



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 de résistance des entérobactéries de
l'infection urinaire au titre de l'année 2018 et
durant la période de stage**

Présenté par : EL FARKHI Kaoutar

Encadré par : Pr. BEKHTI Khadija

Pr. OUARRAK Khadija

Dr. MAOULOUA Mohamed

Soutenu le : 07 Juillet 2021

Devant le jury composé de :

- **Pr. BEKHTI Khadija**
- **Pr. OUHMIDOU Bouchra**
- **Pr. OUARRAK Khadija**

Stage effectué à : Laboratoire de l'hôpital Mohammed V Meknès

Année universitaire 2020-2021

Dédicace

Je dédie humblement ce manuscrit

A Allah

Tout puissant Qui m'a inspiré Qui m'a guidé dans le bon chemin

A ma très chère mère

Ce travail est le fruit de tes efforts, de ton amour, de tes prières et de tes encouragements. Tu as consacré le meilleur de toi-même à notre éducation et à notre réussite

A mon très cher Père

Ton souci majeur est et demeure le bonheur et la réussite de tes enfants. Tous les sacrifices consentis pour notre éducation m'ont guidé chaque jour de ma vie

A mes frères. À mes chers amis et enseignants

A tous ce qui ont collaborés de près ou de loin à l'élaboration de ce travail

Remerciements

Je souhaitais adresser mes remerciements les plus sincères aux personnes qui m'ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce projet ainsi qu'à la réussite de cette formidable année universitaire

En premier lieu, je tiens à exprimer mes plus vifs remerciements à **Mr Haloti Said**, coordonateur de la filière Sciences Biologiques Appliquée et Santé, qui s'est toujours montré à l'écoute et très disponible tout au long de la formation.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude à mon encadrant interne, **M^{me} Bekhti Khadija**, professeur de microbiologie à la FST Fès, Je la remercie de m'avoir encadré, pour l'aide et les conseils concernant les missions évoquées dans ce rapport, qu'elle m'a apporté lors des différents suivis.

Je tiens à remercier vivement **M^{me} Ouarrak Khadija**, l'ingénieur responsable de la section bactériologie/parasitologie au sein du laboratoire d'analyse médicale de l'hôpital Mohammed V à Meknès, pour son accueil, le temps passé ensemble et le partage de son expertise au quotidien. Grâce aussi à sa confiance j'ai pu m'accomplir totalement dans mes missions. Il fut d'une aide précieuse dans les moments les plus délicats.

Je remercie infiniment **M^{me} Ouhmidou Bouchra**, d'avoir accepté de juger mon travail.

Je tiens à remercier sincèrement **Dr. Mouloua Mohamed**, médecin biologiste et chef de laboratoire d'analyse médicale de l'hôpital Mohammed V à Meknès, l'aide et le temps qu'il a bien voulu me consacrer et sans qui ce projet n'aurait jamais vu le jour.

Je voudrais également remercier tous les personnels du laboratoire surtout, pour leur collaboration et pour les bonnes conditions d'accueil dont j'ai pu bénéficier.

J'adresse également mes remerciements, à tous mes enseignants.

A toute personne qui a participé de près ou de loin pour l'accomplissement de ce modeste travail. Et pour mes amis qui m'ont accompagné durant tout au long de formation, tous mes remerciements.

Résumé

L'infection urinaire se définit par la colonisation bactérienne des voies urinaires (urètre, vessie, rein), c'est l'infection la plus fréquente quelque soit l'âge. Le diagnostic de l'infection urinaire repose sur l'examen cyto bactériologique des urines (ECBU), avec la mise en évidence de la bactérie responsable, et l'étude de sa sensibilité à différents antibiotiques (antibiogramme).

L'antibiorésistance des bactéries impliquées dans les infections urinaires limite le choix des antibiotiques et justifie une surveillance épidémiologique. A ce titre, nous avons entrepris deux études, une rétrospective concernant les examens cyto bactériologiques des urines adressés au laboratoire médicale CHP de l'hôpital Mohamed 5 à Meknès durant l'année 2018 et l'autre prospective couvrant la période de stage. Les résultats ont montré que pendant 2018 et sur 1002 examens, 120 se sont révélés positifs, soit 12% et du 6 Mai au 20 Juin sur 221 examens, 29 se sont révélés positifs, soit 13%. L'étude bactériologique de 2018 a montré la dominance de *Escherichia coli* (80%) suivi de *Klebsiella pneumoniae* (17%), *Proteus mirabilis* (3%) durant l'année 2018, alors que pendant la période de stage, la dominance est toujours à *E.coli* 73%, suivi de *K.Pneumoniae* 27%.

La fréquence de la résistance globale des principaux genres d'entérobactéries vis-à-vis des pénicillines, des céphalosporines, de quinolones. Cependant les Carbapénèmes, les céphalosporines, les aminosides et la colistine conservent encore un bon profil d'activité. La résistance des bactéries isolées aux antibiotiques, mis en évidence dans notre étude, montre l'intérêt de suivi de l'évolution de l'écologie bactérienne et du profil de résistance.

Sommaire

Dédicace

Remerciements

Résumé

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction1

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralités sur les infections urinaires

1. Définition et Anatomie d'Appareil urinaire.....3

2. Urine :.....3

2.1. Urine normal

2.2. Urine en pathologie.....4

3. Infection urinaire.....4

3.1. Définition

3.2. Type d'infection urinaire

4. Epidémiologie.....5

5. Facteurs de risque5

6. Les voies de contamination6

7. Les germes fréquemment responsables des infections urinaires

7.1. Entérobactéries.....6

7.1.1. Historique.....6

7.1.2. Classification.....6

7.1.3. Caractère bactériologique7

7.1.4. Caractères antigéniques7

7.1.5. Pouvoir pathogène8

II. Antibiotiques, base des traitements des infections microbiennes.....8

1. Définition

2. Classification et mode d'action des antibiotiques

3. Résistance microbiennes aux antibiotiques.....10

3.1. Définition

3.2. Type de résistance

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Etude prospective	
I. Phase pré-analytique	13
II. Phase analytique	13
1. Etude cyto bactériologique	
1.1. Etude bactériologique (Ensemencement)	13
1.2. Etude cytologique (cellule de KOVAC)	14
2. Etude chimique (Bandelettes urinaire)	15
3. Coloration du GRAM	16
4. Etude macroscopique des colonies	16
5. Identification biochimique des bactéries	16
6. Antibiogramme	18
6.1. Techniques d'antibiogrammes par la méthode de diffusion en milieu gélosé.	
6.2. Lecture d'antibiogramme.	19
6.3. Technique d'antibiogramme par méthode automatisée.....	20
6.4. Recherche des β -lactamase à spectre étendu (BLSE).	20
III. Phase post-analytique (Interprétation de l'antibiogramme)	
➤ Etude rétrospective	21
Registre	
RÉSULTATS ET DISCUSSION	
➤ Etude rétrospective et prospective	
I. Taux de l'infection urinaire	22
(Nombre total d'ECBU : Taux des cas positifs, le taux des cas négatifs et les non conformes)	
II. Caractéristique de la population étudiée	
1. Etude de l'infection urinaire selon le sexe.	23
2. Etude de l'infection urinaire par rapport au service demandeur.	24
III. Etude de l'écologie bactérienne de l'infection urinaire	
1. Etude selon l'espèce bactérienne.	25
2. Etude selon le sexe et l'espèce bactérienne.	26
IV. Étude de la résistance aux antibiotiques des germes	
1. Profil de résistance de l'Escherichia coli.	26
2. Profil de résistance du Klebsiella pneumoniae.	28
3. Profil de résistance de Proteus mirabilis.	29
DISCUSSION	30
CONCLUSION	30
Références bibliographiques	31

➤ Listes des abreviations

IU	Infection Urinaire
IST	Infection Sexuellement Transmissible
ECA	Anterobacter Common Antigen
ECBU	Examen Cytobacteriologique des urines
CA-SFM	Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.
CLED	Cystine Lactose Electrolyte Déficient.
E.COLI	Escherichia Coli
K.Pneumoniae	Klebsiella Pneumoniae
CHP	Centre Hospitalier Préfectoral
AMC	Amoxiciline Acide Clavulanique
AK	Amikacine
CAZ	Cephtazidime
CIP	Ciprofloxacine
CL	Colistine
CRO	Ceftriaxone
CN	Gentamycine
TOB	Tobramycine
NOR	Norfloxacine
TIC	Ticarcilline
SXT	Triméthoprim/sulfaméthoxazole (cotrimoxazole)
LEV	Levofloxacine
F	Nitrofurantoine
IMP	Imipénème
ERT	Ertapénème

➤ *Listes des tableaux*

Tableau 1	Subdivisions hiérarchiques de classification des entérobactéries (57)
Tableau 2	Mode d'action des antibiotiques actifs sur la paroi
Tableau 3	Mode d'action des antibiotiques actifs sur la membrane cytoplasmique
Tableau 4	Mode d'action des antibiotiques actifs sur les ribosomes
Tableau 5	Mode d'action des antibiotiques actifs sur le noyau
Tableau 6	<i>Test Urée Indole</i>
Tableau 7	<i>Test ONPG</i>
Tableau 8	Antibiotiques et leurs familles selon les normes du Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie (CA-SFM).

➤ Listes des figures

Figure 1	schéma de l'anatomie de l'appareil urinaire
Figure 2	Part relative des IU en fonction des principaux sites infectieux [22].
Figure 3	Ensemencement des urines par strie.
Figure 4	Cellule de KOVAC
Figure 5	Bandelettes urinaire
Figure 6	Ensemencement de l'inoculum par écouvillonnage.
Figure 7	Schéma représentant un antibiogramme
Figure 8	Classification selon les diamètres d'inhibition
Figure 9	Registre réalisé au laboratoire médicale CHP Med 5 Meknès durant l'année 2018.
Figure 10	Pourcentage des ECBU positifs et négatif retrouvé par le laboratoire CHP Med 5 durant l'année 2018 et les deux mois de stage
Figure 11	Répartition de l'infection urinaire selon le sexe au niveau du laboratoire CHP Med 5 durant l'année 2018 et les deux mois de stage.
Figure 12	Distribution des ECBU positifs selon les différents services
Figure 13	Répartition des germes urinaires au niveau du laboratoire CHP Med 5 Meknès durant l'année 2018 et durant les deux mois de stage
Figure 14	Répartition des germes selon le sexe au niveau du laboratoire CHP Med 5 Meknès durant l'année 2018 et les deux mois de stage
Figure 15	Profil de résistance et de sensibilité d' <i>E.COLI</i> retrouvés dans les ECBU positifs par le laboratoire CHP Med 5 Meknès durant l'année 2018.
Figure 16	Profil de résistance et de sensibilité d' <i>E.COLI</i> retrouvés dans les ECBU positifs par le laboratoire CHP Med 5 Meknès durant les deux mois de stage.
Figure 17	Profil de résistance de <i>K.Pneumoniae</i> retrouvés dans les ECBU positifs par le laboratoire CHP Med 5 Meknès durant l'année 2018
Figure 18	Profil de résistance de <i>K.Pneumoniae</i> retrouvés dans les ECBU positifs par le laboratoire CHP Med 5 Meknès durant les deux mois de stage.
Figure 19	Profil de résistance de <i>Proteus Mirabilis</i> retrouvés dans les ECBU positifs par le laboratoire CHP Med 5 Meknès durant l'année 2018

Présentation de la structure d'accueil

Il est impératif de faire accompagner toute formation d'un projet de fin d'étude, permettant de mettre en pratique les acquis théoriques durant le cursus universitaire. Notre formation acquise à la Faculté des Sciences et Techniques de Fès (FSTF) a été complétée par un stage de fin d'études qui s'est déroulé dans le laboratoire de biologie médicale de l'hôpital Mohamed V, Meknès. Ce stage est une étape importante pour un étudiant, non seulement du point de vue professionnel, mais aussi d'un point de vue personnel.

L'hôpital Mohamed V de Meknès

L'Hôpital Mohamed V de Meknès est le plus important des établissements de soins de la Région de Meknès-Fès. Il est parmi les plus grandes structures sanitaires du Royaume. Créé en 1953, il a été inauguré le 17 juillet 1956, par feu sa Majesté Mohamed V. C'est un hôpital régional qui, depuis son ouverture jusqu'à présent, considéré comme un centre de référence des soins et des consultations de rayonnement régional voir même interrégional, vu qu'il contient plusieurs pôles importants (services des grands brûlés, Pneumologie, etc..). Il dessert une population d'environ 2 317 000 habitants (Santé en chiffre 2014).

Laboratoire de biologie médicale

Il contient 4 paillasse pour répondre aux demandes d'analyses des différents services et une salle de PCR.

La paillasse de sérologie : Test VDRL-TPHA pour la Syphilis, Test de troponine, Test rapide de VIH et le test de confirmation par western blot....

La paillasse de biochimie : la biochimie de routine : la glycémie, l'urée, la créatinine, cholestérol ...

La paillasse d'hématologie : La numération de formule sanguine (NFS), Vitesse de sédimentation du sang (VS), Groupage sanguin...

La paillasse de bactériologie/parasitologie : c'est au niveau de ce service où on effectue les différentes analyses pour l'identification des bactéries au niveau des échantillons, les analyses effectuées au niveau de ce service sont :

- ✓ Analyse du liquide céphalorachidien (LCR).
- ✓ Examen cytobactériologique des urines (ECBU).
- ✓ Les analyses des liquides biologiques (Liquide pleural, articulaire,..).
- ✓ La copro-parasitologie.

Introduction

L'infection du système urinaire est divisée selon la localisation, on distingue les infections de l'appareil urinaire inférieur (infection basse) et les infections de l'appareil urinaire supérieur (infection haute). Contrairement aux hommes (ou seulement 20% des cas manifestent une infection urinaire), 50% des femmes souffriront au cours de leur vie d'au moins un épisode symptomatique d'une infection urinaire, un tiers parmi elle aura un cas de récurrence [2]. La fréquence des infections urinaires chez la femme est due à l'anatomie en effet chez la femme l'urètre est beaucoup plus court que celui des hommes, donc les bactéries migrent très rapidement dans la vessie surtout s'il y a une irritation au niveau du méat urinaire [1].

L'infection urinaire se caractérise par une prolifération des microorganismes dans une partie du système urinaire, ce se traduit par la présence d'un grand nombre de ces microorganismes dans l'urine. On distingue trois types d'infections urinaires: une cystite, une urétrite et une pyélonéphrite, en fonction de la localisation au niveau de l'appareil urinaire.

La cystite : c'est une forme d'infection plus courante du bas de l'appareil urinaire: urètre et vessie. Elle touche presque uniquement les femmes. Il s'agit de l'inflammation de la vessie. La plupart des cas enregistrés de cette inflammation sont provoqués par la prolifération de *Escherichia coli*, ce pendant d'autres germes tels que : *Staphylococcus*, *Proteus*, *klebsiella*.

L'urétrite : touche uniquement l'urètre. Il s'agit d'une infection sexuellement transmissible (IST) courante chez les hommes, mais les femmes peuvent aussi en souffrir. Différents agents infectieux peuvent causer l'urétrite, les plus communs sont : *Chlamydia* et *Neisseria gonorrhoeae* (la bactérie responsable de la blennorrhagie) [2].

La pyélonéphrite : est un état plus grave, elle désigne l'inflammation du bassin et du rein (au niveau de la partie supérieure de l'appareil urinaire). Celle-ci résulte généralement d'une infection bactérienne. Il peut s'agir d'une complication d'une cystite non traitée ou mal traitée qui permet la prolifération des bactéries de la vessie vers les reins. La pyélonéphrite aiguë est la conséquence d'urines infectées dans le haut de l'appareil urinaire. Ce syndrome associe des frissons avec une hyperthermie supérieure à 38,5 °C, des douleurs avec parfois des vomissements et des signes de brûlure du bas de l'appareil urinaire [1].

Pour décrire les infections urinaires selon le degré de gravité, on distingue deux types : simple et compliquée.

L'infection urinaire simple est une infection urinaire de la femme n'ayant aucun terrain particulier, aucune maladie associée et aucune anomalie organique ou fonctionnelle de l'arbre urinaire.

L'infection urinaire compliquée est une infection survenant chez un patient ayant au moins un facteur de risque pouvant rendre l'infection plus grave et le traitement plus complexe.

Le traitement de toute infection urinaire nécessite un traitement par des antibiotiques or ces derniers temps on assiste à une recrudescence significative de la résistance des microorganismes pathogènes aux traitements et parmi ces germes on trouve les Entérobactéries multi résistantes aux antibiotiques. Ce phénomène de multi résistances est un sérieux problème pour la santé publique.

L'objectif de notre travail est de déterminer le profil de résistance des Entérobactéries de l'infection urinaires au titre de l'année 2018 et les deux mois de stage (Avril-Juin), au niveau de l'hôpital Mohamed V de Meknès.

Notre contribution est structurée en trois chapitres interdépendants :

- Le premier réservés à une synthèse bibliographique qui donne une présentation des infections urinaire bactériennes rencontrées ainsi que leurs principaux agents causals.
- Un deuxième chapitre regroupés dans une partie expérimentale qui détaille d'une part, l'ensemble des dispositifs expérimentaux, de l'appareillage de mesure, de la méthodologie adoptée.
- Un troisième exposant les résultats.

➤ **REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

I. Généralités sur les infections urinaires

1. Définition et Anatomie d'Appareil urinaire

L'appareil urinaire (**Figure 1**) correspond à l'ensemble des organes dont le rôle consiste en l'expulsion après filtrage des déchets humains liquides sous forme d'urine. L'appareil urinaire est composé des reins, des uretères, de la vessie, de l'urètre et du méat urinaire. L'urine est fabriquée par les reins puis est transportée par les uretères dans la vessie où elle est stockée. La miction permet l'évacuation de l'urine en passant par l'urètre qui débouche sur le méat urinaire [30].

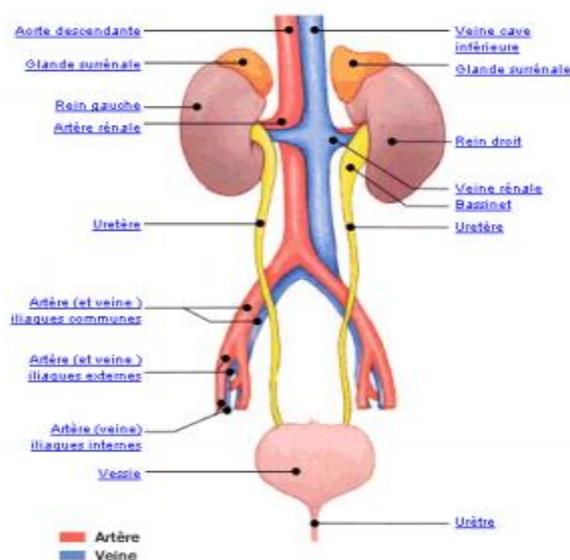


Figure 1: schéma de l'anatomie de l'appareil urinaire [3].

2. Urines

2 - 1 – Urine normale

L'urine est un liquide biologique composé des déchets de l'organisme. L'urine est secrétée par les reins par filtration du sang, puis par récupération des molécules de l'urine « primitive » pour former l'« urine définitive », qui sera expulsée hors du corps par le système urinaire.

L'urine est composée de:

- Eau : 95% (voir un peu plus en cas de potomanie)
- Composés organiques (environ 2% du total) :
 - Urée : 2 % (produit terminal du catabolisme des protéines).
 - Créatinine : 0,1 % (produit terminal du catabolisme de la créatine musculaire).
 - Acide urique : 0,03 % (produit terminal du catabolisme des acides nucléiques : ADN, ARN).
 - Acide hippurique.
 - Urobilirubine.
- Minéraux.
- Des toxiques à élimination rénale ou des médicaments, des drogues.

2 - 2 - Urines en pathologie

Le changement de couleur peut être le témoin d'un ictère (jaunisse). Dans ce cas, les urines apparaissent de couleur brun acajou.

- **Hématurie** : présence de sang dans les urines, se traduisant par une coloration rose ou rouge suivant l'importance de l'hématurie. La présence de sang dans les urines peut traduire une infection de la vessie, de la prostate, de l'urètre ou des reins
- **Leucocyturie** : les leucocytes (globules blancs) sont normalement présents dans les urines en quantité inférieure à 5000 par minute. L'augmentation de ce chiffre peut être le résultat d'une infection des voies urinaires comme une pyélonéphrite (infection due à la présence de pus dans les bassins) ou une prostatite (inflammation de la prostate due à une infection)
- **Oligurie** : diminution importante du volume des urines. Dans ce cas, la quantité d'urine émise est inférieure à 12 ml par vingt-quatre heures.
- **Anurie** : arrêt total de la sécrétion d'urine. L'oligurie et l'anurie sont le témoin d'une insuffisance de fonctionnement des reins (insuffisance rénale) généralement aiguë (survenant sur une période relativement courte) (5).

3. Infection urinaire

3.1. Définition

L'infection urinaire correspond à l'agression d'un tissu ou organe de l'appareil urinaire par un microorganisme, générant une réponse inflammatoire et des signes cliniques d'intensité variable selon le site atteint [5].

Le terme d'infection urinaire regroupe des situations cliniques hétérogènes qui ont comme caractéristiques communes la présence de quantités significatives de bactéries dans les urines[6].

L'infection de l'appareil urinaire est divisée en deux groupes IU simple ou compliquée.

L'IU simple concerne les patients qui ne présentent pas de facteurs de complication. Elle se limite aux femmes jeunes sans facteurs de risque et aux femmes de plus de 65 ans sans comorbidité.

L'IU compliquée concerne les patients qui ont au moins un facteur de complication, chez qui l'infection risque donc d'être plus grave [7].

3.2.Type d'infection urinaire

Selon la localisation, il existe trois types principaux d'infection urinaire : la cystite, la pyélonéphrite et l'urétrite:

- **les cystites** : infections localisées à la vessie, le plus souvent d'origine bactérienne, bénignes, souvent associée à un ou plusieurs de ces symptômes tels que : Sensation de brûlures ou de douleurs, poids dans le bas du ventre, besoin d'uriner très souvent, les urines sont troubles et dégagent une odeur inhabituelle.

- **l'urétrite** : dans ce cas, l'infection touche uniquement l'urètre (le conduit qui relie la vessie au méat urinaire). Il s'agit d'une infection sexuellement transmissible (IST) courante chez les hommes, mais les femmes peuvent aussi en souffrir.

- **les pyélonéphrites aiguës** : infections urinaires bactériennes avec atteinte du parenchyme rénal. Elles peuvent causer des lésions rénales et de diffusion systémique [6].

4. Epidémiologie

Les infections urinaires sont les infections bactériennes les plus communes.

En France par exemple, les IU sont responsable de plus de 7 millions visites médicale en cabinets par année et présentent la deuxième cause après les infections bronchiques et pulmonaires [8 ; 9] (**Figure2**).

Bien que les infections urinaires soient fréquentes dans la pratique médicale, l'épidémiologie de celle-ci reste pas mal connue et les chiffres sont généralement sous-estimés. Ceci est du au faite que la plupart des gents se tournent vers l'automédication.

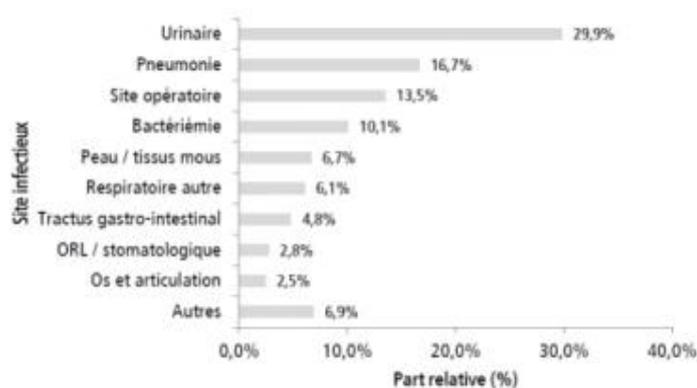


Figure 2: Part relative des IU en fonction des principaux sites infectieux [10].

5. Facteurs de risque

Chez la femme

- Urètre court, Large et proche de la région péri anale. Les bactéries commensales de l'intestin peuvent facilement coloniser la vessie.
- Chez certaines femmes qui utilisent un diaphragme comme moyen contraceptif, l'urètre se trouvera comprimé, ce qui empêche la vessie de se vider complètement et favorise les infections de la vessie.
- Certaines femmes contractent une urétrite en raison de l'usage de spermicides.
- Les femmes ménopausées ayant une sécheresse des muqueuses ce qui favorise la colonisation bactérienne.

Chez l'Homme

- Des calculs qui empêchent l'écoulement urinaire
- Diminution de la testostérone

Chez l'enfant : Une mal formation génitale [11].

6. Voies de contamination

La contamination du milieu urinaire par les bactéries se fait classiquement par trois voies :

- ✓ **Hématogène** : rare elle est secondaire à une septicémie.
- ✓ **Ascendante**: fréquente à partir du périnée antérieur et la contamination par des espèces de la flore vaginale, à partir du périnée postérieur péri anal et la contamination par des entérobactéries de la flore intestinale. A la périphérie du périnée et la contamination par la flore cutanée commensale.
- ✓ **Infection iatrogène**: Résultant d'une contamination par un instrument endo-urinaire (sonde) [12].

7. Germes fréquemment responsables des infections urinaires

Espèces responsables d'infections urinaires:

- ✓ Gram négatif : *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella* spp, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter Serratia*, Autres entérobactéries, *Acinetobacter* spp.
- ✓ Gram positif : *Enterococcus* spp, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*.
- ✓ Levures : *Candida albicans*.
- Parasites : *Trichomonas vaginalis* [13].

7.1. Entérobactéries

7.1.1 Historique

La période de naissance de la famille des Enterobacteriaceae se situe entre 1937 lorsqu'Otto Rankin proposa le genre *Enterobacter* pour regrouper les microorganismes présentant des propriétés biochimiques et morphologiques communes et parmi lesquels on trouve déjà des noms tels *qu'Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Serratia* ou *Shigella*. Deux années après cette description qui concerne 112 espèces, ce nombre fut ramené à 67. Avec les travaux de Don Brenner et de Patrick Grimont, cette famille a connu un essor et beaucoup de nouveaux genres et espèces furent découvertes [14].

En 1972, Edward et Ewing intégraient 11 genres et 26 espèces dans la famille des Enterobacteriaceae [15].

Une année après, 31 genres et 139 espèces étaient caractérisés. En 1985, Farmer et Coll décrivirent 22 genres comprenant 69 espèces et 29 groupes entériques [16].

7.1.2. Classification

Le tableau 1 montre la taxonomie des entérobactéries.

Tableau 1: Subdivisions hiérarchiques de classification des entérobactéries [17].

Rangs taxonomique	Classification
Domaine	Bacteria
Embranchement	Proteobacteria
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	Enterobacteriales
Famille	Enterobacteriaceae

7.1.3. Caractère bactériologique

Les entérobactéries appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae. La plupart des espèces sont des hôtes commensaux ou pathogènes du tube digestif de l'homme et d'autres mammifères, ce sont des :

- ✓ Bacilles ou coccobacilles à Gram négatif (2 à 4 μ de long sur 0,4 à 0,6 μ de large) ;
- ✓ Mobiles avec ciliature péritriche ou immobiles ;
- ✓ Non exigeants poussant sur milieux de culture ordinaires ;
- ✓ Aérobie - anaérobie facultatif ;
- ✓ Fermentant le glucose avec ou sans production de gaz ;
- ✓ Nitrate réductase positive (réduisant les nitrates en nitrites) ;
- ✓ Oxydase négative ;
- ✓ Catalase positive ;
- ✓ Non sporulés.

7.1.4. Caractères antigéniques

L'étude des caractères antigéniques permet d'individualiser les espèces au sein de chaque genre. Les entérobactéries possèdent toutes des antigènes de paroi « somatiques » ou antigènes O, certains possèdent des antigènes de surface tel que les adhésines et les antigènes d'enveloppe ou antigènes K, alors les entérobactéries mobiles possèdent en plus des antigènes de flagelle « flagellaires » ou antigènes H. On peut identifier ces antigènes par plusieurs techniques dont la plus courante est l'agglutination sur lame avec des sérums spécifiques : la présence d'une agglutination indique qu'il y a correspondance entre le sérum utilisé et un antigène de la souche étudiée.

- **Antigène ECA**

Antigène ECA (Enterobacterial Common Antigen) ou antigène de Kunitz, il n'existe que chez les entérobactéries et de ce fait a un intérêt taxonomique. Sa présence chez les *Yersinia* a permis d'inclure ce genre dans la famille des entérobactéries.

- **Antigène O**

Est l'endotoxine des bactéries à Gram négatif. Il est composé de lipopolysaccharides (LPS) complexes qui sont thermostables et résistent à l'alcool, très toxiques, Il est constitué d'une mosaïque d'antigènes dont certains sont des constituants communs à toutes les entérobactéries et germes apparentés, et d'autres, des constituants spécifiques de chaque espèce.

- **Antigène H**

L'antigène H n'est pas toxique, de nature protéique (flagelline), il est thermolabile et inactivé par l'alcool, il est constitué comme l'antigène O d'une mosaïque d'antigènes avec des constituants communs à toutes les entérobactéries mobiles et des constituants spécifiques à chaque espèce.

- **Antigène de surface**

L'antigène K capsulaire, de nature polysaccharidique, qui entoure la paroi de certaines entérobactéries et peut masquer l'antigène O, on le trouve chez *Escherichia coli*, *Shigella* ou chez certaines *Salmonella* et *Citrobacter* (ex : antigène Vi, pour virulence, de *Salmonella Typhi*). Les antigènes d'adhérence ou andésines de nature protéique, portés par des pilis communs encore appelés fimbriae [18].

7.1.5. Pouvoir pathogène

Tous les entérobactéries responsables des IU sont des pathogènes opportunistes car ils causent la maladie lorsque le système immunitaire est affaibli.

La fréquence de leurs manifestations pathologiques est en augmentation, car souvent due à l'existence chez ces espèces de plasmides de résistance aux antibiotiques permettant leur sélection et favorisant à leur avantage les dysmicrobismes [19].

III. Antibiotiques, base des traitements des infections microbiennes

1. Définition

Les antibiotiques ont pour but de diminuer ou de stabiliser la quantité de bactéries présentes au niveau du site infectieux et d'aider les cellules du système immunitaire à entamer le processus de guérison. La particularité de cette classe thérapeutique réside dans le fait que sa cible pharmacologique est localisée, non pas dans un tissu particulier de l'organisme humain, mais dans une bactérie hébergée accidentellement ou en permanence par cet organisme. La molécule antibiotique devra donc satisfaire à la double exigence d'être la plus toxique possible pour la bactérie visée et la moins toxique possible pour l'organisme hébergeant cette bactérie [20] [21].

2. Classification et mode d'action des antibiotiques

L'usage vraisemblablement en raison de l'intérêt bactériologique qui en découle, a consacré une classification des antibiotiques basé sur le site d'action dans la bactérie ou sur le processus physiologique visé. Ainsi on distingue :

• **Action sur la paroi bactérienne**

L'action des antibiotiques peut être au niveau de la paroi (Tableau 2), au niveau de la membrane cytoplasmique (Tableau 3), au niveau Du ribosome (Tableau 4) et au niveau de noyau (Tableau 5).

Tableau 2 : Mode d'action des antibiotiques actifs sur la paroi.

Antibiotiques	Mode d'action
<ul style="list-style-type: none"> ➤ β-lactamines (1-Pénicillines [pénicilline M – Pénicilline A-Carboxypénicillines Uréidopénicilline Aminopénicillines]. 2- Céphalosporines [1ères, 2èmes et 3èmes générations..], 3- Carbapénèmes. 	Inhibition de la synthèse du peptidoglycane constituant de la paroi des bactéries, par fixation sélective sur les cibles-enzymatiques de la Membrane cytoplasmique, appelées<< PLP >> (protéines de liaison aux pénicillines.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Les Glycopeptides : la vancomycine et la teicoplanine (usage hospitalier, injectable) [6] 	Inhibiteurs de la polymérisation du Peptidoglycane.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Les Phosphonopectides : fosfomycine 	Il inhibe la synthèse de la paroi cellulaire en bloquant l'étape cytoplasmique de la synthèse du peptidoglycane. Elle agit par inhibition de l'enzyme MurA.

• **Action sur la membrane cytoplasmique**

Tableau 3 : Mode d'action des antibiotiques actifs sur la membrane

Antibiotiques	Mode d'action
Les Gramicidines	L'augmentation de la perméabilité cationique de la membrane plasmique de la bactérie cible
les Polymyxines (colistine, polymyxine B)	Elles interagissent avec les phospholipides de la membrane cytoplasmique à la façon d'un détergent, solubilisant ainsi la membrane, en provoquant une fuite cellulaire.
Les Daptomycines	En présence de calcium, il s'insère dans la membrane cytoplasmique des bactéries a Gram +, provoquant une dépolarisation membranaire, responsable d'une fuite de potassium. Il s'en suit un arrêt de la synthèse de l'ADN, de l'ARN et des protéines.

• **Action au niveau du ribosome**

Tableau 4 : Mode d'action des antibiotiques actifs sur les ribosomes

<u>Antibiotiques</u>	<u>Mode d'action</u>
aminosides, cyclines,	Ils agissent en inhibant la synthèse protéique des bactéries par fixation sur le ribosome 30 S Ce sont des antibiotiques bactéricides et concentration dépendant.
Macrolides-Lincosamides Synergistines	Inhibition de l'élongation par le site P
Phénicolés	Inhibition de l'activité de la peptidyl transférase.

• **Action au niveau du noyau**

Tableau 5 : Mode d'action des antibiotiques actifs sur le noyau

<u>Antibiotiques</u>	<u>Mode d'action</u>
Quinolones	Leur cible intra cytoplasmiques sont de enzymes impliquées dans la régulation du surenroulement de l'hélice d'ADN sur elle-même (Topo isomérase).
Rifampicines	Il inhibe l'ARN polymérase bactérienne, enzyme responsable de la transcription .La rifampicine est utilisée principalement dans le traitement des infections à mycobactéries, en particulier la tuberculose.
Sulfamide-triméthoprime	Ils agissent comme inhibiteurs des acides nucléiques (bases puriques et pyrimidique) en bloquant l'utilisation des folates exogènes par inhibition des dihydrofolate synthétase et réductase.

3. Résistance microbiennes aux antibiotiques

3.1.définition

Selon le comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie 2019 :

- **Définition thérapeutique** : Une souche est dite « résistante » lorsque la concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter est notablement plus élevée que la concentration atteignable in vivo.

- **Définition épidémiologique** : Une souche est dite « résistante » lorsqu'elle supporte une concentration d'antibiotique notablement plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce [22].

- **Définition génétique** : Une bactérie est dite « résistante » quand elle héberge des nouveaux gènes codant pour cette résistance, ce qui se traduit par un changement ou acquisition d'une protéine [22,23].

- **Définition clinique** : Une bactérie est dite « résistante » quand elle échappe à l'action de l'antibiotique supposé actif, prescrit au malade, c'est ce qui se manifeste par un échec thérapeutique. Dans la majorité des infections, une résistance clinique vraie se traduit par l'absence d'amélioration (fièvre, CRP [protéine C réactive], Polynucléaires, élevés) après environ 72 heures de traitement et la prescription d'un deuxième antibiotique [22,23].

3.2. Types de résistance

La résistance des bactéries aux antibiotiques est soit naturelle, soit acquise.

- **La résistance naturelle** d'une espèce ou d'un genre est une caractéristique propre, appartenant à l'ensemble des souches de cette espèce ou de ce genre. Elle est toujours transmissible à la descendance (transmission verticale), car portée par le chromosome. La résistance naturelle détermine les phénotypes (sauvage) des espèces bactériennes vis-à-vis des antibiotiques.

- **La résistance acquise** à un antibiotique est un phénomène qui apparaît au niveau des souches d'une espèce donnée, normalement sensible à cet antibiotique. C'est l'acquisition d'un facteur génétique qui se traduit par une résistance à la molécule. Elle peut donc se faire soit par mutation chromosomique soit par acquisition des gènes transférés (plasmide, transposons, intégrons) d'un autre micro-organisme par conjugaison, transduction ou conversion [24].

➤ **MATERIEL ET METHODE**

Deux types d'études sont entrepris dans ce travail.

Une prospective technique est qui concerne tous les examens cyto bactériologiques des urines (ECBU) réalisés chez des patients hospitalisés dans différents services de l'hôpital Mohamed V de Meknès pendant la période du stage (Avril-Juin) et l'autre rétrospective concernant les urines qui ont été analysés pendant l'année 2018.

➤ **Etude prospective**

I. **Phase pré-analytique**

- ✓ Une information détaillée orale et écrite sera donnée au patient à l'accueil du laboratoire lors de chaque prélèvement ;
- ✓ Urines doivent toujours être recueillies dans un flacon stérile fourni par le laboratoire portant une étiquette sur laquelle figure ; le nom et prénom du, il faut ajouter le service et le numéro patient ; la date de prélèvement et son numéro d'identification. Si le patient est hospitalisé d'hospitalisation.
- ✓ Collecte des urine doit être dans les 30 minutes après la miction, à défaut conserver les urines au réfrigérateur à + 4 °C pendant 4 heures au maximum.
- ✓ Prélèvement doit être fait avant toute antibiothérapie.
- ✓ Hygiène intime est obligatoire.

A. **Cas particulier :**

✚ **Chez un nourrisson**

On doit utiliser un collecteur stérile spécifique (une poche stérile). Ce dispositif à usage unique adapté à l'anatomie se pose avec soin autour des organes génitaux de l'enfant après leur soigneuse désinfection, il ne faut pas le laissé en place plus de 20 à 30 minutes à cause de risque de contamination par les selles. Passé ce délai, si l'enfant n'a pas uriné, le dispositif est éliminé et remplacé par un collecteur neuf. Dès la miction terminée, le collecteur est ôté et les urines sont transvasées rapidement vers le laboratoire.

✚ **Chez une personne sondée**

Lavage des mains, puis recueil par ponction (seringue, aiguille stérile) dans la paroi de la sonde après désinfection, il ne faut pas prélever les urines dans le sac collecteur, et ne pas déconnecter la sonde du sac pour prélever les urines.

I. **Phase analytique**

Cette étape des analyses des urines comprend une étude cyto bactériologique avec plusieurs étapes se déroulant sur plusieurs jours et une étude chimique.

1. **Etude cyto bactériologique**

L'étude cyto bactériologique permet de mesurer l'infection (cytologie) et d'isoler le germe responsable (bactériologie).

1.1. **Etude bactériologique**

❖ **Cette étude se déroule en plusieurs jours.**

➤ **Jour 1 : Culture bactérienne**

Elle permet l'isolement des bactéries et leur numération. Elle se fait par ensemencement sur un milieu de culture adéquat.

1.2.2. Ensemencement

La technique consiste à utiliser une anse de platine stérilisé pour ensemercer les géloses nutritive. Dans le cas des urines l'ensemencement se réalise sur la gélose CLED (Cystine Lactose Electrolyte Déficient) qui est un milieu non sélectif c'est à dire favorable au développement de la plus part des bactéries responsables des infections urinaires et différentiel car les bactéries qui fermentent le lactose apparaissent jaunes.

➤ **Techniquement :**

- On prélève avec l'anse une goutte d'urine que l'on ensemerce par stries sur le milieu de culture (**Figure 3**).
- La boîte est incubée à 37°C pendant 24 heures.

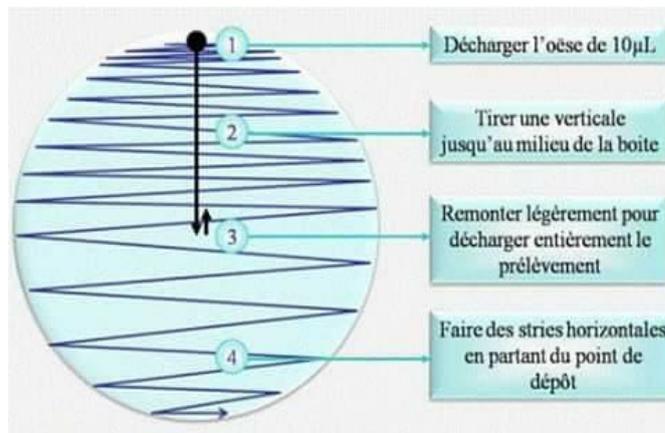


Figure 3 : Ensemencement des urines par strie[25].

1.2. Etude cytologique

1.2.1. Lecture sur cellule de KOVAC

Chaque lame comporte 10 puits de comptage (**figure 4**) Chaque puits de comptage comprend une grille comportant 9 grands carrés, chacun découpé en 9 petits carrés :

- 9 grands carrés contiennent 1 μ L de liquide.
- 1 grand carré (formé de 9 petits carrés) contient 0,1 μ L.
- 1 petit carré contient 0.01 μ L.

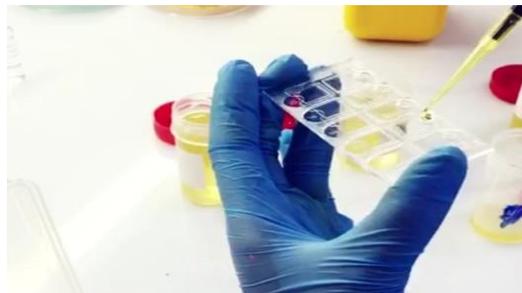


Figure 4: Cellule de KOVAC.

Lorsque l'urine est apparemment trouble (critère d'infection), on procède au dépôt direct d'une goutte d'urine dans la cellule de Kovac. On observe ensuite les différents composants normaux et pathologiques présents qui sont:

Cytologie quantitative

▪ **La leucocyturie**

La leucocyturie En cas d'infection urinaire, les leucocytes sont pratiquement toujours rencontrés en grand nombre ($> 10^4$ leucocytes/ml) car dans ce type d'infection, la multiplication bactérienne s'accompagne d'une mise en œuvre des défenses immunitaires, d'où une réaction cellulaire qui, dans son aspect le plus intense, se traduit par une leucocyturie très importante, la pyurie. Il convient toutefois d'interpréter prudemment une leucocyturie négative ($<10^3$ leucocytes/ml) ou faiblement positive, notamment chez des patients dont les défenses immunitaires sont affaiblies (nouveau-né de moins de 3 mois, femme enceinte, ...).

▪ **L'hématurie**

Elle est normalement $\leq 10^4$ /ml. Selon son intensité, l'hématurie peut être microscopique ou macroscopique. Les traumatismes, les calculs, les tumeurs siégeant en un point quelconque de l'appareil urinaire, la tuberculose, les troubles de la coagulation (traitements anticoagulants) peuvent être à l'origine d'hématurie, mais il existe aussi des cystites hématuriques.

Cytologie qualitative

▪ **Les cellules**

Les cellules épithéliales proviennent des tubules rénaux ou des voies excrétrices, leur signification est inconnue.

▪ **Les cylindres**

Ils représentent les moulages de tubules rénaux éliminés dans les urines. Leur squelette est la protéine physiologique de Tamm-Horsfall qui constitue le cylindre hyalin, le seul qui ne soit pas pathologique. Dans cette protéine peuvent s'agréger des hématies, des leucocytes, des globules graisseux qui constituent des cylindres hématiques, granuleux, graisseux lesquels sont pathologiques.

▪ **Les cristaux**

Ils ne sont pas pathologiques quand ils sont constitués de substances normalement présentes dans l'urine (acide oxalique, acide urique ou urate, sels de calcium). Seuls les cristaux de phosphate ammoniaco-magnésien ont un intérêt dans le diagnostic d'une infection urinaire car ils sont en faveur d'une infection par une bactérie uréasique.

▪ **Les micro-organismes**

On notera la présence de bactéries, de levures, de Trichomonas. Un œil exercé voit des bactéries à partir d'une numération comprise entre 20 000 et 30 000 bactéries/ml. On réalise alors une coloration de Gram sur un culot de centrifugation et on précise la morphologie et « le Gram » de la bactérie.

▪ **Les levures**

Les infections urinaires fongiques surviennent essentiellement chez des patients présentant des facteurs de risque locaux ou généraux tels que : sonde urinaire, diabète, immunodépression, hospitalisation en réanimation.... L'origine de l'infection est la plupart du temps endogène (les levures responsables proviennent du patient lui-même, notamment du tube digestif) et il s'agit de champignons du genre Candida.

1. Etude chimique

Sur le même échantillon d'urine, un test par bandelette urinaire de type **UroColor™ 10** a été effectué. Il s'agissait d'une bandelette urinaire réactive détectant : pH, protéines, glucose, corps cétoniques. Et autres marqueurs de la bandelette urinaire n'étaient pas pris en compte (**Figure 5**).

La bandelette urinaire est immergée 1 seconde dans l'urine homogénéisée. La bandelette est tenue horizontalement (pour empêcher toute interférence entre les réactifs des pages voisines) très près de l'échelle colorimétrique. Le temps de lecture est aux alentours de 60 secondes (60 à 120 secondes pour la détection de leucocytes).

- ❖ **pH** : Le pH urinaire varie normalement entre 4,5 et 8, avec une tendance à être plutôt acide aux alentours de 5,5 à 6,5. Un pH alcalin lors d'une infection urinaire suggère la présence d'une bactérie métabolisant l'urée et peut faire suspecter la présence d'une lithiase.
- ❖ **Glucose** : Le glucose est normalement filtré par le glomérule et réabsorbé en totalité dans le tubule proximal. La détection repose sur la réaction glucose oxydase/ peroxydase qui est spécifique au glucose.
- ❖ **Corps cétoniques** : Les corps cétoniques sont les produits du métabolisme des lipides et sont normalement absents dans l'urine. Le test est basé sur la réaction du nitroprussiate avec l'acétoacétate et l'acétone. Les corps cétoniques sont excrétés dans l'urine au cours de l'acidose diabétique, du jeûne, des vomissements ou d'un exercice intense.
- ❖ **Protéinurie** : La protéinurie est définie comme l'excrétion de protéines urinaires de plus de 150 mg par jour et est la caractéristique de la maladie rénale. L'indicateur vire du jaune au vert clair puis au vert foncé en présence de protéines par liaison avec les groupements aminés des protéines.



Figure 5 : Bandelettes urinaire.

2. Coloration du GRAM

La coloration de Gram est basée sur l'affinité tinctoriale différente des bactéries à certains colorants due à la constitution de leur paroi. Cette coloration permet aussi d'observer la morphologie des bactéries (formes allongées pour les bacilles et arrondies pour les cocci).

Le principe de la technique est le suivant : le cristal violet oxalaté colore la paroi de toutes les bactéries en violet, le lugol est un mordant qui fixe le violet, l'alcool acétone décolore les bactéries qui ont une membrane perméable à l'alcool, la fuschine colore en rose les bactéries décolorées par l'alcool, ainsi, les bactéries Gram négatif sont colorées en rose et les bactéries Gram positif en violet.

➤ **Jour 2 : Identification des bactéries et réalisation d'antibiogramme.**

3. Etude macroscopique des colonies

La première étape du diagnostic bactérien et du biotypage d'une souche est la description macroscopique des colonies isolées ; parfois cette étude nous permet de connaître le germe grâce à la présence de colonies typiques. Ainsi, l'aspect macroscopique a été étudié en déterminant la taille, la couleur, la consistance (muqueuse, sèche), l'allure (plate, bombée), le contour (net ou régulier) et l'opacité des colonies obtenus.

4. Identification biochimique des bactéries

Ce sont des tests biochimiques réalisés comme clés d'identification et qui sont :

✚ **Test catalase :**

A l'aide d'une pipette pasteur, une colonie est prélevée puis déposée sur une lame contenant une goutte de l'H₂O₂. La réaction se traduit par le dégagement de gaz en bulle (cas de catalase +).

✚ **Test oxydase :**

Ce test permet de mettre en évidence une enzyme (la phénylène diamine oxydase) à partir d'une culture bactérienne en milieu gélosé.

✚ **Test DNase :**

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 [28].

➤ **Interprétation :**

- L'identification du type des cocci Gram + est basée sur le test catalase. Si le test est négatif on constate que le microorganisme isolé est un *Streptococcus*, Si le test est positif on constate qu'il s'agit d'un *Staphylococcus*.

-Alors que l'identification du type bacille Gram - est basée sur le test oxydase. Si le test est négatif on constate que le microorganisme isolé est une Entérobactérie, sinon c'est une *Pseudomonas*.

-Pour le test DNase, si activité thermostable, on peut conclure à *Staphylococcus aureus* entérotoxique.

➤ **Galerie d'identification classique:**

La galerie est composée des différents milieux suivants (Figure 6,7):

✚ **Milieu citrate de Simmons :** Ce milieu est un exemple de milieu synthétique, c'est à dire un milieu dont la composition, qui est complexe, est connue exactement tant qualitativement que quantitativement. L'unique source de carbone dans ce milieu est le citrate (C₆H₅O₇³⁻). L'utilisation de ce substrat pour la plupart des bactéries pouvant le cataboliser est aérobie, et se traduira par une alcalinisation du milieu.

Lecture :

*Virage de l'indicateur de pH au bleu : il y a eu alcalinisation du milieu et la souche est citrate de Simmons +.

*Pas de virage de l'indicateur de pH : il n'y a pas eu alcalinisation et le milieu ne présente pas de culture. La souche est citrate de Simmons.

✚ Milieu urée indole

Tableau 6 : Test Urée indole

Technique :	Résultats :	
-Ce test permet d'hydrolyser l'urée. - Une suspension est réalisée en milieu urée-indole. - Incubation à 37°C pendant 24 heures.	Formation d'un anneau rouge : indole+	Absence d'anneau rouge : indole-

✚ Test ONPG.

Tableau 7 : Test ONPG.

technique	Résultats	
L'otonitrophénylgalactopyranoside (ONPG) est utilisée. - Une suspension épaisse de bactéries est réalisée en eau distillée. - Un disque d'ONPG est déposé dans cette suspension. - Incubation 30 min à 37°C puis lecture.	Milieu jaune : ONPG +	Milieu sans couleur : ONPG-

5. Antibiogramme

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée selon la technique de diffusion des disques en milieu gélosé et l'interprétation a été faite selon les normes du Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie (CA-SFM) (tableau8).

6.1. Techniques d'antibiogrammes par la méthode de diffusion en milieu gélosé

- **Préparation de culture fraîche** : Pour obtenir une culture jeune, il faut suspendre une colonie bien isolée, l'ensemencer sur une gélose nutritive et ensuite l'incuber pendant une durée entre 18-24 heures à une température de 37 °C.
- **Réalisation de l'inoculum** : Suite à la préparation du milieu non sélectif gélosé Mueller-Hinton, une dilution au 1/10 dans l'eau physiologique (0,9 % NaCl) est préparée et bien homogénéisée. Elle est équivalente au standard McFarland 0,5.

○ **Ensemencement de l'inoculum sur milieu gélosé :**

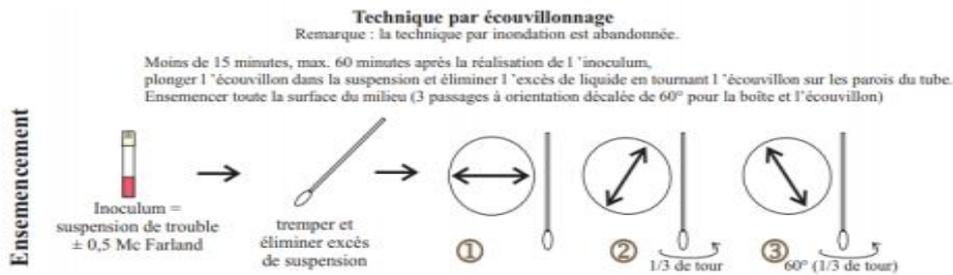


Figure 6: Ensemencement de l'inoculum par écouvillonnage.

- **Dépôt des disques :** Nous disposons de tubes à essai portant le nom de différents antibiotiques. Avec la pince fine, on prend une pastille de papier filtre et on la trempe dans un des tubes à essai puis on dépose sur la gélose en suivant le schéma ci-contre (Figure 7):

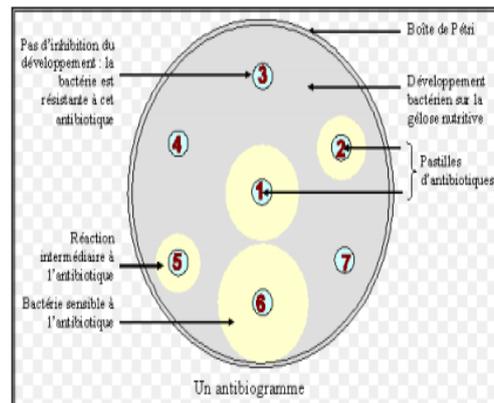


Figure 7: Schéma représentant un antibiogramme.

5.2. Lecture des antibiogrammes

➤ **Jour 3 : lecture d'antibiogramme.**

On fait la lecture de l'antibiogramme, en mesurant le diamètre de chaque zone d'inhibition en mm.

Les résultats des antibiogrammes sont exprimés sous forme de catégories cliniques retenues pour l'interprétation des tests de sensibilité in vitro et qui sont: Sensible(S), Résistant(R), Intermédiaire (I) (**Figure 8**).

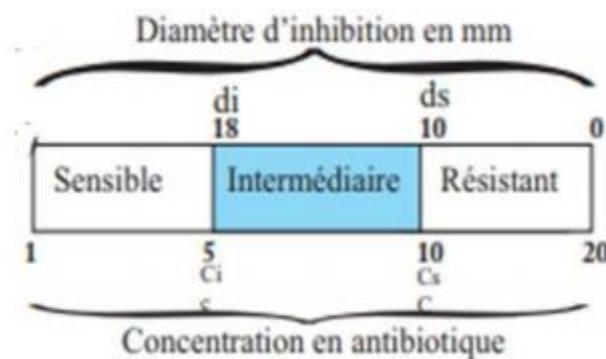


Figure 8 : classification selon les diamètres d'inhibitions.

Tableau 8 : Antibiotiques et leurs familles selon les normes du Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie (CA-SFM).

Classes	Antibiotiques	Abréviation	Charge de disque (µg)	Diamètre critique en mm (R<)	Diamètre critique en mm (S ≥)
Pénicillines	Amoxicilline	AMX	20	19	19
	Amoxicilline + Acide clavulanique	AMC	20/10	19	19
	Ticarcilline	TIC	75	20	23
Carbapénèmes	Ertapénème	ERT	10	22	25
	Imipénème	IMP	10	16	22
Céphalosporines	Ceftazidime	CAZ	10	19	22
	Cefotaxime	CTX	5	17	20
	Ceftriaxone	CRO	30	22	25
Aminosides	Gentamicine	CN	10	14	17
	Tobramycine	TOB	10	14	17
	Amikacine	AK	30	13	16
Fluoroquinolones	Ciprofloxacine	CIP	5	24	26
	Levofloxacine	LEV	5	19	23
	Norfloxacine	NOR	10	19	22
Autres	Triméthoprimé/sulfaméthoxazole	SXT	1,25/23,75	11	14
	Nitrofurantoïne	F	100	11	11

Pour la colistine le diamètre d'inhibition ne permettent pas de détecter toutes les résistances acquises, ce qui impose de déterminer la CMI en cas d'utilisation thérapeutique

6.3. Recherche des β-lactamases à spectre étendu (βLSE)

La technique par diffusion est également utilisée dans le cadre de la recherche des βLSE. Pour cela on dépose sur la surface d'une gélose des disques d'amoxicilline-acide clavulanique (AMC) et des disques de bêtalactamines (céfotaxime, ceftazidime, céfépime et aztréonam). Les βLSE sont inhibées par l'acide clavulanique. On observe alors une synergie d'action entre les deux antibiotiques, donnant un aspect en "bouchon de champagne".

II. ETUDE RETROSPECTIVE

Le matériel de cette étude est un registre manuel des analyses des urines durant l'année 2018 où sont notés :

- ✓ La date de réception.
- ✓ Le service demandeur.
- ✓ Le nom du patient.
- ✓ Le sexe.
- ✓ Le résultat bactériologique.
- ✓ Le résultat de l'antibiogramme.

1. Fiche (Figure 9)

➤ RÉSULTATS ET DISCUSSION

Etude rétrospective et prospective

I. Taux de l'infection urinaire

Sur les 1002 ECBU; 120 se sont révélés positifs, soit 12% ; et 881 se sont révélés négatifs, soit 88% durant l'année 2018.

De même sur les 221 ECBU traités pendant notre période de stage, 29 se sont révélés positifs, soit 13%; et 192 se sont révélés négatifs, soit 87% (Figure 10).

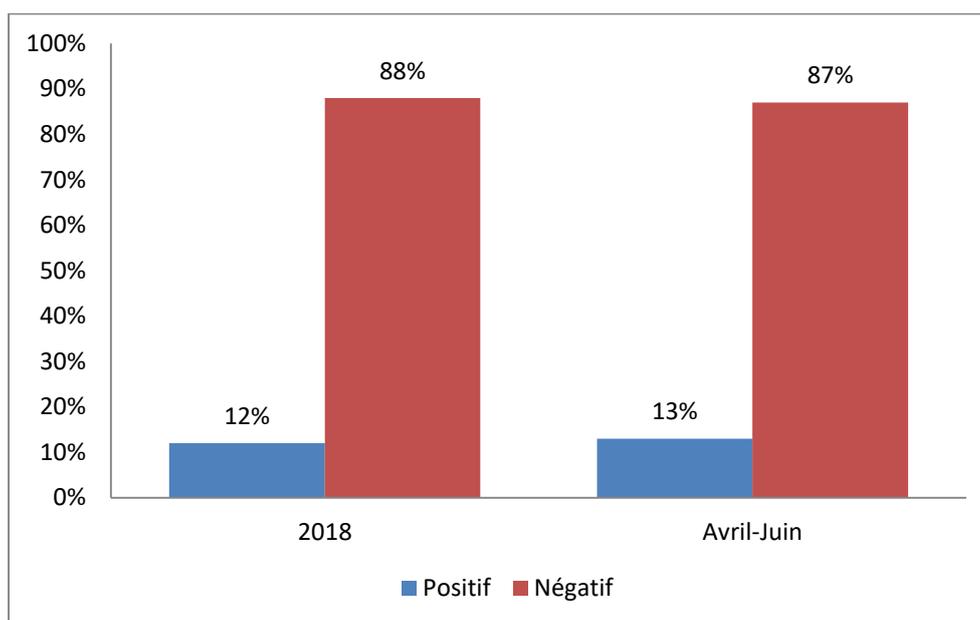


Figure 10: Pourcentage des ECBU positifs et négatifs retrouvé par le laboratoire de CHP Med V Meknès durant l'année 2018 et les deux mois de stage.

L'ECBU est prescrit dans le cadre d'une symptomatologie urinaire, mais le plus souvent il est fait de manière systématique dans le cadre d'un bilan général, urine sans symptomatologie urinaire, ce qui explique le grand nombre d'ECBU négatif. Dans notre série 87-88% des ECBU se sont révélés négatifs.

Nos résultats ont été comparés à d'autres études (**DRICI Hanane, LATRECHE Mounira 2017**), et qui ont montré que parmi les 256 prélèvements d'ECBU effectués, 40 se sont révélés positifs ce qui représente un pourcentage de 15.63%, tandis que 161 prélèvements sont déclarés négatifs avec un taux significatifs de 62.89 % . Ce qui est en accord avec nos résultats [26].

II. Caractéristique de la population étudiée

1. Etude de l'infection urinaire selon le sexe

Sur 121 ECBU positifs de l'année 2018 on a trouvé que 83 sont de sexe féminin, soit 68%, alors que 38 sont de sexe masculin, soit 31%.

Sur 29 ECBU positif analysés pendant deux mois on a trouvé que 19 sont de sexe féminin, soit 65%, et que 10 sont de sexe masculin, soit 34% (**Figure 11**).

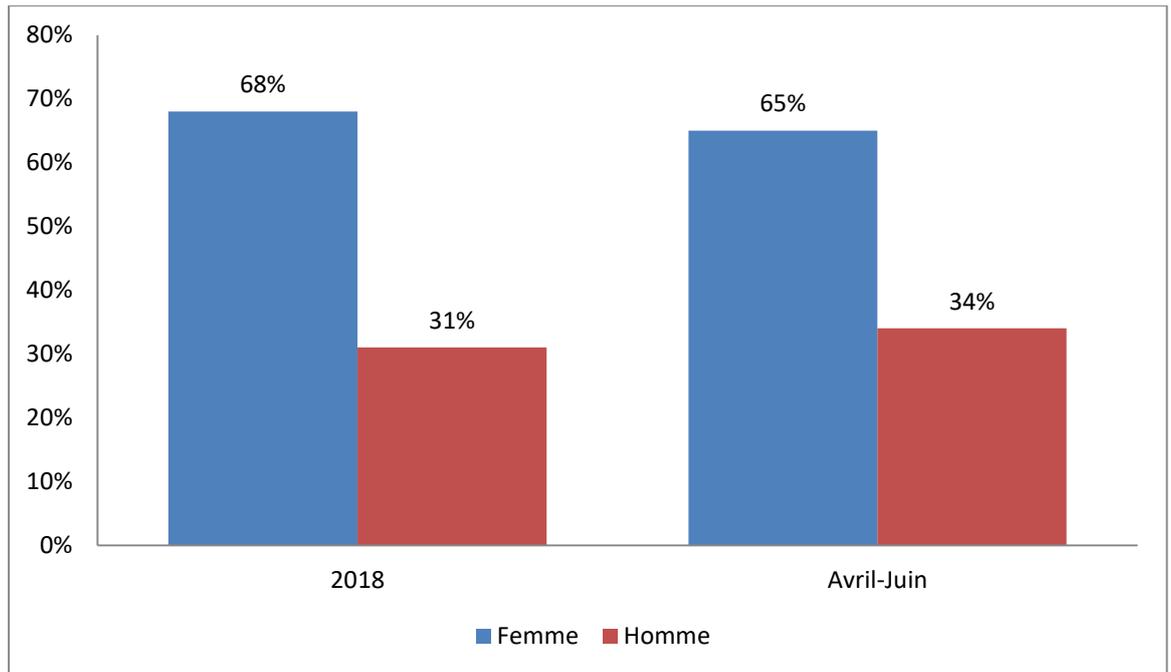


Figure 11: Répartition de l'infection urinaire selon le sexe au niveau du laboratoire CHP Med V durant l'année 2018 et les deux mois de stage.

On remarque que les sujets de sexe féminin sont plus touchés. Par l'infection urinaire par rapport aux sujets de sexe masculin. Ce résultat confirme les données de la littérature et s'explique aussi par la prédisponibilité anatomique et physiologique de la femme, la rendant sujet à risque aux infections urinaires plus que les hommes [27]. En effet l'anatomie et la physiologie de la femme est particulière ; elle se caractérise par

- la courte taille de l'urètre chez la femme.
- 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.
 - l'orifice vaginal chez la femme est proche de l'orifice urétral.
 - certaines habitudes d'hygiène (douche vaginale) qui permettent de déséquilibrer la flore bactérienne habituelle du vagin [28].
- Cette prédominance féminine est confirmée par une étude réalisée au centre hospitalier Lyon-sud en France qui a trouvé une fréquence d'IU de 84,6% chez les femmes et de 15,4% chez les hommes [29]. Ainsi une autre étude est menée en Tunisie, au laboratoire de microbiologie du CHU La Rabta a montré une prédominance féminine de 75,9% contre 24,1% chez les hommes [30].

2. Etude de l'infection urinaire par rapport au service demandeur

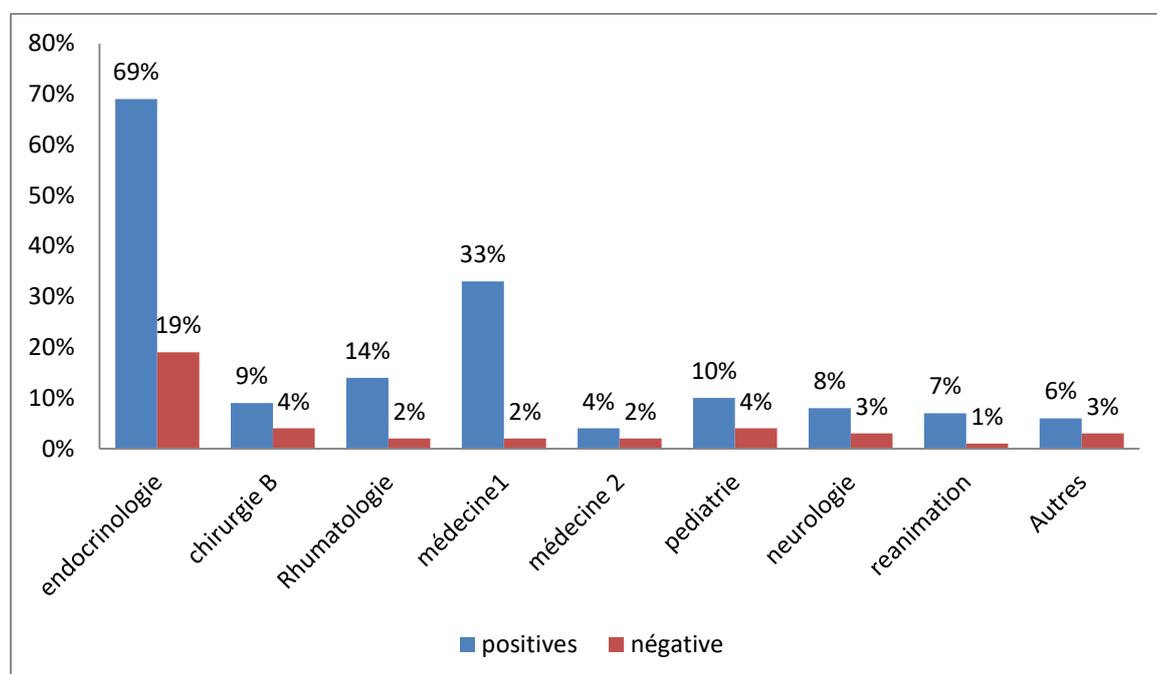


Figure 12: Distribution des ECBU positifs selon les différents services.

77% ECBU positifs proviennent des différents services hospitaliers.

Les services les plus touchés sont : l'endocrinologie avec un taux de 69%, médecine 1 avec 33%, rhumatologie avec 14%, pédiatrie avec 10%, chirurgie B avec 9%, les services restants ont un taux inférieur à 6% chacun (**Figure 12**).

III. Etude de l'écologie bactérienne de l'infection urinaire

1. Etude selon l'espèce bactérienne

Sur 121 ECBU positifs, on a trouvé 80% d'*E.coli*, 17% de *K.pneumoniae*, et 3% de *Proteus mirabilis* durant l'année 2018.

Sur 29 ECBU positif de l'étude prospective, on a trouvé 73% d'*E.coli*, et 27% de *K.Pneumoniae* (Figure 13).

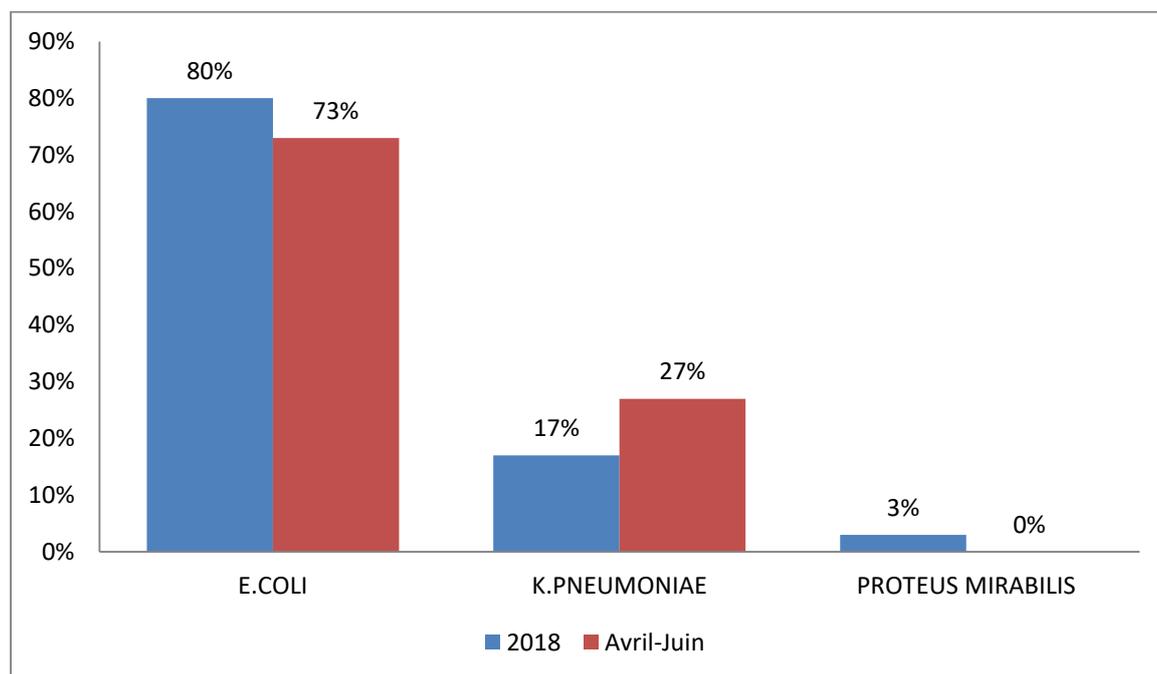


Figure 13: Répartition des germes urinaires au niveau du laboratoire CHP Med V Meknès durant l'année 2018 et durant les deux mois de stage.

D'après les résultats obtenus (Figure 13) nous avons trouvé que l'espèce *Escherichia coli* présente la fréquence la plus élevée avec pourcentage de 80% pour l'année 2018 et 73% pour les deux mois de stage, suivi par *Klebsiella* avec une fréquence de 17% durant l'année 2018 et 27% pour les deux mois de stage.

Ce qui montre que peu importe la période de l'étude, *E. Coli* domine les infections urinaires.

Nos résultats corroborent d'autres études en effet en comparant nos résultats à ceux d'une étude, réalisée dans un service d'urologie à l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech (2004 – 2006), selon ces derniers le pourcentage le plus élevé est de 66%. Il s'agit *E.coli*, suivi par le *Klebsiella* avec une fréquence de 11.91% [31].

E. Coli est aussi dominante chez les femmes que chez les hommes (Figure 14), ce qui peut être expliqué par le fait qu'*E.Coli* est une bactérie provenant du tube digestif, pénètre dans l'urètre puis dans la vessie et commence à se multiplier. C'est une infection habituellement ascendante, c'est à dire qu'elle est d'abord dans l'urètre (urétrite), puis remonte dans la vessie (cystite), et éventuellement jusqu'aux reins (pyélonéphrite).

2. Etude selon le sexe et l'espèce bactérienne

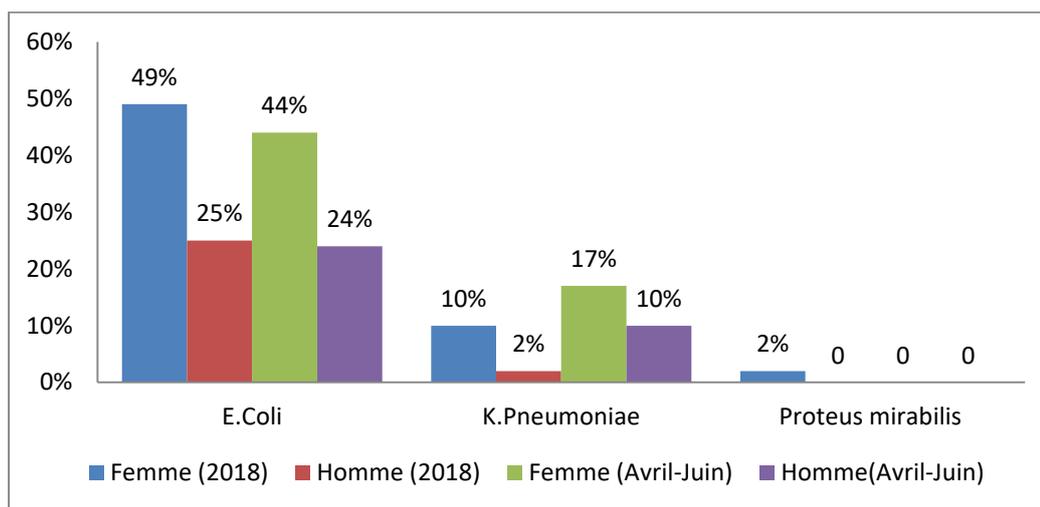


Figure 14 : Répartition des germes selon le sexe au niveau du laboratoire CHP Med V Meknès durant l'année 2018 et les deux mois de stage.

IV. Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries

1. Profil de résistance d'*Escherichia Coli*

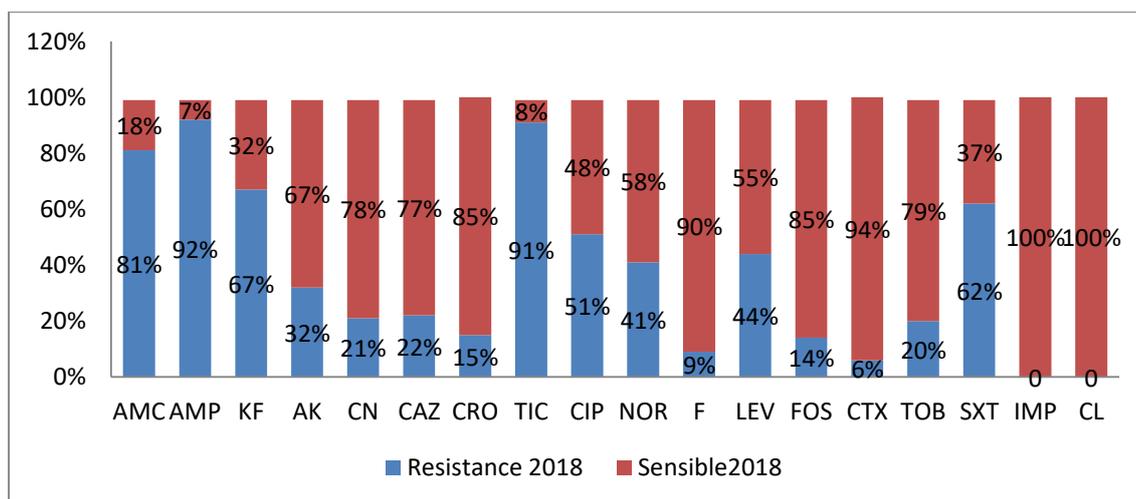


Figure 15 : Profil de résistance et de sensibilité d'E. COLI retrouvés dans les ECBU positifs par le laboratoire CHP Med V Meknès durant l'année 2018.

Le profile de résistance et de sensibilité d'E. Coli (**Figure 15**) montre que :

Escherichia coli est le germe le plus isolé dans les urines, il a montré une sensibilité très importante aux Carbapénèmes (Imipénème 100%), à la colistine 100%, aux céphalosporines (Céftazidimes 77%), aux Aminosides (Amikacine 67%, Gentamicine 78 %), ces antibiotiques peuvent être prescrits en première intention pour traiter l'infection.

Cependant, il y a une résistance légère aux Quinolones (Ciprofloxacine 51%, Norfloxacine 41%), et au Bactrim (SXT) 62%, et aux céphalosporines (céfotaxime

22%, Ceftriaxone15%) et très importante résistance aux Pénicillines (Ampicilline 92%, Amoxicilline-Acide Clavulanique 81%, Ticarcilline91%).

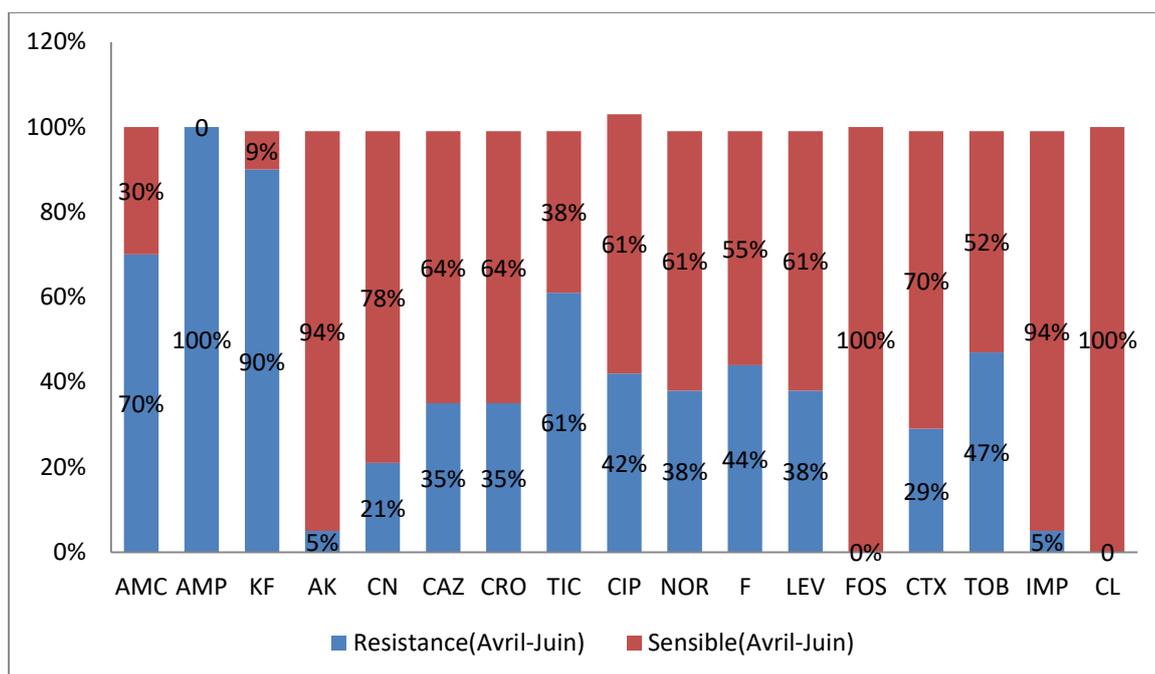


Figure 16: Profil de résistance et de sensibilité d'E.COLI retrouvés dans les ECBU positifs par le laboratoire CHP Med V Meknès durant les deux mois de stage.

Pour l'étude de deux mois (Avril-Juin) (Figure 16) montre :

Une sensibilité importante à la Colistine100%, au Carbapénèmes (Imipénème94%), et aux aminosides (Amikacine94%, Gentamicine78%). Et faible à l'aminoside (Tobramycine52%), et à la pénicilline (Amoxicilline-Acide clavulanique30%).

Cependant, il y a une résistance très importante aux pénicillines (Ampicilline 100%, Amoxicilline-Acide clavulanique70%, Ticarcilline61%) et légère aux céphalosporines (Céftriaxone35%, Céftazidime35%).

- Une récente étude menée en 2014 par El bouamri à l'hôpital militaire et universitaire Avicenne de Marrakech, sur le Profil de résistance aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli* uropathogènes et conséquences thérapeutiques, à révéler que : L'antibiorésistance des souches d'*E.Coli* a mis en évidence des taux moyens de résistance à l'Amoxicilline (65 %), au «SXT » (55 %), à l'AMC (43 %), à la Ciprofloxacine (22 %), à la gentamicine (14 %), aux Nitrofuranes (11 %), à l'Amikacine (8 %), à la Fosfomycine (7 %) et à l'imipénème (0 %) [32].

2. Profil de résistance du *Klebsiella pneumoniae*

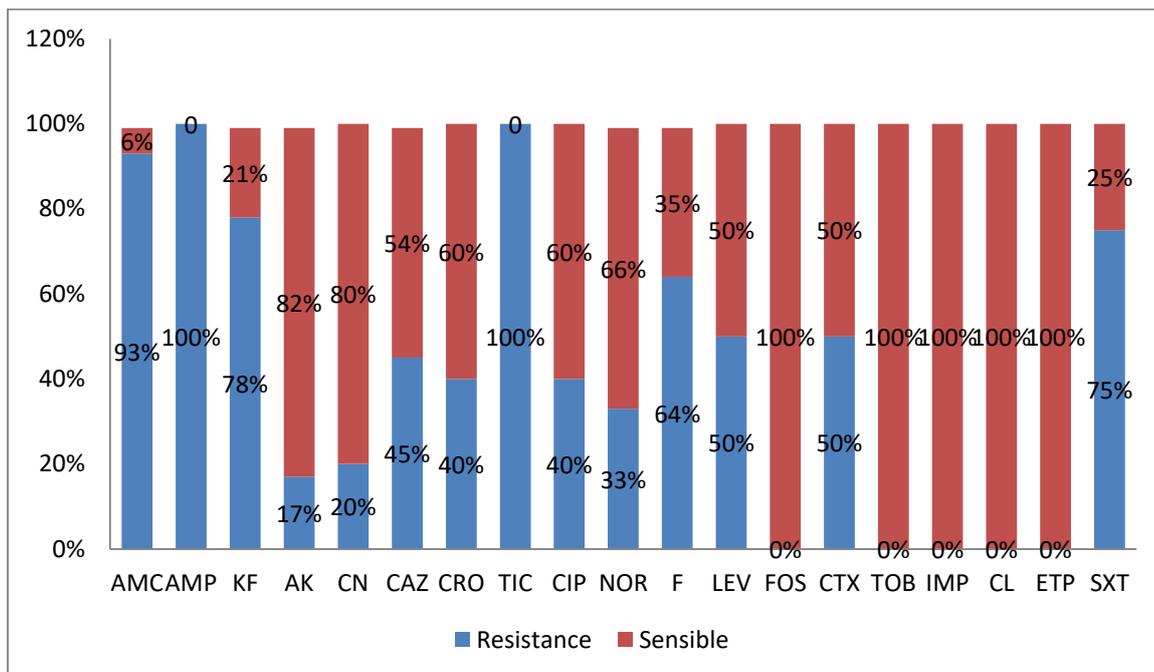


Figure 17: Profil de résistance de *K. pneumoniae* retrouvés dans les ECBU positifs par le laboratoire CHP Med V Meknès durant l'année 2018.

Les Klebsielles dont *K. pneumoniae* occupent le 2ème rang parmi les germes urinaires(**Figure13**).

Ce germe est sensible (**Figure 18**) aux Carbapénèmes (Imipénème 100%), à la colistine 100%, aux Aminosides (Amikacine 100%, Tobramycine 100%, Gentamicine 80%), il est moins sensible aux Quinolones (Ciprofloxacine 60%, Norfloxacine 66%). On remarque une légère résistance aux Céphalosporines (Céftriaxone 40%, Céfotaxime 45%), et une forte résistance aux Pénicillines (Ampicilline 100%, Amoxicilline-Acide clavulanique 93%).

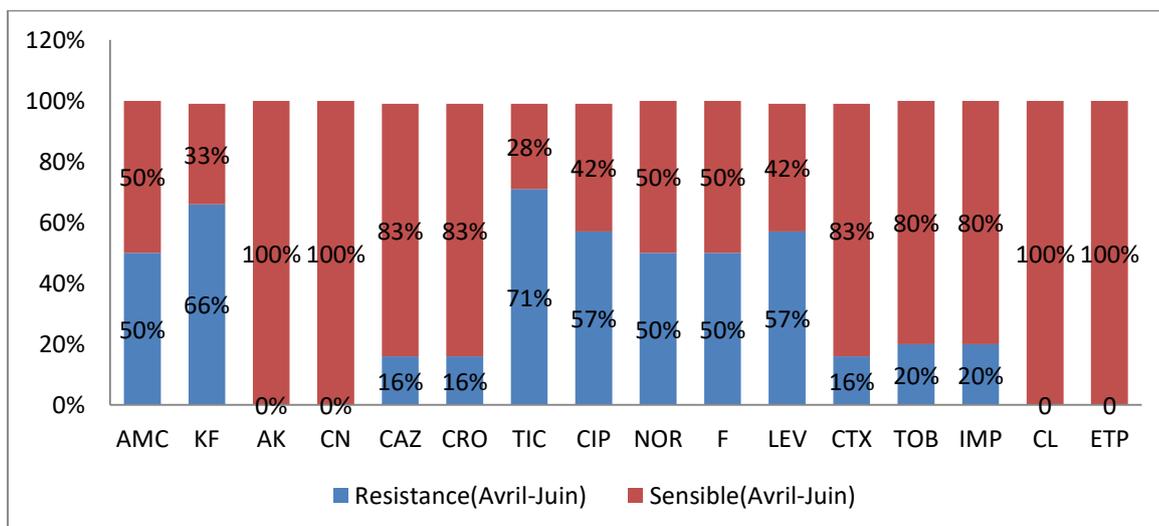


Figure 18 : Profil de résistance de *K. pneumoniae* retrouvés dans les ECBU positifs par le laboratoire CHP Med V Meknès durant les deux mois de stage.

Le profil de sensibilité et résistance de *Klebsiella* (**Figure 18**) montre que *Klebsiella* est naturellement résistante à l'ampicilline (Ticarcline 71%), et aux céphalosporines de 1^{ère} génération (KF : 66%), et faiblement résistant Amoxicilline-acide clavulanique 50%, alors qu'elle est sensible aux aminosides (AK : 100% ; CN : 100%, TOB : 80%), à L'IMP :(80%) et a la colistine (CL : 100%).

3. Profil de résistance du *Proteus mirabilis*

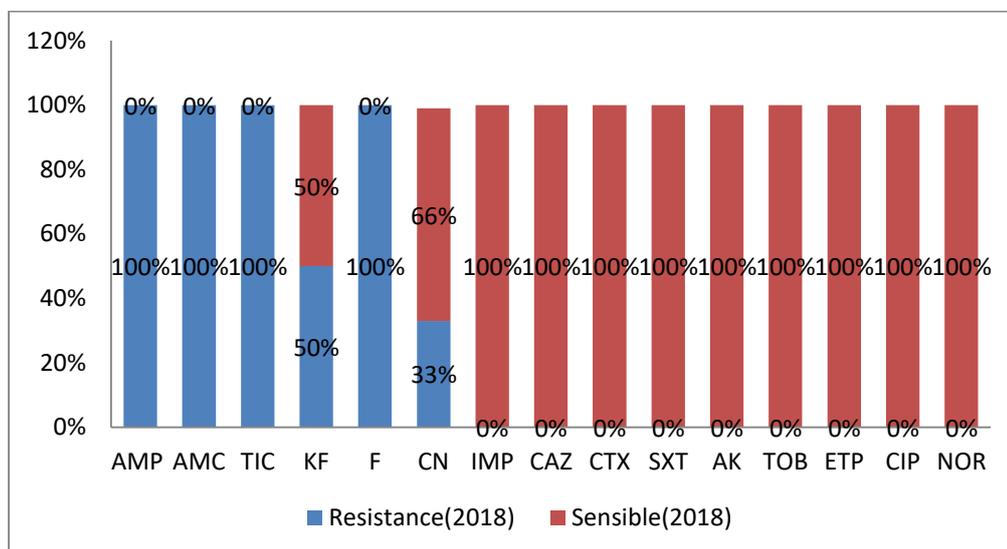


Figure 19 : Profil de résistance de *Proteus Mirabilis* retrouvés dans les ECBU positifs par le laboratoire CHP Med V Meknès durant l'année 2018.

Proteus mirabilis montre une bonne sensibilité aux Carbapénèmes (Imipénème 100%, ETP 100%), aux céphalosporines (Céfotaxime 100%, Céfotazidime 100%), aux Aminosides (Amikacine 100%, Tobramycine 100%), et faiblement résistante aux aminosides (Gentamycine 66%). On observe aussi une résistance très importante aux Pénicillines (Ampicilline 100%, Amoxicilline 100%, Ticarcilline 100%).

Discussion

Du fait de l'augmentation croissante des résistances acquises aux antibiotiques, l'antibiogramme doit être réalisé dans tous les cas d'infection urinaire ayant fait l'objet d'une prescription d'ECBU [33].

Les résultats montrent une résistance très élevée aux Pénicillines, relativement élevée aux Céphalosporines, et une bonne sensibilité aux Aminosides.

- ✓ L'Imipénème a fait preuve d'une excellente activité.

Ces variations d'activités sont dus à :

- la résistance naturelle de certaines espèces bactériennes, elle a pour support génétique le chromosome bactérien et elle permet de définir le spectre d'activité des antibiotiques. Ses mécanismes biochimiques sont nombreux [34].
- la résistance acquise qui résulte d'une modification du capital génétique permettant à une bactérie de tolérer une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce. Ce phénomène a atteint une telle ampleur que la seule identification bactérienne ne permet plus de prédire le comportement d'une souche isolée vis-à-vis des antibiotiques [34]. Cas des bactéries BLSE (β -lactamase à spectre étendue). en effet certains genres bactériens (dont principalement *E. coli*, *Klebsiella*) produisent une enzyme, la pénicillinase (β -lactamase) qui hydrolyse les pénicillines A, ce qui explique la résistance élevée à ces antibiotiques.

Conclusion

Les infections urinaires sont fréquentes pour les traiter, les médecins s'appuient sur le résultat de l'examen cyto bactériologique des urines (ECBU).

Cette examen consiste à réaliser un examen microscopique qui permet l'estimation de la réaction leucocytaire, l'isolement, l'identification des bactéries infectantes et l'étude de leur sensibilité vis-à-vis des antibiotiques.

Nos résultats ont montrés que :

- Le taux de positivité d'ECBU est de l'ordre de 12% durant l'année 2018 et 13% durant les deux mois de stage.
- 68% durant l'année 2018 de ce taux est représentée par des sujets de sexe féminins et 65% pendant les deux mois de stage.
- Les entérobactéries, occupent une grande partie des germes en cause avec au 1er rang l'espèce *E. coli* (80%), suivie par *Klebsiella pneumoniae* (17%), et *Proteus mirabilis*(3%) durant l'année 2018, et aussi durant ces deux mois de stage toujours *E. COLI* représente (73%), et *Klebsiella pneumoniae* (27%).
- La plupart des germes ont montré une résistance élevée aux pénicillines, relativement élevée aux céphalosporines, et une sensibilité très importante à l'Imipénème.

Références Bibliographiques

- [1] DAOUDI, I. (2014). Etude de l'anti bio-résistance des souches bactériennes à l'origine des infections urinaires à l'EHP. mémoire de master, Ouargla.
- [2] FRANCOIS, A. Infections urinaires. [En ligne] Département de médecine communautaire. Genève, 2013, p 09.
- [3] : <http://www.doctissimo.fr/html/sante/atlas/fiches-corps-humain/appareil-urinaire.htm>
- [4] AFSSAPS : AGENCE FRANCAISE DE SECURITE SANITAIRE DES PRODUITS DE SANTE, Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires du nourrisson et de l'enfant, Février 2007.
https://apimedpl.org/contenu/uploads/2019/12/Infections_urinaires_Afssaps_arg_2007_tt_inf_urinaires_enf.pdf (Consulté Mai 2021).
- [5] Lobel, B., & Soussy, C. (Eds.). (2007). Les infections urinaires. Springer science & Business media.
- [6] DAOUDI, I. (2014). Etude de l'anti bio-résistance des souches bactériennes à l'origine des infections urinaires à l'EHP. mémoire de master, Ouargla.
- [7] Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (Afssaps). Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires chez l'adulte. Recommandations de bonne pratique, 2008. <http://www.mobiquial.org/risques-infectieux/PDF/urinaire-incontinence/Traitement-Infections-Urinaires-Diagnostic-Argumentaire-AFSSAPS-2008.pdf> (Consulté Mai 2021)
- [8] Butreau-Lemaire, M., & Botto, H. (1997). Infections urinaires nosocomiales. Progrès en urologie (Paris), 7(4), 674-682.
- [9] Foxman, B. (2002). Épidémiologie des infections d'appareil urinaire : incidence, morbidité, et coûts économiques. The American journal of medicine, 113(1), 5-13.
- [10] INVS, Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, France, mai-juin 2012.
<https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/infections-associees-aux-soins-et-resistance-aux-antibiotiques> (Consulté Mai 2021).
- [11] Luce Pélessier-Simard, 2006; Révision médicale, M.D., M.Sc. épidémiologie, Université de Sherbrooke. www.passeportsante.net/fr/ (Consulté Mai 2021).
- [12] J.P.Lavigne - Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes - Octobre 2005
www.med.univ-montp1.fr/
- [13] Hortense GONSU KAMGA - Médecin biologiste - EXAMEN CYTO-BACTERIOLOGIQUE DES URINES - FMSB / CHUY.
- [14] Niang, O. (2003). Validation d'une microméthode d'identification des bacilles à Gram négatif non fermentaires (Doctoral dissertation, Thèse Pharm., Dakar).
- [15] Edward PR, E. W. (1977). Identification of the Enterobacteriaceae. Burgess Minneapolis.

- [16] Farmer 3rd, J. J., Davis, B. R., Hickman-Brenner, F. W., McWhorter, A., Huntley-Carter, G. P., Asbury, M. A., ... & Fanning, G. R. (1985). Biochemical identification of new species and biogroups of Enterobacteriaceae isolated from clinical specimens. *Journal of clinical microbiology*, 21(1), 46-76
Identification biochimique de nouvelles espèces et de biogroupes d'Enterobacteriaceae isolés à partir d'échantillons cliniques | Journal de microbiologie clinique (asm.org)/ (Consulté Mai 2021)
- [17] Boone, D. R., Castenholz, R. W., & Garrity, G. M. (2001). Vol. 1: The Archaea and the deeply branching and phototrophic bacteria. Springer, New York Manuel de Bergey de bactériologie systématique | Titel (wur.nl)/ (Consulté Mai 2021).
- [18] Sougakoff, W., & Trystram, D. (2003). Résistances aux β -lactamines. Université Pierre et Marie Curie. Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière, 31-46 www.eao.chups.jussieu.fr / (Consulté Mai 2021).
- [19] Zogheib, E., & Dupont, H. (2005). Entérobactéries multirésistantes. Conférences d'actualisation, 153-165.
- [20] Caruba, T., & Jaccoulet, E. (2012). Pharmacologie et thérapeutiques. Elsevier Health Sciences France. <https://www.sciencedirect.com/book/9782294746345/pharmacologie-et-therapeutiques/> (Consulté Mai 2021).
- [21] Buxeraud, J., & Faure, S. (2016). Various antibiotics. ACTUALITES PHARMACEUTIQUES, 55(558), 24-27
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0515370016302701> / (Consulté Mai 2021).
- [22] S., H. (2002). résistance aux antibiotiques:mécanisme et évolution. thèse doctorat, université mohammed V faculté de médecine et de pharmacie, rabat.
- [23] Weiss, K. (2002). La résistance bactérienne: la nouvelle guerre froide. *Le médecin du Québec*, 37(3), 41-49.
- [24] Moroh, J. L. A. (2013). Résistance bactérienne et phytomolécules antimicrobiennes issues de *Morinda morindoides* (Doctoral dissertation, Université de Bretagne occidentale-Brest)
<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00935393/> (Consulté Mai 2021).
- [25] <file:///C:/Users/sofia/Desktop/pfe/ens.pdf>.
- [26] DRICI, H., & LATRECHE, M. (2017). Contribution à l'étude des bactéries responsable d'infections urinaires au niveau de l'hôpital de Bouira et suspicions de résistance aux antibiotiques (Doctoral dissertation, Université de Bouira).
- [27] Débré, B. (1992). *Abrégé d'urologie.*, Masson.
- [28] Thierry Flam 2000-20093UropageFrance
- [29] Girard, R., de Montclos, M., Bournaud, C., & Orgiazzi, J. (2006). Dépistage des bactériuries à l'admission chez les patients diabétiques: peut-on abandonner les examens cytotactériologiques urinaires systématiques?. *Médecine et maladies infectieuses*, 36(4), 219-222
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0399077X06000515> / (Consulté Juin 2021).
- [30] Larabi, K., Masmoudi, A., & Fendri, C. (2003). Étude bactériologique et phénotypes de résistance des germes responsables d'infections urinaires dans un CHU de Tunis: à propos de 1930 cas. *Médecine et maladies infectieuses*, 33(7), 348-352
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0399077X0300180X> / (Consulté Juin 2021).

- [31] CHAFAI, N. (2008). Les infections urinaires a l'hôpital militaire avicenne de marrakech (2004–2006) (Doctoral dissertation) <http://ao.um5.ac.ma/jspui/handle/123456789/14568/> (Consulté Juin 2021).
- [32] CHAFAI, N. (2008). Les infections urinaires a l'hôpital militaire avicenne de marrakech (2004–2006) (Doctoral dissertation) <http://ao.um5.ac.ma/jspui/handle/123456789/14568/> (Consulté Juin 2021).
- [33] Dupeyron, C. (1999). Examen cyto bactériologique des urines. Développement et Santé, (141), 2. www.ledamed.org/IMG/html/doc-10840.html / (Consulté Juin 2021).
- [34] Euzeby, J. P. (2010). Abrégé de Bactériologie Générale et Médicale à l'usage des étudiants de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. Le texte original est librement disponible sur: <http://www.bacteriologie.net/generale/resistancenaturelle.Html>.