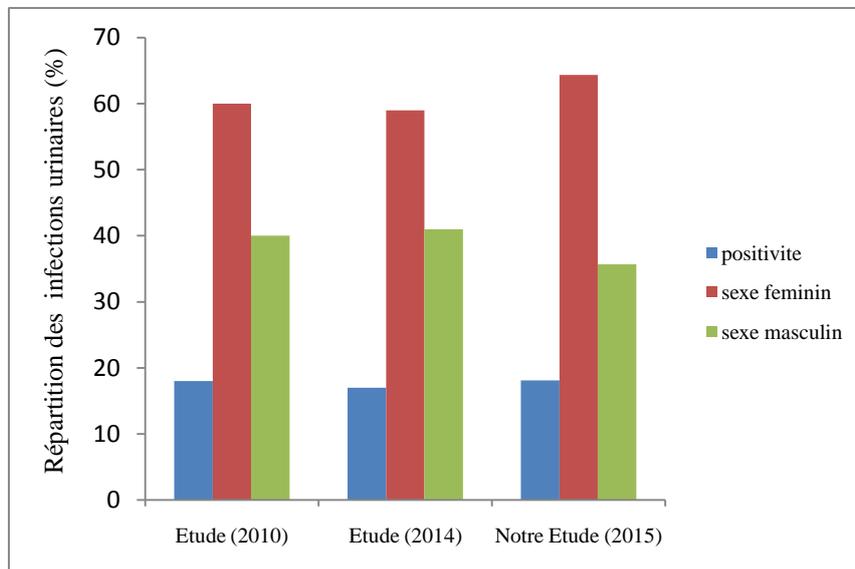


Figure 5 : Répartition des infections urinaires selon la positivité, l'âge et le sexe.

D'après la comparaison signalée sur la figure 5 on note que:

- La fréquence de positivité des infections urinaires ne dépasse pas les 18% des ECBU prescrits.
- Les infections urinaires sont toujours plus fréquentes chez les femmes par rapport aux hommes.

Au sein de cette comparaison globale des petites différences de pourcentage existent. En effet, la fréquence des sujets de sexe féminin a augmenté de 5% par rapport à 2014, alors que celle des sujets de sexe masculin a baissé de 5% (figure 5). Cette petite différence peut être due à l'âge des femmes hospitalier.

La prédominance de l'IU au niveau du sexe féminin peut être expliquée par la proximité du tube digestif terminal et de l'appareil urogénital associé à un urètre court. En outre, le vagin possède une flore commensale qui peut être pathogène pour le tractus urinaire. Plusieurs autres facteurs peuvent aussi être impliqués :

- Les rapports sexuels ; favorisant l'entrée dans l'uretère et dans la vessie des germes normalement présents au niveau du vagin.

- La grossesse : La compression par l'utérus entraîne une dilatation voir une certaine obstruction des urètres.
- L'orifice vaginal de la femme est proche de l'orifice urétral
- Certaines habitudes d'hygiène (douche vaginale) qui permettent de déséquilibrer la flore bactérienne habituelle du vagin.

L'atteinte urinaire pourrait être donc favorisée par la mauvaise hygiène du siège lors de l'émission des selles.

2. Répartition des microorganismes responsables des infections urinaires

2.1. Répartition en fonction des caractères morphologiques

L'examen du frottis réalisé à partir du culot de centrifugation et coloré au Gram peut conforter les données précédentes. Il permet d'observer les éventuels micro-organismes présents. Ainsi, il nous a permis de répartir les germes en deux groupes. Les résultats sont présentés dans le tableau 8.

Tableau 8 : Répartition des microorganismes en fonction des caractères morphologiques des cellules.

Caractères morphologiques	Effectifs	Pourcentages(%)
Bacilles à Gram négative	213	92.84
Cocci à Gram positif	17	7.84
Total	230	100

D'après ces résultats on remarque que les bacilles à Gram négatif étaient majoritaires en représentant 92.84% de l'ensemble des germes isolés. Tandis que le groupe des cocci à Gram positif n'a représentait que 7.84%. Des résultats similaire on été obtenus par Vorkauer (26) qui a trouvé 88,6% des bacilles gram négatif, alors que les cocci gram positif représente juste 11,4%.

En accord avec ces auteurs les bacilles à Gram négatif sont également des germes commensaux du tube digestif. L'atteinte urinaire pourrait être donc favorisée par la mauvaise hygiène du siège lors de l'émission des selles.

2.2. Fréquence des microorganismes identifiés

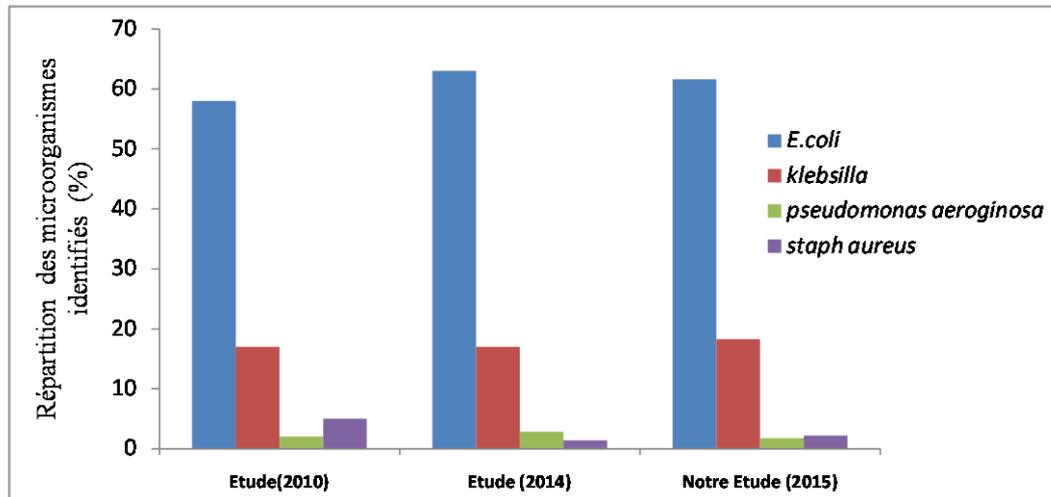
Après la mise en culture, les différents isolats ont été identifiés et leur répartition est présentée dans le tableau 9.

Tableau 9 : Répartition des microorganismes identifiés selon leurs fréquences.

Germes	Effectifs	Pourcentages (%)
<i>Escherechia coli</i>	144	62.61
<i>Acinitobacter boumanii</i>	3	1.3
<i>Candida albicanis</i>	8	3.48
<i>Citrobacter freundii</i>	3	1.3
<i>Enterobacter cloacae</i>	4	1.74
<i>Enterococcus faecalis</i>	8	3.48
<i>Enterococcus faecium</i>	5	2.18
<i>Klebsiella sp.</i>	42	18.26
<i>Morganelle morgani</i>	1	0.43
<i>Proteus mirabilis</i>	2	0.86
<i>Pseudomonas aeroginosa</i>	4	1.75
<i>Serratia sp.</i>	1	0.43
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	2.18
Total	230	100

D'après les résultats présentés dans ce tableau, on constate que les entérobactéries représentaient 81,73% de l'ensemble des bactéries identifiées dans notre étude. Des résultats similaires ont été trouvés par Adonis-Koffi et al (22). Ces auteurs ont montrés la présence des entérobactéries avec un pourcentage de 89,48. Binda et al (23) ont également rapporté la prédominance des entérobactéries (88,3%).

Parmi les entérobactéries isolés au cours de cette étude, *Escherichia coli* venait en tête avec 62,61%, suivie par *Klebsiella sp* 18,26% et enfin *Proteus mirabilis* 0,86%.



Des résultats similaires ont été également obtenus par d'autres études réalisées par des étudiants de licence au sein du même service (15) (figure 6).

Figure 6 : Répartition des microorganismes identifiés selon différentes études.

D'après la figure 6 et en comparaison avec d'autres études, on remarque que la répartition des microorganismes reste la même ; avec une prédominance du germe *E. coli*, suivie de *Klebsiella*.

Toutefois, le pourcentage des infections urinaires causées par *S. aureus* qui viennent en troisième lieu ne représente que 2.18%. Ce pourcentage a baissé de 2.82% par rapport 2010.

Ces résultats montrent le rôle important de ces 3 genres bactériens dans l'étiologie de l'IU et confirment les données de la littérature (24).

E.coli est de loin le germe le plus fréquemment isolé. Ceci peut être en rapport avec la physiopathologie de l'IU. En effet, les entérobactéries d'origine digestive, et en particulier *E. coli* présentent une forte colonisation du périnée grâce aux adhésines qu'ils possèdent. Ces dernières permettent à la bactérie de se lier à l'épithélium urinaire et d'empêcher son élimination par les vidanges vésicales favorisant ainsi sa colonisation.

3. Profil de sensibilité des microorganismes identifiés

Tableau 10 : Le profil de sensibilité aux antibiotiques des différentes souches identifiés (étude prospective).

<i>Antibiotiques Testés</i>	<i>E. coli</i>		<i>Klebsielle sp.</i>		<i>Proteus sp.</i>		<i>E. cloacae</i>		<i>P. aeruginosa</i>		<i>S. aureus</i>	
	R (%)	S (%)	R (%)	S (%)	R (%)	S (%)	R (%)	S (%)	R (%)	S (%)	R (%)	S (%)
AMP	39,60	60,4	50	50	0	100	100	0	-	-	-	-
AMC	66	34	93	7	0	100	100	0	-	-	-	-
AML	66	34	93	7	0	100	100	0	-	-	-	-
C3G	10,42	89,58	26	74	0	100	75	25	-	-	-	-
KF	31,25	68,75	36	64	0	100	100	0	-	-	-	-
IMP	0,7	99,3	0	100	0	100	0	100	0	100	-	-
AK	32,8	97,2	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
ETP	1,4	98,6	0	100	0	100	0	100	-	-	-	-
GN	7	93	19	81	0	100	50	50	0	100	25	75
CIP	33,33	66,67	26	74	0	100	50	50	0	100	25	75
NOR	33,33	66,67	26	74	0	100	50	50	0	100	25	75
CT	0,7	99,3	0	100	100	0	0	100	0	100	0	100
SXT	32	68	36	64	0	100	50	50	100	0	0	100
TE	7	93	14	86	0	100	50	50	-	-	25	75
NA	7	93	14	86	0	100	50	50	-	-	-	-
ATM	-	-	-	-	-	-	-	-	25	75	-	-
NOV	-	-	-	-	-	-	-	-	0	100	-	-
TIC	-	-	-	-	-	-	-	-	25	75	-	-

<i>Antibiotiques Testés</i>	<i>E. coli</i>		<i>Klebsielle sp.</i>		<i>Proteus sp.</i>		<i>E. cloacae</i>		<i>P. aeruginosa</i>		<i>S. aureus</i>	
	R (%)	S (%)	R (%)	S (%)	R (%)	S (%)	R (%)	S (%)	R (%)	S (%)	R (%)	S (%)
LEV	-	-	-	-	-	-	-	-	0	100	-	-
PIP	-	-	-	-	-	-	-	-	0	100	-	-
TZP	-	-	-	-	-	-	-	-	25	75	-	-
TIM	-	-	-	-	-	-	-	-	25	75	-	-
PRL	-	-	-	-	-	-	-	-	25	75	-	-
P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	80	20
ETP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	25	75
FOX	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	100
OX	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	25	75
VA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	100
TEIC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	100
E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	100
FD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	25	75
MY	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	25	75

Resistance : R

Sensibilité : S

Les résultats de l'antibiogramme réalisé sur l'ensemble des souches bactériennes isolées ont permis d'établir le profil de sensibilité des germes. Ils soulignent à nouveau le problème de la résistance bactérienne aux antibiotiques qui est de plus en plus croissante en particulier pour les amino-pénicillines et les sulfamides.

En effet, la plupart des souches d'entérobactéries testées étaient très sensibles aux quinolones, aux aminosides, aux nitrofuranes et aux céphalosporines de troisième génération (C3G). Une bonne sensibilité des microorganismes a été également notée à la ciprofloxacine, la ceftriaxone, la gentamicine, l'acide nalidixique et à l'imépénème. Toutefois, une résistance très élevée a été marquée dans le cas des Pénicillines, l'amoxicilline et le corticazole.

L'utilisation irrationnelle de ces antibiotiques est la conséquence de cette observation, par ailleurs, ces antibiotiques ne devraient pas être prescrits en l'absence d'antibiogramme.

En effet, l'émergence de nouvelles souches résistantes pourrait être liée à l'utilisation large et excessive des antibiotiques suite à l'automédication et aussi aux traitements mal conduits (doses insuffisantes et traitements de courtes durées). Cette résistance résulte d'une modification du capital génétique permettant à la bactérie de tolérer une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce.

La résistance aux pénicillines pourrait également être expliquée par la production de l'enzyme pénicillinase (β -lactamase) sécrétée par certains genres bactériens (dont principalement *E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*). Cette enzyme hydrolyse les pénicillines A, détruisant ainsi l'activité de cet antibiotique.

Conclusion

Les infections urinaires constituent un véritable problème de santé publique tant par leur fréquence que par leur difficulté de traitement. Leur surveillance est devenue, au cours de ces dernières décennies, un élément essentiel de tout programme de lutte contre ces infections.

Ce présent travail avait pour objectif d'étudier in vitro le niveau de déterminer la prévalence des microorganismes impliqués dans les infections urinaires et d'étudier leur sensibilité vis-à-vis de plusieurs antibiotiques. Il s'agit d'une étude prospective réalisée du 06 Avril 2015 au 31 Mai 2015 au laboratoire de microbiologie CHU. Cette dernière a été portée sur 1272 échantillons urinaires.

L'identification de la cause et la sévérité de l'infection ont été établies au moyen d'un examen cytot bactériologique incluant des analyses biochimiques et des cultures urinaires. Ainsi, Sur les 1272 échantillons urinaires analysés, 230 (soit 82%) répondaient aux critères d'infection urinaire. Toutes les tranches d'âges ont été touchées par cette infection avec une prédominance du sexe féminin (64.34%).

Au cours de cette étude et en comparaison avec une étude qui a été effectuée en 2014 nous avons remarqué que l'éthologie bactérienne n'a pas beaucoup changée. Les résultats obtenus ont montrés que les germes les plus observés étaient des entérobactéries (92.84%) avec une prédominance marquée d'*E. Coli* (62.61%).

Les résultats de l'antibiogramme réalisé sur l'ensemble des souches bactériennes isolées ont permis d'établir le profil de sensibilité de ces germes à plusieurs antibiotiques. Ils soulignent à nouveau le problème de la résistance bactérienne aux antibiotiques qui est de plus en plus croissante en particulier pour les amino-pénicillines et les sulfamides.

Nous avons noté une forte résistance des germes au cotrimoxazole et à l'amoxicilline. Toutefois, les Antibiotiques suivants ont montré une bonne efficacité et peuvent donc être recommandés: Amoxicilline + Acide clavulanique, Ciprofloxacine, Ceftriaxone, Gentamicine, Nitrofurantoïne et Acide Nalidixique.

Les résultats obtenus pendant cette étude, montrent l'intérêt de la surveillance afin de définir de nouvelles stratégies thérapeutiques pour ralentir l'émergence de ces résistances. En revanche ces résultats, étaient insuffisants et nécessitent d'être complétés par d'autres études ciblant plus particulièrement les bacilles multirésistants.

Références bibliographiques

- 1) ACAR, J. et al, (1995), Décision en maladies infectieuses.
- 2) Murray P. D, Gimenez F ; (2008), Généralités sur les antibiotiques, p. 907.
- 3) Pélissier-Simard L. (2006), Révision médicale, M.D, M.Sc. épidémiologie, Université de Sherbrooke.
- 4) Bruyère F, Cariou G, et al. Prog Urol. Mar (2008); 18 Suppl 1:14-8. Review. French. Pyélonéphrites aiguës.
- 5) Teixeira, L. M., Carvalho, Maria da Gloria Siqueira, & Facklam, R. R. (2007). Enterococcus. In P. R. Murray (Ed.), Manual of Clinical Microbiology (9th ed., pp. 430-442). Washington D.C.: ASM.
- 6) Nannin, E. C., et Murray, B. E. (2006), Enterococcus spp. In: S. H. Gillespie, & P. M. Hawkey (Eds.), Principles and Practice of Clinical Bacteriology (2nd ed., pp. 59-71). West Sussex UK: John Wiley & Sons, Ltd.
- 7) Mans S., S. Canouet, 27 mars (2008), « Pseudomonas aeruginosa : Une histoire d'eau » Centre de coordination de la lutte contre les infections nosocomiales du Sud-Ouest.
- 8) S. Bonacorsi (2011) : Bactériologie Médicale (2Eds), Pages 179-187.
- 9) M.L. Wilson, L. Gaido Laboratory diagnosis of urinary tract infections in adult patients.
- 10) Catherine Dupeyron, (juin 1999) Développement et Santé, n°141,.
- 11) Dewulf Get al, (25 Nov 2009) Evaluation of the performances of the iQ200 ELITE automated urine microscopy analyser and comparison with manual microscopy method Laboratoire de microbiologie, centre hospitalier de Valenciennes BP 479, 59322 Valenciennes, France
- 12) Guinoiseau E. et al, 2011.
- 13) Communiqué Spectra n° 160 (Juin/ Juillet 2007) - Fluro-cytomètre en flux pour l'analyse de l'ECBU.
- 14) Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé. Recommandations de bonne pratique (2008) : Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires chez l'adulte.
- 15) El mourabit.S 2010: Projet de fin d'études ; les Infections urinaires (ECBU).
- 16) Hannedouche T. (2000).Infection Urinaires. Nephrohus online.

- 17) Colasson F, Darracq Paries JC et al. 1981, Les risques fœtaux et maternels dans l'infection urinaire gravidique. Rev Fr. Gynécol. Obstétr, 76 :269-78.
- 18) Eureka sante, 2014
- 19) D.yala, A.S.merad, D.Mohamadi(2001) ; médecine du maghreb.
- 20) Schorderet M. et coll. Pharmacologie. Des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques. 2^e édition, Genève : Slatkine, 1992 :671-757.
- 21) Salomon R. Infections urinaires chez l'enfant. J. Pédiatr. Puériculture 2001; 14: 6-12.
- 22) Soula GH, Pichard E, Soula GG, Kodio A.Etude bactériologique des infections urinaires à Bamako : orientation pratique. Méd. d'Afr. Noire 1990 ; 37(5) : 243-9.
- 23) Adonis-Koffi L, Kouakoussui A, Aké-Assi MH, Assé-Kouadio V, Timité-Konan AM. Etude clinique et microbiologique de l'infection urinaire chez l'enfant en milieu hospitalier au C.H.U de Yopougon à Abidjan. Méd d'Afr Noire 2003 ; 50 : 336340.
- 24) Binda K, Muaka P, Kanda T, NgiyuluMakuala R, Mbensa Massabi L. Etude clinique de l'infection des voies urinaireschez l'enfant en milieu hospitalier tropical. Méd d'Afr Noire 1990 ; 37: 19-24.
- 25) Moulin F, Quintart A, Sauvestre C et all. Infections urinaires nosocomiales : étude rétrospective dans un hôpital pédiatrique. Arch Pédiatr 1998 ; 5(suppl 3) : 273-8.
- 26) Vorkauffer S, Les infections urinaires communautaires bactériennes de l'adulte : Prise en charge diagnostique et thérapeutique, 2011.
- 27) Ameziane.A: Projet de fin d'études n° 466 : ECBU et étude statistique de la distribution des germes et leur sensibilité aux antibiotiques au CHU Hassan II de Fès (2004).
- 28) Squali.Z, 2007, Examen cyto bactériologique des urines (ECBU) ; pages : 21,22.
- 29) Kara Terki et al, Infection urinaire nosocomiale : étude prospective dans une unité de réanimation médicale a l'ouest algérien 2012, Vol 6, N°1, p : 118-130.