



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Projet de Fin d'Etudes

Licence Sciences & Techniques
Sciences Biologiques Appliquées et Santé
(LST - SBAS)

**Profil et antibiorésistance des bactéries
uropathogènes isolées au laboratoire**

LARAQUI

Présenté par : BAKIR Hiba

Encadré par : Pr. TAZI Abdelali

Dr. LARAQUI HOUSSAÏNI Ahmed

Soutenu le : 08 juin 2017

Devant le jury composé de :

- Pr. TAZI ABDELALI
- Dr. LARAQUI HOUSSAÏNI AHMED
- Pr. IRAQUI HOUSSAÏNI MOHAMED

Stage effectué au sein du laboratoire LARAQUI d'analyses médicales
Année universitaire 2016-2017

Dédicace

A mon adorable mère,

Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon adorable père,

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour toi. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

A mes très chères sœurs,

Vous avez toujours été présentes pour les bons conseils. Votre affection et votre soutien m'ont été d'un grands secours au long de ma vie professionnelle et personnelle. Veuillez trouver dans ce modeste travail ma reconnaissance pour tous vos efforts.

A ma très chère famille,

En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous. Malgré la distance, vous êtes toujours dans mon cœur. Je vous remercie pour votre hospitalité sans égal et votre affection si sincère.

Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

Sans oublier ma chère SYRIE à laquelle je dédie ce travail avec mon amour éternel et avec ma promesse de faire mon possible pour rehausser son nom sacré. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit.

Remerciements

J'adresse mes sincères remerciements au **DR. LARAQUI HOUSSAÏNI AHMED** du laboratoire LARAQUI des analyses médicales, pour m'avoir fait confiance et permis d'effectuer ce stage au sein de son laboratoire dans les meilleures conditions et envers qui je ressens un grand respect et qui par son accueil, sa disponibilité, ses paroles, ses conseils et ses critiques a guidé mes réflexions.

Je tiens à remercier tout d'abord et à témoigner ma reconnaissance à **PR. TAZI ABDELALI**, mon professeur et encadrant, non seulement pour ses encouragements, ses conseils avisés et son orientation, mais aussi pour sa générosité et la patience dont il a fait preuve malgré ses préoccupations professionnelles.

Mes sincères remerciements s'adressent également à tout le personnel du Laboratoire des analyses médicales LARAQUI : Bouchra, Aicha, Khadija pour leur accueil, amitié, gentillesse, soutien et leur précieuse assistance. Grâce à vous, une très agréable ambiance de travail régnait au laboratoire.

Je voudrais remercier aussi toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à mes recherches et à l'élaboration de ce mémoire.

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Les paramètres analysés par la bandelette urinaire.

Tableau 2 : Fréquence des infections urinaires

Tableau 3 : Répartition des germes selon le sexe.

Tableau 4 : Répartition des germes selon l'âge.

Tableau 5 : Répartition des germes en fonction des caractères morphologiques.

Tableau 6 : Répartition des germes selon l'espèce.

Tableau 7 : Résistance de l'ensemble des germes isolés à l'antibiotique

Tableau 8 : Résistance aux antibiotiques des principales bactéries uropathogènes

Liste des abréviations

<u>ECBU</u>	:	Examen cyto bactériologique des urines
<u>PV</u>	:	Prélèvement vaginal
<u>BNP</u>	:	Peptide natriurétique de type B
<u>HCG</u>	:	Hormone gonadotrophine chorionique
<u>HIV</u>	:	Virus de l'immunodéficience humaine
<u>HBS</u>	:	Sérologie de l'hépatite B
<u>Ac</u>	:	Anticorps
<u>Ag</u>	:	Antigène
<u>TPO</u>	:	Thyroperoxydase / Peroxydase thyroïdienne
<u>NFS</u>	:	Numération de la Formule Sanguine
<u>HVC</u>	:	Virus Hépatites C
<u>HBGc</u>	:	Hémoglobine glyquée
<u>VS</u>	:	Vitesse de sédimentation
<u>TP</u>	:	Le taux de prothrombine
<u>TCA</u>	:	Le temps de céphaline activé
<u>T3</u>	:	Triiodothyronine
<u>T4</u>	:	Thyroxine
<u>TSH</u>	:	Thyréostimuline
<u>FSH</u>	:	Hormone folliculo-stimulante
<u>IU</u>	:	Infection urinaire
<u>Ig A</u>	:	Immunoglobuline A
<u>BGN</u>	:	Bacilles à gram négatifs
<u>IgG</u>	:	Immunoglobuline G
<u>C1G</u>	:	Céphalosporines de la première génération
<u>C3G</u>	:	Céphalosporines de la deuxième génération
<u>CLED</u>	:	Cystine Lactose Electrolyt Deficient
<u>PCB</u>	:	Polychlorobiphényles
<u>A.C.B</u>	:	Antibody coated bacteria
<u>OMS</u>	:	Organisation Mondiale de la Santé
<u>ATB</u>	:	Antibiotique
<u>Staph.</u>	:	Staphylococcus
<u>S.Aureus</u>	:	Staphylococcus Aureus

<u>S.Sapr</u>	: Staphylococcus Saprophyticus
<u>Strepto</u>	: Streptococcus
<u>E. Coli</u>	: Escherichia coli
<u>Klebs</u>	: Klebsiella
<u>P.Aerog</u>	: Pseudomonas Aeruginosa
<u>AMX</u>	: Amoxicilline
<u>AMC</u>	: Amoxicilline + acide clavulanique
<u>KF</u>	: Céfaloine
<u>CXM</u>	: Céfuroxime
<u>CFM</u>	: Céfixime
<u>CRO</u>	: Ceftriaxone
<u>CAZ</u>	: Ceftazidime
<u>GM</u>	: Gentamycine
<u>TOB</u>	: Tobramycine
<u>AK</u>	: Amikacine
<u>CT</u>	: Colistine
<u>CIP</u>	: Ciprofloxacine
<u>SXT</u>	: Triméthoprime/sulfaméthoxazole (cotrimoxazole)
<u>P</u>	: Pénicilline G
<u>OX</u>	: Oxacilline
<u>F</u>	: Furane
<u>FOS</u>	: Fosfomycine
<u>DO</u>	: Doxycycline
<u>E</u>	: Erythromycine
<u>RF</u>	: Rifampicine
<u>AM</u>	: Ampicilline
<u>NOR</u>	: Norfloxacine
<u>TE</u>	: Tétracycline
<u>CTX</u>	: Céfotaxime
<u>NAL</u>	: Acide nalidixique
<u>FD</u>	: Acide fusidique
<u>K</u>	: Kanamycine
<u>VA</u>	: Vancomycine
<u>DGU</u>	: Dénombrement des germes urinaires
<u>CFU</u>	: Colony Forming Unit

PRESENTATION DU LIEU DE STAGE :

Mon stage a été effectué au sein du laboratoire LARAQUI des analyses médicales, établissement privé localisé à Fès, qui a ouvert sa porte en 2006. Ce laboratoire se situe dans un lieu stratégique important. Il est entouré de nombreux cabinets de médecins traitants (Cardiologue, Dermatologique, Gastro-entérologue, Gynécologue et Ophthalmologiste). Ce groupement forme avec le laboratoire un pôle médical relativement complet.

Le laboratoire LARAQUI comprend :

- Une salle d'accueil qui est la première salle où les patients se présentent avec leurs ordonnances. La secrétaire travaille avec un logiciel pour enregistrer des informations concernant les patients (Nom, Prénom, âge, Téléphone, adresse, etc...), le médecin prescripteur ainsi que les différentes analyses prescrites.
- Deux salles de prélèvements sanguins (où il ya un fauteuil de prélèvement, différents types de flacons, seringues, etc...) et une autre salle du prélèvement vaginale.
- Le bureau du Docteur LARAQUI.
- Le plateau technique qui est séparé en deux salles :
 1. Une salle de bactério-parasito-mycologie (ECBU, Antibiogramme, PV, PUS, etc...).
 2. Une grande salle de :
 - Biochimie (ionogramme, paramètres sanguins, paramètres urinaires, ...).
 - Immunologie
 - * Marqueurs cardiaques « Myoglobine, Troponine, BNP »
 - * Fertilité (BHCG, FSH, Prolactine...)
 - * Sérologie (Ag HBS, HVC, HIV...)
 - * Bilan thyroïdien (TSH, T3, T4, Ac anti TPO, AC anti TG...)
 - * Vitamines (Vitamine D, Vitamine B12...)
- Hématologie (NFS, HBGc, VS...).
- et d'Hémostase (TP, TCA, Fibrinogène...).

Sommaire

Introduction	1
Partie 1 : Etude bibliographique	2
I.Epidémiologie	3
II.Physiopathologie	3
1. Moyen de défense de l'hôte	4
2. Pouvoir pathogène de la bactérie	5
3. Facteurs favorisants	5
III. Diagnostique clinique.....	7
1. Infections urinaires basses.....	7
2. Infections urinaires hautes.....	8
3. Aspects particuliers	8
IV. Diagnostic bactériologique.	8
V. Contribution du laboratoire à la localisation de l'infection des voies urinaires.....	10
A. Tests immunologiques.....	10
1. Recherche et titrage des anticorps sériques.....	10
2. Recherche des anticorps urinaires	10
B. Dosage de la bêta2 microglobuline urinaire	11
C. Dosage de l'acide lactique urinaire	11
VI. Surveillance de l'infection des voies urinaires par le laboratoire.	11
VII. Traitement antibiotique des infections urinaires.....	11
1. Les cystites	12
a.Cystites simples de la femme	12
b.Cystites récidivantes	13
2. Pyélonéphrite aiguë.....	13
3. Infections urinaires chez la femme enceinte	13
4. Infections urinaires de l'enfant	13
5. Les prostatites	14
OBJECTIF DU TRAVAIL	15
Partie 2: Matériel et Méthodes	16
I. Prélèvement des urines	17
II.Transport des urines.....	18
III.Etude des urines	18
A. Tests rapides de dépistage par bandelettes réactives.....	18
B. Examen cyto bactériologique des urines	18
1. Examen macroscopique	18

2. Examen microscopique	19
a. Examen cytologique	19
b. Examen bactériologique	20
c. Résultats et interprétation	23
C. Antibiogramme	24
1. Méthode utilisée	24
2. Matériel et réactifs.....	24
3. Mode opératoire	24
a. Préparation de l'inoculum	24
b. Ajustement de la turbidité de l'inoculum.....	25
c. Ensemencement des boîtes	25
d. Disposition des disques d'ATB.....	25
e. Interprétation des dimensions de la zone d'inhibition.....	26
Partie 3: Résultats et Discussion	27
Résultats	28
I. Fréquence des infections urinaires	28
II.Répartition des infections urinaires	28
1. Répartition des germes isolés selon le sexe.....	28
2. Fréquence des infections urinaires chez les enfants et les adultes	28
III.Répartition des germes responsables d'infection urinaire.....	29
1. Répartition en fonction des caractères morphologiques.....	29
2. Fréquence des germes identifiés	30
IV. Résistance des bactéries uropathogènes aux antibiotiques	31
1. Résistance de l'ensemble des germes aux antibioques	31
2. Résistance aux antibiotiques des principales bactéries uropathogènes.....	33
Discussion	34
Conclusion	37
Références bibliographiques	38

INTRODUCTION

L'infection urinaire qu'elle soit communautaire ou nosocomiale reste une pathologie fréquente. Elle occupe le deuxième rang après l'infection respiratoire et constitue un problème majeur de santé publique. L'infection du tractus urinaire (ITU) regroupe un ensemble hétérogène d'infections de l'un des constituants de l'arbre urinaire ou de ses annexes. Leur point commun est la présence de bactéries dans le tractus urinaire et se distingue en cystite (infection des urines et de l'épithélium vésicaux), pyélonéphrite (bassinnet ou parenchyme rénal) et bactériurie asymptomatique (infection limitée aux urines vésicales), ainsi on distingue la prostatite.

Dans ce travail, nous avons essayé d'insister sur le rôle du laboratoire d'analyses médicales dans le diagnostic, la localisation et le traitement des infections des voies urinaires. Nous avons mené une étude sur les résultats des examens bactériologiques des urines des patients ayant demandé cet examen de 2006 à 2016 dans le laboratoire d'analyses médicales LARAQUI, pour déterminer :

- La fréquence des infections urinaires.
- La répartition des infections urinaires selon le sexe ainsi que leur répartition selon l'âge.
- La répartition des principaux germes responsables de l'infection urinaire en fonction des caractères morphologiques ainsi que leur résistance aux antibiotiques.

PREMIERE PARTIE:
Etude bibliographique

I. EPIDEMIOLOGIE

A l'échelle mondiale, la prévalence des IU est de 3 à 8 % chez les femmes alors qu'elle n'est que de 0.1 à 0.5 % chez les hommes (1). Il est établi que 20 à 30 % des femmes adultes présenteront un ou plusieurs épisodes de dysurie par an qui traduit dans la plupart des cas une IU basse.

Chez l'enfant les IU occupent le 3ème rang après les infections respiratoires et digestives. Elles représentent 5 % environ des motifs d'hospitalisation et peuvent survenir à tout âge (2). Dans 20 à 30 % des cas, l'IU de l'enfant témoigne d'une malformation de l'appareil excréteur.

Chez les personnes âgées, la prévalence de bactériurie varie entre 20 et 50 % (hommes et femmes) (3).

Les bactéries responsables d'infection urinaire sont dans leur grande majorité des Entérobactéries notamment *Escherichia coli* qui est responsable d'environ 90% des IU ; les *Proteus*, *Klebsiella*, *Entérobacter* et *Citrobacter* viennent ensuite. Enfin, les *Serratia* et autres Bacilles à Gram négatif (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*) se voient essentiellement dans les infections hospitalières (4).

Pour les cocci à Gram positif, le *Staphylococcus aureus* et surtout *Staphylococcus Saprophyticus* et *Staphylococcus Epidermidis* sont en nette augmentation (5 à 15 % des IU) (5). Parmi les streptocoques, les entérocoques sont le plus souvent isolés.

L'antibiorésistance de ces germes est de plus en plus croissante surtout en milieu hospitalier.

II. PHYSIOPATOLOGIE

L'urine est normalement stérile mais constitue un milieu de culture favorable à la croissance bactérienne.

La plus grande majorité des infections du tractus urinaire se fait par voie ascendante à partir de la flore commensale fécale ou périnéale. En effet, en présence de facteurs favorisants, la bactérie gagne le méat urétral et remonte le long de l'urètre pour coloniser la vessie et être à l'origine d'une cystite ; ensuite, l'infection peut progresser vers l'uretère et le parenchyme rénale engendrant ainsi une pyélonéphrite. La voie hématogène de pénétration des germes dans les urines est rare et ne concerne que les *Staphylocoques*, *Salmonella* et

Candida. Ces infections se rencontrent plus volontiers au cours des maladies chroniques ou chez les sujets immunodéprimés (3,6).

La présence des germes dans les urines, leur persistance et leur multiplication ou leur élimination dépend de la résultante de plusieurs facteurs à savoir : Le pouvoir pathogène de la bactérie en question, l'état des moyens de défense de l'hôte et la présence ou non de facteurs favorisants (3,6)

1. Les moyens de défense de l'hôte

Les protections naturelles inhibent la croissance des germes, empêchent leur fixation sur la muqueuse vésicale, assurent l'élimination des germes résiduelles et permettent le retour habituel à la stérilité.

Les principaux moyens de défense de l'hôte contre l'infection urinaire sont :

- Le flux permanent de l'urine urétral ;
- La vidange régulière et complète de la vessie (4 à 5 fois /jour) ;
- L'intégralité et l'imperméabilité de la muqueuse recouvrant les cavités urinaires;
- La sécrétion de la protéine de Tamm-Horsfall (recouvrent l'épithélium vésical) par l'anse de Henlé, qui inhibent l'adhérence bactérienne;
- Le pH urinaire acide qui limite la multiplication bactérienne ;
- Rôle bactériostatique des sécrétions vaginales chez la femme et prostatiques chez l'homme ;
- La production locale d'Ig A sécrétoire, les IgA réduisent l'adhérence bactérienne aux cellules vaginales et urothéliales in vitro ;
- D'autre part, la présence de germes dans le tractus urinaire engendre une réaction inflammatoire qui semble d'une importance pour la défense contre l'infection.

2. Pouvoir pathogène de la bactérie

La virulence du germe est liée au pouvoir de multiplication et aux facteurs d'uropathogénéité :

- L'adhésion spécifique des bactéries aux cellules urothéliales : par des structures protéiques membranaires, les adhésions sous forme de pili ou fimbriae, les bactéries se

lient aux récepteurs spécifiques sur l'urothélium. Cette adhésion permet une nouvelle résistance des bactéries à toute défense naturelle de l'organisme telle que l'élimination par le fléau des urines lors de la vidange vésicale. Pour les colibacilles, il existe deux classes de pili : les pili mannose sensibles qui s'attachent sur la protéine de Tamm-Horsfall, et les pili mannose résistantes permettant l'adhérence des bactéries à l'épithélium uro-génital. Les récepteurs accrochant la bactérie porteuse de fimbriae P ont une structure antigénique voisine du groupe sanguin du système P. Les sujets porteurs du groupe P ont une densité cellulaire des récepteurs plus importante et sont donc plus susceptibles à faire des infections urinaires basses.

- La production d'hémolysine et d'aérobactine.
- Les antigènes somatiques (Ag O) ou capsulaire (Ag K) qui sont des constituants de la membrane polysaccharidique externe des bacilles à gram négatif (BGN), normalement les bactéries sont tuées par l'activité lytique du système du complément contenu dans le sérum humain mais ces antigènes les protègent contre la phagocytose et l'attaque du complément.

3. Facteurs favorisants

a) **Sexe et âge**

L'infection des voies urinaires est au moins cinq fois plus fréquente chez la femme que chez l'homme.

Dans les premiers mois de vie, l'infection urinaire est fréquente (30 % chez les nourrissons) avec prédominance masculine du fait de la fréquence des uropathies malformatives, notamment du reflux vésicaux-urétéral, chez les garçons.

Dès l'âge préscolaire et scolaire, s'établit une prépondérance féminine et la fréquence continue à augmenter chez la femme durant la vie en raison de la brièveté de l'urètre qui s'ouvre à la vulve au voisinage du vagin et de l'anus. Chez l'homme, l'incidence reste faible jusqu'à l'âge de 50 ans ; elle augmente ensuite du fait des troubles de la vidange vésicale (obstacle prostatique) ou de mictions simplement difficiles (alitement).

b) La grossesse et la ménopause

La sécrétion de quantités importantes de progestérone, au cours de la grossesse et de la ménopause, diminue le tonus des fibres musculaires lisses et particulièrement le péristaltisme urétéral. De plus, la compression des voies excrétrices et le refoulement de la vessie dans l'abdomen par l'utérus gravide expliquent la vidange incomplète lors des mictions ou le reflux vésico-urétéral.

c) Les mauvaises habitudes d'hygiène

Les douches vaginales par des antiseptiques peuvent déséquilibrer la flore habituelle du vagin.

d) Les rapports sexuels

Le frottement au niveau du méat urinaire, lors des rapports sexuels, favorise l'entrée dans l'urètre et dans la vessie des germes normalement présents au niveau du vagin.

e) Certaines pathologies

Parmi les pathologies qui favorisent l'apparition d'une infection urinaire il existe : Le diabète, la bilharziose, vessie neurogène...

f) Les déficits immunitaires

Ils facilitent plus les infections hématogènes que les infections ascendantes.

g) Les anomalies de l'appareil excréteur

Il existe des anomalies qui atteignent l'appareil excréteur et qui peuvent donner lieu à une infection urinaire comme : Lithiase, sténose urétérale, hypertrophie prostatique, reflux vésico-urétéral...

h) Le corps étranger intra vésicale et les gestes médicaux

Le corps étranger intra vésicale et les gestes médicaux peuvent favoriser l'installation d'une infection urinaire par exemple : Sondage vésicale, cathétérisation vésicale et endoscopie.

III. Diagnostic clinique

La symptomatologie clinique de l'infection des voies urinaires est très polymorphe. On distingue les infections basses et les infections hautes avec des formes cliniques très différentes selon le terrain (1, 2, 5, 6, 7, 8) :

1. Infections urinaires basses

A. La cystite aiguë

La cystite est une infection extrêmement fréquente chez la femme et elle est souvent associée à une prostatite chez l'homme. Elle se manifeste par des brûlures mictionnelles, une dysurie et une pollakiurie qui peuvent s'associer à une hématurie. La fièvre est absente ou minime.

B. La prostatite aiguë

La prostatite aiguë est une infection masculine très fréquente et souvent consécutive à une infection uréthro-vésicale à *Entérobactéries*. Son diagnostic est évoqué devant l'apparition brutale d'une fièvre à 39 à 40°C accompagnée de frissons, de douleurs pelviennes à type de brûlures mictionnelles ou dysurie pouvant aller jusqu'à la rétention aiguë d'urine. Elles s'associent à une pollakiurie et une pyurie avec une prostate oedématiée et douloureuse au toucher rectal.

2. Infections urinaires hautes : La pyélonéphrite aiguë

La pyélonéphrite aiguë est souvent précédée de signes de cystites, associés rapidement à une fièvre à 39-40°C, des frissons et des douleurs lombaires uni ou bilatérales.

3. Aspect particuliers

A. Bactériurie asymptomatique

L'infection des voies urinaires peut être totalement asymptomatique, découverte fortuitement lors d'un examen systématique des urines. Ces formes latentes s'observent chez les porteurs d'anomalies des voies uro-génitales, les diabétiques, les femmes enceintes, les sondés urinaires et les sujets âgés.

B. Infections urinaires des nouveau-nés et des nourrissons

Chez les nouveau-nés et les nourrissons, la symptomatologie clinique est dominée par les troubles digestifs, l'énurésie et le retard de croissance.

Chez le nouveau-né, le début clinique se situe en moyenne vers le 20^{ème} jour de vie. La fièvre ne s'observe que dans moins de 50 % des cas. La symptomatologie clinique est dominée par les troubles digestifs, responsable de perte pondérale, associés à un ictère franc sans hépatosplénomégalie. Il existe parfois des formes septicémiques témoignant de la contamination par voie hématogène des nouveau-nés.

Chez les nourrissons, le tableau clinique associe une fièvre élevée, des troubles digestifs responsables de retard staturo-pondéral, et un syndrome polyuro-polydipsique en cas de pyélonéphrites.

IV. Diagnostic bactériologique

L'infection urinaire est une pathologie qui reste de part son polymorphisme d'expression et la diversité des germes responsables, au premier plan des préoccupations tant en pratique de ville qu'en milieu hospitalier. Dans tous les cas l'apport du laboratoire des analyses médicales est primordial. En effet l'ECBU est nécessaire pour confirmer l'infection urinaire, déterminer la bactérie en cause, guider l'antibiothérapie et suivre l'effet du traitement.

Les indications de l'ECBU sont nombreuses ; il est notamment recommandé devant des signes cliniques évocateurs d'une IU, lors d'un bilan de fièvre et si l'on découvre une protéinurie, une hématurie, une leucocyturie ou la présence de nitrites par la technique de bandelette réactive. L'ECBU peut être également prescrit systématiquement chez la femme enceinte, les diabétiques, les sujets immunodéprimés, les sujets ayant subi des interventions chirurgicales urologiques ou ayant des anomalies anatomiques ou fonctionnelles de l'appareil urinaire ainsi que chez un sujet porteur d'une sonde urinaire.

- **L'ECBU**

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.

Ce test permet aussi l'identification des bactéries en cause, et leur sensibilité aux antibiotiques (9).

- **L'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) (10).

- **LES ANTIBIOTIQUES**

Ce sont des substances élaborées par des micro-organismes, ou des substances synthétiques, qui sont bactériostatiques ou bactéricides à dose faible. Leurs cibles d'activité sont des structures moléculaires spécifiquement bactériennes. Elles ont donc une toxicité sélective pour les cellules procaryotes et une toxicité faible pour les cellules eucaryotes.

V. Contribution du laboratoire à la localisation de l'infection des voies urinaires

Le laboratoire d'analyses médicales joue également un rôle dans le diagnostic topographique des IU. La distinction entre infection haute et infection basse est très importante pour le choix du traitement. Lorsque l'examen clinique ne permet pas de localiser l'infection avec certitude, le recours à des méthodes non invasives pourrait contribuer au diagnostic. Plusieurs tests de laboratoire ont été développés pour répondre à cette demande. Trois d'entre eux sont présentés dans ce paragraphe, en raison de leur popularité ou de leur pouvoir de discrimination (5, 8) :

A. Tests immunologiques

1. Recherche et titrage des anticorps sériques

La recherche et le titrage des anticorps sériques dirigés contre la bactérie responsable de l'IU peuvent être réalisés par des techniques d'agglutination, d'hémagglutination indirecte ou d'immunofluorescence indirecte, utilisant comme antigènes les bactéries isolées des urines du patient.

Au cours des infections aiguës : il existe chez l'enfant une relation significative entre l'apparition des anticorps et le diagnostic des pyélonéphrites aiguës, les anticorps étant absents au cours des IU basses. Cette relation est très médiocre en cas de pyélonéphrites

chroniques qu'il s'agisse d'enfants ou d'adultes, les anticorps n'étant détectés au mieux que dans la moitié des cas de pyélonéphrites.

Il est cependant possible que le développement des techniques d'immunofluorescence ou de radio-immunologie puisse améliorer la fiabilité de ces méthodes.

2. Recherche des anticorps urinaires : A.C.B test = test de Thomas

Les anticorps fixés sur les bactéries urinaires sont recherchés sur les urines fraîchement émises, contenant plus de 10^5 bactéries /ml, par immunofluorescence indirecte avec anti-IgG humaine marquée. Ce test a une sensibilité de l'ordre de 85 % et une spécificité de 93 %. Dans la description originale de Thomas, le test est considéré comme positif si plus de 25 % des bactéries fixent le sérum anti-IgG.

Dans les infections basses, il ya 7 à 18% de réponses positives. Alors que dans les atteintes parenchymateuses il y a 10 à 20 % de réponses négatives.

B. Dosage de la $\beta 2$ microglobuline urinaire

Le taux d'excrétion rénale de cette protéine étant inférieur à $370\mu\text{g}/24$ heures. En cas d'atteinte tubulaire, en particulier lors d'IU haute la réabsorption tubulaire proximale est diminuée et la concentration de la $\beta 2$ microglobuline dans l'urine augmente.

C. Dosage de l'acide lactique urinaire

Des études faites sur des enfants ont révélé une concentration urinaire élevée d'acide lactique chez les patients souffrant de pyélonéphrites.

VI. Surveillance de l'infection des voies urinaires par le laboratoire

Au cours du traitement, il faut demander un ECBU de contrôle 48 heures après le début de traitement pour vérifier la stérilisation des urines et donc l'efficacité du traitement. La stérilisation doit être rapide alors que le retour à la normale de la leucocyturie est plus lent et demande 5 à 7 jours en moyenne. Un 2ème ECBU de contrôle, une semaine après arrêt du traitement, permet de mettre en évidence une éventuelle rechute de l'infection.

Certaines femmes ont tendance à la récurrence : ces infections répétées peuvent aboutir, en absence de traitement, à une néphrite interstitielle chronique et à la longue à une insuffisance rénale d'où l'intérêt de la surveillance de ces malades.

VII. Traitement antibiotique des infections urinaires

Le traitement antibiotique est soit empirique basé sur la connaissance des données épidémiologiques ou guidé par les résultats de l'ECBU. Si dans les cas de cystite primitive de la femme jeune on peut se contenter d'un traitement probabiliste, dans d'autres cas (cystites récidivantes, pyélonéphrites, IU chez l'enfant, la femme enceinte...), l'aide du laboratoire de microbiologie est obligatoire.

Le but de l'antibiothérapie curative est d'éradiquer définitivement le germe causal de l'IU, celui de l'antibioprophylaxie est de prévenir les réinfections successives dues à des bactéries différentes (11, 12) :

1. Les cystites :

a. Cystite simple de la femme (en dehors de la grossesse) :

Dans ce cas, le praticien a le choix entre trois durées de traitement :

➤ Traitement conventionnel :

Il repose sur une antibiothérapie de 5 à 7 jours à bonne élimination urinaire et aux posologies habituelles : Cotimoxazole, Triméthoprime, Quinolones, Nitrofurantoïne, Amoxicilline+Acide Clavulanique.

➤ Traitements courts :

Ils s'adressent à la femme jeune en dehors de la grossesse, en l'absence de signes en faveur d'une pyélonéphrite, sans antécédents uronéphrologiques, sans maladies sous-jacentes (diabète, immunodépression...) et dont l'infection évolue depuis moins de 3 jours. Ce traitement fait appel à des antibiotiques d'élimination urinaire prolongée, notamment les fluoroquinolones.

➤ Traitement à dose unique :

Les antibiotiques utilisés sont les Fluoroquinolones, Fosfomycine Trométanol ou Cotrimoxazole.

➤ Traitement de 3 jours :

Ce traitement est plus efficace que le traitement par dose unique, et d'une efficacité identique au traitement prolongé tout en étant moins cher et moins souvent accompagné

d'effets secondaires. Les antibiotiques recommandés sont le Cotimoxazole ou un Fluoroquinolone.

Au 3^{ème} jour de traitement court, il faut faire un contrôle clinique et un éventuel ECBU en cas d'échec du traitement.

b. Cystites récidivantes :

Elles se définissent par la survenue d'au moins quatre épisodes infectieux par an et en l'absence de toute pathologie urologique sous-jacente.

Les modalités thérapeutiques dépendent de la fréquence des récurrences. Lorsqu'elles sont rares, on conseille un traitement « au coup par coup » de chaque cystite avec le même traitement que ci-dessus. Par contre, quand les récurrences sont fréquentes, outre les mesures d'hygiène classique (bonne diurèse, miction post coïtale, hygiène périnéale régulière, traitement des infections génitales...), une antibioprophylaxie de 6 à 12 semaines sera nécessaire. L'antibiotique doit être administré en une seule prise quotidienne le soir au coucher avec un grand verre d'eau. Les antibiotiques les plus utilisés sont : Cotrimoxazole, Nitrofurantoïne, Acide Nalidixique, Acide Pipémidique ou Norfloxacine.

Pour les cystites déclenchées par des rapports sexuels : prise post coïtale d'un antibiotique en dose unique avec un grand verre d'eau.

2. Pyélonéphrite aiguë :

Le traitement de première intention peut comporter une association de β -lactamines et un aminoside ou un Fluoroquinolone pendant 15 jours en moyenne. Ultérieurement, l'antibiothérapie sera adaptée aux résultats de l'antibiogramme.

3. Infections urinaires chez la femme enceinte :

Trois particularités caractérisent les IU chez la femme enceintes :

- Fréquence de la bactériurie asymptomatique (20,3 à 17,5 % des grossesses) dont le risque essentiel est la survenue d'une pyélonéphrite dans 20 à 40 % des cas ;
- Les risques encourus concernent aussi bien la mère que le fœtus ;

- La plupart des antibiotiques utilisés en cas d'IU sont contre-indiqués en raison de leur toxicité embryo-fœtale.

Les antibiotiques autorisés sont :

- Les Pénicillines, les Céphalosporines,
- Les Nitrofurantoines en dehors du 1^{er} trimestre et des dernières semaines de grossesse,
- Les aminosides suscitent un risque oto-toxique et ne devrait être utilisés que brièvement et seulement en cas de pyélonéphrite sévère.

Le traitement d'une cystite doit être de 7 à 10 jours. Le traitement de 1^{ère} intention des pyélonéphrites utilise une céphalosporine de 1^{er}, 2^{ème}, ou 3^{ème} génération ou une uréidopénicilline.

4. Infection urinaire de l'enfant :

A. Infection urinaire haute :

Après l'âge de 18 mois, selon la conférence du consensus de novembre 1990 deux stratégies sont possible : une monothérapie d'emblée (Amoxicilline protégée ou C3G) ou une bithérapie (Aminoside+Amoxicilline protégée ou C3G) de 3 jours relayée par une monothérapie.

Dans les formes jugées graves, la bithérapie pendant une période plus longue est préconisée. La durée totale du traitement varie de 10 à 15 jours.

B. Infection urinaire basse :

Pour les IU basses sans gravité potentielle, en l'absence d'uropathie, une monothérapie est suffisante avec une durée discutée de 5 à 7 jours.

Pour ce qui est du traitement préventif, il est prescrit en cas de cystites à répétition ou d'uropathie non opérée.

5. Prostatites :

Comme pour les pyélonéphrites, les prostatites aiguës doivent être traitées avant les résultats de l'antibiogramme. Les antibiotiques les plus efficaces sont : Céphalosporines de 3^{ème} génération, Fluoroquinolones, Aminosides.

Les macrolides et les cyclines sont indiqués dans les prostatites à Chlamydia et/ou Mycoplasmes.

La durée de traitement est de 4 semaines pour la prostatite aiguë, et de 6 à 12 semaines pour la prostatite chronique.

OBJECTIF DU TRAVAIL

Notre étude a porté sur l'analyse de 6865 prélèvements de patients ayant demandé l'ECBU dans le laboratoire d'analyses médicales LARAQUI de 2006 à 2016 pour déterminer :

- La fréquence des infections urinaires.
- La répartition des infections urinaires selon le sexe ainsi que leur répartition selon l'âge.
- La répartition des principaux germes responsables de l'infection urinaire en fonction des caractères morphologiques ainsi que leur résistance aux antibiotiques.

DEUXIEME PARTIE:
Matériel et méthodes

MATERIEL ET METHODES

Notre étude porte sur l'analyse des 6865 cas d'ECBU adressés au laboratoire des analyses médicales LARAQUI depuis 2006 jusqu'à 2016 dont laquelle nous présentons le profil de la résistance aux antibiotiques des bactéries isolées à partir des cas positifs. Les échantillons analysés sont des milieux de jet d'urines matinales et des prélèvements par collecteur chez les nouveau-nés et les nourrissons.

Après comptage cellulaire sur le culot de centrifugation des urines (leucocyturie significative à partir de 6 leucocytes / champ), le dénombrement des bactéries se fait par la méthode de la lame immergée avec ensemencement parallèle de chaque échantillon d'urine sur gélose ordinaire (CLED). Toutes les bactéries qui poussent en 18 à 24 heures à 37°C en atmosphère normale à plus de 10^5 bactéries / ml sont identifiées. La sensibilité aux antibiotiques est réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé de Mueller Hinton, et interprétée selon les recommandations du comité français de l'antibiogramme. L'ensemble des données a été analysé par le logiciel 'EASYLAB'.

I. Prélèvement des urines :

Le prélèvement des urines est un temps essentiel de l'ECBU. Il doit donc être fait avec beaucoup de soin car il conditionne la qualité de l'analyse et de son résultat. La technique de prélèvement doit tendre à éviter le plus possible la contamination de l'urine, au moment de l'émission. Le prélèvement doit être réalisé avant toute antibiothérapie et de préférence sur les urines du matin où ayant séjourné au moins 3 à 4 heures dans la vessie. Après une désinfection soignée des organes génitaux externes au savon ou à l'eau de Dakin, on recueille les urines du milieu du jet (20 à 30 ml), chez les sujets capables de maîtriser leur miction, dans un flacon stérile de 40 ml. Le flacon est identifié et immédiatement acheminé au laboratoire.

Les techniques de prélèvement varient suivant l'âge, le sexe et l'état pathologique du sujet (sondage vésicale, les porteurs de sonde à demeure, la ponction sus pubienne).

II. Transport des urines

Le flacon doit être immédiatement acheminé au laboratoire. L'urine ne doit pas séjourner plus d'une heure à température ambiante pour éviter la croissance bactérienne in vitro. En cas de nécessité le flacon sera conservé à + 4°C au réfrigérateur pendant 4 heures au maximum.

III. Etude des urines

A. Tests rapides de dépistage par bandelettes réactives

Nous avons utilisé la bandelette urinaire qui permet d'établir une étude chimique des urines, c'est à dire une analyse simple et rapide de différents paramètres urinaire :

Tableau 1: Les paramètres analysés par la bandelette urinaire.

Glucose	Sang
Corps cétoniques	Densité
Protéines	Nitrites
pH	Leucocytes
Bilirubine	Urobilinogène

La bandelette est utilisée selon le protocole suivant :

- On agite les urines (homogénéisation)
- On introduit la bandelette dans l'urine en émergeant les zones réactives et on élimine l'excès d'urine.
- Sortir la bandelette de son étui, on lit visuellement le résultat.

B. Examen cyto bactériologique des urines (ECBU)

Les urines doivent être analysées sans retard dès leur arrivée au laboratoire.

1) Examen macroscopique

Cet examen donne une idée sur 3 paramètres :

Aspect : Clair, hématique, Trouble, ictérique, purulent.

Couleur : Jaune, Ambrée, rougatre.

Présence de sédiment: blanchâtre (phosphates), rouge brique (acide urique), rosé (urate).

En effet, seul un aspect trouble (de louche à purulent) peut traduire une IU. Cependant, il peut être dû à la présence de cristaux (phosphates, urates).

2) Examen microscopique

Bien fait, il permet le diagnostic immédiat et la surveillance sous traitement. En effet, l'examen microscopique fournit rapidement au clinicien des éléments d'orientation vers une IU : présence d'une leucocyturie, associée souvent à une hématurie microscopique, et d'une bactériurie.

a) Examen cytologique

Il peut être quantitatif ou semi-quantitatif :

❖ Méthode quantitative

La leucocyturie et l'hématurie sont déterminées par dénombrement des éléments en cellule de Mallassez ou de Nageotte, sur des urines fraîchement émises homogénéisées et non centrifugées.

❖ Méthode semi-quantitative

L'examen microscopique du culot de centrifugation entre lame et lamelle permet d'apprécier grossièrement le nombre des éléments figurés (leucocytes et hématies / champ) et de noter la présence de cristaux, cylindres, cellules épithéliales, bactéries, levures et de Trichomonas.

Dans les urines claires on utilise la technique de centrifugation afin d'augmenter les chances d'études des cellules. Cette technique est réalisée comme suit:

- homogénéiser délicatement l'urine.
- verser aussitôt dans un tube rempli au 3/4.
- centrifuger 5 min à vitesse moyenne (1500 tr/min).
- rejeter le surnageant puis agiter le tube pour remettre en suspension le culot.
- déposer une goutte du culot sur une lame et recouvrir d'une lamelle puis examiner aussitôt au microscope.

b) Examen bactériologique

❖ Examen direct du culot de centrifugation

L'examen direct à l'état frais permet :

- De voir les bactéries à l'état vivant.
- Leur morphologie.
- Leur mobilité.

Après coloration de gram, la distinction entre les bactéries gram positif et négatif permet au clinicien d'orienter d'emblée son traitement et au biologiste de choisir les milieux de culture adéquats.

❖ l'uroculture

La culture des urines est à la fois quantitative et qualitative. Elle permet l'isolement, le dénombrement, l'identification et l'antibiogramme des bactéries.

▪ **Choix des milieux de culture** Isolement des bactéries

Il dépend des renseignements fournis par l'examen direct. On utilise le plus souvent une gélose lactosée non sélective (CLED) et parfois une gélose sélective (gélose au sang, milieu de Chapman ...) selon les résultats de l'examen direct.

▪ **Dénombrement des microorganismes**

La numération bactérienne sur les milieux gélosés se fait après l'incubation à 37°C. Ce dénombrement se fait soit par la méthode classique ou la méthode de la lame immergée.

• Méthode classique

- Faire une dilution de l'urine pure homogénéisée : 0.1 ml d'urine dans 9.9 ml d'eau stérile.
- Ensemencer par étalement ou râteau 100 µl de cette dilution sur un milieu non inhibiteur (milieu CLED ou PCB).
- Incuber à 37°C pendant 18 à 24 heures.
- Compter le nombre N de colonies.

• Méthode de la lame immergée

- Immerger dans l'urine fraîchement émise les deux faces de la lame gélosée DGU et laisser égoutter l'excès du liquide.
- Remettre en place dans son étui en évitant tout contact avec les faces et visser la capsule.
- Incuber 18 à 24 heures à 37°C.
- Evaluer la densité des colonies à l'aide de l'abaque DGU.

Interprétation :

- Bactériurie < 10³ CFU / ml : absence d'infection.
- Bactériurie > 10⁵ CFU / ml : infection probable.

Calcul de la bactériémie / ml :

Une colonie correspond à 1000 bactéries / ml.

Le nombre de bactérie / ml = N × 1000.

- Entre 10^3 et 10^4 CFU / ml : zone d'incertitude (présence des germes mais en faible quantités dans ce cas on demande un autre ECBU de contrôle).

▪ **Identification des bactéries :**

L'identification des bactéries, basée sur leurs caractères morphologiques, biochimiques et parfois antigéniques, est utile pour distinguer une rechute d'une réinfection et également intéressante pour les études épidémiologiques.

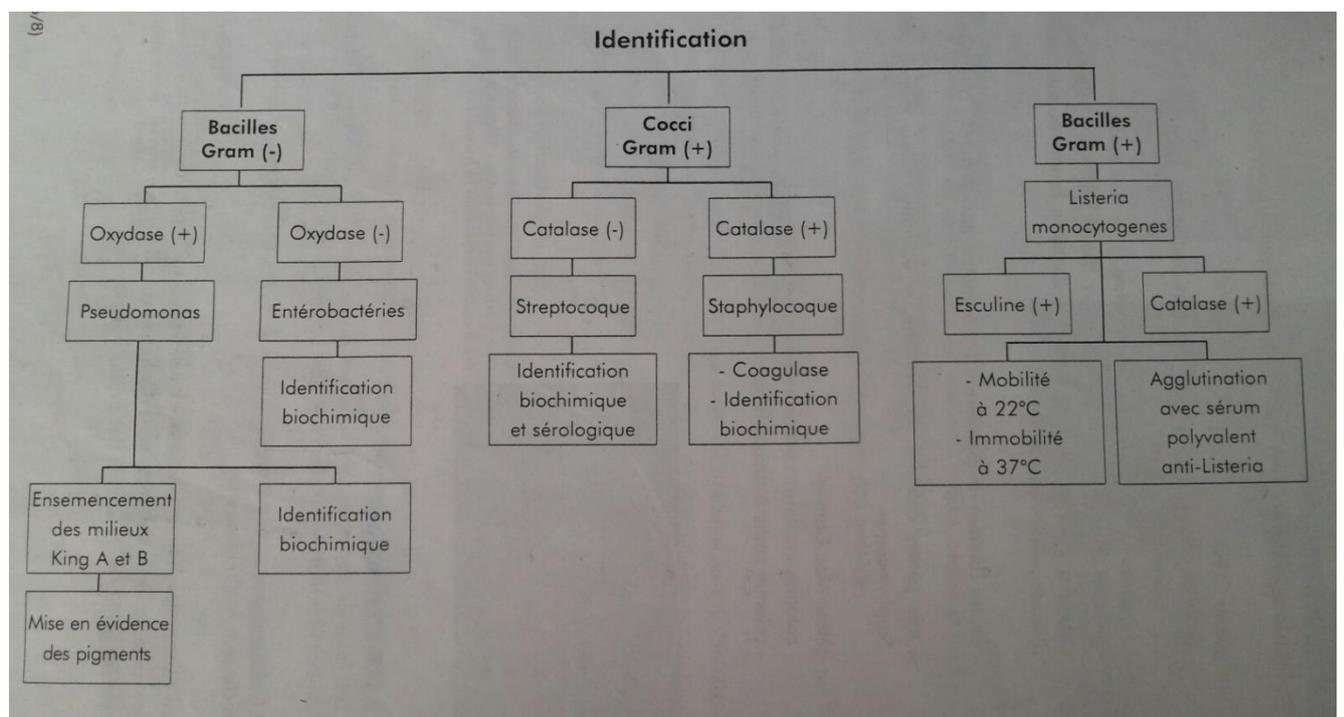
✓ **Identification macroscopique :**

L'étude de la morphologie bactérienne est le premier acte de diagnostic 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.

✓ **Identification microscopique :**

Nous avons procédé à une coloration de Gram, 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 :**



➤ **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 , après on ajoute l'inoculum bactérien à l'aide d'un ensemencement, puis on observe immédiatement.

⇒ S'il y a présence d'un dégagement gazeux cela veut dire qu'il s'agit du genre *Staphylococcus*.

➤ **Test oxydase** : Ce test est à la base de l'identification des bactéries Gram -.

Ce test permet de mettre en évidence l'enzyme phénylène-diamine-oxydase des bactéries à partir de leur culture en milieu gélosé. Cette enzyme est capable d'oxyder le réactif N diméthyl paraphénylène 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 est positif lorsqu'une tâche violette apparaît 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*.

c) Résultats et interprétation

BACTERIURIE \geq 10 000/ml	
LEUCOCYTURIE > 10.000/ml Infection urinaire avec réaction inflammatoire	LEUCOCYTURIE < 10.000/ml Infection urinaire récente
BACTERIURIE \leq 1.000/ml	
LEUCOCYTURIE > 10.000/ml <ul style="list-style-type: none"> • Possibilité d'infection urinaire due au <i>Mycobacterium tuberculosis</i> • Infection urinaire au début d'un traitement antibiotique • Foyer infectieux cloisonné n'ensemencant pas les urines • Réaction inflammatoire d'origine non infectieuse. 	LEUCOCYTURIE < 10.000/ml Absence d'infection urinaire
1.000/ml < BACTERIURIE < 10.000/ml	
<ul style="list-style-type: none"> • Urines n'ayant pas séjournées assez longtemps dans la vessie • Malade sondé ou incontinent • Auto-agglutination bactérienne (infection urinaire à <i>pseudomonas aeruginosa</i> ou à staphylocoque) 	

C. ANTIBIOGRAMME

L'antibiogramme est l'une des principales finalités de l'examen bactériologique. Il permet de mesurer la capacité d'un antibiotique à inhiber la croissance bactérienne in vitro. C'est un examen routinier de laboratoire, il est simple à réaliser par diffusion ou dilution, en microméthode ou macrométhode de façon manuelle ou automatisée. Cependant, il peut être entaché d'erreurs si l'on ne respecte pas les conditions requises à une bonne exécution (10).

1. METHODE UTILISEE :

La méthode recommandée par l'OMS est celle de Kirby Bauer modifiée qui est utilisée en routine au laboratoire clinique. C'est la méthode par diffusion à partir de disques imprégnés d'antibiotiques qui classe les souches à tester en 3 catégories : sensible (S), intermédiaire (I) et résistantes (R) sur la base des diamètres critiques.

2. MATERIEL ET REACTIFS :

-Milieu de culture en fonction des germes :

- Milieu de Mueller Hinton pour les *Entérobactéries*, *Pseudomonas*, *Staphylocoque* et *Entérocoques*.
- Milieu de Mueller Hinton additionné de 5% de sang de mouton pour les *Streptocoques*.
- Gélose chocolat + isovitalex pour *Haemophilus*.
- Gélose chocolat base + isovitalex pour *Neisseria*.

-Disques en papier imprégnés d'ATB.

-Etalons de turbidité ou échelle de Mac Farland.

-Ecouillons stériles.

3. MODE OPERATOIRE :

a. Préparation de l'inoculum

- Prélever à l'aide d'une pipette pasteur ou de l'anse une colonie d'*Entérobactéries* ou de *Pseudomonas*, deux colonies de *Staphylococcus* ou d'*Enterococcus*.
- Transvaser le contenu de l'anse dans un tube contenant 2.5 ml d'eau physiologique stérile : les colonies sont émulsionnées sur le bord de tube en dehors de l'eau puis peu à peu dans le liquide et ensuite agitées vigoureusement.

b. Ajustement de la turbidité de l'inoculum :

Préparer régulièrement l'étalon de turbidité (voir préparation) et le mettre dans un tube de même type que celui utilisé pour préparer l'inoculum. Les deux tubes doivent être placés côte à côte et éclairés de la même façon. On ajuste la densité de la suspension à celle de l'étalon en y ajoutant soit un fragment de colonie, soit de l'eau physiologique.

NB : Pour les bactéries de croissance difficile comme *Neisseria* et *Streptococcus viridans* faire un inoculum plus concentré pour compenser la croissance plus lente de ces bactéries.

Cet inoculum peut être préparé soit à partir d'un milieu gélosé ou en diluant au 1/10 un bouillon de culture adapté à la bactérie.

c. Ensemencement des boîtes :

-Tremper un écouillon stérile sec dans l'inoculum (une seule fois).

-Eliminer l'excès d'inoculum en pressant l'écouvillon et en le faisant rouler contre les parois du tube au-dessus du niveau du liquide.

-Ensemencer en stries sur toute la surface de la boîte à 3 reprises en faisant tourner la boîte de 60° après chaque application.

-Passer enfin l'écouvillon sur le bord de la gélose.

-Laisser sécher l'inoculum pendant quelques minutes à température ambiante, le couvercle étant fermé.

d. Disposition des disques d'ATB :

Elle peut être faite soit à l'aide :

- D'une paire de pinces stériles.
- De plaque percée,
- De l'extrémité stérile d'une aiguille.
- D'un distributeur de disques

Sur une boîte de 90 mm de diamètre :

- Disposer au maximum 7 disques, 6 à intervalle régulier tout autour de la boîte à environ 15 mm du bord et un au centre.
- Appuyer doucement sur chaque disque pour assurer un contact uniforme avec le milieu
- Mettre les boîtes à incuber à 37°C dans les 30 mn suivant la préparation pendant 16 à 18 h.

e. Interprétation des dimensions de la zone d'inhibition :

Faire la lecture le lendemain, en mesurant le diamètre de chaque zone d'inhibition (y compris le diamètre de disque) en mm et le noter.

Les résultats seront interprétés en fonction des diamètres critiques figurant des tableaux d'interprétation fournis par les fabricants des disques.

TROISIEME PARTIE :
Résultats et discussion

RESULTATS

I. Fréquence des infections urinaires

La fréquence des infections urinaires a été déterminée d'après les résultats de l'ECBU. Les résultats sont présentés dans le tableau 2.

Tableau 2 : Fréquence des infections urinaires.

Cas d'ECBU	ECBU positif	ECBU négatif	Total
Nombre des cas	1833	5032	6865
Fréquence (%)	26.7 %	73.3 %	100 %

Sur les 6865 prélèvements objet de l'étude, 1833 prélèvements se sont révélés positifs soit 26.7% et 5032 cas sont négatifs soit 73.3%.

II. Répartition des infections urinaires

1. Répartition des infections urinaires selon le sexe

Les résultats de la répartition selon le sexe sont représentés dans le tableau 3.

Tableau 3 : Répartition des germes selon le sexe.

Sexe	Femme	Homme
Nombre des cas positifs	1251	582
Pourcentage	68.24 %	31.76 %

Sur 1833 prélèvements positifs, la répartition selon le sexe montre 68.24 % de sexe féminin et 31.76 % de sexe masculin. On remarque que les femmes sont les plus touchées par l'IU que les hommes.

2. Fréquence de l'infection urinaire chez les enfants et les adultes

Les résultats de la Fréquence de l'infection chez les enfants et les adultes sont représentés dans le tableau 4.

Tableau 4 : la Fréquence de l'infection chez les enfants et les adultes.

L'âge	Enfant	Adulte
Nombre des cas positifs	230	1603
Fréquence (%)	12.54 %	87.46 %

Sur les patients infectés, nos résultats montrent 1603 adultes et 230 enfants, et suggèrent que les adultes sont plus touchés par cette infection que les enfants.

III. Répartition des germes responsables d'infection urinaire

1. Répartition en fonction des caractères morphologiques

La coloration nous a permis d'identifier deux groupes de bactéries : les Bacilles Gram - et des Cocci à Gram +. Les résultats sont présentés dans le tableau 5.

Tableau 5 : Répartition des germes en fonction des caractères morphologiques.

Caractères morphologiques	Effectif	Pourcentage
Bacilles à Gram négatif	1430	78 %
Cocci à Gram positif	403	22 %

Le profil de 1833 bactéries isolées d'ECBU montre que les BGN sont nettement prédominants avec 78% de l'ensemble des germes isolés. Tandis que le groupe des cocci à Gram positif n'a représenté que (22%).

2. Fréquence des germes identifiés

Les tests biochimiques nous ont permis d'identifier les microorganismes isolés. Les résultats sont présentés dans le tableau 6.

Tableau 6 : Répartition des germes selon l'espèce.

Gram	Germes	Espèces	Effectif	Pourcentage
Cocci à Gram positif	<i>Streptococcus</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	122	6.7 %
		<i>Staph aureus</i>	108	5.89 %
	<i>Staphylocoque</i>	<i>Staph saprophyticus</i>	42	2.29 %
		<i>Entérocoques</i>	<i>Entérocoques</i>	131
Bacille à Gram Négatif	<i>Entérobactéries</i>	<i>E. Coli</i>	885	48.28 %
		<i>Klebsiella</i>	257	14.02 %
		<i>Proteus</i>	82	4.47 %
		<i>Acinetobacter</i>	65	3.54 %
		<i>Enterobacter</i>	36	1.96 %
		<i>Citrobacter</i>	6	0.32 %
		<i>Serratia</i>	4	0.21 %
<i>Pseudomonaceae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	95	5.18 %	

Les Entérobactéries représentent plus de 77.98% des étiologies avec prédominance de l'*E. Coli* (48.28%) suivie par *Klebsiella* (14.02%). *Staphylocoque* avec (8.2%) et Les *Entérocoques* avec (7.14%) dominent les cocci à gram positif (22.02%). Viennent ensuite à des fréquences et dans des proportions variables selon les études les autres *Entérobactéries* : *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* et également d'autres bacilles Gram négatifs tel que *Pseudomonas aeruginosa*.

IV. Résistance des bactéries uropathogènes aux antibiotiques

1. Résistance de l'ensemble des germes isolés aux antibiotiques

Les résultats de la résistance de l'ensemble des germes isolés aux antibiotiques sont présentés dans le tableau 7.

Tableau 7 : Résistance de l'ensemble des germes isolés à l'antibiotique

Antibiotiques	Taux de résistance en %
AMX	62.6
SXT	51.2
AMC	46.5
KF	46.4
CXM	42.6
CIP	42.2
CFM	41.4
GM	38.6
TOB	36.4
F	33.5
CAZ	32.4
CRO	31.3
AM	30.4
NAL	30.2
NOR	24.2
AK	18.4
FOS	18.4
CT	17.3
CTX	16.6
P	12
TE	11.1
E	6.1
DO	3.9
K	2.4
VA	2
RF	1.6
FD	1
OX	0.7

La résistance des bactéries aux principaux antibiotiques utilisés pour le traitement de l'infection urinaire se distingue par les taux élevés de résistance à l'AMX, SXT, AMC,

céphalosporines de 1ère génération (KF, CXM), CIP et à CFM. De plus, la résistance à l'E, DO, K, VA, RF, FD et à l'OX reste très faible.

2. Résistance aux antibiotiques des principales bactéries uropathogènes

Après l'identification des différentes souches isolées, le profil de résistance de l'ensemble de ces germes isolés aux plusieurs antibiotiques a été réalisé. Les résultats sont présentés dans le tableau 8.

Tableau 8: Résistance aux antibiotiques des principales bactéries uropathogènes.

	E. coli	Klebs	Acinetobacter	Entérocoque	S.Aureus	S.Sapr	Proteus	P.Aerog
AMX	78	88	100	16.8	54.6	45.2	43	100
AMC	59.2	79.3	100	16	13	21.4	37	100
KF	55.3	70	100	74.8	13	12	38.4	100
CXM	48.7	67.3	100	81	13	21.4	27.7	100
CFM	48	66.1	100	84.7	13	21.4	6.1	100
CRO	36.6	54	20.7	43.5	11.1	16.6	0	19
CAZ	36.4	55.2	22	66.4	6.5	21.4	0	10.5
G0M	41.2	65.4	22	81.6	8.4	19	9.2	29.4
TOB	36.2	62.6	23.1	-	2.8	12	7.7	38
AK	30	17.5	19.5	-	0	0	0	12.6
CT	30.7	0	0	-	-	-	100	0
CIP	51.3	67.7	23.1	49.6	8.4	14.3	7.7	44.2
SXT	59.4	77	23.1	61	11.1	9.5	35.4	80
P	-	-	-	13	54.6	45.2	-	-
OX	-	-	-	-	5.6	16.6	-	-
F	43.3	63	18.3	16	8.4	-	38.4	-
FOS	30.7	0	17	-	8.4	14.3	0	38
DO	-	-	-	24.5	32.4	9.5	-	-
E	-	-	-	47.3	36.1	26.2	-	-
RF	-	-	-	22.1	0	2.4	-	-
AM	44.4	55.2	17	-	-	-	12.3	100
NOR	36.2	27	16	15.2	8.3	-	4.6	-
TE	-	-	14.6	26	11.1	19	-	-
CTX	19.7	27	17	19	6.5	-	-	14.7
NAL	42.5	52.5	17	14.5	-	-	-	100
FD	-	-	-	-	10.2	9.5	-	-
K	-	-	-	-	36.1	14.3	-	-
VA	-	-	-	16	11.1	7.2	-	-

La résistance aux antibiotiques des BGN uropathogènes montre en particulier la proportion de plus en plus importante d'*E. Coli* résistante à l'Amoxicilline, Amoxicilline + Acide clavulanique, aux C1G et au Triméthoprime-sulfaméthoxazole, en plus la résistance naturelle

d'*Acinetobacter* et *P.aeruginosa* aux AMX, AMC, KF, CXM, CFM, ainsi *Proteus* résiste à CT naturellement.

Les C3G, les aminosides et les fluoroquinolones sont les antibiotiques les plus fréquemment actifs sur les Entérobactéries. On remarque ainsi que *Klebsiella* est plus résistante qu'*E. Coli* aux aminosides, des C1G, des C3G, des amoxicillines, des amoxicilline + acide clavulanique et du Triméthoprime-sulfaméthaxazole.

DISCUSSION

L'infection urinaire demeure, partout dans le monde, une pathologie très fréquente. Les résultats de notre analyse sur les 6865 ECBU adressés au laboratoire LARAQUI depuis 2006 jusqu'à 2016 montre que 1833 sujets sont touchés par cette maladie soit 26.7%.

Plusieurs études et organismes internationaux, présentent régulièrement l'évolution du profil des bactéries uropathogènes et de leur sensibilité aux antibiotiques (13, 14, 15, 16).

La répartition des germes isolés selon le sexe, dans notre étude, montre que l'infection urinaire est plus fréquente chez la femme (68.24 %) que chez l'homme (31.76%). Ces résultats rejoignent et confirment ceux donnés par la littérature (17).

Cette différence peut être due à :

- La courte taille de l'urètre chez les femmes (3-4 centimètres) et topographiquement proches du vagin et du périnée qui sont régulièrement colonisés par des bactéries d'origine fécale; par opposition, l'urètre masculin est long de 20 centimètres environ et est moins exposé aux infections.
- La modification de l'acidité vaginale après la diminution normale des hormones (œstrogène) et des sécrétions vaginales après la ménopause.
- Les rapports sexuels ; car le frottement au niveau du méat urinaire lors des rapports favorisant l'entrée dans l'urètre et dans la vessie des germes normalement présents au niveau du vagin.
- La grossesse qui peut favoriser l'infection urinaire car la compression par l'utérus entraîne une dilatation voir une certaine obstruction des urètres.

- Certaines habitudes d'hygiène (douche vaginale) qui permettent de déséquilibrer la flore bactérienne habituelle du vagin.

Concernant la répartition des germes isolés selon l'âge, les résultats montrent que les adultes (87.46 %) sont plus touchés par cette maladie que les enfants (12.54 %). Ces résultats rejoignent ceux donnés par la littérature (18).

Dans notre étude, les BGN (78%) dominant nettement le profil général des bactéries responsables d'infections urinaires. Tandis que le groupe des cocci à Gram positif n'a représentait que (22%). Ces résultats rejoignent les données de la littérature (19).

Toutes les études s'accordent pour mentionner qu'*E. Coli* occupe la 1^{ère} place des bactéries uropathogènes (4, 18, 20, 21, 22, 23). 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. Tandis que *Klebsiella* et *Proteus* secrètent une uréase qui alcalinise l'urine, dont le pH est naturellement acide, ce qui empêche leur prolifération.

Pseudomonas aeruginosa et *Acinetobacter* sont isolés essentiellement dans un contexte nosocomial. Cependant, ils ne représentent que 2.8% des étiologies d'infection urinaire dans le centre de la Tunisie (4), alors dans notre étude ils sont responsables de 8.72% des cas.

Pour toutes bactéries confondues, l'étude de la résistance aux antibiotiques montre que l'Amoxicilline et son association avec l'Acide Clavulanique, ainsi que les C1G et le Triméthoprime-sulfaméthoxazole sont fréquemment inactifs. Ces résultats rejoignent les données de la littérature (4). De ce fait, ces antibiotiques ne doivent plus être utilisés en première intention dans le traitement des infections urinaires aussi bien communautaire que nosocomiale (13, 14). Ceci pourrait s'expliquer par la pression de sélection exercée par l'utilisation massive de ces molécules, par conséquent on trouve l'émergence de nouvelles souches résistantes 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. Par ailleurs, les faibles pourcentages de résistances sont relatifs aux aminosides (GM : 38.6%, TOB : 36.4%, AK : 18.4%), aux fluoroquinolones (CIP : 42.2%, NAL : 30.2%) et aux C3G (CFM : 41.4%, CAZ :

32.4%, CRO : 31.3%, CTX : 16.6%). Ces résultats sont retrouvés ailleurs, avec cependant des taux de résistance plus faibles (GM : 4%, CTX : 5%) (4). Ceci peut être expliqué par l'automédication et par le manque d'une stratégie thérapeutique dans notre pays.

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.

Concernant les Entérobactéries, germes les plus fréquemment isolées dans l'infection urinaire, il s'agit en particulier de la proportion de plus en plus réduite d'E. Coli sensibles à l'Amoxicilline et son association avec l'Acide Clavulanique et la même constatation est valable pour le cotrimoxazole. Les C3G, les aminosides et les fluoroquinolones sont les antibiotiques qui s'avèrent actuellement les plus fréquemment actifs, ils doivent donc envisager en priorité en thérapeutique, ces résultats rejoignent les résultats trouvés dans une autre étude (4).

CONCLUSION

L'infection urinaire est l'une des infections les plus fréquentes chez l'Homme. Sa surveillance est devenue, au cours de ces dernières décennies, un élément essentiel de tout programme de lutte contre ces infections.

Notre étude avait pour objectif d'étudier la fréquence des infections urinaires, leur répartition selon le sexe, l'âge ainsi que la résistance des bactéries en cause aux différents antibiotiques. Il a porté sur 6865 cas d'ECBU adressés au laboratoire LARAQUI depuis 2006 jusqu'à 2016, les résultats de l'analyse ont montré 1833 cas positifs (soit 26.7 %) dont 1251 cas de sexe féminins (soit 68.24 %) et 582 cas de sexe masculins (soit 31.76 %), ainsi que sur ces 6865 cas on a trouvé 230 cas sont des enfants (soit 12.54 %) et 1603 cas sont des adultes (soit 87.46 %).

La fréquence d'isolement des germes à partir des prélèvements urinaires, nous confirme la répartition déjà connue que les germes les plus observés étaient des entérobactéries (72.8 %) avec la prédominance d'*E. Coli* et de *Klebsiella*.

La sensibilité des bactéries aux antibiotiques utilisés pour le traitement de l'infection urinaire se distingue par le taux élevé de résistance des bacilles gram négatif à l'Amoxicilline (78 % pour *E. Coli* et 88 % pour *Klebsiella*) à l'Amoxicilline + l'acide clavulanique (59.2 % pour *E. Coli* et 79.3 % pour *Klebsiella*) et au Triméthoprim-sulfaméthoxazole (59.4 % pour *E. Coli* et 77 % pour *Klebsiella*). Les antibiotiques qui restent les plus fréquemment actifs sont les Céphalosporine de 3^{ème} génération (CFM : 41.4%, CAZ : 32.4%, CRO : 31.3%, CTX : 16.6%), les aminosides (GM : 38.6%, TOB : 36.4%, AK : 18.4%), les fluoroquinolones (CIP : 42.2%, NAL : 30.2%).

L'étude de la résistance des bactéries uropathogènes montre une évolution vers l'augmentation de cette résistance ce qui cause un grande problème de traitement de ces infections, donc il faut changer nos comportements, et ne prescrire les antibiotiques que si nécessaire et de façon raisonnée. Cela doit passer par une éducation des patients, la formation et la sensibilisation des prescripteurs, l'application des procédures d'hygiène et la mise en place de réseau de surveillance des résistances bactériennes.

Références bibliographiques

- 1- THAMSIN H, LAMBOTTE R. L'infection des voies urinaires basses chez la femme. *Journal de Gynécologie Obstétrique, Biologie*, 1993 ; 22 : 151-156.
- 2- GERARD M, DIAKITE B, BEDU A, TITTI I et al. Epidémiologie de l'infection urinaire de l'enfant : l'infection urinaire du nouveau-né. *Archives Pédiatriques*, 1998 ; 5 suppl. 3 : 254-256.
- 3- VUILLE D, STALDER H. Les infections urinaires : guidelines en médecine ambulatoire. *Médecine et Hygiène*, 1996 ; 54 : 1723-1730.
- 4- 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.
- 5- TAJEDDIN M, STALDER H. Les infections urinaires. *Primary Care*, 2002 ; 2 : 433-437.
- 6- DELCROIX M, ZONE V, CHRONT C, ADAM H, DUGUESNE G, NOEL A-M. L'infection urinaire de la femme enceinte. *Revue Gynécologie Obstétrique*, 1994 ; 89 : 277-284.
- 7- BEN CHEKROUN T.S JORIO BEN KHRABA, ALAOUI MY A, EL MALKI TAZI A. Infection urinaire chez le grand enfant à propos de 69 cas (1988-1998). *Rev Maghreb Pédiatr*. Volume x-n°5-septembre-octobre 2000.
- 8- PR ALAIN MEYRIER. Infections du haut et du bas appareil urinaire. *La revue du Praticien (Paris)*, 1995 ; 45.
- 9- JD. Cavallo, É. Garrabé. Outils du diagnostic biologique des infections urinaires nosocomiales (IUN) : analyse critique. *Médecine et Maladies Infectieuses*, Volume 33, Issue 9, Pages 447-456.
- 10- J.Vandepitte. L'antibiogramme : Définition et délimitation des catégories de sensibilité. *International Journal of Clinical and Laboratory Médecine*. 1973 ; 28 :150-161.
- 11- TIOUIT D, NAIM M, AMHIS W. Traitement antibiotique des infections urinaires, *Médecine du Maghreb* 2001 n°91.
- 12- Kraytman M. Le traitement des infections urinaires. *International Journal of Clinical and Laboratory Médecine*. 1967 ; 22 : 354-380.

- 13- DE MOUY D, C AVALLO JD, FABRE R, GROBOST F, ARMENGAUD M.- Les entérobactéries isolées d'infections urinaires en pratique de ville: étude AFORCOPIBIO 1995. B E H, 1996, 28, 123-124.
- 14- DE MOUY D, CAVALLO JD et les membres de l'AFORCOPI-BIO(I), ARMENGAUD M, ARZOUNI JP.- Infections urinaires en pratique de ville: étiologies et sensibilité aux antibiotiques en fonction des antécédents. Presse Med, 1999, 28, 1624-1628.
- 15- RODRIGUEZ MORENO C, MURO PASCUAL V, DAVIU PASTOR A, BESTARD SERRA M, LIOBERA J.- Use of antibiotics in primary care: treatment of urinary infection. Aten Primaria, 1996, 17, 309-316.
- 16- SEFTON AM - The impact of résistance on the management of urinary tract infections. Int J Antimicrob Agents, 2000 ; 16, 489- 491.
- 17- DEMOUY D, LEPARGNEUR J.P, AURIOL J.C, BANDLER H, LARRIBET G DECLERQ G, ARMENGAUD M et les membres de l'AFORCOPIBIO. Evolution des fréquences d'isolement et de la résistance des souches d'Escherichia coli isolées d'infections urinaires en pratique de ville de 1986 à 1993. Médecine et Maladies Infectieuses, 1994 ; 24 : 539-542.
- 18- Bernard Lobel, Claude-James Souss. Les infections urinaires. Springer Paris (Monographies en urologie), 2007 ; 3 : 236-241.
- 19- Vorkaufers S, Les infections urinaires communautaires bactériennes de l'adulte : Prise en charge diagnostique et thérapeutique, 2011.
- 20- Bahmani Fz, Noureddine R, Benaouda A. les infections urinaires communautaires chez l'enfant: épidémiologie et prévalence de la résistance aux antibiotiques des germes isolés dans la ville de rabat, Maroc. Laboratoire de bactériologie, hôpital universitaire international Cheikh ZAID, Rabat. 2009-2011.
- 21- MZOUGHRI R, SELMI H, BAKHROUF A, TRABELSI H, ALAYA K, JEDD M. Fréquence et sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries responsables d'infections urinaires en milieu pédiatrique. L'Eurobiologiste 1994, tome XXVIII, n°212.
- 22- TIOUIT D, NAIM M, AMHIS W. Les entérobactéries isolées d'infections urinaires en pratique de ville : étude AFORCOPIBIO 1995. Médecine du Maghreb, 2001 ; n°91.
- 23- DEMOUY D, LEUPARGNEUR JP, AURIOL JC BANDLER H et al. Evolution des fréquences d'isolement et résistance des souches d'*E. Coli* isolées d'infections urinaires en pratique de ville de 1986 à 1993. Med Mal Infect, 1994 ; 24 spécial : 539-542.