
République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique

Centre Universitaire Belhadj Bouchaib d'Ain-Temouchent



Institut des Sciences

Département des sciences de la nature et de la vie

Mémoire

Pour l'obtention du Diplôme de Master en Sciences biologiques

Option : Microbiologie appliquée

Présenté par :

BENKHEIRA Chahinez

BOUANANI Tarek

BENNAFLA Bochra

L'antibiorésistance des souches *Escherichia coli* isolées à partir des infections urinaires chez l'adulte

Encadrante :

Dr Y. AHMED AMMAR OUADAH

(M.C.B)

CUBBAT

Soutenu en 2020

Devant le jury composé de :

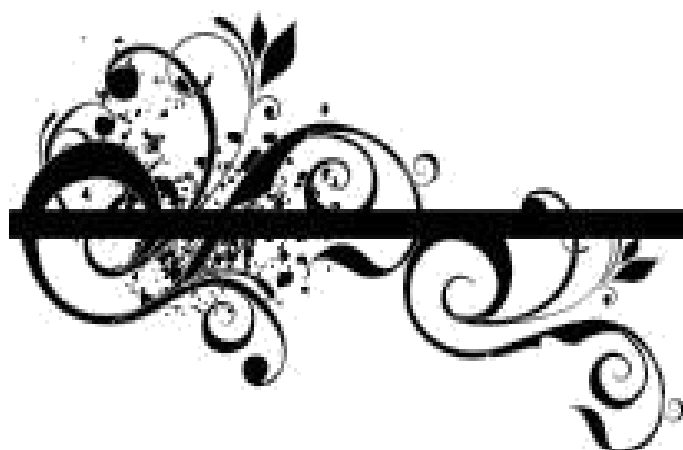
Présidente : Mme. DERRAG Zineb (M.C.B) C.U.B.B.A.T.

Examinatrice : Mme. MADANI Khadidja (M.A.A) C.U.B.B.A.T.

Encadrante : Mme. Y. AHMED AMMAR OUADAH (M.C.B) C.U.B.B.A.T.



REMERCIEMENT



Au terme de ce travail du mémoire de master, les mots justes sont difficiles à trouver pour exprimer nos remerciements à "Allah", le tout puissant, qui nous a accordé le courage afin de nous permettre d'élaborer ce modeste travail. Merci pour tous ces bienfaits autour de nous et pour la direction de notre vie.

Un très grand merci à l'endroit de notre encadreur Mme Ouadah pour l'effort fournis.

Nous sommes sans voix face à sa disponibilité, sa gentillesse, sa confiance et le fait qu'elle nous ait fait profiter de son expérience et prodiguer de précieux conseils tout au long de la réalisation de ce travail.

Nos vifs remerciements pour les membres du jury à commencer par Mme. Derrag Zineb (M.C.B) qui nous a fait l'honneur de présider notre jury.

A Mme. Madani Khadidja (M.A.A) d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Nous adressons également nos remerciements, à tous nos enseignants, qui nous ont données les bases de la science.

Dédicace

Au nom d'Allah le plus grand merci lui revient de nous avoir guidé vers le droit chemin.

A mes chers parents ; symboles de sacrifice, de tendresse d'amour. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

A mes chères sœurs : Chaima, Sihem. Je vous remercie pour tous, que dieu vous préserve pour moi.

A mes chers frères : Ali, Abd el Rahman.

A ma très chère voisine Amina pour l'encouragement

A tous ma famille maternelle et paternelle.

Aussi beaucoup d'autres personnes que je n'ai pas eu l'occasion de les mentionner.

A Mon trinôme Bochra et Tarek.

Chahinez.

Je dédie ce mémoire

A mes chers parents que je ne remercierai jamais assez pour tous les sacrifices, leur confiance, leur soutien, et toutes les valeurs qu'ils ont su m'inculquer.

Mon très cher frère Houari pour sa compréhension et sa patience.

A mes chères sœurs Nadia, Marwa et Imène.

A toute ma famille et aussi à beaucoup d'autres personnes que je n'ai pas eu l'occasion de les mentionner.

A mon trinôme Chahinez et Tarek.

Bochra.

*Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donné
la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée
pour mon bonheur et ma réussite, à ma mère.*

*A mon père qui m'encourage toujours dans ma vie et
son soutient tout au long des années d'étude.*

A mes chères sœurs Ibtissem, Yasmine et Nesrine.

A mon très cher frère Chiheb et ma belle-sœur Sara

A toute ma famille

A mon trinôme Chahinez et Bochra.

Tarek.

Nous dédions aussi à remercier nos très chers amis Akram, Sid Ahmed, Nadjib, Abd El Ilah et Seif Eddine pour leurs soutiens et leurs encouragements.

Table Des matières

Page

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction	1
I. Synthèse bibliographique	2
Chapitre I : Infections urinaires	3
1.Rappel anatomo-physiologique de l'appareil urinaire	4
1.1. Rappel anatomique de l'appareil urinaire	4
1.2. Rappel physiologique de l'appareil urinaire	5
1.2.1. Les reins	5
1.2.2. La vessie	5
1.2.3. L'urètre	5
2.Physiopathologie des infections urinaires	5
2.1. Définition des infections urinaires	5
2.2. Origine des infections urinaires.....	6
2.2.1. Infections endogènes	6
2.2.2. Infections exogènes	6
2.3. Les voies de contamination	6
2.3.1. La voie ascendante	6
2.3.2. La voie descendante ou hématogène	6
2.3.3. Facteurs favorisants.....	7
3.Les types des infections urinaires.....	7
3.1. Cystite.....	7
3.2. Pyélonéphrite.....	7
3.3. Prostatite.....	7

3.4. Infections urinaires nosocomiales	8
4. Les germes responsables des infections urinaires	8
4.1. <i>Escherichia coli</i>	8
4.1.1. Historique	8
4.1.2. Définition	8
4.1.3. Caractères bactériologiques.....	9
4.1.4. Caractères moléculaires.....	9
5. Diagnostic des infections urinaires	10
5.1. Examen cyto bactériologique des urines(ECBU).....	10
5.1.1. Examen macroscopique.....	10
5.1.2. Examen microscopique	10
5.1.2.1. Cytologie	10
5.1.2.2. Bactériologie	10
5.2. Bandelette urinaire	10
6. Traitement des infections urinaires chez l'adulte	12
7. Prévention.....	13
Chapitre II : Antibiorésistance	14
1. Définition.....	15
2. Les types (modes).....	15
2.1. La résistance naturelle	15
2.2. La résistance acquise	15
2.3. Les supports génétiques de la résistance	16
2.4. Les mécanismes de résistance	17
3. Les techniques utilisées pour étudier l'antibiorésistance.....	17
3.1. Mesures de CMI.....	17
3.2. E-test.....	18
3.3. L'antibiogramme	18

3.4. Des outils moléculaires comme PCR	19
4. Antibiorésistance des souches <i>E. coli</i> isolées à partir des infections urinaires chez l'adulte dans le monde	19
Partie expérimentale	22
II. Matériels et méthodes	23
1. Lieu et durée de travail	24
2. Matériel	24
2.1. Matériel biologique	24
2.2. Appareillage et petit matériel	24
2.3. Réactifs	24
2.4. Milieux de culture utilisés	24
3. Méthodes	24
3.1. Examen cyto bactériologique des urines	24
3.1.1. Examen macroscopique	25
3.1.2. Examen microscopique	25
a. Cytologie	25
b. Coloration de Gram	26
3.1.3. Uroculture	26
3.1.4. Identification par la galerie biochimique classique	27
a. Milieu Urée indole	27
b. Milieu TSI	28
c. Test de l'ONPG	29
d. Test de la catalase	29
e. Test d'oxydase	30
f. Milieu mannitol mobilité	30
3.2. Antibiogramme	31
III. Résultats et discussion	34

1. Identification bactériologique	35
2. Identification par la galerie biochimique classique.....	36
a. Milieu urée indole.....	36
b. Milieu TSI	36
c. Test de l'ONPG.....	37
d. Test de la catalase.....	37
e. Test de l'oxydase.....	38
f. Milieu mannitol mobilité	38
3. Distribution globale des ECBU.....	38
4. Répartition du nombre des souches isolées en fonction du sexe.....	39
5. Antibiogramme.....	41
5.1. Profil de résistance aux antibiotiques des souches <i>E. coli</i> isolées	41
5.2. Profil des résistances aux antibiotiques des souches <i>E. coli</i> en fonction du sexe.....	43
5.3. La multirésistance des souches résistantes.....	44
Conclusion et recommandations	45
Références bibliographiques	48
Annexes	53
Résumé	64

Liste des abréviations

▪ A

- **AUC**: Area under the curve
Air sous la courbe

- **ADH** : Arginine Dihydrolase

▪ B

- **BLSE** : β -lactamase à spectre
- **BU** : Bandelette Urinaire
- **BLSE** : Bêtalactamases à Spectre Elargi

▪ C

- **CA** : Cystite aigüe
- **CS** : Citrate de Simmons
- **CMI** : Concentration minimale d'inhibition

▪ E

- **ECBU** : Examen Cytobactériologique des Urines
- ***E. coli*** : *Escherichia coli*

▪ G

- **GN** : Gélose Nutritive
- **GEL** : Gélatine de Kohn

▪ H

- **H₂S** : Sulfure d'Hydrogène

▪ I

- **IR** : intégrons de résistance
- **IU** : Infection Urinaire
- **IND** : Indole
- **IV** : intraveineuse
- **IUN** : Infection Urinaire Nosocomiale
- **IS** : Séquences d'Insertion

▪ K

- **K_{pb}** : kilos paire de base

▪ L

- **LDC** : Lysine Décarboxylase

- **N**

- **NIH** : National Institutes of Health (Institut National de santé).

- **O**

- **ONPG**: Ortho-Nitro-Phenyl- β -D- Galactopyranoside.
- **ODC** : Ornithine Décarboxylase
- **OMS** : Organisation Mondiale de la santé

- **P**

- **PNA** : la pyélonéphrite aiguë
- **PCR** : Polymérase chaîne réaction
- **PO** : Par Ordre

- **T**

- **TDA** : Tryptophane Désaminase
- **TSI** : Triple Sugar Iron.
- **TDA** : Tryptophane Désaminase

- **U**

- **U.I.V** : Urographie Intraveineuse
- **Ure** : Uréase

- **V**

- **VP** : Voges Proskauer (réaction)
- **VPN** : Valeur Prédictive Négative
- **VPP** : Valeur Prédictive Positive

Liste des figures :

Figure N°	Titre	Page
01	Appareil urinaire de l'homme.	4
02	Appareil urinaire de femme.	4
03	Les trois modes de transmission du matériel génétique : la conjugaison, la transformation et la transduction chez les bactéries.	16
04	Exemples des mécanismes de résistance acquise aux antibiotiques.	17
05	Exemple de détermination de la CMI d'un antibiotique par dilution.	18
06	Coloration de GRAM.	26
07	Les disques d'antibiotiques sur la gélose Mueller Hinton.	32
08	Aspect des souches <i>E. coli</i> sur milieu Hektoen.	35
09	Aspect du test uréase négatif.	36
10	Aspect de test indole positif.	36
11	Aspect du test TSI positif.	37
12	Aspect du test ONPG positif.	37
13	Test de catalase positif <i>Escherichia coli</i> .	37
14	Test Oxydase négatif.	38
15	Aspect du test mannitol-mobilité positif.	38
16	Distribution global des ECBU.	39
17	Distribution des souches isolées en fonction du sexe.	40
18	Profil de résistance aux antibiotiques des souches <i>E. coli</i> isolées.	41
19	Profil de résistance des souches <i>Escherichia coli</i> isolées chez l'homme.	43
20	Profil de résistance des souches <i>Escherichia coli</i> isolées chez la femme.	43

Liste des tableaux

Tableau N°	Titre	Page
01	Caractères bactériologiques d' <i>Escherichia coli</i> .	9
02	Antibiothérapie empirique, alternative en cas d'allergie et durée totale de l'antibiothérapie.	12
03	Test d'urée-indole.	27
04	Test TSI.	28
05	Test ONPG.	29
06	Recherche de catalase.	29
07	Recherche d'Oxydase.	30
08	Etude de la dégradation de mannitol (test de mannitol mobilité).	30
09	Antibiotiques utilisés pour l'antibiogramme.	33
10	Multi résistance des souches <i>E. coli</i> isolées.	44



INTRODUCTION



L'infection urinaire correspond à la présence de germe anormal dans l'urine. Elle regroupe à la fois la colonisation ou bactériurie asymptomatique et l'infection du tractus urinaire. **(Vorkauer. S. 2011).**

Les infections urinaires arrivent au second rang derrière les infections respiratoires dans la pathologie communautaire. **(Kouta. K. 2009).** Elles sont essentiellement identifiées chez l'adulte dans les deux sexes. Elles occupent une place importante parmi les motifs de consultation. **(Martin .C et al., 2002).**

La majorité des infections urinaires ont une origine bactérienne et les germes les plus fréquemment rencontrés sont les entérobactéries, et *Escherichia coli* en particulier. Son abondance dans l'intestin, sa mobilité, la rapidité de sa multiplication, l'acquisition fréquente de mécanismes de résistance aux antibiotiques, expliquent qu'elle soit parmi les bactéries les plus souvent impliquées en pathologie infectieuse humaine. **(Brahimi. L. 2013)**

L'antibiorésistance croissante des bactéries impliquées dans les IU limite le choix des antibiotiques et représente une réelle menace pour la santé publique, d'où l'importance d'une bonne investigation bactériologique dans ce type d'infection et le choix d'une antibiothérapie adaptée. **(Zahir. H. 2017).**

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS) 700000 personnes dans le monde meurent chaque année en raison d'infections résistantes aux antibiotiques et, si aucune mesure n'est prise, on estime que ces infections tueront 10 millions de personnes par an d'ici 2050 ; ce qui justifie une surveillance régionale périodique de l'efficacité de ces médicaments.

A ce titre, nous avons mené notre étude qui a pour objectif de déterminer le profil d'antibiorésistance des souches *E. coli* isolées à partir d'infections urinaires des sujets adultes au niveau de l'hôpital d' Ain Temouchent.



SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE





CHAPITRE I : INFECTIONS
URINAIRES



1.Rappel anatomo-physiologique de l'appareil urinaire chez l'adulte :

1.1- : Rappel anatomique de l'appareil urinaire :

L'appareil urinaire comprend : la vessie (réservoir des urines), le rein (qui fabrique l'urine), les uretères, l'urètre (canal situé sous la vessie qui permet l'évacuation des urines), et la prostate (glande située autour de l'urètre de l'homme) (Fig.1). Pour des raisons anatomiques, l'IU est plus fréquente chez la femme. En effet, chez la femme, le méat urinaire est proche de l'anus où sont toujours présentes des bactéries (Fig.2). Ces bactéries peuvent remonter le long de l'urètre vers la vessie et proliférer dans l'urine. Un défaut d'hygiène locale peut donc favoriser les IU de la femme. L'homme est relativement protégé des IU par la distance qui sépare l'anus de son méat urinaire, orifice situé à l'extrémité du gland (la longueur de l'urètre masculin est en moyenne de 16 cm, alors que celle de l'urètre féminin est de 2 cm). L'IU est donc plus souvent chez lui, la traduction d'une anomalie au niveau des voies urinaires, en particulier l'existence d'un adénome de la prostate (qui provoque une stase des urines dans la vessie). La forme des uretères et de la vessie prévient le retour de l'urine vers les reins. (Ait Miloud. K. 2011).

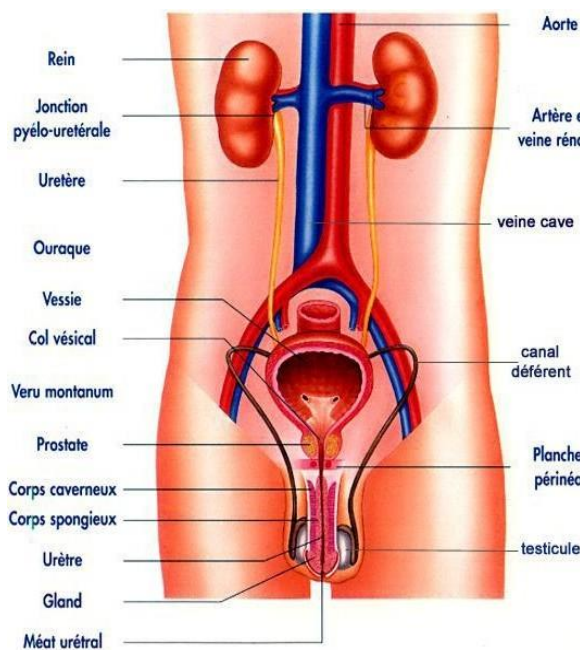


Figure 1. Appareil urinaire de l'homme (Dougnon. Y. 2011)

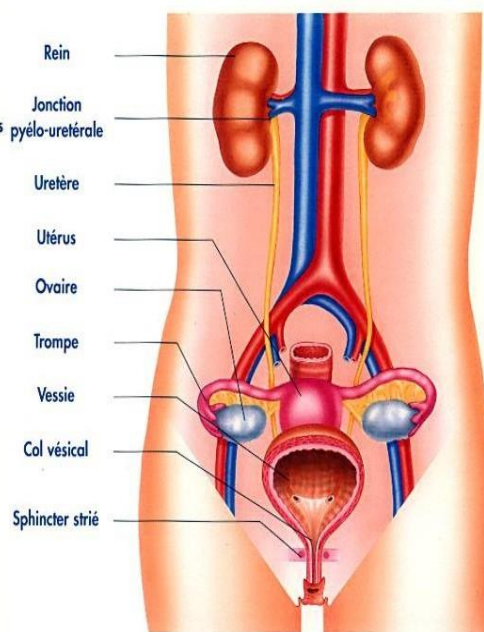


Figure 2. Appareil urinaire de la femme (Dougnon. Y. 2011)

1.2- : Rappel physiologique de l'appareil urinaire :**1.2.1-Les reins :**

Quotidiennement (24 heures), à partir de 1500 litre de sang qui traverse les reins, ils filtrent du sang de l'homme 1,5 litre d'urine. Ils ont un rôle majeur dans la filtration du sang et pour élimination des déchets métaboliques (urée, créatinine). Ils fournissent le maintien de **l'équilibre** intérieur (hydrique, ionique et acido-basique). Ils assurent aussi une sécrétion **endocrine** : la rénine (participant à la régulation de la tension artérielle), l'érythropoïétine (facilitant la fabrication des globules rouges, et des prostaglandines). **(Dougnon. Y. 2011).**

1.2.2-La vessie :

Les fibres musculaires équipent la paroi vésicale pour être capable d'uriner rapidement ; ainsi la vessie peut se réduire jusqu'à la taille d'une balle de tennis. Contrairement à ce que pensent la plus grande partie des gens, ce n'est pas par l'action des muscles abdominaux que se vide la vessie. Sur le contenu vésical, cette contraction augmentera la pression et donnera ainsi un rejeton plus fort, mais elle étranglera aussi la sortie de la vessie et accroîtra la résistance à l'écoulement. C'est la raison pour laquelle la nature a doué la vessie de ses propres muscles. La vessie se contracte, elle est dotée d'une certaine autonomie. En même temps, le sphincter urétral qui est régulièrement fermé afin d'abstenir les fuites, se relâche au moment de la miction. **(Dougnon. Y. 2011).**

1.2.3-L'urètre :

C'est le canal qui collabore à évacuer les urines vésicales vers l'extérieur de l'organisme. Il est entouré par un sphincter externe (strié, volontaire) à son origine, séparé du col vésical par la prostate chez l'homme. **(Dougnon. Y. 2011).**

2- Physiopathologie des infections urinaires :**2.1-définition des infections urinaires :**

L'IU est une agression par un ou plusieurs microorganismes de tout ou partie de l'arbre urinaire qui génèrent une réaction inflammatoire et des manifestations cliniques. Elle se définit donc par des signes cliniques évocateurs et l'existence d'une bactériurie et d'une leucocyturie considérées comme significatives. **(Raghu. F. 2016).**

2.2-Origine des infections urinaires :

2.2.1-Infections endogènes : Les infections endogènes ou auto-infections sont celles où le malade fait une infection à ses propres germes qui sont souvent d'origine digestive et dont le risque est d'autant plus important lorsqu'il existe une incontinence anale ou une diarrhée, ou au décours d'une procédure invasive de soins (sondage vésical, cathétérisme...), ou en raison d'une fragilité particulière. Ces cas ne peuvent qu'être majorés au cours de l'alitement à l'hôpital du fait de l'immobilisation et de la situation de dépendance du patient. **(Ait Miloud. K. 2011).**

2.2.2-Infections exogènes : Les infections d'origine exogène sont celles où le malade fait une infection à partir d'un germe qui lui a été transmis soit par manuportage (via le personnel de soins ou plus rarement, directement d'un patient à un autre), soit par du matériel ou des instruments mal désinfectés, ou bien par l'environnement hospitalier (eau, air, surface, alimentation...). En réalité, la majorité de ces infections sont évitables. **(Ait Miloud. K. 2011).**

2.3-Les voies de contamination :

2.3.1- La voie ascendante :

Est la plus fréquente (95 % des cas). L'infection se fait donc le plus souvent par l'urètre. La prolifération des bactéries dans la vessie est favorisée par :

- La stase urinaire : mictions peu fréquentes ou incomplètes (résidu post-mictionnel), boissons insuffisantes.
- Un corps étranger : calcul ou sonde vésicale.
- La présence de glucose dans l'urine.
- La présence de facteurs de virulence spécifiques des bactéries uropathogènes. **(Item 157 infections urinaires de l'enfant et l'adulte).**

2.3.2- La voie descendante ou hématogène :

La contamination de l'arbre urinaire fait suite à une septicémie ou à une bactériémie. Elle est dû de la vascularisation importante du parenchyme rénal. Cette voie reste rare. Les germes retrouvés peuvent être *Staphylococcus aureus* ou *Mycobacterium tuberculosis*. **(Measso. S. 2014).**

2.3.3-Facteurs favorisants :

L'infection urinaire est favorisée par des facteurs qui sont les suivants :

–L'urètre court.

–Les rapports sexuels.

–Les manœuvres instrumentales : sondage, endoscopie.

–La stase urinaire qui peut être due à une uropathie obstructive, une lithiase, une hypertrophie de la prostate, des lésions tumorales, inflammatoires ou neurologiques, un relâchement périnéal, une malformation congénitale, certains médicaments (anticholinergiques, opiacés, neuroleptiques), une restriction hydrique.

–La ménopause : modifications de la flore bactérienne vaginale dues à la carence en œstrogènes.

–La grossesse par l'action relaxante de la progestérone sur le sphincter vésico-urétral et l'augmentation du résidu post-mictionnel.

–Le diabète par les troubles de la miction et la glycosurie.

–L'immunodépression.

–L'hygiène périnéale déficiente (excessive ou agressive).

–L'état grabataire.

–Le port de vêtements trop serrés. (Alan. E. 2015).

3- Types des infections urinaires :

3.1-Cystite : Elle correspond à une inflammation aiguë ou chronique de la vessie, le plus souvent provoquée par des bactéries qui prolifèrent. Ces bactéries sont présentes au niveau intestinal et aux environs de l'anus, elles peuvent alors passer de la région anale et vulvaire à la vessie en remontant par l'urètre. La cystite s'accompagne toujours d'une inflammation de l'urètre appelée urétrite. (Nail-Billaud .S. 2020).

3.2-Pyélonéphrite : Elle se caractérise par l'infection du haut appareil urinaire, bassinet et parenchyme rénal. La pyélonéphrite est définie par émission d'urines troubles, associés à une fièvre supérieure à 39°C.... (Vorkafer. S. 2011).

3.3-Prostatite : La prostatite est une affection urologique commune chez l'homme, sa prévalence étant estimée à 9,7 % avec une incidence de récurrence de 20 % à 50 %. La plupart des prostatites bactériennes aiguës sont occasionnées par une infection urétrale ascendante. Un reflux d'urine

dans les canaux prostatiques et éjaculateurs permet ensuite l'entrée de microorganismes dans la prostate (Smith. 2011).

3.4- Infection urinaire nosocomiale (IUN) : Une IU est dite nosocomiale lorsqu'elle est acquise dans une structure de soins ou d'une manière plus générale reliée à la prise en charge du patient. L'origine des bactéries nosocomiales est endogène (flore du patient) dans les deux tiers des cas, ou exogène. (Vildé J.L et al. 2002).

4-Germes responsables des infections urinaires chez l'adulte :

Les germes les plus souvent responsables des IU sont :

-*E. coli* (75-85% selon les études et les pays) pour les infections communautaires.

-Autres entérobactéries (*Klebsiella spp* et *Proteus spp*) qui comptent pour environ 4% chacune, et jusqu'à 25% dans des séries françaises).

- Le *Staphylocoque* coagulase négatif (*S. epidermidis* et *saprophyticus*) est retrouvé dans moins de 4% des IU simples (jusqu'à 15% dans les séries américaines).

-Les *Entérocoques* et les *Pseudomonas* (5- 10%) sont plus fréquemment retrouvés.

-Les virus (adénovirus et varicella zoster) sont rarement responsables de cystites hémorragiques. (François .A et al. 2013).

Et parmi les germes les plus responsables d'infections urinaires : *Escherichia coli*.

4.1-*Escherichia coli* :

4.1.1-Historique

En 1885, un bacille est découvert par Theodor Escherich (1857-1911) qu'il dénomma *Bacterium coli* commun dans les selles de nourrissons. En 1919, Castellani et Chambers donnent son nom actuel. (Grimont. 1987).

4.1.2-Définition :

E. coli est le micro-organisme le plus fréquemment impliqué (70-95%) dans les infections urinaires communautaires. (Caron. F. 2014).

Les bactéries du genre *Escherichia* sont des bacilles Gram négatifs, aérobies anaérobies facultatives, non halophiles et non sporulées. La bactérie *E. coli* est du groupe des coliformes,

parce qu'elle peut croître à des températures relativement élevées (44.5 °C). *E. coli* est l'unique représentant du groupe des coliformes totaux présent uniquement dans les intestins des mammifères. (Diassana. A. 2018).

4.1.3-Caractères bactériologiques :

Tableau 1 : caractères bactériologiques d'*Escherichia coli*. (A. Diassana. 2018).

Espèce	Caractères morphologiques et cultureux	Caractères biochimiques
<i>E. coli</i>	<ul style="list-style-type: none"> -Colibacille, Gram- - Une bactérie asporulée mesurant 2 à4 µm de long sur 0.4 à0.6 µm de large. - Une bactérie fine et allongée à extrémités arrondies, mobile à cause d'une ciliature péritriche. - non exigeant sur gélose ordinaire, donne des colonies lisses, brillantes et homogènes, Sa température de croissance optimale est 37 °C. 	<ul style="list-style-type: none"> -Catalase positif, oxydase négatif. - L'étude d'activités enzymatiques et de la fermentation des sucres par des galeries. -Glucose +, Lactose +, H2S-, Gaz +, CS-, ONPG+, GEL-, Malonate-, Nitrate Reductase+, LDC + ODC+, ADH+/-, URE-, TDA-, IND+, VP-.

H2S: Le sulfure d'hydrogène, CS: Citrate de Simmons, ONPG: *Ortho*-Nitrophenyl-β-galactoside, GEL: Gelatinase, LDC: Lysine Décarboxylase, ODC: Ornithine Décarboxylase, ADH: Arginine Dihydrolase, URE: Uréase, TDA: Tryptophane Désaminase, IND: Indole, VP: Voges Proskauer.

4.1.4-Caractères moléculaires :la détection de certains gènes de virulence qui sont caractéristiques des différentes souches est la base de l'identification d'*Escherichia coli* dans les échantillons. (Diassana. A. 2018).

5-Diagnostic des infections urinaires :**5.1-Examen cyto bactériologique des urines (ECBU) :****-Définition :**

L'examen cyto bactériologique des urines (ECBU) est l'examen le plus souvent demandé au laboratoire de bactériologie. Théoriquement simple dans sa réalisation, l'ECBU reste l'examen clé pour le diagnostic de certitude d'infection urinaire. **(Brahimi. L. 2013).**

Remarque : Pour permettre la mise en évidence d'une prolifération microbienne, les urines doivent si possible avoir séjourné 3-4 h dans la vessie (le faire le matin au réveil par exemple).

Décret du 15 mars 1993, article 4 : recueil aseptique des urines (sur prescription médicale).

5.1.1-Examen macroscopique :

Il est effectué dès la réception des urines après homogénéisation par retournement du flacon. Il permet d'apprécier la limpidité, l'aspect, la couleur, et la présence ou l'absence de dépôt cristallin et d'une éventuelle hématurie. Son intérêt reste limité. En effet, le caractère trouble d'une urine ne signe pas systématiquement la présence d'une infection et peut simplement refléter la présence de cristaux. **(Brahimi. L. 2013).**

5.1.2-Examen microscopique :**5.1.2.1-Cytologie (à l'état frais) :**

Est réalisé directement après le recueil des urines par microscope, permet de détecter les leucocytes, hématies, cellules épithéliales, cylindres, cristaux ... **(Himi.R.2016).**

5.1.2.2-Bactériologie (coloration de Gram):

Examen direct au microscope pour une détection rapide sous microscope ; elle sert à différencier les bactéries selon les propriétés de leur paroi bactérienne et de les scinder en deux groupes : Gram+ qui ont une paroi de peptidoglycane épaisse et Gram- qui ont une paroi de peptidoglycane fine mais ont en plus une membrane externe lipidique.

Les différences de coloration et les différences de formes (bacilles ou cocci) sont à l'origine de la classification des bactéries. **(Hofmann. Y. 2011).**

5.2-Bandelette urinaire (BU) :**-Interprétation :**

Elle demande un prélèvement du 2ème jet urinaire, sur des urines fraîchement émises dans un récipient sec et propre mais non stérile. Une toilette préalable n'est pas nécessaire. La lecture oblige une température ambiante, après 1 ou 2 minutes par rapport aux tests. **(Ketz. F. 2016).** Cette

technique simple permet de dépister la présence de protéine ou d'hématies, mais aussi de leucocytes et de nitrites. **(Gonthier. R. 2000).**

La valeur prédictive positive (VPP) de cet examen est faible et sa valeur prédictive négative (VPN) est de l'ordre de 95%. **(Ouardi. R. 2019).**

6. Traitement des infections urinaires chez l'adulte :

En cas d'infection urinaire, la prise d'antibiotiques est souvent indiquée. La durée de cette antibiothérapie varie d'une prise unique à des prises pluriquotidiennes sur plusieurs jours et selon le type d'infection et de bactérie. Cela est présenté dans le tableau suivant :

Tableau 2 : Antibiothérapie empirique, alternative en cas d'allergie et durée totale de l'antibiothérapie (Yombi et Marot, 2015).

Site d'IU	Contexte Clinique	Flore	Antibiothérapie Empirique	Durée	Alternative en cas d'allergie IgE médiée ou d'intolérance	Durée
Cystite	Simple	Entérobactéries(<i>S.saprophyticus</i>)	Nitrofurantoïne** * 100 mg 2x/j	5j	Ciprofloxacine* 500mg 2x/j	3j
			Fosfomycine 3g (jeune fille et moins de 3 épisodes/an)	1x	Cotrimoxazole ** 160/800 mg 2x/j	3j
	Compliqué	<i>E. coli, Klebs spp, Proteus spp, (Pyo), Entérobacter spp</i>	Cefuroxime po. 500mg 3x/j	7j	Ciprofloxacine* 500mg 2x/j	7j
	Chez la femme enceinte	/	Augmentin po 500mg 3x/j	/	Aztreonam iv 1g 3x/j	/
Pyélonéphrite	P. simple	Entérobactéries	Ciprofloxacine* 500mg 2x/j ou Cefuroxime iv 1,5 3x/j (48h iv, relais selon Abgramme)	7j	Ciprofloxacine* 500mg 2x/j	7j
	P. compliquée	<i>E.coli, Proteus, spp, Klebsiella spp, (Pyo Entérocooccus spp)</i>	Cefuroxime iv 1,5g 3x/j	14j	Ciprofloxacine* 500mg 2x/j	7-14j
			Ceftriaxone iv 2g 1x/j	14j		
P. femme enceinte	Entérobactéries	Augmentin iv/po 2g/500mg 3x/j ou Cefuroxime iv 1,5g 3x/j	14j	Aztreonam 2G 2x/j	14j	
Prostatite		Entérobactéries (<i>Enterococcus spp</i>)	Ceftriaxone 2g 1x/j ou Ciprofloxacine* 500mg 2x/j	14 à 21j	Cotrimoxazole** 160/800 mg Cipro* 500mg 2x/j	3 sem (2sem si quinolones

Remarque :

* possible résistance si antécédent utilisation de quinolones dans les 6 mois, instrumentation sur arbre urinaire, infection récidivante.

** vérifier la sensibilité à l'antibiogramme

7.Prévention :

- Il consiste surtout à adopter des mesures spéciales en raison de la sensibilité des personnes aux infections. Ces mesures visent à éviter l'envahissement de la vessie par des germes :
- Apport suffisant de liquide.
- Miction fréquentes et complètes.
- Vidange de la vessie après les rapports sexuels.
- Réaliser les gestes urologiques éventuels sous asepsie rigoureuse.
- Limitation d'usage du cathéter et son contrôle lorsqu'il est utilisé.
- Moins d'utilisation de spermicides.
- Éviter chez la femme la colonisation vulvo-vaginale par des germes pathogènes : lutte contre la constipation, toilette locale soigneuse de la vulve vers l'anus.
- Compléments aux œstrogènes chez les femmes ménopausées (orales ou vaginales).
- Dépister systématiquement et traiter les bactériuries asymptomatiques. **(Himi. R. 2016).**



CHAPITRE II :
ANTIBIORÉSISTANCE



1-Définition :

La résistance aux antibiotiques peut être définie selon différents points de vue.

- Pour le clinicien, une souche bactérienne est résistante à un antibiotique quand le traitement n'est pas fiable.
- Pour le pharmacologue, une souche bactérienne est résistante à un antibiotique si les concentrations atteintes au site d'action sont inférieures à la CMI.
- Pour le microbiologiste, si une souche bactérienne dispose d'un processus de résistance augmentant la valeur de la CMI, elle est résistante à un antibiotique

Les experts ont établi des seuils critiques pour diviser les bactéries en trois catégories : sensibles, intermédiaires, ou résistantes afin de déterminer la notion d'antibiorésistance. **Marine et al. (2016).**

2- Types (modes) :

Il existe plusieurs processus aboutissant à l'expression de la résistance et suivant son caractère inné ou acquis : la résistance naturelle et la résistance acquise.

2.1-Résistance naturelle :

Lorsque toutes les souches d'une même espèce bactérienne sont résistantes à un antibiotique donné, on parle de la résistance naturelle. Ces souches peuvent très bien n'avoir jamais été en contact avec l'antibiotique en question. La résistance est donc liée aux propriétés naturelles des bactéries (**Vittecoq et al. 2016**). D'ailleurs cette résistance définit le spectre d'activité des antibiotiques. (**Vrisson. L. 2018**).

2.2-Résistance acquise :

Ce terme est utilisé afin d'identifier le résultat d'un mécanisme permettant à des bactéries d'une espèce originellement sensible d'être résistante à un ou plusieurs antibiotiques. Les modifications génétiques consécutives déterminent l'acquisition de ces résistances à l'acquisition « de novo » de gènes de résistance exogènes ou à des mutations ponctuelles. (**Diallo. A. 2013**).

2.3-Supports génétiques de la résistance :

Tandis que la résistance naturelle fait partie du patrimoine génétique de la bactérie, la résistance acquise ne concerne qu'une proportion plus ou moins importante et variable dans le temps d'une espèce ou d'un genre.

Pour la résistance acquise, ces gènes de résistance peuvent provenir de chromosomes d'autres espèces, ou être portés par des éléments mobiles (transposons, plasmides, intégrons) et être acquis par conjugaison surtout, mais également par transformation, transduction, transposition. L'acquisition de la résistance peut également être la conséquence d'une mutation chromosomique. (Ziai. S. 2014).

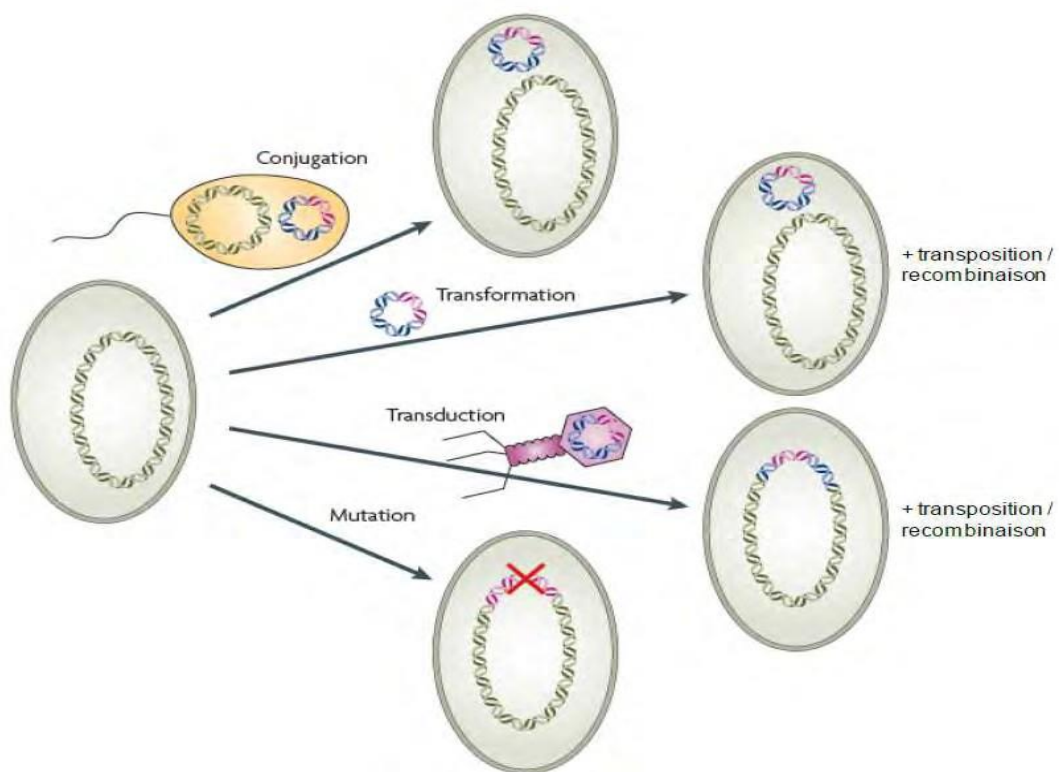


Figure 3. Les trois modes de transmission du matériel génétique : la conjugaison, la transformation et la transduction chez les bactéries.

2.4-Mécanismes de résistance :

Modification de la cible de l'antibiotique : concerne toute classe d'antibiotique car tous les mêmes cibles.

Modification ou une inactivation enzymatique : surtout la résistance au aminosides et aux β . lactamine.

Une diminution de la concentration intracellulaire en antibiotique : augmentation de l'imperméabilité naturelle aux β .lactamine, tétracyclines et quinolones. (Diallo. A. 2013).

Ces mécanismes sont schématisés dans la figure suivante :

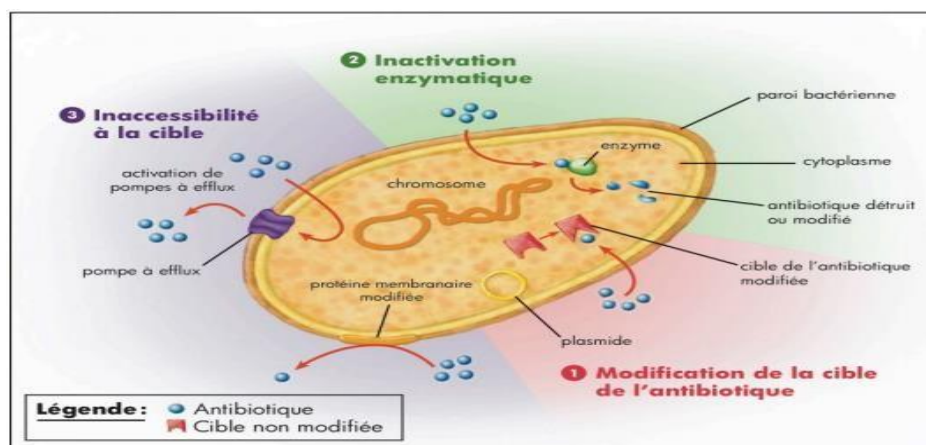


Figure 4. Exemples des mécanismes de résistance acquise aux antibiotiques.

3-Techniques utilisées pour étudier l'antibiorésistance :

3.1-Mesures de CMI

Dans un milieu de culture il s'agit de mettre une espèce bactérienne en présence d'un gradient de concentration d'un antibiotique pour identifier la sensibilité de l'espèce bactérienne à cet antibiotique.

On appelle Concentration Minimale Inhibitrice (CMI), la première valeur pour laquelle la croissance bactérienne est visiblement inhibée.

Par dilution : une quantité connue de la bactérie à étudier est ensemencée avec une série de dilutions d'un antibiotique donné. Après incubation, le premier tube dont aucune croissance bactérienne n'est visible indique la CMI. On peut schématiser ceci à l'aide de la figure 5 : plus le tube est grisé, plus la croissance bactérienne est essentielle. Quand il est blanc, il n'y a pas de croissance. (Sébastien et al. 2019).

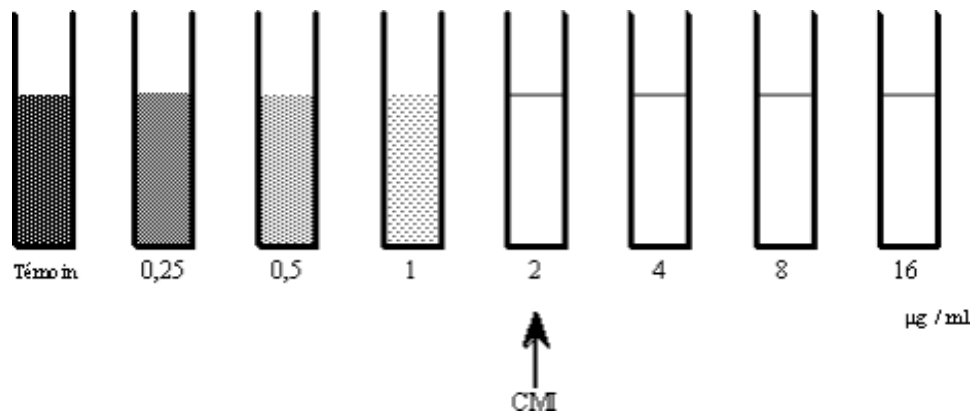


Figure 5. Exemple de détermination de la CMI d'un antibiotique par dilution.

3.2-E-test :

L'existence d'une autre méthode de détection de CMI. Elle est basée sur la dissémination de l'antibiotique sur une bandelette (E-test) graduée en concentration. La lecture de la CMI y est immédiate. (Sébastien et al. 2019).

3.3-L'antibiogramme

En termes d'efficacité clinique l'antibiogramme en milieu gélosé est conçu pour prédire la sensibilité des bactéries aux antibiotiques. Il permet de classer une souche pathogène dans une des trois catégories suivantes :

S : Souche Sensible à l'antibiotique testé ;

R : Souche Résistante à l'antibiotique testé ;

I : Souche de résistance Intermédiaire à l'antibiotique testé.

On peut également comparer les CMI obtenues à des concentrations critiques propres à chaque antibiotique pour le même résultat. La démarche est donnée en figure5.

Par diffusion : On met un disque imprégné d'une concentration connue en antibiotique sur un milieu gélosé préalablement ensemencé. Il existe donc un disque entouré par un gradient de concentration parce que l'antibiotique a diffusé dans toute la gélose. Le rayon à partir duquel la croissance bactérienne s'effectue détermine la CMI. Cette méthode est peu adaptée à certaines familles d'antibiotiques qui diffusent mal comme les polypeptides. (Sébastien et al. 2019).

Afin de garantir que le résultat du test soit interprétable, le Comité de l'Antibiogramme fixe les précautions à prendre. Les antibiogrammes permettent de déterminer aussi bien les résistances naturelles que celles acquises. Pour les distinguer, il suffit de comparer le profil obtenu pour la souche bactérienne étudiée avec le profil habituel des autres souches de la même espèce.

3.4-Des outils moléculaires comme la Polymerase Chain Reaction (PCR) :

Peuvent être utilisés pour mettre en évidence chez une souche, un gène de résistance, s'il est connu à l'avance. Un autre intérêt de cette technique est de permettre, à l'échelle d'une population, l'estimation de la prévalence de ce gène (Guillemot et al., 2006).

4.Antibiorésistance des souches *Escherichia coli* isolées à partir des infections urinaires chez l'adulte dans le monde :

Plusieurs travaux ont été menés au niveau national et à travers le monde pour étudier l'antibiorésistance des souches *E. coli* isolées à partir d'infections urinaires.

L'étude de H. Hassaine et M. Boulanouar, en 2019 à Bouira, menée sur 120 souches *E. coli* isolées à partir d'infection a montré des taux de résistance élevés vis-à-vis un bon nombre d'antibiotiques tels que la céfalotine (85,83%), les bêtalactamines (plus de 58%), la vancomycine, la gentamycine, les sulfamides, les céphalosporines de 3e génération (51% pour chacun)

A. Bentorki et al ont révélé les mêmes résultats dans leur étude effectuée en 2012 à Guelma sur 800 souches *E. coli* par rapport aux bêtalactamines (75% pour l'ampicilline) et le cotrimoxazole (50%), alors que les taux étaient plutôt faibles pour la gentamycine (10%), le cefotaxime (5%) et la ciprofloxacine (18%).

L'étude rétrospective qui a été réalisée par Adel Gouri et al de 2007 à 2011, portant sur 1334 malades où les chercheurs ont montré que le taux de résistance acquise est le plus élevé avec L'ampicilline (75%) et l'association amoxicilline-acide clavulanique (46%), ainsi que le cotrimoxazole(50%). Il a atteint 30% vis-à-vis la céfazoline et l'acide nalidixique, 10% à la gentamicine, 18% à la ciprofloxacine et enfin 5% par rapport au cefotaxime. Le plus faible taux de résistance a été obtenu avec l'amikacine et l'imipénème respectivement 4% et 0%.

Un autre travail effectué par M.C. El bouamri et al au Maroc en 2014 qui a pour but d'évaluer la résistance aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli* uropathogènes isolées au niveau de la région de Marrakech et de faire estimer la fréquence de l'isolement par une étude rétrospective des

souches *E. coli* uropathogènes isolées au laboratoire de microbiologie de l'hôpital Avicenne de Marrakech ; Maroc dans une durée de trois ans. Les échantillons urinaires viennent de patients hospitalisés et de patients ambulatoires(externes).

Ils ont trouvé comme résultat qu'à partir de l'isolement de 924 souches d'*Escherichia coli* non répétitives, l'antibiorésistance des souches d'*E. coli* isolées a mis en évidence des taux de résistance à l'amoxicilline (65 %), au sulfaméthoxazole-triméthopime (55 %), à l'association amoxicilline-acide clavulanique (43 %), à la ciprofloxacine (22 %), à la gentamicine (14 %), aux nitrofuranes (11 %), à l'amikacine (8 %) et à la fosfomycine (7 %). Le nombre de souches d'*E. coli* résistantes aux céphalosporines de troisième génération « C3G » par production de β -lactamases à spectre élargi « BLSE » a été de 67. Les résistances associées aux antibiotiques dans le cas des *E. coli* productrices de BLSE étaient de 82 % pour la ciprofloxacine, 76 % pour le sulfaméthoxazole-triméthopime, 66 % pour la gentamicine et 56 % pour l'amikacine. Aucune résistance à l'imipénème n'a été enregistrée pour les souches d'*E. coli* isolées, soit une sensibilité à l'imipénème de 100 %.

Concernant le Réseau MedQual : surveillance de l'évolution des résistances des souches d'*Escherichia coli* isolées en ville (France et l'Europe) : L'objectif de cet essai est de surveiller l'évolution de l'antibiorésistance d'*Escherichia coli* : une bactérie principalement retrouvée en médecine de ville.

Toutes les souches étudiées proviennent d'infections communautaires, aucune ne provient des établissements de soins publics ou privés. *Escherichia coli* est isolé principalement dans les prélèvements urinaires (98,7 %). Les femmes sont majoritairement touchées (85,3 %). Plus de la moitié des patients ont un âge compris entre 15 et 65 ans (54,5 %), 39,5 % ont plus de 65 ans.

Les biologistes ont trouvé comme résultat que le taux de résistance à l'amoxicilline augmente progressivement et significativement au cours de ces huit années, de 39,3 % en 2004 à 43,7 % en 2011. De plus, on observe une augmentation de la résistance à l'amoxicilline-acide clavulanique durant cette période de 22,7 % à 36,0%. La diminution de la résistance à la nitrofurantoïne : 1,8 % en 2004 et 1,3 % en 2011. Pour la résistance au cotrimoxazole, les taux de résistance augmentent pendant la période étudiée de 14,4 % à 19,3 %.

Les céphalosporines de troisième génération (cefotaxime, ceftazidime et ceftriaxone) sont les antibiotiques les plus actifs, avec seulement 2,4 % et 3,7 % de résistance respectivement en 2005

et 2011. La cefixime est la moins active, mais durant la période étudiée, la résistance semble stable : 3,2% en 2004 et 3,7 % en 2011.

La résistance à l'acide nalidixique a augmenté passant de 11,1 % à 16,1 %.



PARTIE EXPÉRIMENTALE





MATÉRIELS ET MÉTHODES



1. Lieu et durée de travail

Nous avons réalisé notre travail au niveau des laboratoires d'analyses médicales des deux établissements hospitaliers d'Ain Temouchent à savoir Ahmed MEDEGHRI et Docteur BENZERDJEB. Durant la période s'étalant de la fin du mois de Janvier jusqu'au début du mois de Mars 2020.

Le recueil des prélèvements a été réalisé au laboratoire de bactériologie, les 50 échantillons ont été aléatoires (malades externes et internes de différents sexes et âges).

2. Matériel

2.1. Matériel biologique

- Echantillons d'urine.
- 27 souches bactériennes d'*Escherichia coli* isolées à partir des prélèvements urinaires.

2.2. Appareillage et petit matériel

- Tubes stériles, Ecouvillons, Boîtes de Pétri, micropipettes, Microscope optique, Etuve réglée à 37°C, Bec bunsen, Lames et lamelles, Pipettes pasteur, Anse de platine.

2.3. Réactifs :

-Bleu de méthylène, Violet de gentiane, Lugol, Alcool, Fuschine, Huile à immersion, Huile de paraffine, Eau oxygénée, Eau physiologique, Réactif VP, Réactifs IND, Réactif DA, Disques d'antibiogramme, Disques d'oxydase, disques ONPG.

2.4. Milieux de culture utilisés

-Hecktoen, Gélose nutritive, Mueller Hinton, Mannitol mobilité, TSI (Triple, Sugar, Iron), Urée indole.

3. Méthodes :

Chaque urine reçue au laboratoire a fait l'objet d'un examen macroscopique, un examen microscopique et une culture bactériologique.

3.1. Examen cyto bactériologique des urines (ECBU) :

Il reste l'examen clé pour le diagnostic positif de cette infection, il sert à détecter le germe responsable en étudiant sa sensibilité aux antibiotiques. Les échantillons recueillis dans le

laboratoire doivent être effectués dans des conditions strictes et selon un protocole bien défini afin d'éviter les erreurs d'interprétation.

Prélèvement :

Les urines sont recueillies de la première miction du matin en évitant la contamination de l'urine par les germes de l'environnement et en désinfection locale avec une solution antiseptique. Les premières gouttes d'urine seront éliminées et les 20 à 50 ml suivants seront recueillis dans un pot stérile

Chez la femme, le recueil se fait, si possible, en dehors des périodes menstruelles ou d'infection vaginale.

Le nom et le prénom sont notés sur le flacon gardé au frais avant de l'amener au laboratoire.

3.1.1-Examen macroscopique :

Cette analyse fournit des renseignements sur la turbidité et la couleur de l'échantillon. La couleur de l'urine donne une idée préliminaire sur l'examen cyto bactériologique des urines (ECBU) (Carbonnelle et al., 1990).

- L'urine peut être limpide, trouble, claire, jaune, sanglant.
- L'urine peut contenir des filaments, cristaux ou d'autres dépôts. (Saoudy. I ES. 2019).

3.1.2. Examen microscopique :

a- Examen à l'état frais : (Examen cytologique) : Entre lame et lamelle, on dépose une goutte de l'échantillon d'urine, et on observe au microscope optique à l'objectif (x40).

Ceci permet d'étudier la morphologie, la mobilité, Ainsi que l'abondance des germes. On peut aussi trouver des : Cristaux urinaires Cylindres urinaires Levures Flore bactérienne hématies leucocytes Parasites (Trichomonas vaginalis ...).

- les hématies (globules rouges) : normalement l'urine ne doit pas contenir d'hématies.

- les leucocytes (globules blancs) : la présence de plusieurs leucocytes, notamment en amas indique, généralement, une infection des voies urinaires.

- les levures : elles accompagnent parfois la présence de glucose dans les urines (la fraîcheur de celles-ci doit être vérifiée) de cellules épithéliales, de cristaux, de cylindres et de germes (soit des formes Cocci, soit bacillaires). (Saoudy. I ES. 2019).

b- La coloration de GRAM :La coloration de GRAM est la coloration de base en bactériologie, elle permet de différencier les bactéries, non seulement d'après leur forme, mais également d'après leur affinité pour les colorants liée à la structure générale de leur paroi (précise le caractère Gram positif ou Gram négatif des bactéries). (Saoudy. I ES. 2019).

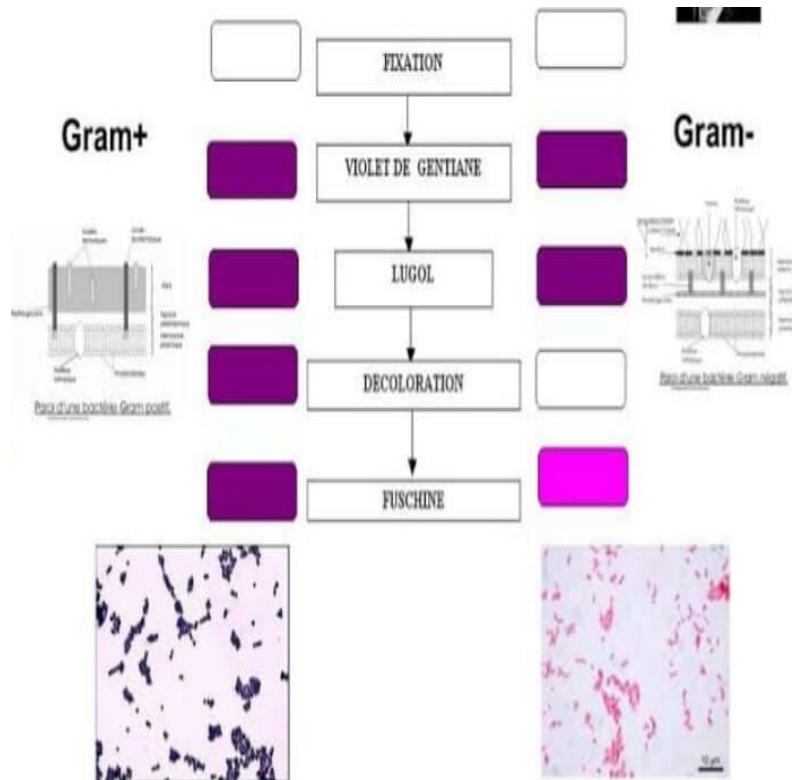


Figure 6. Coloration de GRAM
(<https://slideplayer.fr/amp/10794014/>).

3.1.3- Uroculture:

La gélose Hektoen est un milieu sélectif pour l'isolement et la différenciation des bacilles Gram (-) entéropathogènes. La sélectivité de ce milieu est basée sur la présence de sels biliaires, de bleu de bromothymol et de fuchsine acide (inhibition des bactéries à Gram (+)).

L'Ensemencement se fait en stries à partir de l'échantillon à étudier (l'urine) et l'incubation est effectuée pendant 24-48 heures à 37°C.

- *Escherichia coli* apparaissent jaune saumon sur hektoen. La lecture se fait par l'observation des boîtes à l'œil nu.



3.1.4. Identification biochimique par la galerie classique

La galerie biochimique permet l'étude du métabolisme biochimique des bactéries, essentiellement utile pour la différenciation des germes.

Les différents tests pratiqués avec la galerie biochimie classique sont représentés dans les tableaux suivants :

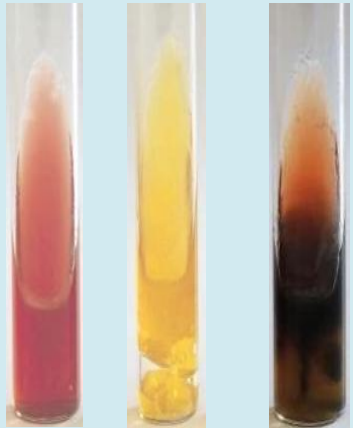
a. Milieu urée indole :

Tableau 3 : Test d'urée-indole.

Technique	Caractères recherchés	Résultat	
<ul style="list-style-type: none"> - Ce milieu est utilisé pour l'identification des entérobactéries (bacilles gram-, oxydase -) - Ce test permet d'hydrolyser l'urée. - Une suspension est réalisée en milieu urée-indole. - Incubation à 37°C pendant 24 heures. (Diassana. A. 2018). 	<ul style="list-style-type: none"> -uréase -la tryptophanase, après addition du réactif de Kovacs : le diméthyl-amino-4-benzaldéhyde contenu dans le réactif de Kovacs réagit avec l'indole, produit de l'activité de la tryptophanase, et forme un anneau coloré en rouge. - tryptophane désaminase (TDA). 	Formation d'un anneau rouge : indole+	Absence d'anneau rouge: indole-
			



b. Milieu TSI :

Tableau 4 : Test de TSI.

Principe	Technique	Résultats
La gélose TSI permet l'identification des Entérobactéries par la mise en évidence rapide de la fermentation du lactose, du glucose, du saccharose et de la production de sulfure d'hydrogène H ₂ S.	- La surface est abondammentensemencée à la surface par stries serrées ou par inondation, puis le culot par simple piqûre, à l'aide de la même pipette boutonnée. Il est important de ne pas oublier de dévisser partiellement le bouchon afin de permettre les échanges gazeux. (HAJNA .A. 1945).	 <p> Glu- Glu+ Glu+ Lac Lac Lac /Sac /Sac - /Sac - -H₂S+ H₂S - H₂S- Gaz + Gaz- Gaz + </p>


c. Test de l'ONPG:

Tableau 5 : Test de l'ONPG.

Technique	Caractères recherchés	Résultats	
<p>2-nitrophényl-β-D-galacto-pyranoside (ONPG) est utilisée:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Une suspension épaisse de bactéries est réalisée en eau distillée. 1 Lowe G.H. (1962). - Un disque d'ONPG est déposé dans cette suspension. - Incubation 30 min à 37°C puis lecture. 	<ul style="list-style-type: none"> - Une bêta-galactoside perméase qui permet au lactose de pénétrer dans la bactérie. - une bêta-galactosidase qui catalyse l'hydrolyse du lactose en glucose et galactose. 	<p>-Milieu jaune : ONPG +</p> 	<p>-Milieu sans couleur : ONPG-</p> 

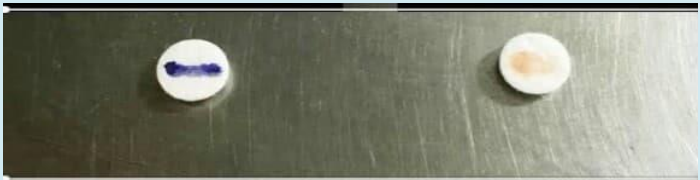
d. Test de la catalase

Tableau 6 : Test de la catalase

Principe	Technique	Résultat
<p>Ce test est souvent réalisé pour la différenciation entre les staphylocoques et les streptocoques (Marchal et al., 1982).</p>	<p>A l'aide d'une pipette pasteur on dépose au milieu d'une lame propre et dégraissée se trouvant à l'intérieur d'une boîte de Pétri vide une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes, avec une pipette boutonnée, on prélève un peu de culture pure de 18h sur milieu d'isolement qu'on dépose sur l'eau oxygénée (Marchal et al., 1982).</p>	 <p>Catalase - Catalase +</p>

e. Test de l'oxydase :

Tableau 7 : Test de l'Oxydase.

Principe	Technique	Résultat
<p>Recherche de l'enzyme phénylène-diamine-oxydase.</p>	<p>-On dépose sur une lame un disque d'oxydase -On imbibe le disque avec une goutte d'eau physiologique stérile -On prélève une partie de la colonie à étudier à l'aide une pipette pasteur stérile qu'on étale ensuite sur le disque (Flandroits et Chomarat, 1998).</p>	 <p>Couleur violet foncé Oxydase+</p> <p>Pas de couleur Oxydase-</p>

f. Milieu mannitol :

Tableau 8 : Etude de la dégradation de mannitol (test de mannitol mobilité).

Principe	Technique	Résultat
<p>Détecter la fermentation de mannitol et la mobilité du germe à étudier.</p>	<p>Régénérer le milieu dans un bain marie, laisser solidifier en culot en position verticale dans l'eau froide,ensemencer à l'aide d'une anse de platine les tubes par pique centrale dans la gélose en culot, jusqu'au fond du tube et Incuber à 37°C pendant 18 à 24h. (Frenry et al.,2007).</p>	 <p>Mannitol - Mobilité -</p> <p>Mannitol + Mobilité +</p>

3.2. Antibiogramme :

Un antibiogramme par diffusion est une technique de laboratoire sert à évaluer et à tester la sensibilité d'une souche bactérienne par rapport à un ou plusieurs antibiotiques. Le principe consiste à placer la culture pure de bactéries, sur une gélose Mueller Hinton (Annexe 1) en présence de disques de papier buvard imprégnés d'antibiotiques à tester et à observer les conséquences sur le développement et la survie de celle-ci. (Saoudy. I ES. 2019).

Techniques :

- A partir d'une culture pure de 18-24 h sur milieu gélosé approprié racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Bien décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile 0,9%.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne son opacité doit être équivalente à 0,5 MF ou à une DO de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm. Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.
- L'essorer en le pressant fermement contre la paroi interne du tube afin de décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélose sèche de haut en bas, en stries serrées. Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.
- Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90mm.
- Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces bactériologiques stériles et ne pas déplacer les disques après application.
- Incubation 37°C pendant 24H (Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale ,2014).
- Les antibiotiques utilisés figurent dans le tableau 9.

Lecture :

Elle se fait par mesure du diamètre de la zone d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.

Pour les bactéries testées sur Muller-Hinton simple, les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de pétri fermée.

Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes. (Annexe 3)

Classer la bactérie dans l'une des bactéries Résistant (R), sensible (S) ou Intermédiaire (I). (Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale ,2014).

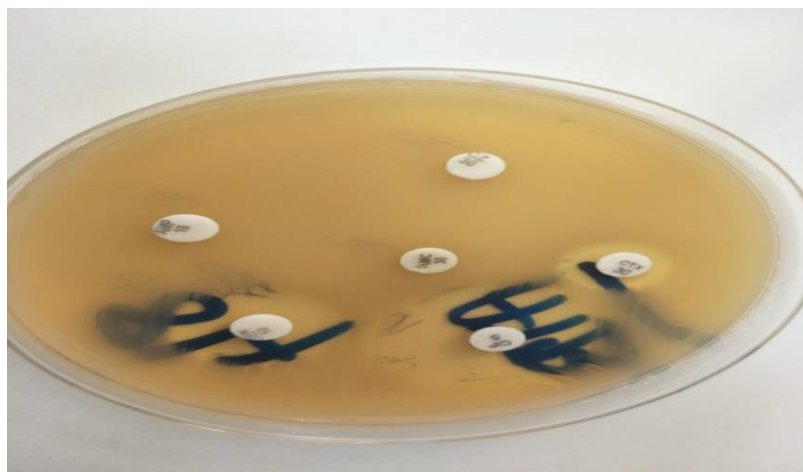


Figure 7. Les disques d'antibiotiques sur la gélose Mueller Hinton.

Tableau 9 : Antibiotiques utilisés pour l'antibiogramme.

Antibiotique	Abréviation	Charge (μg)	Famille
Ampicilline	AMP	10	Pénicillines du groupe A
Amoxicilline	AMX	20	Pénicilline du groupe A
Nitroxoline	NIT	30	Quinolones
Gentamycine	GEN	10	Aminosides
Céfotaxime	CTX	5	Céphalosporines
Cotrimoxazole	CTZ	25	Trimethoprim-sulfaméthoxazole
Amoxicilline+ acide clavulanique	AMC	20/10	Pénicilline
Ofloxacin	OFX	5	Quinolones-fluoroquinolones



RÉSULTATS ET DISCUSSION



1. Identification bactériologique :

Après ensemencement sur milieu Hektoen et incubation à l'étuve à 37°C pendant 24h ; nous avons observé la formation de petites colonies bombées, lisses et identiques jaunes saumon. (figure 8)

Ces caractères correspondent aux caractères d'*Escherichia coli*.

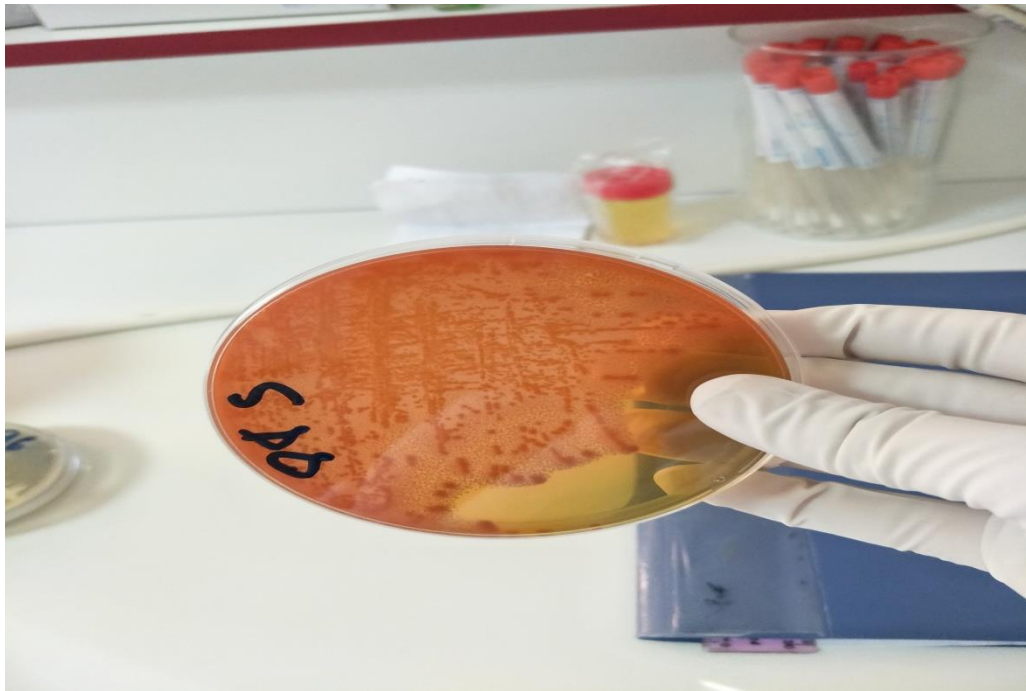


Figure 8. Aspect des souches *E. coli* sur milieu Hektoen.

2-Identification par la galerie biochimique classique :

a. Milieu urée-indole :

- *Escherichia coli* est urée négatif car il n'ya pas eu un virage de couleur.



Figure 9. Aspect du test uréase négative.

- Il y a une formation d'un anneau rouge donc indole+



Figure 10. Test indole positif.

b. Milieu TSI :

- Après incubation, on a remarqué que les souches *Escherichia coli* ont fermenté le lactose qui se traduit par virage jaune ainsi que le saccharose qui se matérialise par virage au jaune, elles produisent du gaz qui se manifeste par le décollement de culot et/ou présence de bulles d'air mais pas de sulfure d'hydrogène H₂S.



Figure 11. aspect du test TSI positif.

c. Production de la B-Galactosidase (test ONPG) :

- Les souches d'*Escherichia coli* sont pourvues de la β -Galactosidase, elles ont donné un résultat Positif c'est-à-dire ONPG+ où le milieu utilisé devient jaune.



Figure 12. Aspect du test ONPG positif.

d. Recherche de la catalase :

- Une effervescence dû à un dégagement de dioxygène est apparue, signe la présence d'une catalase.



Figure 13. Test de catalase positif *Escherichia coli*.

e. Recherche de l'oxydase :

- Les souches *Escherichia coli* sont étaient dépourvues d'oxydase et il n'y a peu eu de coloration, donc elles sont oxydase négative.



Figure 14. Test d'Oxydase négative

f. Milieu mannitol-mobilité :

- Il y a un virage de phénol au jaune donc acidification du milieu, la souche *Escherichia coli* est mannitol+.

Ce qui concerne la mobilité, les bactéries diffusent à partir la ligne d'ensemencement en créant des troubles donc elles sont mobiles.



Figure 15. Aspect du test mannitol-mobilité positif.

3-Distribution globale des ECBU:

Les résultats bactériologiques sur les 50 échantillons analysés ont révélé que (figure16) :

-27 cas se sont révélés positifs (*Escherichia coli*), soit 54%

-11 cas étaient négatifs, soit 22%

-7 cas sont montrés positifs en présence d'autres germes, soit 14% et 5 cas (10%) étaient jugés contaminés au moment du prélèvement ou pendant l'ensemencement.

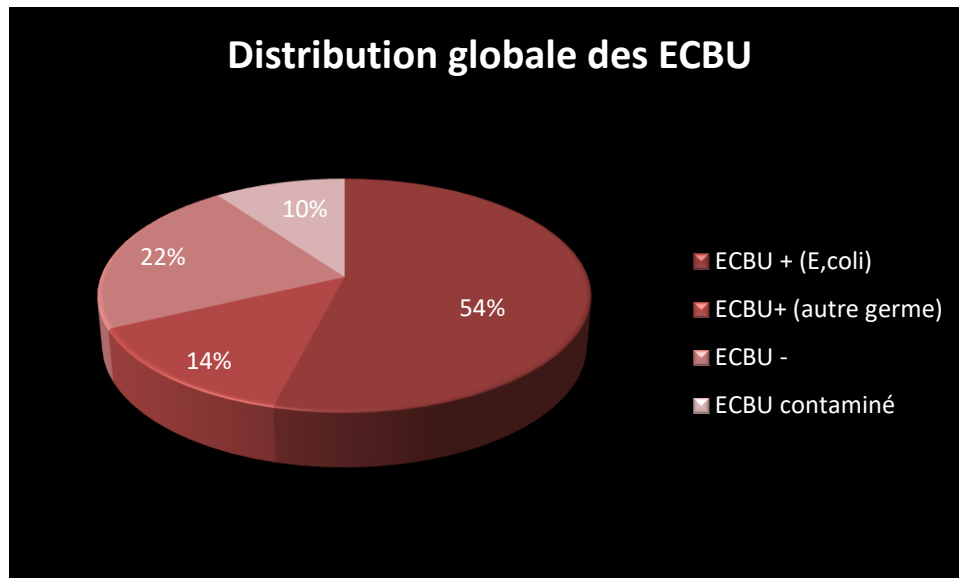


Figure 16.Distribution globale des ECBU.

La figure 16 montre que *E. coli* est le germe le plus répandu (54%), il représente l'agent principal des infections urinaires diagnostiquées dans notre étude. Nos résultats concordent avec ceux obtenus dans différents travaux effectués sur le plan national tels que ceux réalisés par **Hassaine. H** et **Boulanouar. M** en 2019 à Bouira, ceux de **D. Djahida** et al en 2010 à Sidi Bel Abbes et ceux de **Bentorki. A** et al à Guelma en 2012 où *E. coli* occupait la première place des germes uropathogènes avec des taux de 44,44%, 37,1%, 60% respectivement.

Le même constat a été fait au niveau international par plusieurs auteurs tels que **Benhiba. I et al** en 2015 dans leurs travaux effectués au Maroc (60%), **Kalambry. AC et al** en 2019 au Mali (42,9%).

Cette distribution reflète parfaitement le profil des bactéries uropathogènes qui est dominé par les entérobactéries généralement et les *E. coli* spécialement partout dans le monde (**Lee CY et al, 2009**) ; ceci est dû à la proximité anatomique du tube digestif terminal à l'appareil urogénital favorisant la forte colonisation du périnée par les entérobactéries d'origine digestive, en particulier les *E coli*.

4-Répartition du nombre des souches isolées en fonction du sexe :

D'après les résultats obtenus, sur les 27 ECBU positifs à *E. coli*, 9 proviennent d'hommes, soit une fréquence de 33,33% et 18 de femmes, soit une fréquence de 66,67%.

La répartition des taux est présentée dans la figure 17.

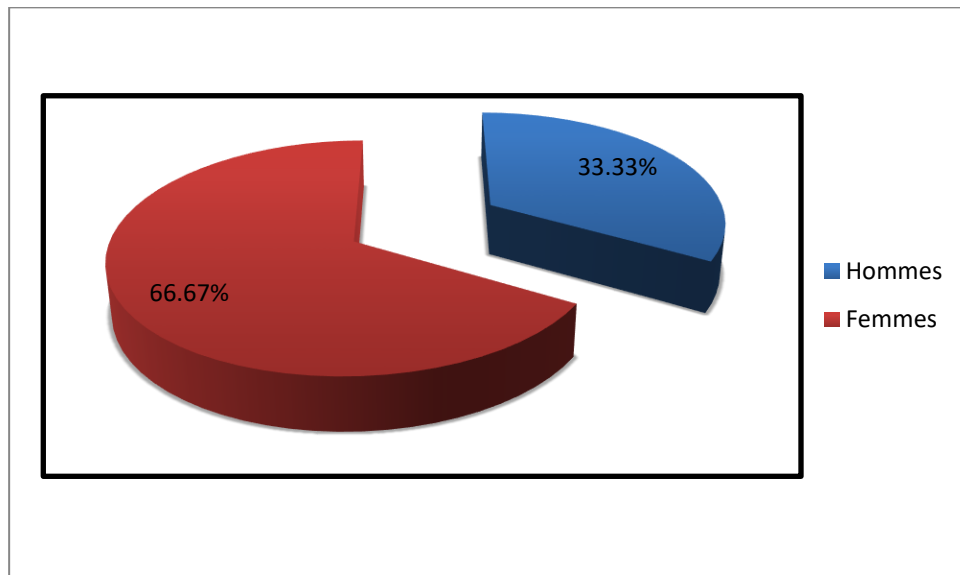


Figure 17. Répartition des souches isolées en fonction du sexe

Les résultats de notre étude confirment que les femmes sont plus à risque de développer les infections urinaires (66,67%) comme l'ont démontré de nombreux travaux comme ceux de **Hassaine. H** et **Boulanouar. M** en 2019 à Bouira, **I. Benhiba** en 2015 au Maroc et **Maris. S** en 2016 au Québec.

Cette prédominance féminine qui a été notée pourrait être expliquée par les caractéristiques anatomiques de l'urètre féminin qui est court et proche de la région péri-anale, la fréquence des rapports sexuels qui favorisant l'ouverture du méat urétral favorisant ainsi l'accès aux germes à la vessie, les grossesses et la manque d'hygiène.

5-Antibiogramme :

5.1-Profil de résistance aux antibiotiques des souches *E. coli* isolées :

Le profil de l'antibiorésistance des souches *E. coli* isolées est présenté dans la figure ci-dessous :

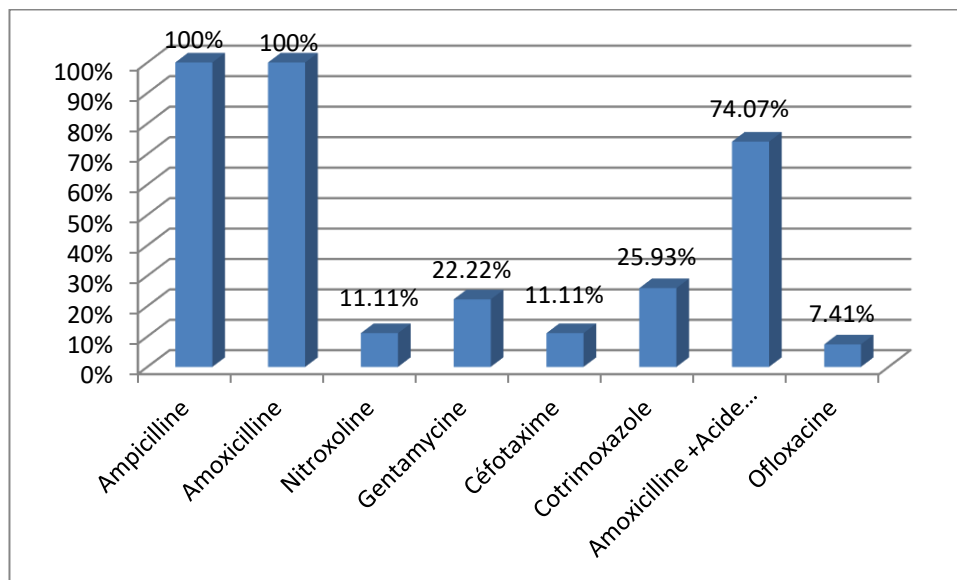


Figure 18. Profil de résistance aux antibiotiques des souches *E. coli* isolées.

Les résultats de l'antibiogramme révèlent des taux d'antibiorésistance spectaculaires vis-à-vis les bêta-lactamines où 100% des isolats étaient résistants à l'ampicilline et l'amoxicilline et plus de 74% étaient résistants à l'amoxicilline acide clavulanique.

Ces fréquences sont similaires à ceux obtenus par **Hamdan et al** en 2011 au Soudan où les taux étaient de 97,7% pour l'amoxicilline et 70% pour l'amoxicilline acide clavulanique. Par contre ils sont nettement supérieurs à ceux obtenus par le réseau national de surveillance de la résistance aux antibiotiques (RNSRA), à ceux de **Bentorki. A et al** (Guelma 2012) et à ceux de **Benhiba. I** (Maroc 2015) où les taux variaient entre 40 et 75%.

Une résistance modérée a été observée pour le cotrimoxazole (25,93%) et la gentamycine (22,22%). Ces taux sont légèrement plus faibles par rapport à ceux de **Ayad. A** (Tlemcen 2017) pour la gentamycine (33%) et nettement plus élevés par rapport à ceux obtenus par **Bentorki. A** (Guelma 2010) pour le cotrimoxazole (5%).

Pour les autres antibiotiques les taux de résistance sont plus faibles à savoir la nitroxoline et la cefotaxime (11,11%) et l'ofloxacine (7,41%).

La résistance observée dans notre étude vis-à-vis les bêta-lactamines est alarmante et peut être liée à leur forte utilisation en première intention de l'infection urinaire non compliquée à cause de leur bonne diffusion dans les voies urinaires. Ce qui nous pousse à les exclure définitivement du traitement de ce type d'infections.

Concernant les céphalosporines de 3^e génération (cefotaxime), les résultats montrent qu'elles restent plutôt actives sur *E coli*. Depuis plus de 20 ans, la résistance des entérobactéries observée pour ces derniers ne cesse d'augmenter notamment par l'acquisition de bêta-lactamases à spectre élargi. (**Belmonte O et al. 2010**).

Le même constat a été fait pour l'ofloxacine et la nitroxoline et à un degré moindre la gentamicine, qui demeurent elles aussi parmi les antibiotiques les plus actifs sur les entérobactéries uropathogènes.

Le triméthoprime sulfaméthoxazole (cotrimoxazole) qui est un traitement majeur dans les infections urinaires chroniques (**Bentorki, 2012**), garde encore son activité sur les souches analysées dans notre étude (25,95%), cette fréquence peut être expliquée par un recours excessif à cet antibiotique dans le traitement des infections digestives et respiratoires.

Pour maintenir l'efficacité de ces molécules qui ont montrés de faibles taux d'antibiorésistance, elles doivent être réservées au traitement des formes compliquées et ce après confirmation par antibiogramme.

5.2-Profil de résistance aux antibiotiques des souches *E. coli* isolées en fonction du sexe :

Chez l'homme

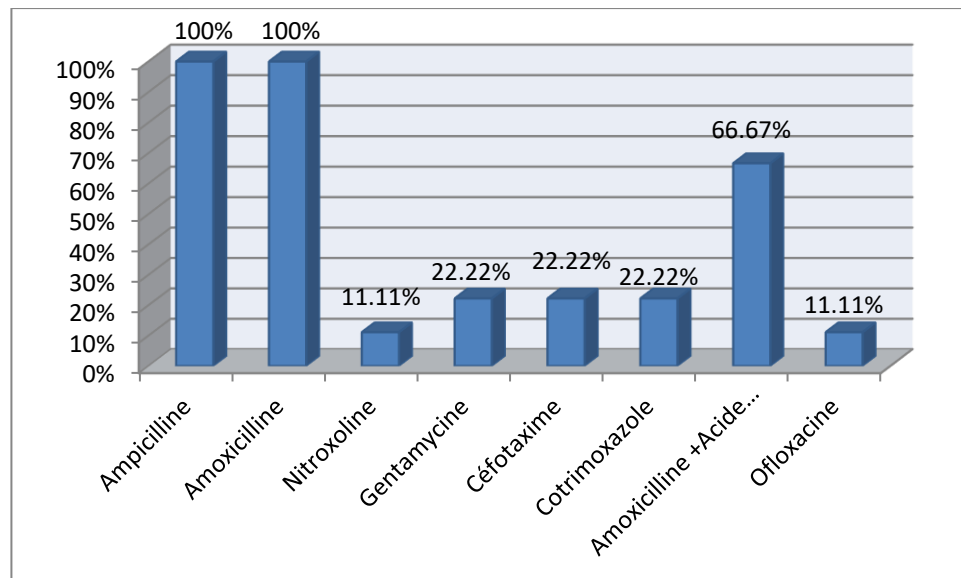


Figure 19. Profil de résistance des souches *Escherichia coli* isolées chez l'homme

Chez la femme :

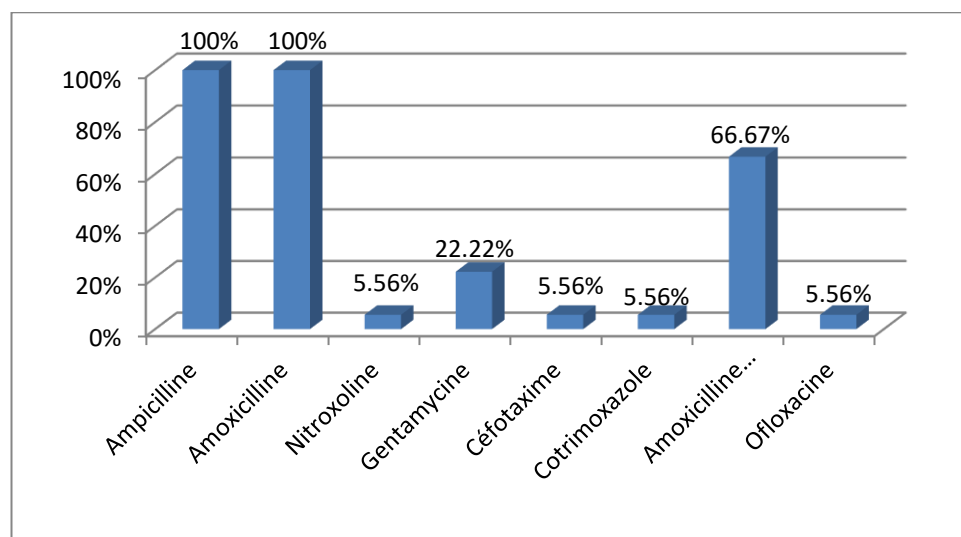


Figure 20. Profil de résistance des souches *Escherichia coli* isolées chez la femme

Les figures N°19 et N°20 montrent que les taux d'antibiorésistance vis à vis les bêtalactamines ainsi que la gentamycine sont identiques chez les deux sexes (homme et femme) par contre ces derniers sont plus élevés vis-à-vis la nitroxoline, la cefotaxime, le cotrimoxazole et l'ofloxacine chez l'homme avec des taux de 11,11%, 22,22%, 22,22% et 11,11% contre 6%, 6%, 6%, et 6% respectivement.

D'après une étude faite en Roumanie par **Baditoiu et al** en 2009, le sexe et l'âge peuvent être des facteurs de risque d'acquisition de la résistance voire la multirésistance.

5.3-La multi résistance des souches résistantes :

Les résultats de la multirésistance des isolats *Escherichia coli* étudiés sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau10 : Multi résistance des souches *E. coli* isolées

Nombre d'antibiotique	Nombre de souches	Pourcentage
0	0	0
1	0	0
2	4	14,81%
3	14	51,85%
4	6	22,22%
5	2	7,41%
6	1	3,70%

D'après le tableau N°10 nous constatons qu'aucune souche n'est parfaitement sensible aux antibiotiques testés. Cependant, toutes les souches (100%) sont résistantes à 2 antibiotiques différents, 85,18% des isolats sont résistants à 3 antibiotiques ; 33,33% à 4 antibiotiques, 11,11% sont résistants à 5 antibiotiques et 3,70% des souches isolées sont résistantes à 6 antibiotiques.

La dissémination de ces bactéries multirésistantes présente une menace réelle qui met en cause la validité de l'arsenal antibiotique actuellement disponible, d'autant plus qu'aucune classe nouvelle d'antibiotique n'est attendue dans les prochaines années. (**Mkaouar et al, 2008**).

Cette dissémination de la multirésistance est liée à l'existence des éléments génétiques mobiles permettant de cumuler de nombreux gènes de résistance au sein d'une même souche. (**Skurnik et Andremont, 2006**).



CONCLUSION ET
RECOMMANDATIONS



A la lumière des résultats obtenus au cours de notre étude sur l'antibiorésistance des souches *Escherichia coli* isolées à partir d'infections urinaires chez les adultes au niveau des deux établissements hospitaliers Ahmed MEDEGHRI et Dr Benzerdjeb d'Ain Temouchent, il en ressort que :

L'infection urinaire est fréquente chez les adultes avec une prédominance féminine (66,67%).

Escherichia coli étant le germe le plus rencontré (54%).

L'étude des profils de résistance et /ou de sensibilité des souches d'*Escherichia coli*, isolées, vis-à-vis les antibiotiques testés révèlent des taux spectaculaires pour les bêtalactamines notamment l'amoxicilline et l'ampicilline où 100% des souches était résistantes suivi par l'amoxicilline acide clavulanique avec un taux de 74%.

Ces taux extrêmement élevés justifient que ces molécules ne soient plus recommandées en traitement probabiliste des infections urinaires.

Concernant les le cotrimoxazole et la gentamycine, malgré les faibles taux de résistance observés (25,95 et 22%), ils gardent encore une assez bonne activité sur les souches isolées. Cette situation peut être expliquée par le recours excessif, ces dernières années, à ces médicaments à cause des résistances observées pour les bêtalactamines.

Un niveau de sensibilité important est atteint pour le céfotaxime, la nitroxoline et l'ofloxacine. Ces molécules doivent être réservées aux formes compliquées et ce après confirmation microbiologique de leur sensibilité.

D'après nos résultats, les souches isolées du sexe masculin sont plus touchées par le phénomène de résistance pour certains antibiotiques (cotrimoxazole, ofloxacine...). Certaines études confirment que l'âge et le sexe peuvent être des facteurs de risque dans l'acquisition de la résistance.

Les taux de la multirésistance sont très alarmants, 100% des souches isolées sont résistantes à au moins 2 antibiotiques, 33,33% à moins 4 antibiotiques différents.

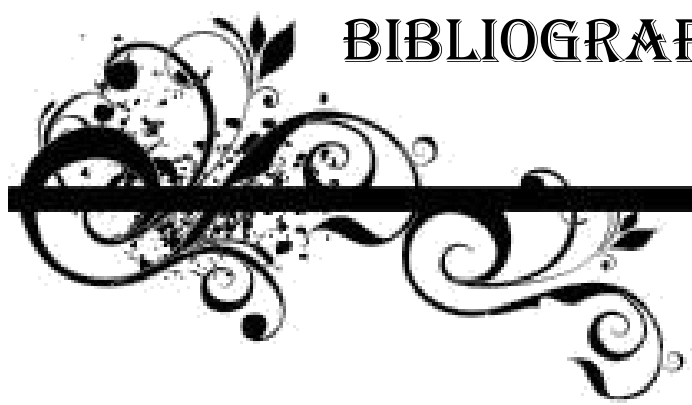
L'isolement des bactéries multirésistantes responsables d'infections urinaires conduit le clinicien à un choix thérapeutique de plus en plus limité et il entraîne l'utilisation massive des molécules jusqu'alors réservées aux infections compliquées, et peut être responsable de l'impasse thérapeutique.

Afin d'éviter l'émergence de nouveaux profils de résistance et/ou réduire l'émergence des anciens profils, il faut agir à deux niveaux : en amont, en contrôlant la prescription, la délivrance et la consommation des antibiotiques et en aval, en réduisant les risques de dissémination et de transmission des bactéries résistantes par le respect strict et le maintien rigoureux des mesures d'hygiène et de sécurité sanitaire.

Il serait intéressant d'initier de nouveaux travaux tout en augmentant le nombre d'échantillons et d'élargir l'étude de l'antibiorésistance en séparant les infections urinaires communautaires des infections nosocomiales.



RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES



- 1. Ait Miloud. K. (2011).** L'infection urinaire : Expérience du laboratoire de microbiologie de l'hôpital des spécialités du Rabat (Doctorat en pharmacie, université Mohammed V, Rabat).
- 2. Alan. E. (2015).** Les infections urinaires communautaires bactériennes : évaluation des connaissances de l'équipe officinale et des conseils apportés aux patients. (Doctorat en Pharmacie, université de Lorraine).
- 3. Ayad. A (2017).** Etude des mécanismes de résistance aux antibiotiques chez *Escherichia coli* au niveau des hôpitaux de l'ouest Algérien (Doctorat en microbiologie, université Abou Belkaid-Tlemcen).
- 4. Baditoiu. L, Licker. M, Popovici. ED et al. (2009).** Risk factors involved in multiresistant infections with strains of enterobacteriaceae (Volume 54, N°1: P31-39).
- 5. Belmonte O, et al. 2010.** Evolution de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques sur l'île de la Réunion : émergence des β -lactamases à spectre élargi. *Pathologie Biologie* 58 : 18–24.
- 6. BLOKAR DIAGNOSTIC.** Gélose Mueller Hinton, Paris, France 2009. https://www.solabia.com/solabia/produitdiagnostique.nsf/u/CEA062801P63038AC12574B30025E35B/Slile/FT_BK048_v5.pdf.
- 7. Bio-Rad.** Milieu Urea-Indol.92430 mames- la coquette France (2016). <https://www.bio-rad.com.pdf>.
- 8. Bio-Rad.** TSI/ gélose (Triple Sugar Iron), 92430 mames- la- coquette, France 2011. <https://www.foodscience.bio-rad.fr.pdf>.
- 9. Brahim. L. (2013).** Sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries isolées d'infections urinaires (Doctorat en pharmacie, université Mohammed V, Rabat).
- 10. Brisson. L. (2018).** Apprivoisement de l'hôte et domestication de sa flore commensale : Antibiorésistance des *E. coli* isolées des fèces d'animaux sauvages captifs et non captifs. (Doctorat vétérinaire, université Claude-Bernard).
- 11. Camille. D. (2014).** Pratique en microbiologie de laboratoire, Edition Céline Poiteaux.
- 12. Caron. F, Galperine. T et al. (2014).** Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires de l'adulte, SPILF.

13. Collège universitaire des enseignements de Néphrologie. (02-10-2018). 8^e édition. Chapitre 21 Item 157 Infections urinaires de l'enfant et l'adulte-Editions Ellipses.
14. Décret du 15 mars 1993, article 4 : recueil aseptique des urines (sur prescription médicale). Le ministre de la santé et de l'action humanitaire Bernard Kouchner, Paris.
15. Diallo. I. (2013). *Escherichia coli* pathogènes et résistantes aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaine et animale : Prévalence et caractérisation avant et après traitement épuratoire, Toulouse. (Doctorat en microbiologie, l'Université Toulouse III - Paul Sabatier).
16. Diassana. A. 2018. Identification des souches d'*Escherichia coli* dans les selles en rapport avec la malnutrition A Dioro (Doctorat en Pharmacie, université des sciences, de techniques et des technologies de Bamako, Mali).
17. Dougnon. Y. (2011). Lithiases infectées de l'appareil urinaire : Etude clinique, paraclinique et thérapeutique au service d'urologie du CHU Gabriel Toure de Bamako. (Doctorat en Médecine, université de Bamako, Mali).
18. Flandrois. J.P, Chomart. M. L'examen cyto bactériologique des urines, en bactériologie médicale pratique, MEDSI/MCGRAW-HILL-Paris (1988).
19. François. A et al. (2013). Infections urinaires, HUG (Hôpitaux Universitaires de Genève).
20. Gonthier. R. 2000. Infection urinaire du sujet âgé. La revue de Gériatrie, Hôpital Charité-CHU de Saint-Etienne.
21. Grimont. P.A.D. (1987). Taxonomie des *Escherichia*, P6-10, institut Pasteur, Paris, France.
22. Guillemot. D et al. 2006. Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine. AFSSA, institut de Pasteur, Paris.
23. Guillemot. F et al. 2006. Development of the mesencephalic dopaminergic neuron system is compromised in the absence of neurogenin 2.
24. Hajna. A.A (1945). Triple-sugar iron agar medium for identification of the intestinal group of bacteria 49 (5) p516-517.
25. Himi. R. (2016). Infection urinaire chez le diabétique (Doctorat, université de Marrakech).
26. Hofmann. Y. (2011). Fièvre du nourrisson : apport des tests urinaires rapides dans la démarche diagnostique. (Doctorat en médecine, université Paris Diderot- Paris 7).

- 27. Ketz. F. (2016).** Infections urinaires hautes aux urgences : incidence et facteurs associés au bon diagnostic. (Doctorat en Médecine, université Paris Diderot- Paris 7).
- 28. Kouta. K. (2009).** Infections urinaires chez les diabétiques adultes (Etude supérieures en Biologie, université Kasdi-Merbah-Ouargla).
- 29. Laboratoire Humeau.** Gélose nutritive à 2,8%(ISO) 2013. 44241 la chapelle- sur- erdre codex-France. [https://www.humeau.com TC_305-Nutritive-Gélose-FR-030315_4.pdf](https://www.humeau.com/TC_305-Nutritive-Gélose-FR-030315_4.pdf).
- 30. Laboratoire Humeau.** Gélose Hektoen 2010. 44241 la chapelle-sur- Erdre- codex-France. [https://www.humeau.com 180-Hektoen-Gélose-FR-030315_4.pdf](https://www.humeau.com/180-Hektoen-Gélose-FR-030315_4.pdf).
- 31. Laboratoire Humeau.** Milieu Mannitol-Mobilité-Nitrate. 2010. [https://www.humeau.comTC_257-mannitol-mobilité_FR_230215.pdf](https://www.humeau.com/TC_257-mannitol-mobilité_FR_230215.pdf).
- 32. LOW G.H (1962) J. Med Lab Technical.** Entérobacteriaceae disques ONPG.
- 33. Marchal, Bourdon J-L, Richard (1982).** Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries éditeur, Paris, 482P
- 34. Marine et al. (2016).** Etude de portage d'entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération et aux carbapénèmes chez les carnivores domestiques sains du Chuva, Alfort. (Doctorat Vétérinaire, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort).
- 35. Measso Sananes. S. (2014).** Quels sont les freins à la prise en charge en ambulatoire des pyélonéphrites aiguës simples du point de vue des médecins généralistes. Etude qualitative utilisant des entretiens semi-dirigés. (Doctorat en Médecine, Université Paris Diderot- Paris 7).
- 36. Nail-Billaud. S. (2020).** Infection urinaire : comment soigner une cystite ?
WWW.doctipharma.fr.
- 37. Ouardi. R. 2019.** Le profil bactériologique actuel de l'infection urinaire et l'état de résistance aux antibiotiques. (Doctorat en Médecine, université de Marrakech).
- 38. Raghu. F. (2016).** Epidémiologie de la résistance chez les entérobactéries isolées sur les ECBU réalisés dans un service d'urgence. (Doctorat en Médecine, université Paris Diderot- Paris 7).
- 39. Richard. B. Jean Bru. P et al. (2018).** European comite on antimicrobial susceptibility testing, Edité par La Société Française De La Microbiologie.

- 40. Saoudi. I. (2019).** Profil bactériologique des infections urinaires à l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech (pour l'obtention du doctorat en médecine, Faculté de Médecine et de Pharmacie Marrakech).
- 41. Sébastien et al. (2019).** L'antibiorésistance dans les principales filières de production : Enjeux, impacts et pertinence des mesures de lutte, Alfort (Doctorat vétérinaire, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort).
- 42. Smith. P. (2011).** La prostatite diagnostic et antibiothérapie en première ligne. Le médecin du Québec, volume 46, N°7, P1-32.
- 43. Vildé. JL. (27 novembre 2002).** Infections urinaires nosocomiales de l'adulte, institut Pasteur, par la société de pathologie infectieuse de langue française (SPILF) et l'association française d'urologie (AFU), Paris.
- 44. Vittecoq. M, Godreuil. S, Prugnolle. F et al. (2016).** Journal of applied Ecology, Antimicrobial resistance in wildlife.1-11.
- 45. Vorkafer. S. (2011).** Les infections urinaires communautaires bactériennes de l'adulte : prise en charge diagnostique et thérapeutique (Doctorat en Médecine, université Henri Poincaré, Nancy).
- 46. Yombi. J-C et J-C. Marot. 2015.** Le bon usage des antibiotiques en médecine générale : Focus sur les infections respiratoires et urinaires chez l'adulte, Bruxelles, louvain med, 2015, 134 (7) : 363-371.
- 47. Zahir. H. (2017).** L'infection urinaire chez l'enfant au CHU de Marrakech : écologie microbienne et sensibilité aux antibiotiques. (Doctorat en Médecine, université de médecine et de pharmacie-Marrakech).
- 48. Ziai. S. (2014).** La résistance bactérienne aux antibiotiques : apparition et stratégies de lutte. (Doctorat en Pharmacie, Université de LIMOGES).



ANNEXES



Annexe 1 : Composition des milieux utilisés :**1-Milieu de Mueller-Hinton (BIOKAR DIAGNOSTICS, 2009) :**

La gélose de Mueller Hinton est reconnue par tous les experts comme étant le milieu de référence pour l'étude de la sensibilité des germes aux antibiotiques et aux sulfamides. Il constitue un excellent milieu de base pour la fabrication de géloses au sang.

Milieu Mueller Hinton Formule* par litre d'eau purifiée

Hydrolysât acide de caséine	17,5g
Infusion de viande	2,0 g
Amidon soluble	1,5 g
Agar agar bactériologique	17,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : $7,3 \pm 0,2$.

*Ajustée et/ou complétée en fonction des critères de performances imposés. Les boîtes sont incubées en conditions aérobies pendant 18 à 24 h à 35 ± 2 °C.

2-Gélose nutritive : (Laboratoire Humeau. 2013)

Extrait de viande	3,0g
Peptone	5,0g
Chlorure de sodium	5,0g
Agar.....	15,0g

pH=7,3 +ou - 0,2

3-Milieu Hektoen : (Laboratoire Humeau .2010)

Peptone	12,0g
Extrait de levure : facteur de croissance.....	3,0g
Lactose : critère de différenciation.....	12,0g
Saccharose : critère de différenciation	12,0g
Citrate de fer III et d'ammonium révélateur d' H ₂ S	1,5g
Sels biliaire : inhibiteur	9,0g
Fuchsine acide : inhibiteur	0,1g
Bleu de bromothymol : inhibiteur de pH	0,065g
Chlorure de sodium : maintien de la pression osmotique	5,0g

Agar 14,0g

Ph final à 25°C=7,5+ ou- 0,2

4-Composition d'urée indole en g/l d'eau distillée : (Biorad)

L Tryptophane 3

KH₂PO₄ 1

K₂HPO₄ 1

Chlorure de sodium 5

Urée 20

Alcool à 95° 10 ml

Rouge de phénol 0,05

pH final : 6,8 ±0,2

5-Composition de TSI : (Bio-Rad)

Extrait de viande 3g

Extrait de levure 3g

Peptone 20g

Chlorure de sodium 5g

Lactose 10g

Saccharose 10g

Glucose 1g

Sulfate ferreux ammoniacal 300mg

Rouge de phénol 24mg

Thiosulfate de sodium anhydre 300mg

Agar 11g

Eau distillé..... 1000ml

pH (25°C) final = 7,4 ± 0,2

6-Composition de mannitol-mobilité (laboratoire Humeau. 2010)

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Peptone de caséine	10.00
Mannitol	7.50
Nitrate de potassium.....	1.00
Rouge de phénol	0.04
Agar.....	3.50

pH final à 25°C : 7,6 + 0,2 ou 7,6 – 0,2.

Annexe 2 : Les colorants**1-Composition chimique du cristal de violet : (Pratique en microbiologie de laboratoire)**

Cristal de violet	2g
Éthanol	20ml
Oxalate d'ammonium	0,8g
Eau distillée	80ml

2-Composition chimique de Lugol : (Pratique en microbiologie de laboratoire)

Iode	1g
Iodure de potassium	2g
Eau de potassium	2g
Eau distillée	100ml

3-Composition chimique de la solution de safranine : (Pratique en microbiologie de laboratoire)

Safranine O	0,25g
Éthanol (à 95%)	10ml
Eau distillée	100ml

Annexe 3 : Tableau de lecture d'antibiogramme :

ANTIBIOGRAMME

ANTIBIOTIQUES				Dénomination commerciale	Concentrations critiques	DIAMÈTRES DES ZONES (mm)		
Dénomination commune	Code	Classe	#8			R	I	S
PHÉNICOLS	Chloramphénicol	CX	30	Tiampricine/Chloramphénicol Soloncol	8 - 15	< 19	19 - 22	≥ 23
	Thiamphénicol	TPX	30	Thiophénicol/Fluimucil Antibiotic	8 - 16	< 19	19 - 22	≥ 23
TETRACYCLINES	Tétracycline	TE	30 UI	Abiosan/Hézacycline	4 - 8	< 17	17 - 18	≥ 19
	Oxytétracycline (6)	T	30 UI	Terramycine (Auréomycine)	4 - 8	< 17	17 - 18	≥ 19
	Doxycycline	D	30 UI	Varamycine/Vibraveineuse	4 - 8	< 17	17 - 18	≥ 19
	Minocycline	MI	30 UI	Mynocine	4 - 8	< 17	17 - 18	≥ 19
MACROLIDES (vrais) (apparentés)	Erythromycine	E	15 UI	Propioline/Abboticine/Erythroline	1 - 4	< 17	17 - 21	≥ 22
	Clindamycine	OL	15 UI	T.A.O.	1 - 4	< 17	17 - 21	≥ 22
	Spiramycine (6)	SP	100	Rovamycine (Josacine)	2 - 8	< 16	16 - 21	≥ 22
	Lincomycine	L	15	Lincomine	2 - 8	< 17	17 - 20	≥ 21
	Clindamycine	CC	2 UI	Dalacine	2	< 15		≥ 15
	Virginiamycine	SA	15	Staphylomycine	2	< 19		≥ 19
	Fristinamycine	PR	15	Pyostacine	2	< 19		≥ 19
POLYPEPTIDES	Bacitracine	B	10 UI (130 µg)	Bacitracine	2	< 15		≥ 15
	Polymyxine	PB	300 UI	Polymyxine B	2	< 15		≥ 15
	Colistine	CL	10	Colimycine	2	< 8	8 - 10	≥ 11
NITROFURANES	Furanes (7)	FM	300 UI	Furadoïne/Furadantine/Furoxane/Furazolidone/Urfadyn	25 - 100	< 14	14 - 15	≥ 17
SULFAMIDES	Sulfamides (7)	G	250	Résultat valable pour tous les sulfamides	100 - 350	< 12	12 - 16	≥ 17
	Triméthoprime-Sulfamides	SXT	1,25 + 23,75	Bactrim/Eusaprim/Quam/Supristol/Antrime	2 - 8 38 - 152	< 10	10 - 15	≥ 16
QUINOLONES	Acide nalidixique (7-8)	NA	30	Négram (Aparone, Purim, Urotrate)	8 - 15	< 15	15 - 15	≥ 20
	Acide pipémidique (7)	PI	20	Pipram	8 - 15	< 14	14 - 18	≥ 19
	Pefloxacine	PEF	5	Péflacine	1 - 4	< 15	16 - 21	≥ 22
RIFAMYCINES	Rifampicine	RA	30	Rifadine/Rimactan	4 - 15	< 14	14 - 18	≥ 19
	Acide fusidique	FA	10	Fucidine	2 - 15	< 15	15 - 21	≥ 22
DIVERS	Nitroxoaline	NI	20	Nibiol	8 - 15	< 17	17 - 18	≥ 19
	Fosfomycine	FEL	50	Fosfocine	32	< 14		≥ 14
	Novobiocine	NB	30 UI	Cathomycine	2 - 15	< 15	16 - 21	≥ 22
	Vancomycine	VA	30	Vancocine	20	< 11		≥ 11

1) Réponse valable pour toutes les pénicillines du groupe G.
 2) Réponse valable pour les dérivés et analogues de l'ampicilline (pivampicilline, méampicilline, bacampicilline, etc.), céphalosporines.
 3) Réponses valables pour les staphylocoques après incubation à 30 °C ou sur milieu hyperséché à 37 °C. Ces résultats peuvent être extrapolés à l'ensemble des pénicillines.
 4) Réponse valable pour Chloramphénicol et Chloramphénicol.
 5) Réponse valable pour Chlorotétracycline et Doxycycline.
 6) Réponse valable pour Josamycine et Midecamycine.
 7) Réponse valable pour les tetracyclines, sauf dans les infections urinaires.
 8) Les souches résistantes à l'acide nalidixique peuvent être considérées comme cliniquement résistantes à l'acide oxolinique, l'acide piromidique et la fluméquine. Il paraît donc logique de ne tester que l'acide nalidixique.

Table de lecture 9 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Entérobactéries*

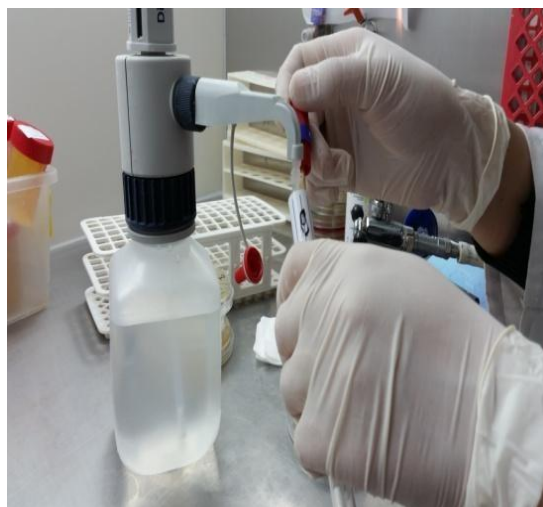
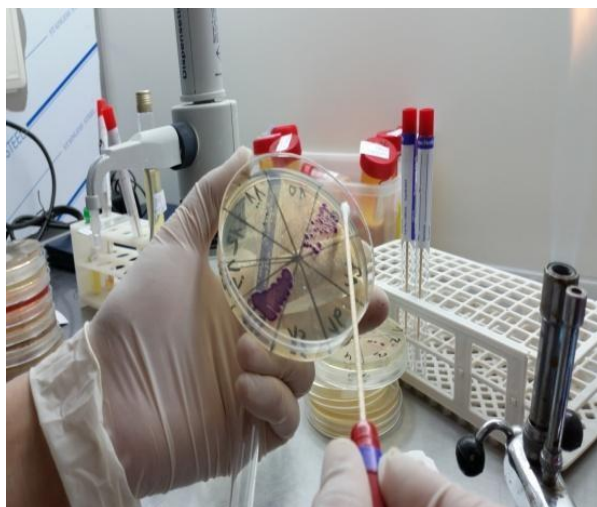
Conditions du test :
 Milieu : Gélose Mueller-Hinton
 Inoculum : Colonies en suspension, 0,5 Mc Farland
 Incubation : 35°C, atmosphère ordinaire ; 18 h.

Contrôle de qualité :
Escherichia coli ATCC 25922

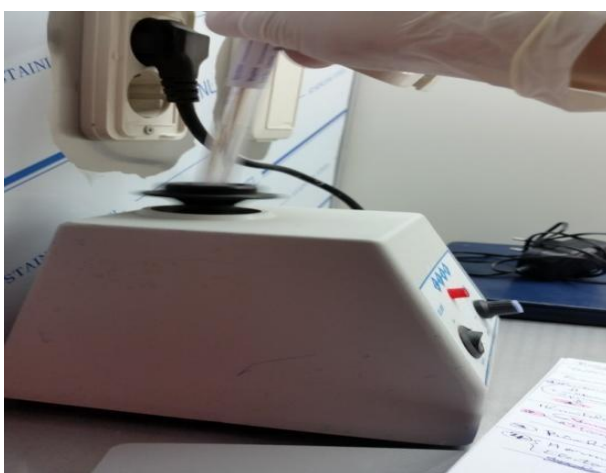
Antibiotiques testés	Charge des Disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)	
		Résistant	Intermédiaire	Sensible	Résistant	Sensible
β-lactamines :						
Ampicilline	30 µg	≤ 13	14 - 16	≥ 17	≥ 32	≤ 8
Amoxicilline	30 µg	≤ 13	14 - 17	≥ 18	≥ 32/16	≤ 8/4
Amoxicilline+Ac. clavulanique	30 µg	≤ 14	15 - 17	≥ 18	≥ 32	≤ 8
Cefazoline	30 µg	≤ 14	15 - 17	≥ 18	≥ 32	≤ 8
Cefoxitine	30 µg	≤ 14	15 - 17	≥ 18	≥ 64	≤ 8
Cefotaxime	30 µg	≤ 13	14 - 20	≥ 21	≥ 64	≤ 8
Ceftazidime	30 µg	≤ 13	14 - 15	≥ 16	≥ 16	≤ 4
Ceftioxième	10 µg	≤ 13	14 - 15	≥ 16	≥ 16	≤ 4
Aminosides :						
Gentamicine	30 µg	≤ 14	15 - 16	≥ 17	≥ 32	≤ 16
Amikacine	10 µg	≤ 12	13 - 14	≥ 15	≥ 8	≤ 4
Quinolones :						
Gatifloxacin	5 µg	≤ 12	13 - 15	≥ 16	≥ 8	≤ 2
Ofloxacine	5 µg	≤ 12	13 - 15	≥ 16	≥ 4	≤ 1
Ciprofloxacine	5 µg	≤ 15	16 - 20	≥ 21	≥ 4	≤ 1
Autres :						
Chloramphénicol	30 µg	≤ 12	13 - 17	≥ 18	≥ 32	≤ 8
Furanes	300 µg	≤ 14	15 - 16	≥ 17	≥ 128	≤ 32
Fosfomycine	200 µg	≤ 12	13 - 15	≥ 16	≥ 256	≤ 64
Triméthoprime/Sulfaméthoxazole	1,25/23,75 µg	≤ 10	11 - 15	≥ 16	≥ 8/152	≤ 2/36

Standardisation de l'antibiogramme en Médecine Humaine
4^{ème} Edition 2005

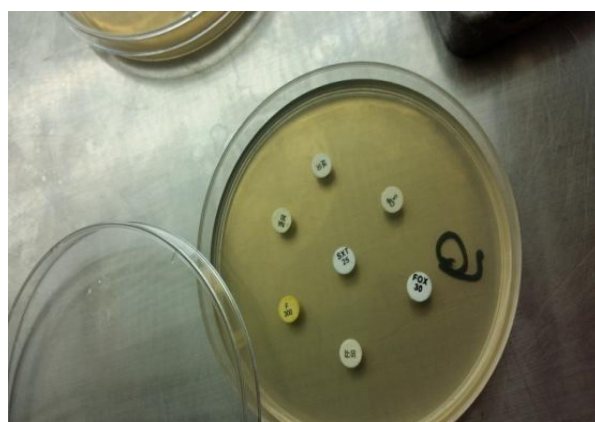
Annexe 4 : Les étapes de l'antibiogramme.



Des colonies du germe à étudier ont été prélevées et dissociées dans 5 ml d'eau physiologique.



Après agitation les boîtes de gélose MH ont été étalées par écouvillonnage.



Les disques d'ATB à tester ont été déposés et incubés à 37°C pendant 24 heures.

Annexe 5 : Le matériel, réactifs et milieux de cultures utilisés au laboratoire.



Annexe 6 : Fiche de renseignement (Questionnaire).

ETABLISSEMENT HOSPITALIER Dr. BENZERDJEB
Aïn-Temouchent
Service - PTS

Document 2 - Questionnaire

* Vous sentez vous en forme pour donner votre sang Oui Non

* Avez - vous déjà donné votre sang Oui Non

* Date du dernier don Oui Non

* Etes vous à jeun Oui Non

Avez vous dans votre vie :

* Eté hospitalisé (e) Oui Non

* Eté transfusé Oui Non

* Eu une maladie cardiaque (Trouble du Rythme Cardiaque, Valvulopathies, Angor, IDM ...) & / Ou HTA Oui Non

* Eu une affection allergique grave & / Ou de l'asthme Oui Non

* Eu le diabète Oui Non

* Eu un ulcère gastro - duodénale Oui Non

* Eu une maladie dermatologique (acné " roaccutane " OU psoriasis "soriatane ") Oui Non

* Eté traité (e) par hormone de croissance Oui Non

* Voyager en Afrique, en Asie, en Amérique Latin Oui Non

* En une relations sexuelles extra conjugales non protégées Oui Non

* Pris des drogues par voie injectable ou nasale Oui Non

Dans les 4 dernier mois, avez vous :

* Eté opéré (e) au ours d'une hospitalisation & / OU subi une anesthésie ou locorégionale Oui Non

* Eté vacciné (e) Oui Non

* Subi une endoscopie Oui Non

* Subi un tatouage ou un piercing Oui Non

* Eu une affectation urinaire Oui Non

Pour la Femme :

* Etes vous en ceinte Oui Non

* Avez vous accouché ou fait une fausse couche depuis moins de 6 mois Oui Non

* Etes vous en gèle Oui Non

Depuis une semaine, avez vous

* Pris une médicaments ATB, CTC, Aspirine Oui Non

* Subi des soins dentaires Oui Non

* Eu de la fièvre Oui Non

Annexes 89

Annexe 7 : Les tableaux de profil de résistance d'*E. coli*.

Tableau 1 : Distribution globale des ECBU.

Cas D'ECBU	ECBU positif (<i>E. coli</i>)	ECBU positif (autre germe)	ECBU négatif	ECBU contaminé	Total
Nombre de cas	27	7	11	5	50
Pourcentage	54 %	14 %	22 %	10 %	100%

Tableau 2 : Répartition des souches *E. coli* isolées en fonction du sexe.

	Nombre	Pourcentage
Hommes	9	33,33%
Femmes	18	66,67%
Total	27	100%

Tableau 3 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches *E. coli* isolées.

Antibiotique	Pourcentage de résistance
Ampicilline	100%
Amoxicilline	100%
Nitroxoline	11,11%
Gentamycine	22,22%
Céfotaxime	11,11%
Cotrimoxazole	25,93%
Amoxicilline +Acide clavulanique	74,07%
Ofloxacine	7,41%

Tableau 4 : Profil de résistance des souches *Escherichia coli* isolées chez l'homme.

Antibiotique	Pourcentage
Ampicilline	100%
Amoxicilline	100%
Nitroxoline	11,11%
Gentamycine	22,22%
Céfotaxime	22,22%
Cotrimoxazole	22,22%
Amoxicilline +Acide clavulanique	66,67%
Ofloxacine	11,11%

Tableau 5 : Profil de résistance des souches *Escherichia coli* isolées chez la femme

Antibiotique	Pourcentage
Ampicilline	100%
Amoxicilline	100%
Nitroxoline	5,56%
Gentamycine	22,22%
Céfotaxime	5,56%
Cotrimoxazole	5,56%
Amoxicilline +Acide clavulanique	66,67%
Ofloxacine	5,56%

Tableau 6 : Caractères biochimiques d'*Escherichia coli* par la galerie classique.

Caractères	Urée -Indole		TSI				ONPG
	Urée	Indole	Glu	Lac-Sac	Gaz	H ₂ S	
Résultats	-	+	+	+	+	-	+



RÉSUMÉ



Résumé :

L'infection urinaire demeure un véritable problème de santé publique par sa fréquence, son coût et sa gravité potentielle surtout avec l'émergence de germes uropathogènes résistants voire multirésistants au traitement par les antibiotiques. Notre étude vise à déterminer le niveau de résistance de 29 souches *E. coli* isolées à partir d'infections urinaires chez l'adulte au niveau de 2 établissements hospitaliers à Ain Temouchent. Les résultats de l'ECBU montrent une prédominance féminine de ces infections (66,67%), *E. coli* étant le germe le plus rencontré (54%). L'étude de la résistance des souches isolées aux différents antibiotiques révèlent que ces dernières sont extrêmement résistantes aux bêtalactamines (100% des souches sont résistantes à l'amoxicilline et l'ampicilline et 74% pour l'amoxicilline acide clavulanique) ce qui les rend inefficaces contre ce type d'infections. Une résistance moyenne a été enregistrée pour le cotrimoxazole et la gentamycine (25,95 et 22% respectivement). L'ofloxacine, le cefotaxime et la nitroxoline gardent une bonne activité sur les souches isolées. Les taux de résistance étaient plus élevés chez le sexe masculin pour certains antibiotiques.

Concernant la multirésistance, les taux sont très inquiétants où 100% des souches était résistantes à au moins 2 antibiotiques différents et plus de 33% pour au moins 4 antibiotiques. Ce phénomène peut être dû à l'automédication, la prescription d'antibiotiques sans avoir recours à l'antibiogramme et l'alternance des antibiotiques dans les traitements, sans respecter la durée et la dose.

Mots clés : *Escherichia coli*, infection urinaire, femme, homme, ECBU, profil de résistance, antibiotiques, antibiogramme.

Abstract:

Urinary tract infection remains a real public health problem due to its frequency, cost and potential severity, especially with the emergence of uropathogenic germs resistant or even multi-resistant to treatment with antibiotics. Our study aims to determine the resistance level of 29 *E. coli* strains isolated from adult urinary tract infections at 2 hospitals in Ain Temouchent. The ECBU results show a female predominance of these infections (66.67%), with *E. coli* being the most commonly encountered germ (54%). The study of the resistance of isolated strains to different antibiotics reveals that they are extremely resistant to betalactamines (100% of the strains are resistant to amoxicillin and ampicillin and 74% for amoxicillin clavulanic acid) making them ineffective against this type of infection. Average resistance was recorded for cotrimoxazole and

gentamycin (25.95 and 22% respectively). Ofloxacin, cefotaxime and nitroxoline maintain good activity on isolated strains. Resistance rates were higher in the male sex for some antibiotics.

Regarding multi-resistance, the rates are very worrying where 100% of the strains were resistant to at least 2 different antibiotics and more than 33% for at least 4 antibiotics. This can be due to self-medication, the prescribing of antibiotics without the use of antibiotics and the alternation of antibiotics in treatments, without respecting the duration and dose.

Key words: *Escherichia coli*, urinary tract infection, woman, man, ECBU, resistance profile, antibiotics, antibiogram.

ملخص

لا تزال عدوى المسالك البولية مشكلة صحية عامة حقيقية بسبب تواترها وتكلفتها وشدتها المحتملة، خاصة مع ظهور جراثيم مسالك بولية مقاومة أو حتى مقاومة متعددة للعلاج بالمضادات الحيوية. تهدف دراستنا إلى تحديد مستوى المقاومة لـ 29 سلالة اشيريشيا كولي معزولة عن التهابات المسالك البولية البالغة في مستشفيات في عين تيموشنت. وتظهر نتائج الفحص السيتوبكتريولوجي للبول غلبة الاناث من هذه الاصابات (66.67%)، مع اشيريشيا كولي هي الجرثومة الأكثر شيوعا (54%). دراسة مقاومة سلالات معزولة لمختلف المضادات الحيوية يكشف أنها مقاومة للغاية لبينالكتامين (100% من سلالات مقاومة لأموكسيسيلين وأمبيسيلين و74% للاموكسيسيلين - حمض كلافيلانك مما يجعلها غير فعالة ضد هذا النوع من العدوى. تم تسجيل متوسط المقاومة للكوتريموكسيزول وجنتاميسين (25.95 و 22% على التوالي). أفلوكسيسين، سيفوتاكسيم والنترتوكسولين الحفاظ على نشاط جيد على سلالات معزولة. وكانت معدلات المقاومة أعلى في جنس الذكور لبعض المضادات الحيوية

وفيما يتعلق بالمقاومة المتعددة، فإن المعدلات مقلقة للغاية حيث كانت 100% من السلالات مقاومة لمضادات حيوية مختلفة على الأقل وأكثر من 33% لـ 4 مضادات حيوية على الأقل. يمكن أن يكون ذلك بسبب التطبيق الذاتي، ووصف المضادات الحيوية دون استخدام المضادات الحيوية وتناوب المضادات الحيوية في العلاجات، دون احترام المدة والجرعة.

الكلمات المفتاحية: اشيريشيا كولي، عدوى المسالك البولية، امرأة، رجل، الفحص السيتوبكتريولوجي، ملف المقاومة، مضادات حيوية، مقاومة المضادات الحيوية.