REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHESCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

Mémoire présenté pour obtenir le diplôme de Master

En biologie

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème :

Echerichia.coli responsable des infections urinaires communautaires chez la femme [dans la région de ksar Elboukhari], isolement, identification et sensibilité aux antibiotiques.

Encadré par : Mr.Foudhil mohamed.

Présenté par : Boubekri Abdelhak

Hamza Ouafa

Hannane Roumaissa

EXAMINATUR :

Mr Rahal Mohamed

Mr.BENNADJI

Mohamed

Année universitaire 2021-2022

Dédicace 1 :

Derrière chaque étudiant un monde qui le soutient et l'encouragé. Je dédie ce mémoire à :

***Ma mère**, qui a œuvré pour ma réussite, de son amour, son soutien, tous les sacrifices Consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie.*

***Mon père**, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de Privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte Son fruit, Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutient permanent venu de toi.*

***Mes frères et ma sœurs** : Zakaria, Amine, Youcef et Meriem qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité. Et à toute ma grande famille Boubekri.*

***Et surtout à mon binôme** : Hamza Ouafa ; Hannane Roumaisa*

***ET à mes chères amis** : Chaouati Mhamed, Moussaoui Karim, Bellagoune Riadh, , Kiraouani Houssin et Arab ghada , tous mes amis .*

Boubekri Abdelhak.

Dédicace 2 :

Tout d'abord, je tiens à remercier DIEU

De m'avoir donné la force et le courage à bien modeste ce travail.

Je tiens à dédier cet humble travail à :

A ma tendre mère Dalila et mon très cher père Karim

A mes frères Brahim et Redouane

A mes sœur : Nihad ; Ritadj ; Sadjiya

Au fils de ma soeur Rayan

A mes grandes parentes

A mes tantes et mes oncles

A mon binôme : Abdelhak et Roumaisa

A mes meilleurs amis :

Marwa ; Ikram ; Batoul ; Romaisa

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

Ouafa Hamza .

Dédicace 3 :

Je dédie ce travail :

A ma mère et à mon père

A mes cher frères Sohaib et Abdelsamed et Idris

A mes grandes parentes, mes tantes et mes oncles.

A mon chère binômes : Abdelhake boubekri et hamza oufaa

A mes chères amies : Marwa et Soumia et Achwake et Ahlame et Imane

Et Karim et Noureddine et Houssine et youssef

A tous ; ceux que je connais et que j'aime.

Hanane Romaissa

REMERCIEMENTS :

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

En second lieu, nous tenons à remercier notre encadreur Mr FODHIL MOHAMED pour son précieux conseils et son aide durant toute la période du travail, pour ses orientations, sa patience et sa disponibilité de manière nous la considérés parfaite.

Nous remercions Dr Houari F directeur du laboratoire privé Houari le lieu de notre stage attendions effort, confiance et motivation.

Nous remercions nos enseignants pour leurs efforts au cours de nos années d'études.

Nous remercions les ingénieurs de laboratoire et le personnel administratif de notre faculté.

Veuillez trouver ici l'expression de nos respectueux, considération et nos profondes admirations pour toutes vos qualités scientifiques et humaines.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury. Pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail.

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Matériel et verrerie utilisé dans notre étude.

Tableau 2 : Les disques d'antibiotiques utilisés.

Tableau 3 : Répartition selon l'aspect macroscopique des urines.

Tableau 4 : Résultat de la chimie des urines analysées.

Tableau 5 : Les résultats de dénombrement bactérien.

Tableau 6 : Répartition d'infection urinaire en fonction de l'état civil de la femme.

Tableau 7 : Fréquences des urines infectées en fonction des tranches d'âge.

Tableau 8 : Répartition des souches selon les services.

Tableau 9 : Résultats d'antibiogramme de toutes les souches.

Tableau 10 : Profil de résistance antibiotique d'E. Coli

Liste des figures :

Figure 1 : Galerie API 20 E Pour E. coli.

Figure 2 : les voies urinaires et les sites d'infection.

Figure 3 : Escherichia coli adhésion et structures de mobilité.

Figure 4: Portrait d'Alexander Fleming (Nobel foundation, Alexander Fleming 1945).

Figure 5 : E.test déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) d'un antibiotique.

Figure 6 : Schéma représentant un antibiogramme (Haute garonne.gouv, Visite sanitaire, 2019).

Figure 7 : Technique d'ensemencement de milieu TSI.

Figure 8 : Technique d'utilisation de Galerie API 20 E.

Figure 9 : Représentation schématique des étapes d'ensemencement d'antibiogramme.

Figure 10 : Répartition des prélèvements selon la provenance.

Figure 11 : Schéma des prélèvements significatifs et non significatives et des germes trouver.

Figure 12 : Aspect d'E.coli sur Hektoen.

Figure 13 : Aspect d'E. Coli sur GN.

Figure 14 : E.coli sur ChromAgar.

Figure 15 : Purification sur GN.

Figure 16 : Coloration de GRAM d'E. Coli.

Figure 17 : Teste catalase.

Figure 18 : Test oxydase.

Figure 19 : E. coli sur milieu TSI.

Figure 20 : Galerie API 20 E d'E. Coli.

Figure 21 : Prévalence d'E. Coli

Figure 22 : Répartition d'E. Coli en fonction de catégories infectées.

Figure 23 : Antibiogramme d'E. Coli isolée des infections urinaires.

Figure 24 : Types des souches e.coli selon leur sensibilité aux antibiotiques.

Figure 25 : Taux de résistance d'E. Coli aux différents antibiotiques.

Figure 26 : Taux de résistance d'E. Coli aux céphalosporines en Algérie et au Maroc.

Liste des abréviations :

ADN : L'acide désoxyribonucléique.

AFA : A fimbrial adhésine.

AG : antigène.

AGH : L'antigène flagellaire H.

AGK : antigène du système Kell.

AGL : antigène lipopolysacgaride.

AGO : L'antigène somatique O.

API 20 E : système standardisé (BioMérieux) permet l'identification des entérobactéries et autres bacilles à gram négatif.

ARN : L'acide ribonucléique.

ATB : antibiotique.

BGN : bactérie gram négative.

BLSE : Bêta Lactamase à Spectre Etendu.

BU : bandelettes urinaires.

C° : degré Celsius.

C3G : céphalosporines de troisième génération.

CD : céphalosporinase déréprimée.

CFAI : colonisation facteur antigène I.

CFAII : colonisation facteur antigène II.

CIB : Communautés bactériennes intracellulaires.

C.Ind : céphalosporinase inductible.

CMI : Concentration minimale d'Inhibition.

CMB : Concentration minimale bactéricide.

CTX-M : Céfotaxime –Munich.

ECBU : Examen cytobactériologique des urines.

E. coli : Escherichia coli.

E : Escherichia.

EHEC : E. coli entérohémorragiques.

EIEC : E. coli entéroinvasif.

EPEC : E. coli entéropathogènes.

ETEC : E. coli entérotoxinogène.

EUCAST: European Committee for Antibiotic Susceptibility Testing.

GR : globule rouge.

H : heure.

H2S : sulfure d'hydrogène.

HA : hémagglunation.

IU : infection urinaire.

LBC : Communauté bactérienne intracellulaire.

LDC : décarboxylations de l'acide aminé lysine par la lysine décarboxylase.

LPS : lipopolysaccharides.

LT: Toxines thermolabiles.

MH : Mueller-Hinton.

ONPG : test de l'enzyme β-galactosidase par hydrolyse du substrat o-nitrophényl-bD-galactopyranoside.

PAP : Pyélonéphrite associated pili.

P.B.N : Phénotype pénicillinase de bas niveau.

PH : Le potentiel hydrogène.

P.H.N : Phénotype pénicillinase de haut niveau.

PLP : protéines liant les pénicillines.

PNA : pyélonéphrite aiguë.

P.S : Phénotype sensibles.

QIR : réservoirs intracellulaires quiescents.

RM : test du rouge de méthyle.

SFA : α sialyl galactose.

SFM : la Société Française de Microbiologie.

SHV : Sulfhydryl variable

ST: Toxines thermostables.

STx: shigatoxine.

TDA : tryptophane désaminase.

TEM : Temoneira

TSI : triple sugar iron.

UFC : unité formant colonie.

UPEC: E.COLI europathogènes.

Urée : test de l'enzyme uréase.

UTI : infections du tractus urinaire.

VP : le test de Voges-Proskauer pour la détection de l'acétoïne.

VT: vérocytotoxine.

Tableau de matière :

Liste des tableaux 06

Liste des figures..... 09

Résume 17

Introduction générale..... 20

Partie 1 :

CHAPITRE I : introduction sur les infections urinaire 22

1. Définition 23

2. Classification et terminologie..... 23

infection urinaire simple 23

Infections urinaires à risque de complication 23

Infections urinaires graves..... 23

2.4 Cystites récidivantes 23

2.5. Colonisation urinaire..... 23

3. Epidémiologie 24

4. les voies de contaminations (physiopathologie) 24

Voie ascendante 24

voie hématogène 24

Voie lymphatique..... 25

5. Facteurs de risques 25

Facteurs liés à l'hôte, pathologiques..... 25

Facteurs liés à l'hôte, physiologiques..... 25

6. Les germes causals d'infection urinaire..... 25

7. Diagnostic des infections urinaire..... 26

Prélèvements des urines..... 26

Les bandelettes urinaires..... 27

Examen cytobactériologique des urines (ECBU)..... 27
Définition 27
Signification Leucocytaire..... 28
Signification Bactérienne..... 28
Examen direct..... 28
7.4.5. But d'ECBU..... 28

CHAPITRE II : Généralités sur Escherichia coli..... 29
1. Classification et morphologie..... 30
2. Habitat..... 30
3. Culture et identification..... 30
Caractères culturaux..... 30
Caractères biochimiques..... 30
4. Structure antigénique des E. coli..... 31
Antigène d'enveloppe ou de capsule..... 31
Antigène d'adhésions..... 31
5. Identification..... 31
6. Pouvoir pathogène..... 32
7. Facteur de virulence..... 32
L'antigène O (LPS) ou endotoxine..... 31
Toxines Elabores..... 32
8. Résistances aux antibiotiques..... 32
9. Les E. coli uropathogènes..... 32

CHAPITRE III : Antibiothérapie..... 35
1. Historique..... 36
2. Définition..... 36
3. Les classes d'antibiotiques..... 37

4.Modes d'action des ATB 37
5. Les mécanismes de résistances bactériennes aux antibiotiques..... 38
6. Mécanismes de résistance d'E. Coli 38
7. Définition de BLSE..... 39
8. Caractéristiques moléculaires des BLSE 40
9. Activité des antibiotiques..... 41
10. Mesures de base de l'activité antibiotique 42
11. L'antibiogramme par la méthode de diffusion en milieu gélosé 42
Partie 2 : matériels et méthodes
1. Matériels.....45
2. Méthodes 45
Au niveau de laboratoire privé :
Réception de l'échantillon 45
Examen macroscopiques..... 46
Examen microscopique..... 46
Examen état frais..... 46
Chimie des urines..... 47
Examen qualitatif de culot de Centrifugation coloré au Gram.46
Au niveau de laboratoire de faculté de sciences
Examen bactériologique..... 48
Isolement 48
Purification..... 49
Identification biochimique.....49
La recherche d'une oxydase..... 49
La recherche d'une catalase 50
Coloration de GRAM..... 50
La culture sur milieu TSI 52
Galerie API 20^{E} 53

Conservation 54
Antibiogramme 54
Antibiogramme par diffusion des disques 55

Partie 3 : résultats et discutions

A .Résultats 60

1. Répartition des prélèvements selon la provenance 60
2. Examens macroscopiques des urines 60
3. Résultats de la bandelette urinaire 60
4. Résultats bactériologiques (Dénombrement bactérien) 61
5. Isolement… 61
6. Germes Isolées sur milieu (HEKTOEN,GN,chrom agar) 62

Spectre d'e.coli sur différents milieux 64

7. Identification 65

La coloration de Gram 65

Test catalase 65
Test Oxydase 65
Milieu TSI 65
La galerie API20E 66

8. Répartition d'E. Coli en fonction de catégories infectées 66
9. Fréquences des urines infectées et non infectées en fonction de l'âge 67
10. Répartition des souches d'E. Coli isolées selon l'origine 68
11. Résultats d'antibiogramme 69

11.1Profil de résistance antibiotique d'E. Coli 72

B. Discussion 73

Conclusion générale 75

Bibliographie 76

Annexe.....86

Résumé :

L'infection urinaire demeure partout dans le monde une pathologie très fréquente, c'est l'un des principaux motifs de consultation, d'explorations microbiologiques et de prescription des antibiotiques avec pour cette dernière, les conséquences sur le coût des soins et du développement de résistances bactériennes. L'objective de notre travail est de déterminer les antibiotiques les plus efficaces contre l'infection urinaire à E. coli chez la femme dans la région d'étude. Sur l'ensemble des ECBU examinés (109 échantillons), 34 répondaient aux critères d'une infection urinaire, le taux de positivité est alors de 31.19 %. Les profils bactériologiques des infections montrent que les bactéries prédominantes sont les entérobactéries ; avec *Escherichia coli* (62%), suivie par *Klebsiella* (16%) et la femme enceinte était la catégorie la plus toucher. Les résultats d'antibiogramme montrent que le taux souches multirésistantes (BMR) 47.61%, et La Gentamicine était l'anti-infectieux le plus fréquemment actif avec le Fosfomycine (100% des souches étaient sensibles)

Les mots clés :
Escherichia coli – l'urine- infection urinaire-la femme -antibiotique-résistance-ECBU-antibiogramme

الملخص:

لا تزال عدوى المسالك البولية أمراضًا شائعة جدًا في جميع أنحاء العالم، فهي واحدة الاستكشافات المكروبيولوجية ووصفات المضادات الحيوية الأخيرة آثار التكلفة على رعاية وتطوير مقاومة البكتيريا.
الهدف من عملنا هو تحديد المضادات الحيوية الأكثر فعالية ضد عدوى المسالك البولية الإشريشية القولونية لدى النساء في منطقة الدراسة من مجموع الوحدات التي تم فحصها (109 عينات)، استوفى 34 منها معايير لعدوى المسالك البولية، فإن معدل الإيجابية هو 31.19٪.
تظهر الملامح البكتريولوجية للعدوى أن البكتيريا السائدة هي البكتيريا المعوية؛ مع الإشريكية القولونية 62٪، تليها كليبسيلا 16%
وكانت المرأة الحامل هي الفئة الأكثر تضررا. تظهر نتائج المضادات الحيوية أن معدل السلالة المقاومة للأدوية المتعددة47.61٪
وكان الجنتاميسين هو أكثر مضادات العدوى نشاطًا مع الفوسفوميسين (100٪ من السلالات كانت حساسة)

الكلمات المفتاحية:
عدوى المسالك البولية-البول-المراة -المضادات الحيوية-المقاومة-نتائج المضادات الحيوية الإشريشية القولونية-

Abstract:

The urinary tract infection remains a very frequent pathology all over the world; it is one of the main reasons for consultation, microbiological explorations and prescription of antibiotics with, for the latter, the consequences on the cost of care and development. Bacterial resistance. The objective of our work is to determine the most effective antibiotics against E. coli urinary tract infection in women in the study area. Of all the ECBU examined (109 samples), 34 met the criteria for a urinary tract infection, the positivity rate is then 31.19%. Bacteriological profiles of infections show that the predominant bacteria are Enterobacteriaceae; with *Escherichia coli* (62%), followed by *Klebsiella* (16%) and the pregnant woman was the most affected category. The antibiogram results show that the rate of multiresistant strains (BMR) was 47.61%, and Gentamicin was the most frequently active anti-infective with Fosfomycin (100% of the strains were sensitive)

Key words:

Escherichia coli- urine-woman-The urinary tract infection- antibiotics- resistance- ECBU- antibiogram

Introduction générale :

L'infection urinaire (IU) est une des infections bactériennes les plus fréquentes et constitueun problème majeur de santé publique **(Zahir et *al*., 2019)**

La fréquence des infections urinaires est estimée à 150 millions de cas par an dans lemonde **(Bertholom., 2016)**

C'est l'une des principaux motifs de consultation, d'exploration microbiologique et deprescription d'antibiotiques .avec leurs conséquences sur le cout des soins et du développement de résistances bactériennes **(zahir et al. ,2019)**. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), les infections urinaires à *Escherichia coli* sont de loin les plus fréquentes au sein de l'hôpital et de la communauté (OMS2014). Au cours de ces dernières années, une augmentation de l'incidence des résistances aux antibiotiques des germes responsables d'infection urinaire a été constatée **(Rakotovao-Ravahatra et *al* .,2017),** et le traitement devient difficile surtout chez la femme prédisposée à des infections urinaires fréquentes, qui menacent la santé et le bien être avec risque de développer des infections chroniques ou à répétition.

L'examen cytobactériologique des urines reste l'examen clé pour le diagnostic positif de cette infection, il permet d'identifier le germe responsable et d'étudier sa sensibilité aux antibiotiques. Le recueil de l'échantillon ainsi que son acheminement vers le laboratoire doivent être effectué dans des conditions strictes et selon un Protocol bien défini pour éviterles erreurs d'interprétation **(Ilyass ., 2019).** L'antibiogramme reste une technique de base pour déterminer la sensibilité des agents infectieux aux différents antibiotiques, et le recours à cette technique devient de plus en plus important pour éviter les échecs thérapeutiques et le développement des résistances aux antibiotiques, phénomène inquiétant qui provoque l'émergence des souches multirésistantes qui menacent la santé publique.

Ce travail est divisé en deux parties :

1- Partie théorique : a pour but d'étudier les infections urinaires, et leurs classifications, physiopathologie, et épidémiologie, les facteurs de risque,les voies de contaminations urinaires et les germes causals, structurée en trois chapitres interdépendants : Le premier donne une idée générale sur les infections urinaires bactériennes et leurs principaux agents causals, les déférentes voies de

contaminations, et le diagnostic de l'infection urinaire. Le deuxième détaille la morphologie, l'identification biochimique, le pouvoir pathogène *d'Escherichia coli*. Le troisième implique la sensibilité et la résistance

D'*E. Coli* sous l'effet des différents antibiotiques et l'orientation thérapeutiques.

2- Partie pratique : devisée en deux temps :

Le premier temps au niveau de laboratoire privé dans la zone d'étude (KSAR EL BOUKHARI). Pour récolter les prélèvements et réaliser l'ECBU.

Le deuxième temps au niveau de laboratoire de la faculté SNV de l'université YAHIA Farés de Médéa, pour faire l'étude bactériologique et des tests de sensibilité antimicrobienne.

L'objectif de notre étude était l'investigation de l'état actuel de la sensibilité aux antibiotiques pour *E.coli* responsable des infections urinaires communautaires chez la femme (dans la région de KSAR EL BOUKHARI), pour mieux orienter la thérapeutique des infections urinaires.

Chapitre I

Introduction sur les infections urinaires

1. Définition :

L'infection urinaire est une agression de tout ou partie de l'arbre urinaire par un ou plusieurs microorganisme qui génèrent une réaction inflammatoire et des manifestations cliniques .elle se définit donc par des signes cliniques évocateurs et d'une leucocyturie considérées comme significatives **(Raghu.,2016)**

2. Classification et terminologie :

Infection urinaire simple :

Ce sont des IU survenant chez des patients sans facteur de risque de complication

Infections urinaires à risque de complication :

Ce sont des IU survenant chez des patients ayant au moins un facteur de risque pouvant rendre l'infection plus grave et le traitement plus complexe Infections urinaires graves :

Ce sont les PNA et les IU masculin S'associé :

- un sepsis grave.

- un choc septique.

Cystites récidivantes :

Elles sont définies par la survenue d'au moins 4 épisodes pendant 12 mois consécutifs.

Colonisation urinaire :

La colonisation urinaire est la présence d'un microorganisme dans les urines sans manifestations cliniques associée les deux seules situations consensuelles pour le dépistage et le traitement des colonisations urinaires sont :

- avant une procédure urologique invasive programmée
- grossesse à partir du 4eme mois recommandation spécifique chez la femme enceinte

(Ouamrouche et *al.* , 2019) .

3. Epidémiologie :

L'incidence de la maladie dépend de l'âge et du sexe :

-2 % chez le nouveau-né et le nourrisson, avec une proportion d'une fille pour quatre garçons (rôle favorisant des uropathies malformatives obstructives).

- Environ **1 %** chez les enfants avec un garçon pour trois filles (rôle des vulvovaginites de la fillette).

-Chez la femme, la fréquence augmente avec le rôle favorisant des rapports sexuels, pour atteindre 8 à 10 % après la soixantaine.

- Environ **2 à 3 %** des femmes adultes présenteraient un épisode de cystite par année, et **5 %** auraient une bactériurie asymptomatique.

-10 à 30 % des femmes auront une (des) infection(s) urinaire(s) au cours de leur vie. (6)

4. Les voies de contaminations (physiopathologie) :

Voie ascendante :

Rétrograde ou canalaire est le monde d'invasion le plus fréquent

A : Chez la femme, la contamination des urines est favorisée par :

- la brièveté de l'urètre (3 cm)
- la proximité du méat urétral et de l'anus.
- une diurèse et un nombre de mictions insuffisant.
- la grossesse et les rapports sexuels.

B : L'homme est moins exposé aux infections urinaires pour des raisons :

- anatomiques : longueur de l'urètre, distance plus importante entre le méat uréthral et l'anus.
- physiologiques : sécrétions prostatiques antibactériennes.
- Les manœuvres instrumentales : sondage, endoscopie, opacification rétrograde favorisent l'infection par voie rétrograde (infection urinaire iatrogène).
- La contamination du haut appareil est favorisée par un reflux vésico-urétéral anatomique ou fonctionnel (secondaire à l'infection en raison de l'inflammation du trigone).

Voie hématogène :

Est rare. Elle se fait à partir d'un foyer infectieux (bactériémie septicémie) ORL dentaire, cutané… ou d'un geste endoscopique avec effraction veineuse (passage systémique). Elle concerne principalement les patients immunodéprimés et les patients diabétiques (infection urinaire à bas bruit souvent très sévères).

Voie lymphatique :

Et de contiguïté (communication anormale entre l'intestin et l'appareil urinaire, foyer profond de suppuration, abcès para-vésical) sont controversées

5. Facteurs de risques :

Facteurs liés à l'hôte, pathologiques :

-Diarrhée plus que la constipation.

- Prise insuffisante de boissons (entraînant une diurèse faible).

-Péri ménopause (pré- et post-).

- Infections gynécologiques.

- Manque d'hygiène intime.

-Grossesse.

- Diabète.

- Immunodépression.

- Alitement prolongé.

- Troubles de la statique pelvienne.

-Diverticule urétral.

Facteurs liés à l'hôte, physiologiques :

-femme : Brièveté de l'urètre

- femme enceinte : Action relaxante de la progestérone

- majoration résidu post-mictionnel (6)

6. Les germes causals d'infection urinaire :

Les germes responsables de l'infection urinaire communautaire sont avant tout les Entérobactéries **(**bacille Gram négatif) et principalement *Escherichia coli (qui représente 80 à 90* %des infections urinaires banales).

-*Proteus mirabilis* ***(****10 %, germe à uréase qui favorise* la précipitation des ions phosphates avec constitution de calculs phospho-ammoniacomagnésiens et de carbapatites).

- *Klebsiella pneumoniæ, Enterobacter, Serratia, Citrobacter et Acinetobacterviennent ensuite.*

- Les cocci Gram positif rencontrés sont les *Staphylococcus aureus Dnase + et Epidermidis* Dnase-, et l'entérocoque (streptocoque D).

- Les cocci Gram négatif (gonocoque) sont rares (homosexuels).

-Les anaérobies : d'origine digestive (souvent témoins d'une fistule colo-vésicale).

- Les autres : *Candida albicans (contexte de sonde à demeure, antibiothérapie prolongée), Chlamydiæ trachomatis, mycoplasme, Trichomonas vaginalis.*
- Les infections à *Pseudomonas æruginosa* (pyocyanique) Serratia et germes multirésistantsSe voient plus spécifiquement lors des infections urinaires nosocomiales. L'adhésion bactérienne représente un facteur de colonisation et d'uropathogénicité. Cette Adhésion bactérienne est modulée par des mécanismes spécifiques (anticorps locaux) et non Spécifiques (un pH urinaire acide limite la croissance bactérienne).(6)

7. Diagnostic des infections urinaire :

Prélèvements des urines :

Le prélèvement d'urines pour faire un ECBU s'effectue grâce à un flacon stérile (disponible en pharmacie ou fourni par le médecin traitant) sur les urines du matin. Selon les patients (enfant en bas âge,...), pour l'examen cytobactériologique des urines (ECBU), le recueil de l'urine s'effectue parfois au moyen d'une poche stérile adhésive (sac collecteur) maintenue autour des organes génitaux pendant au moins 30 minutes. Le recueil de l'urine destinée à l'ECBU est également possible en fin de journée avec de l'urine restée au minimum 4 heures dans la vessie. Soulignons que le premier jet d'urine est à éliminer dans les toilettes **(Ameli .,2021).**

Le prélèvement urinaire doit être réalisé au terme d'une toilette intime minutieuse (savon doux à l'aide d'une compresse, linge propre,) pour exclure tout risque de confusion des résultats (contamination par les selles, etc.). Afin de recueillir les urines du matin, on utilise généralement la méthode appelée "milieu de jet" (ou "à la volée"), qui consiste à éliminer le premier jet (soit environ 20 ml d'urine) et ensuite à recueillir 20/30 ml d'urine dans un flacon stérile (pot avec le couvercle). Le flacon stérile (avec acide borique) pour l'ECBU peut se conserver jusqu'à 24 heures à température ambiante et moins de 48 H au réfrigérateur. Lors du prélèvement des urines, il est impératif de bien se laver les mains au savon et à l'eau claire, puis de se rincer et essuyer les mains avec un linge propre ou bien un essuie-main à usage unique **(Jean ., 2021).**

Ainsi, les urines doivent être recueillies dans un flacon stérile prévu à cet effet et délivré par le laboratoire d'analyses médicales. Pour cet examen biologique, il est recommandé de collecter les urines du matin (en particulier le second jet) afin d'évacuer le type de bactéries présentes dans le méat urétral (orifice externe de l'urètre à l'extrémité du pénis). **(Jean ; 2021)**Chez les femmes, l'ECBU doit, dans la mesure du possible, être réalisé en dehors de la période menstruelle. Pour le réaliser, il faut dégager le méat urinaire durant le prélèvement ou

maintenir les petites lèvres écartées. "Si le prélèvement d'urines n'est pas réalisé dans le laboratoire d'analyses médicales, il doit être amené dans un délai de deux heures. Dans l'attente, il doit être conservé au réfrigérateur à +4°C pour éviter que les germes prolifèrent.

Chez le nouveau-né ou l'enfant qui n'est pas encore propre, le prélèvement est effectué via une poche collectrice". **(Jean ; 2021)**

Apres on réalise l'examen des urines on passe par les bandelettes urinaire et après par l'examen cytobactériologique des urines pour les interprétés.

Les bandelettes urinaires :

Test de détection rapide de l'infection urinaire. Elle permet d'orienter sans l'affirmer l'infection urinaire. Elle utilise une méthode biochimique pour détection de leucocytes et/ou de nitrites. Seules les entérobactéries (possédant un nitrate réductase) sont capables d'excréter des nitrites dans les urines. C'est un bon test de dépistage. Il est suffisant en cas de cystite simple. En revanche, il doit être complété d'un ECBU en cas de suspicion d'infection parenchymateuse. Il peut être faussement négatif si pH urinaire < 6 ou si nombre de bactéries < 100000 UFC

Bandelette :

À réaliser dans les mêmes conditions que l'ECBU.

Les BU dépistent :

- Leucocyturie (activité estérasique des leucocytes)
- Bactériurie (détection des nitrites)
-Hématurie
- pH
- Densité

Examen cytobactériologique des urines (ECBU) :

Définition :

Recueil des urines par des conditions d'asepsie stricte Le cathétérisme sous-pubien qui est une méthode théoriquement idéale. **(Ouamrouche ., 2019)**

- Homme :

Nettoyage soigneux du gland à l'ammonium quaternaire puis sérum physiologique, urines du 2° jet.

- femme :

Toilette soigneuse, prélève le 2° jet

-certains sujets obeses ou grabataires : par sondage

-enfant :

Collecteurs collés stériles **(Ouamrouche ., 2019)**

Signification Leucocytaire :

L'association d'une leucocyturie élevée et d'une bactériurie significative (> cent mille/ml) traduit une infection urinaire. **(Ouamrouche ., 2019)**

7.3.3 Signification Bactérienne :

Elle doit être interprétée en fonction du mode de recueil, de la diurèse, de l'espèce microbienne retrouvée, du nombre de colonies et de la symptomatologie.

On retient des seuils de positivité différents selon les tableaux

Infectieux :

– Bactériurie ≥ 1000 UFC/ml en cas de cystite aiguë infectieuse.

– Bactériurie ≥ 10000 UFC/ml en cas de PNA simple.

– Bactériurie ≥ 100000 UFC en cas d'infection urinaire à risque ou compliquée (≥ 10000 chez l'homme). (Ouamrouche .,2019)

Examen direct :

Les résultats sont obtenus en quelques minutes après coloration de Gram.

La numération des leucocytes doit t'être normalement mm3 ou 10000/ml.

Recherche de cristaux et de cylindres. Après l'examen direct, et quel que soit le résultat, les urines sont mises en culture pour numération ; identification des germes (UFC = unité formant colonie). Et L'antibiogramme est réalisé si la culture est positive**.(Ouamrouche ., 2019)**

But d'ECBU :

-dénombre les leucocytes contenus dans l'urine totale à l'aide d'un dispositif de numération.

-Il permet de visualiser : les hématies, les cristaux (oxalate, urate, phosphate), les cylindres, les bactéries, les levures, les parasites pour l'interprétation **(Ouamrouche ., 2019).**

Chapitre II

Généralités sur Escherichia coli

1. Classification et morphologie :

Bactérie appartenant à la famille des *entérobactériaceae*, genre *Escherichia*. Petits bacilles Gram négatif, 2 à 4µ de long sur 0,4 à 0,6 µ de large, mobile grâce à une ciliature péritriche.

Les Escherichia coli font partie du genre Escherichia qui comprend 6 espèces.

- *E. coli.*
- *E. coli inactive.*
- *E.fergusonii.*
- *E. hermani.*
- *E. Vulneris.*
- *E. blattae*

2. Habitat :

Les *E. coli* sont des hôtes normaux de l'intestin de l'homme et des animaux. Chez l'homme, elles représentent 80% de la flore normale aérobie. On les retrouve également dans les milieux extérieurs (sol, eaux) où ils sont le témoin d'une contamination fécale.

3. Culture et identification :

Caractères culturaux :

E. coli est aérobies - anaérobies facultatifs, pousse sur des milieux de culture ordinaires en 24 h, à 37C°, et des milieux sélectifs (Hektoen, Mac- conkey). Sur milieu gélosé ordinaire, les colonies sont lisses, arrondies parfois on a des colonies d'aspect muqueux, d'un diamètre de 2 à 3 mm, En bouillon, on obtient en 24 heures un trouble abondant et homogène.

Caractères biochimiques :

-Fermentent le glucose avec production de gaz.
-Les produits terminaux sont des acides mixtes : RM (+) et VP (-).
-Dégradent le lactose. Ils sont ONPG (+).
-Dégradent le saccharose.
-Ils sont indole (+) et LDC (+).
-Ils n'utilisent pas le citrate comme seule source de Carbonne, Citrate de simons (-).

-Ils sont T.D.A. et urée (-) et H2S (-).

-Aspect sur T.S.I. Culot jaune avec gaz pente jaune.

N.B. : Certains souches, par mutation peuvent être indole (-) ou par acquisition de plasmide peuvent être H2S (+).

4. Structure antigénique des E. coli :

Ag O : Somatique = L.P.S. Thermostable, à l'heure actuelle environ 173 Ago ont été identifiés.

Ag H : Flagellaires : thermolabiles 56 Ag H ont été identifiés.

Antigène d'enveloppe ou de capsule :

Ils sont de 02 types :

1– Ceux de nature **polysaccharidique** retrouvés au niveau d'un pseudo capsule. Ils masquent les AgO et les rendent inagglutinables . autrefois, ils étaient subdivisés en Ag L . A et B actuellement, ils portent tous la dénomination d'Ag K. On a identifié environ 80 Ag K.

2– Ceux de nature **protéinique** : antigènes de fimbriae ou pili, Antigène des pili commun mis en évidence par agglutination de GR cette HA est inhibée par le mannose c'est également elle est dite **mannose sensible**.

Antigène d'adhésions :

Rendent les souches hemmaglutinantes. Cette HA est **mannose résistante**.

On a identifié :

CFAI et CFAII (colonisation facteur antigène) retrouvés chez les souchesenterotoxinogènes isolées chez l'homme permettent aux souches d'adhérer à la muqueuse intestinale.

Adhésinede type PAP (Pyélonéphrite associated pili), **Adhésine de type AFA** (A fimbrial adhésine), **Adhésine de type SFA** dont le récepteur est le α sialyl galactose **Ces 3 derniers Ag** d'adhésion sont fréquemment rencontrées chez les souches **d'E.coli.**responsables d'infection urinaire.

Antigène M = Retrouvé chez les bactéries donnant des cultures mucoïdes.

(Microbiologie clinique.com).

5. Identification :

Identification biochimique **avec Galeries miniaturisée API 20E.**

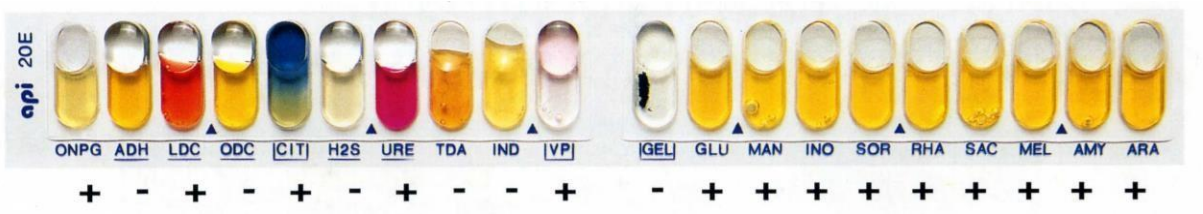


Figure 1 : Galerie API 20 E Pour E. coli.

6. Pouvoir pathogène :

Pathogène opportuniste : Infections urinaires, Infections digestives (E. coli particuliers : EPEC, EIEC, ETEC, EHEC), Méningites, infections nosocomiales**,** différents infections chez les animaux **(Baylis*et al.*, 2006; Catherine B, 2007).**

7. Facteur de virulence :

L'antigène O (LPS) ou endotoxine : sécrétion d'entérotoxine (souche ETEC), verotoxines. Hemolysines, adhesines, siderophores**.**

Toxines Elabores :

HEMOLYSINE β (rôle dans les infections urinaires), Toxines **thermolabiles** :

LT, se subdivisent en toxines LT1et LT2 (même activité biologique que l'enterotoxine cholérique), Toxines **thermostables** (ST) se devise en STA et STB, **Shigatoxine (STx) ou Verocytotoxines (V.T) (**exotoxines protéique à effet cytopathique)

8- Résistances aux antibiotiques :

Une multitude de résistances aux antibiotiques, ex : résistances aux β-lactamines par production de β-lactamases, résistance aux sulfamides **(Chao *et al.*, 2006).**

9. Les *E. coli* uropathogènes :

Les UPEC sont la principale cause des infections urinaires communautaires environ 80-90 % **(Foxman, .,2014, Flores-Mireles et *al.*, 2015)**. Quatre principaux phylogroupes UPEC (A, B1, B2 et D) ont été identifiés sur la base de l'occurrence de la pathogénicité génomique.Sur

La base de l'occurrence d'îlots de pathogénicité génomiques (PAI) et de L'expression de facteurs de virulence, tels que les adhésines, les toxines, les Polysaccharides de surface, des flagelles et des systèmes d'acquisition du fer **(Bienet *al*., 2012)**. En général, plusieurs de ces facteurs de virulence sont nécessaires pour que les UPEC provoquent des infections urinaires (Hannah, 2012).Pour que les UPEC provoquent des infections urinaires **(Hannan et *al*., 2012).** Cependant, outre lesUPEC, les infections urinaires peuvent être causées *par Klebsiella pneumoniae* (environ7 %), *Proteus mirabilis (environ 5 %) et Pseudomonas aeruginosa,Enterococcus faecalis, Enterobacter cloacae, Streptococcus bovis,*et le *champignonCandida albicans* (pour le pourcentage restant ;**Parish et Holliday., 2012 ; Palou et *al*., 2013 ; Hof., 2017**). Au cours de UTI, la pathogénèse des UPEC comprend :

-**(a)** la colonisation par les UPEC des zones péri-urétrales et vaginales avec colonisation de l'urètre

-**(b)** l'ascension dans la lumière de la vessie et la croissance sous forme de cellules planctoniques dans l'urine

-**(c)** adhésion à la surface et interaction avec l'épithélium de la vessie.Système de défense de l'épithélium vésical (voir ci-dessous)

-**(d)** formation d'un biofilm

-**(e)** invasion et réplication en formant des communautés bactériennes intracellulaires dans la vessie. Communautés bactériennes intracellulaires (CIB) où des réservoirs intracellulaires quiescents (QIR) se forment et résident dans l'urothélium sous-jacent.

(f) colonisation des reins et dommages aux tissus de l'hôte avec un risque accru de risque accrude bactériémie/septicémie, .La réplication des bactéries dans l'IBC peut facilement atteindre jusqu'à 105 bactéries par cellule.

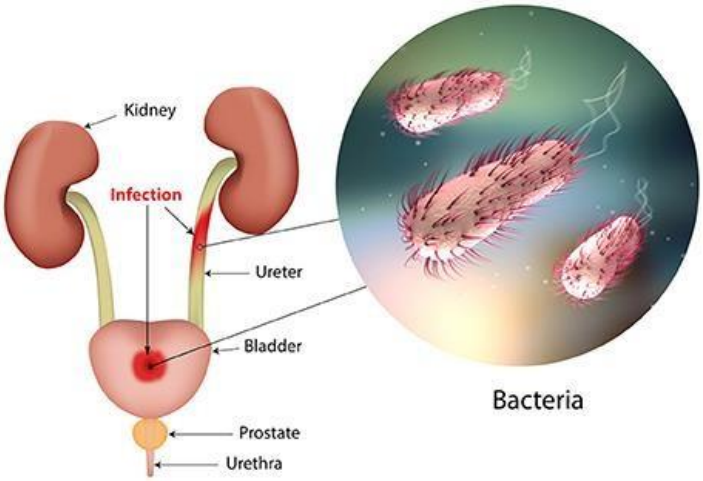


Figure 2 : les voies urinaires et les sites d'infection

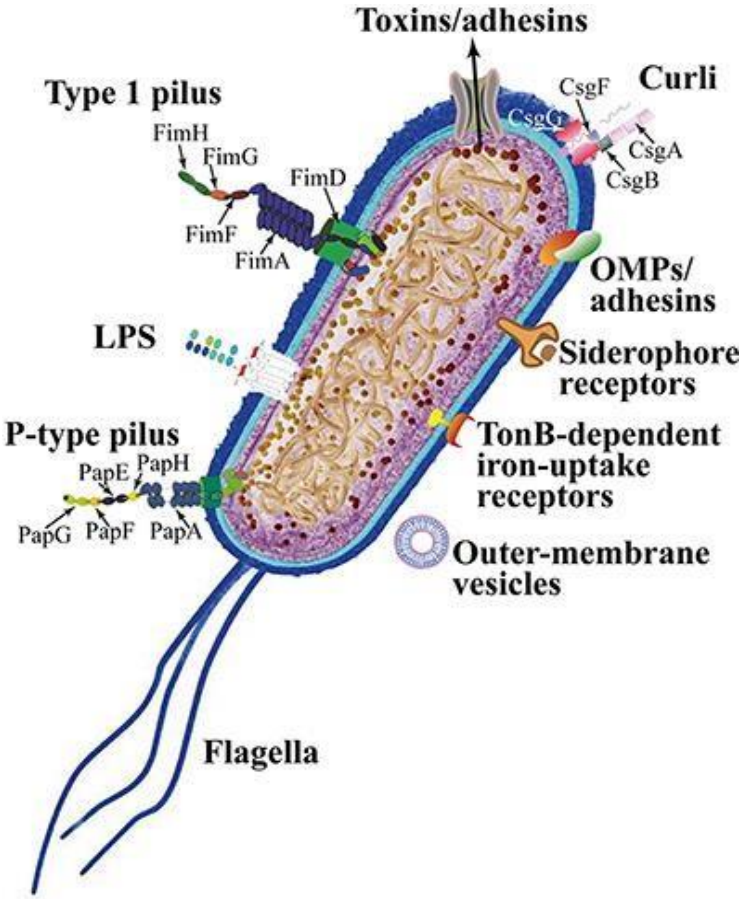


Figure 3 : Escherichia coli adhésion et structures de mobilité

Chapitre III

Antibiothérapie

1. Historique :

Les antibiotiques sont des substances naturelles, hémi-synthétiques ou synthétiques qui sont capables d'inhiber la croissance bactérienne ou de tuer les bactéries. Le tout premier d'entre eux fut la pénicilline, découverte en 1928, par Alexander Fleming, médecin, biologiste et pharmacologue britannique qui a découvert, par hasard, qu'une ou des substances produites par un champignon, Penicillium notatum, avaient la faculté d'inhiber la croissance bactérienne.

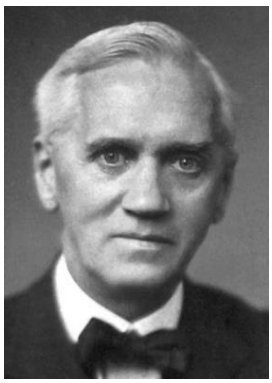


Figure 4: Portrait d'Alexander Fleming (Nobel foundation, Alexander Fleming 1945)

Il faut ensuite attendre 1932 pour voir apparaître sur le marché le premier antibiotique de l'histoire commercialisé par les laboratoires Bayer, le Prontosil, un sulfamide utilisé comme antibactérien contre certaines infections à streptocoque. Ce n'est qu'en 1945, à la fin de la seconde guerre mondiale que la pénicilline est fabriquée industriellement en grande quantité et commercialisés. Quelques années plus tard en 1942, la première résistance aux sulfamines est décrite suivie en 1946 de la résistance à la pénicilline G mais c'est le japonais T.Watanabe qui démontre pour la première fois l'origine génétique de l'antibiorésistance en montrant que le gène responsable est porté par un plasmide bactérien. **(Veyssire., 2019)**

1. Définition :

On appelle « Antibiotique »toute substance naturelle d'origine biologique élaborée par un organisme vivant, substance chimique produite par synthèse ou substance semi synthétique obtenue par modification chimique d'une molécule de base naturelle ayant les propriétés suivantes : - Activité antibactérienne - Activité en milieu organique - Une bonne absorption etbonne diffusion dans l'organisme Les antibiotiques ont la propriété d'interférer directement avec la prolifération des micro-organismes à des concentrations tolérées par l'hôte. **(Mohammdi .,2019)**

-Substances capables d'inhiber spécifiquement la croissance de micro-organismes ou de les détruire. **(Caveriviere.,2011)**

-Substances chimiques produites par des micro-organismes ou obtenues par semi-synthèse ou synthèse chimique **(Caveriviere.,2011)**

3.Les classes d'antibiotiques :

Cinq classes principales :

1. Pénicillines ou Béta-lactamines
2. Macrolide
3. Fluoroquinolones (FQ)
4. Aminosides
5. Glycopeptides

D'autres moins utilisées :

-Synergistines

-Lincosamides

-Cyclines

-Sulfamides

-Polymyxine

-Les phénicolés

-Les nitro-imidazolés

-Anti anaérobies (ATB à structure et à mécanisme particulier)

4. Modes d'action des Antibiotiques :

Les ATB agissent à des niveaux précis de la structure bactérienne

Les principales cibles sont :

I-La paroi bactérienne : par inhibition de sa synthése (vancomycine, fosfomycine, pénicillines)

II- Membrane cytoplasmique (polymyxines) : Atteinte de l'intégrité de la membrane plasmique.

III-ARN des ribosomes : inhibition de la synthèse des protéines
(macrolides,tétracyclines, chloramphénicol, aminosides)

IV-ADN bactérien : inhibition de sa synthèse (quinolones et FQ)

Les différentes indications des antibiotiques comprennent :

1-But curatif : traitement d'une infection

2-But prophylactique : en prévention d'une infection (exemple :

ATBiothérapie chirurgicale)

5. Les mécanismes de résistances bactériennes aux antibiotiques :

Outre les résistances naturelles des bactéries, il existe un nombre important de mécanismes deRésistance développé par les bactéries en réponse à la pression de sélection des ATB. Ces Résistances relèvent d'un mécanisme biochimique dont le support est génétique et elles peuvent être transmissibles à d'autres bactéries **(Andremont et Pression., 2002).**

Les modes de résistance connus actuellement résultants de la pression de sélection exercée parles ATB sont au nombre de quatre :

-L'inactivation enzymatique par la sécrétion d'une enzyme

-L'efflux actif

-La modification de la cible

-La diminution de la perméabilité à l'antibiotique (par réduction de nombre des porines)

Une même bactérie peut présenter plusieurs de ces mécanismes de résistance **(Bevilacqua.,2011).**

6. Mécanismes de résistance d'*E. Coli* :

- La résistance aux ß-lactamines :

Dans le cas d'E. Coli, la résistance aux β-lactamines est due à une inactivation de L'antibiotique par l'acquisition d'enzymes. Nous avons identifié 6 phénotypes qui sont :

1-Phénotype sensibles (P.S.) : Les souches de ce phénotype sont sensibles aux -lactamines. Il S'agit des entérobactéries du groupe 1.

2-Phénotype pénicillinase de bas niveau (P.B.N.) : Les souches sont résistantes à L'amoxicillineet sensibles à l'association amoxicilline + acide clavulanique, à la céfalotine et à la ceftriaxone.

3-Phénotype pénicillinase haut niveau (P.H.N.) : Les souches sont résistantes à l'amoxicilline,

À l'association amoxicilline + acide clavulanique, à la céfalotine mais sont sensibles à la ceftriaxone.

4-Phénotype pénicillinase résistante aux inhibiteurs des bêta-lactamases pour **TEM résistantesAux inhibiteurs :** Les souches sont résistantes à l'amoxicilline, l'association amoxicilline + acide clavulanique mais sont sensibles à la céfalotine et à la ceftriaxone. Phénotype céphalosporinase inductible (C.Ind.) : Les souches de ce phénotype sont Résistantes à l'amoxicilline, à l'association amoxicilline + acide clavulanique, à la céfalotine mais sont sensibles à la ceftriaxone et à la ticarcilline.

5-Phénotype céphalosporinase déréprimée (C.D.) : Les souches sont résistantes à l'amoxicilline, à l'association amoxicilline + acide clavulanique, à la ticarcilline, à la céfalotine et à la ceftriaxone mais elles sontsensibles au mécillinam **(Keita, 1999).**

6-Phénotype -lactamase à spectre élargi (B.L.S.E.) : Les β-lactamases à spectre élargi (BLSE) constituent un vaste groupe de β-lactamases véhiculées habituellement par des plasmides. Ce type de β-lactamases confère une résistance à l'ensemble des β-lactamines, à l'exception des céphamycines (céfoxitine, céfotétan, latamoxef) et des carbapénèmes (imipénème, doripénème,ertapénème, méropénème). Elles ont la propriété d'être inhibées par les inhibiteurs de bêtalactamases dont l'acide clavulanique, à la base même du principe de détection des BLSE.Plus de 200 BLSE ont été décrites, classées en 11 familles en fonction de leur séquence protéique. Les 4 familles majeures sont TEM, SHV, OXA et CTX-M, et sont le plus souvent d'origine plasmidique

(Géraldine., 2010).

7. Aperçu sur les BLSE :

Les β-lactamines constituent une famille majeure d'antibiotiques très largement utilisés en clinique. Ces molécules agissent en inhibant la synthèse de la paroi bactérienne par fixation aux protéines liant les pénicillines (PLP), enzymes impliquées dans la synthèse du peptidoglycane. Chez les bacilles à Gram négatif (BGN), il existe 3 types de mécanismes de résistance aux β-lactamines : la faible affinité pour les PLP, les phénomènes d'imperméabilité et d'efflux, et surtout l'inactivation enzymatique par les β-lactamases. Les premières β-lactamases (pénicillinases à spectre étroit) plasmidiques (TEM-1/2, SHV-1) ont été initialement décrites dans les années 60 chez Escherichia coli et Klebsiella pneumoniae et ont très vite diffusées parmi d'autres espèces (entérobactéries, Haemophilus influenzae, Neisseria gonorrhoeae, Pseudomonas aeruginosa) **(Bradford ., 2001).**

Devant l'émergence de ces enzymes, de nouvelles β-lactamines stables (notamment céphalosporines à spectre élargi) ont été développées dans les années 70-80. Cependant, leur utilisation intensive en clinique s'est suivie de l'apparition précoce de résistance. Ainsi, la première β-lactamase capable d'hydrolyser les céphalosporines à spectre élargi (SHV-2, mutant ponctuel de SHV-1) a été décrite en 1985 dans une souche de K. pneumoniae en Allemagne [10,11]. Du fait de leur élargissement de spectre d'activité, ces enzymes ont été appelées «β-lactamases à spectre étendu» (BLSE), et à ce jour de nombreuses BLSE (> 230) ont été décrites à travers le Monde représentant un problème majeur de santé publique **(Paterson et al ; 2005).**

8. Caractéristiques moléculaires des BLSE :

Leur apparition s'explique par la mutation des gènes des plasmides de TEM et SHV **(Bush et *al.*, 1995).** En effet, une seule mutation sur le plasmide de TEM ou SHV peut provoquer une Modification du site actif de l'enzyme et donc une modulation de l'activité pouvant s'exprimer de façon variable vis-à-vis des C3G **(Paterson et al,. 2005).** Cette substitution en acide aminé ne concerne qu'un nombre restreint de position mais certaines sont particulièrement importantes. Il a été montré que, pour TEM, les acides aminés les plus mutés sont en position 104, 164, 238 et 240 **(Perilli *et al,* 1997).** Les acides substitués sont la lysine, la sérine, la leucine et l'histidine **(Philippon et Arlet.,2005).** Cela a une importance car la mutation du gène entraînant une variation de la structure protéique de l'enzyme synthétisé, l'affinité de l'enzyme pour la -lactamine peut en être modifiée. Les mutations ne concernent jamais la sérine 70 du site actif **(Paterson et Bonomo, 2005)**

Parfois, la mutation de l'acide aminé sur TEM peut entraîner une baisse de l'affinité de la - lactamase pour l'ensemble des -lactamines et en particulier pour les inhibiteurs. Ces enzymes de classe A ont une faible activité en entraînant une faible augmentation des CMI **(Philippon et Arlet,. 2005).**

Par rapport aux -lactamases de type TEM, il existe relativement moins de mutants SHV avec un nombre de mutations ponctuelles également réduit **(Jacoby et Sutton,. 1991).** La position la plus substituée est la 238 avec par exemple la SHV-2 sur laquelle la glycine est substituée par une serine.

Ainsi, en fonction de l'acide aminé substitué, la –lactamase développera une meilleure affinité pour l'une des C3G **(Huletsky *et al*,. 1993).**

méthode de diffusion en milieu gélosé utilisant des disques (en dehors de certaines bactéries, comme les bactéries intracellulaires strictes), mais aussi de plus en plus en milieu liquide, en utilisant des automates (par exemple le Système Vitek 2, BioMérieux). **(Veyssiere et al .,2019)**

10. Mesures de base de l'activité antibiotique :

La CMI ou concentration minimale inhibitrice est la plus petite concentration d'antibiotique qui inhibe toute croissance visible d'une souche bactérienne après 20 ± 4 heures de culture à 35°C ± 2°C. Cette valeur caractérise l'effet bactériostatique d'un antibiotique et permet de déterminer si une souche est sensible ou résistante à l'antibiotique testé.

La CMB ou concentration minimale bactéricide est la plus petite concentration d'antibiotique laissant 0,01% ou moins de survivants de l'inoculum initial après 20 ± 4 heures de culture à 35°C ± 2°C. Cette valeur caractérise l'effet bactéricide d'un antibiotique. On considère que si la CMB est ≤ à 4 CMI l'antibiotique est bactéricide et donc très efficace et au contraire si la CMB > à 10 CMI, on le considère comme peu efficace, donc bactériostatique.

La détermination de la CMI ou CMB peut se faire par différentes méthodes. La détermination de la CMI est souvent réalisée en routine par la méthode des dilutions en milieu liquide en utilisant des concentrations croissantes d'antibiotiques (soit par la microméthode à l'aide de microplaques 96 puits, ou à l'aide de systèmes semiautomatisés ou automatisés) ou par la méthode de diffusion en milieu gélosé à l'aide de bandelettes imprégnées de concentrations croissantes d'antibiotiques (E-tests).



Figure 05 : E.test déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) d'un antibiotique.

Dans la pratique courante, pour connaître ces valeurs on se fie aux normes de l'European Committee for Antibiotic Susceptibility (EUCAST) sur le site de la Société Française de Microbiologie ou SFM.

La mesure de la bactéricide n'est pas réalisée en routine, mais est caractérisée lorsqu'on veut étudier l'efficacité d'un antibiotique et/ou d'une association d'antibiotiques sur une bactérie**(Veyssiere et al .,2019).**

11- L'antibiogramme par la méthode de diffusion en milieu gélosé :

L'antibiogramme est l'analyse permettant de déterminer la sensibilité d'une bactérie à un panel d'antibiotiques. L'une des techniques de base utilisée est l'antibiogramme par la méthode de diffusion en milieu gélosé utilisant des disques calibrés imbibés d'antibiotique. Pour se faire, on dépose un inoculum standardisé de la bactérie à étudier sur une gélose Mueller-Hinton (MH). La composition de ce milieu (que ce soit pour les méthodes en milieu gélosé qu'en milieu liquide) est standardisée, notamment en ions calcium, magnésium et en thymine.

Neisseria gonorrhoeae avec une gélose chocolat Polyvitex® et pour les anaérobies, avec unegélose additionnée de sang de mouton, vitamine K1 et hémine.

Pour certaines bactéries, un milieu différent que le milieu MH est utilisé (Neisseria gonorrhoeae : gélose chocolat Polyvitex® et pour les anaérobies, gélose Brucella additionnéede sang de mouton, vitamine K et hémine). La gélose imprégnée de disques est ensuite mise àincuber dans une étuve à 35°C ± 2°C pendant 20h ± 4h. Les diamètres d'inhibition présents autour du disque sont mesurés, lus et interprétés selon les recommandations et les critères de l'EUCAST, par comparaison avec des diamètres critiques **(Veyssiere et al .,2019)**

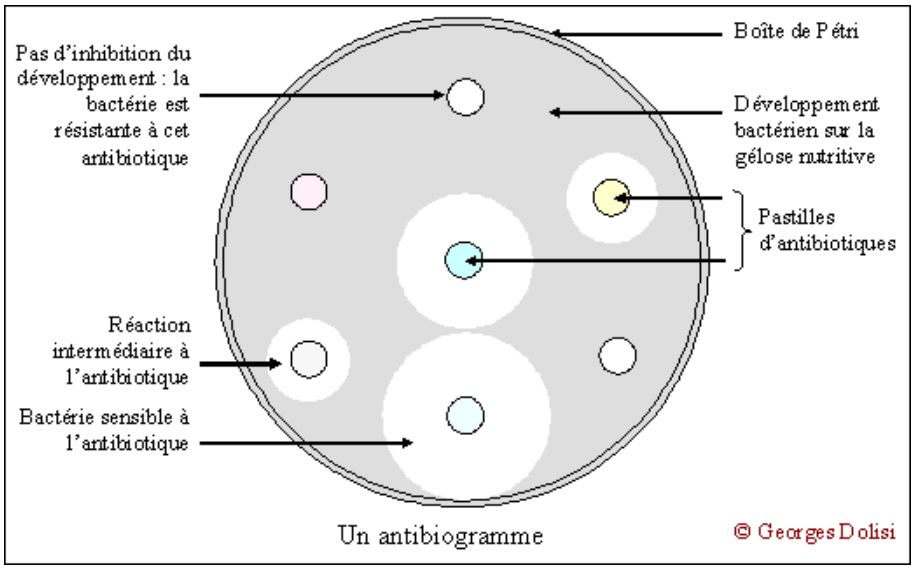


Figure 6 : Schéma représentant un antibiogramme

Matériel et méthodes

Stage au niveau de laboratoire privé :

1. Matériels :

Dans notre projet on a utilisé le matériel, les verreries, les réactifs motionné dans le tableau1 :

Matériel	Verreries	Autre matériel
-Autoclave	- Becher	-Anses de platine
- Bain marie	-Boite de pétrie	-Papier aluminium
-Balance électrique	-Erlen-meyer	-Pince en platine
-Etuve	-Fiole	- Pissettes
-Réfrigérateur	-Flacons	- Pendhoff
-Microscope optique	-Lame et lamelles	- Spatule
- Ph-métre	-Verre de montre	- Bec bunsen
-Plaque chauffante		- Gants jetables
-densito –metre		-Marqueurs
-agitateur		-prétoire
-spectro metre		-Boite pétries
		-micropipette
		-Les embouts
		-éprouvette
		-Cellule de malassez
		-équivalons

Tableau 1 : matériel et verrerie utilisé dans notre étude.

2. méthodes :

Réception de l'échantillon :

- la réception de l'échantillon, noté sur le registre de microbiologie

-Numéro d'identification, nature de l'échantillon et du récipient

- L'heure de réception, du prélèvement

- Température du transport

-Nom, prénom, date de naissance (ou âge) du patient

-Prescription, indication particulière

-Antécédents d'infections urinaires, diabète, femme enceinte et terme de grossesse, déficitimmunitaire (SIDA, cancer, traitement immunosuppresseur...)

-Prise d'antibiotique au cours des 10 jours précédents

Examen macroscopique :

-Ouvrir le récipient dans la zone stérile, noter toute anomalie (uniquement l'anomalie) de :

-La couleur (normalement jaune citrin) : urines très claires ; hématiques, ictériques, troubles

-L'odeur.

-Présence d'un sédiment, et sa couleur Les urines reçues doivent être travaillées dans les plusbrefs délais (30 minutes), si non mettre au réfrigérateur, pas plus de quatre heures, car les globules blancs, diminuent de nombre et se déforment au réfrigérateur

Examen microscopique :

Dans la zone stérile, procéder à un prélèvement d'un échantillon des urines à examiner dansun tube non stérile :

-Identifier le tube.

-Homogénéiser les urines par retournement, vérifier d'abords que le récipient est bien fermé.

-Ouvrir le récipient Verser quelques millilitres dans le tube et fermer le tube et le récipientd'origine Le reste de l'examen microscopique se déroulera en dehors de la zone stérile.

Examen à l'état frais :

-Le prélèvement doit être à la température du laboratoire Sur une cellule **Malassez,** humidifierles bords à l'aide d'un coton tige humide et déposer une lamelle.

-A l'aide d'une micropipette, déposer une goutte des urines homogénéisées dans les deuxchambres.

- Laisser se stabiliser quelques dizaines de secondes, lecture à grossissement 40, et noter :

a-La présence et le nombre des globules rouges.

b-La présence de globules blancs.

c-Cristaux, ainsi que leurs natures - Cellules épithéliales (les cellules squameusesd'origines vaginale sont le signe d'une contamination lors du prélèvement : rejet du prélèvement).

d-Cylindres, ainsi que leurs natures Levures, Trichomonas vaginalis, coeufs de schistosomas

e-Bactéries (coque, diplocoque, chainette, en amas, coccobacille, bacille, en palissade, en lettre), mobilité (en rameur, vol de moucheron) Faire attention à une mobilité faussement positive à cause des mouvements browniens, pour les bacilles par ex, le Klebsiella est le seul immobile.

f-Spermatozoïdes

Chimie des urines (dans les 60 minutes après le recueil des urines) :

Noter : les nitrites, pH

Examen qualitatif du culot de centrifugation :

-Coloré au GRAM +/- MGG (si présence de bactéries et de leucocytes dans l'examen à l'état frais)

-Centrifuger le tube 5 minutes à 3000 t/m

-Eliminer le surnageant.

-Remettre le culot en suspension dans la gouttelette restante.

-Identifier les lames.

-Etaler une goutte (avec l'anse de platine ou une micropipette) sur les deux lames : déposer la goutte, étaler en spirale du centre vers l'extérieur, puis de l'extérieur vers le centre.

-Laisser sécher à l'air libre, ou en dessus de la flamme, puis fixer par quelques passages rapides dans la flamme, éviter de surchauffer la tame

-vérifier sa température en la posant sur le dos de la main.

-Colorer GRAM et noter le résultat.

- au niveau de laboratoire de faculté des sciences :

Examen bactériologique :

Isolement :

Technique :

Sur milieu d'isolement choisi, on dépose une goutte d'urine prélevée aseptiquement à l'aided'une anse calibrée à 10µl, sur la surface de gélose et étaler avec des stries simples.

Isolement sur chrom agar :

CHROMagar Orientation Medium (milieu d'orientation CHROMagar) est un milieu non élect servant à l'isolement, à l'identification directe, à la différenciation et à l'énumération desgants pathogènes des voies urinaires. Il permet de différencier et d'identifier Escherichia coli t Enterococcus, il facilite l'identification et minimise la charge de travail surtout pour les aboratoires qui reçoivent de centaines de prélèvements par jour. Il est d'une sensibilité et pécificité élevée d'environ 90%.

Incuber en conditions aérobies les boîtes de Pétri retournées, entre 35 et 37 °C, pendant 18 à24 h.

La croissance d'*Escherichia coli* est bonne avec des colonies de taille moyenne à grande, roseoncé à roses, transparentes.

-isolement GN :

La gélose nutritive apporte les éléments nutritifs nécessaires à la croissance d'une large gamme de micro-organismes, elle est utilisée pour la culture de bactéries non exigeantes .La gélose nutritive est dépourvue d'indicateur, d'agent sélectif, d'ingrédients différentiels et de substances enrichissantes, donc utilise pour une meilleure expression de la pigmentation, test biochimique et même pour le sérotypage.

-Isolement sur hekteon :

En absence de gélose MacKonkey, le mieux adapté pour l'isolement d'*E.coli*, on a utilisé lagélose Hektoen qu'est un milieu d'isolement sélectif des bacilles à Gram négatif non exigeantes. Il contient 2 sucres (lactose et saccharose) plus un indicateur de Ph (Bleu de bromothymol) en plus d'autre composants de base (voir ANNEX), ce milieu inhibe les bactéries GRAM+.

-Le désoxycholate de sodium inhibe la croissance des bactéries à Gram positif.
-Ce milieu permet de détecter simultanément l'utilisation du lactose, du saccharose et de lasalicine. Cette utilisation se traduit par une acidification et donc un virage du bleu de bromothymol au jaune.

-jaunes ou orangés : acidification du milieu par fermentation d'au moins un des glucidesprésents dans le milieu

-colonies vertes ou bleues : pas d'acidification du milieu = aucun des glucides n'est utilisé :lactose, et saccharose, et salicine.

Purification :

Une colonie typique prélevée à HEKTOEN et on fait le repiquage sur la gélose nutritive parméthode **de quadrants,** une technique utilisée afin d'obtenir des colonies séparées, ainsi permet de retrouver tous les microorganismes d'un mélange, mais aussi de vérifier la puretéd'une souche bactérienne

Les étapes de méthodes :

Une colonie suspecte est prélevée à l'aide d'une anse stérile à partir de gélose Hektoen, puis avec la boucle à plat contre la surface de la gélose, rayez légèrement l'inoculum ne pas déterrer la gélose. Stérilisez la boucle et laissez-la refroidir à l'air. Tournez la boite ouverte dans votre main gauche de manière à pouvoir tracer une série de quatre lignes d'avant en arrière, chacune passant à travers l'inoculum et s'étendant sur un côté de la boite. Stérilisez à nouveau la boucle et laissez-la refroidir à l'air. Faites pivoter la plaque et tracez une autre série de quatre lignes, chacune croisant l'extrémité des quatre dernières lignes et s'étendant surle côté adjacent de la boite. Tournez la plaque et répétez cette rayure parallèle une fois de plus. Enfin, faites quelques stries au centre intact de la boite à pétrie. Ne touchez pas l'inoculum d'origine. Incuber la plaque (inversée) à 35°C.

Identification biochimique :

Recherche d'une oxydase :

-sur disque, travailler dans la zone Stérile (Le disque est conservé à +4°C, à l'obscurité,pendant 6 mois, vérifier la date de péremption).

-Sur une lame déposer le disque, et l'imbiber avec une goutte d'eau distillée stérile (ne pasmettre trop, si non risque de faux négatif) 60m.

-Prélever une colonie (ou plusieurs si petites, attention à ne pas mettre trop peu, sinon risquede faux négatif) à l'aide d'une pipette Pasteur flambée et refroidie (pas de pipette métallique,risque de faux positif) Ecraser les colonies prélevées sur le disque imbibé pendant dix secondes rapidement .

-Lire immédiatement (risque de faux positif si lecture tardive)

-Absence de coloration : oxydase négative

-Apparition d'une coloration violette : oxydase positive

-Risque de faux positif si colonie déjà colorée, risque de faux négatif si prélèvement sur milieu glucidique ou sélectif, ou si pipette trop chaude.

NB : tout le e coli manipulé ayant une oxydase négative

Recherche d'une catalase :

- travailler dans la zone stérile

-Sur une lame, déposer une goutte de H2O2 10 volumes (L'eau oxygénée doit être bien conservée, contrôlée périodiquement avec une souche connue catalase +, comme une entérobactérie)

-Flamber l'anse de platine, laisser refroidir

-Prélever une colonie (ou plusieurs si colonies petites), faire attention à ne pas prélever de la gélose s'il s'agit d'une gélose au sang (risque de faux positif du à la catalase du sang)

-Mettre la colonie en contact avec l'H2O2 Si dégagement de gaz : catalase positive (la réaction est instantanée et diffuse, si elle est retardée (C.albicans) ou faible (gélose au sang) ou non diffuse (Entérocoques) elle est considérée comme négative à interpréter avec prudence)

NB : tous le e coli manipulés ayant un catalase +

Coloration de gram :

Coloration de base dans la microbiologie instaurée par CHRISTAIN Gram, les bactéries sont colorées selon leur paroi en GRAM positifs (violet) et Gram négatif (rose).

Etapes :

-Réaliser un frottis fixé

-Déposer une goutte d'H20 sur la lame propre.

-Par une pipette pasteur, prélever des traces d'une colonie typique

-Faire une suspension bactérienne par dissolution dans la goutte d'eau.

-Sécher près de la flamme de bec bunsen.

-Passer 3 fois la lame dans la petite flamme (veilleuse) du bec Bunsen pour fixer l'échantillon.

- Coloration :

-Mettez des gans

-Déposer quelques gouttes de solution de violet de gentiane (cristal violet) sur le frottis fixé

-Laisser agir 1 minute.

-Rincer à l'H2O distillée la lame au-dessus du frottis (pas directement sur le frottis).

-Déposer quelques gouttes de lugol sur le frottis. Le Lugol (composé iodé) est un mordant qui permet de fixer le violet dans les bactéries.

-Laisser agir 1 minute.

-Laver à l'H2O comme précédemment décrit.

-Décolorer en faisant couler la solution d'éthanol 96% sur la lame jusqu'à ce que le violet ne s'écoule plus du frottis (5 à 10 secondes). Les pores de la paroi des Gram+ sont fermés par la déshydratation à l'alcool. La paroi est alors imperméable et le colorant violet reste dans les bactéries. La membrane des Gram- est dissoute par le mélange alcool-acétone. La paroi plus mince et de composition différente laisse alors sortir la coloration violette.

-Rincer à l'H2O.

-Contre-colorer en déposant la solution de safranine (rose) pendant nute. Ce colorant permet de visualiser les bactéries Gram- décolorées à l'étape précédente. Cette coloration moins forte que le violet n'affecte pas la couleur des Gram+.

-Rincer à l'H2O.

- sécher entre papier buvard sans frotter la lame.

-Observer au microscope (grossissement 400x ou, avec une goutte d'huile à immersion, augrossissement 1000x).

-Escherichia coli est un bâtonnet Gram- de 2 à 3 µm de long pour 0.7 µm, également dénommé colibacille. Elle peut apparaître parfois sous forme de filament dans les vieillescultures.

La culture sur milieu TSI :

La Triple Sugar Iron Agar(TSI) contient trois glucides (glucose, lactose et saccharose). La fermentation de ces glucides provoque une production d'acide, qui est détectée par l'indicateurau rouge de phénol. Des changements de couleurs en résultent, et le milieu vire au jaune en cas de production d'acide, ou au rouge en cas d'alcalinisation. La formation d'acide dans le culot est due à la présence de deux sucres, le lactose et le saccharose, dont les concentrations sont beaucoup plus élevées que la concentration de glucose ; la formation d'acide à partir du glucose est inhibée par une oxydation rapide de la petite quantité d'acide présente dans la partie inclinée du tube, qui entraîne une réaction faisant passer le milieu à un pH neutre ou alcalin lorsque seul du glucose est fermenté. L'ajout de saccharose permet d'exclure certains coliformes et microorganismes. Proteus susceptibles d'attaquer le saccharose, mais pas le lactose, pendant une durée d'incubation de 24 à 48 h. En cas de pH neutre ou alcalin, l'acide sulfhydrique (produit à partir de thiosulfate de sodium) réagit avec le sel d'ammonium ferreuxet entraîne la formation de sulfure de fer noir. A l'origine, la formule de la gélose TSI est prévue pour une application en tant que milieu en tubes, avec un culot et une surface inclinée. Cette technique permet la différenciation du glucose, du lactose, et/ou des fermentant du saccharose et permet aussi de déceler la production éventuelle d'acide sulfhydrique.

Technique d'ensemencent :

L'ensemencement se fait après prélèvement à la pipette pasteur par piqure centrale de gélosesans toucher le fond de tube. Puis terminer par des stries au niveau de la ponte.

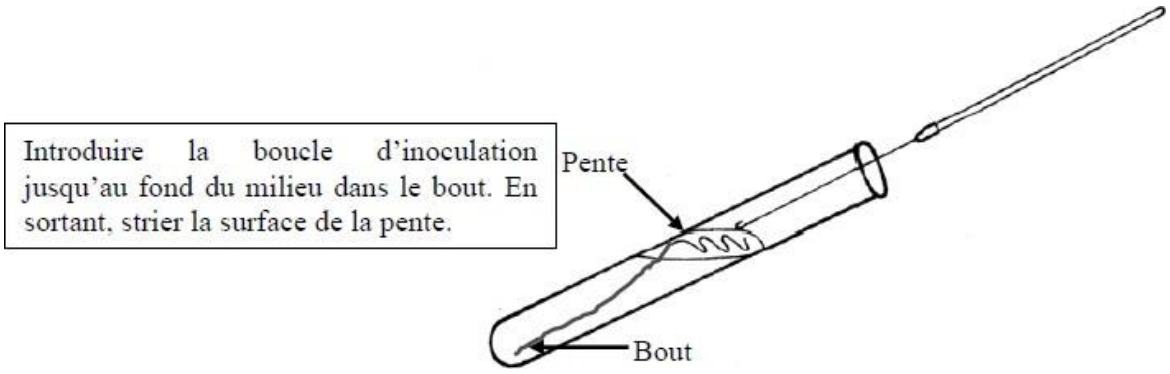


Figure 7 : Technique d'ensemencement de milieu TSI.

Galerie API 20^{e} :

Après incubation apportera un caractère d'identification supplémentaire.

-La galerie API 20 E comporte 20 micro-tubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide duTableau de Lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification

-TECHNIQUE :

- Préparation de la galerie :

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau dans les alvéoles pourcréer une atmosphère humide.

-Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation

- Préparation de l'inoculum :

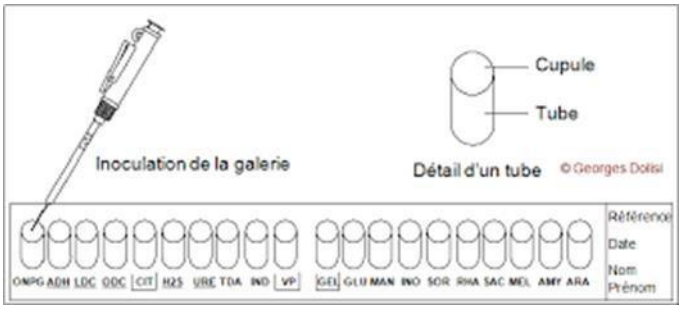


Figure 8 : Technique d'utilisation de Galerie API 20 E.

- Ouvrir une ampoule de Suspension Medium (ou un tube d'eau distillée stérile)

- Prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé

Réaliser une suspension bactérienne faible (opacité 0,5 sur l'échelle Mc Farland)

- Inoculation de la galerie :

-Remplir les tubules et les cupules des tests du type CIT

- Remplir les tubules des tests du type ADH et remplir la cupule avec de l'huile de paraffine, pour créer l'anaérobiose.

-Remplissage des tubes :

-Remplir uniquement les tubules des tests restants Remplir en posant la pipette contre la paroi de la cupule.

-**Remarque** : il est important de veiller à ne pas créer de bulles lors de l'inoculation qui pourraient fausser le résultat. De plus l'apparition de bull

Conservation :

Utilisation d'un milieu de conservation composer de : 30% de glycérol + BHIB (bouillon), ce mélange est conserver a -20c° (congélateur)

Antibiogramme :

L'antibiogramme est un examen de laboratoire visant à déterminer la sensibilité d'une bactérie à différents antibiotiques. En effet, de nombreuses bactéries sont devenues, avec le temps, résistantes aux antibiotiques. Il n'est donc pas toujours évident de trouver l'antibiotique qui sera efficace pour traiter une souche bactérienne donnée. En mettant en contact des bactéries (prélevées chez un malade) avec plusieurs antibiotiques, l'antibiogramme permet de voir quels sont les produits qui inhibent la croissance bactérienne et qui seront efficaces pour traiter

Antibiogramme par diffusion des disques :

Milieu pour antibiogramme :

Le milieu utilisé pour réaliser l'antibiogramme est la gélose Muller Hinton (MH), il doit êtrecoulé en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm puis séchées avant l'emploi.

L'antibiogramme est réalisé selon les recommandations de CLSI 2008.

Préparation de l'inoculum :

A partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur milieu d'isolement approprié (revivification des souches conservées par ensemencement sur GN), racler à l'aide d'une anse de platine stérile quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Et les dissocier dans 05 ml d'eau physiologique stérile à 0,9% de NaCl, la suspension bactérienne est bien homogénéiser, son opacité doit être équivalente à 0,5 MF, pour cet effet on utilisé undensitomètre. Il est possible de se servir d'un spectrophotomètre pour obtenir une suspension d'une densité optique entre 0,08 à 0,10 lue à 625 nm.

Ensemencement :

Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum. L'essorer en le pressant fermement (et en letournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum. Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, 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 fairepivoter 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 boites de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

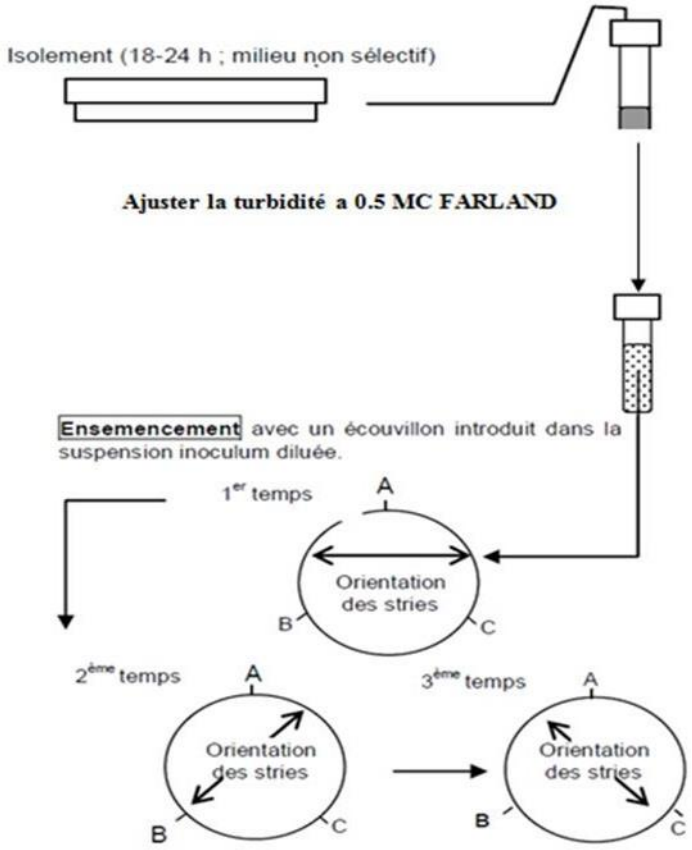


Figure 9 : Représentation schématique des étapes d'ensemencement d'antibiogramme.

Application des disques d'antibiotiques :

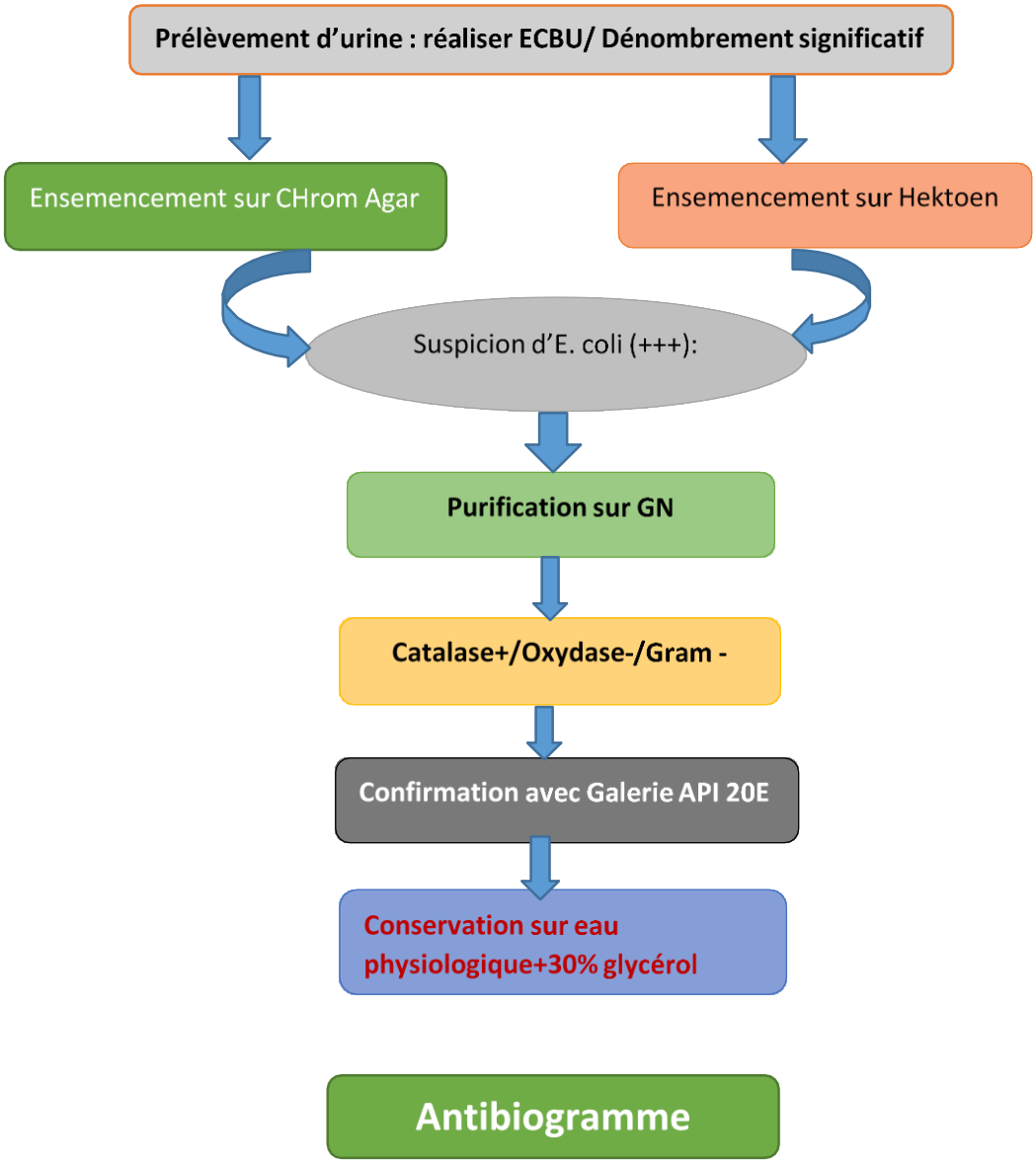
Les disques sont retirés de l'étui à l'aide d'une pince stérile, et placés sur la gélose, et espacéd'environ 2 cm, Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de90 mm Presser légèrement chaque disque d'antibiotique à l'aide du pince et ne pas déplacer les disques après application. L antibiogramme est réalisé selon les recommandationsdu CLSI 2008.

Les disques d'antibiotiques utilisés sont représentés dans le tableau ci-dessus

Antibiotique	Abréviation	Charge en µg
Céfotaxime	CTX	30
Céfazolin	KZ	30
Aoxicillin-acide clavulanique	AMC	30
Ampicillin	AM	10
Toboramycine	TOB	10
Acide Nalidixic	NA	30
Ciprofloxacine	CIP	5
Amikacine	AK	30
Triméthoprime + Sulfaméthoxazole	STX	30
Céfoxitine	CX	30
Fosfomycine	FO	200
Gentamycine	GEN	10
Céfuroxime	CXM	30
Tétracycline	TE	30

Tableau 2 : Les disques d'antibiotiques utilisés.

Figure 10 : Isolement et identification d'E. Coli d'origine urinaire



RESULTATS ET DUSCUSSION

1

A. Résultats :

1. Répartition des prélèvements selon la provenance :

La répartition des prélèvements est représentée par la Figure 11.

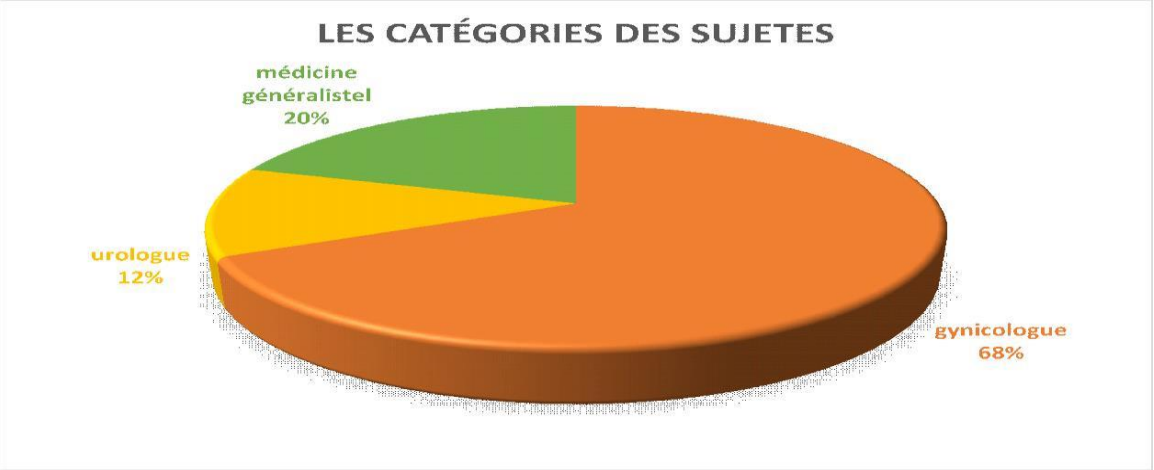


Figure 11 : Répartition des prélèvements selon la provenance.

On constate que la plus part des prélèvements vient des patientes après consultation des gynécologues (68% des cas), qui les orientent au laboratoire si suspicions d'une infection urinaire, donc on conclue que la grossesse est un facteur de risque important peut-être une cause de la dépression physiologique de système immunitaire liée à la gestation, suivi par des patientes en provenance d'un urologue puis ceux orientées par des médecins généralistes.

2. Examens macroscopiques des urines :

Les résultats de l'examen macroscopique des urines prélevées **le tableau 3 :**

aspect	effectif	Pourcentage (%)
trouble	32	29.35
Limpide	77	70.64
Totale	109	100

Tableau 3 : Répartition selon l'aspect macroscopique des urines.

Nous remarquons que sur les 109 échantillons d'urines prélevées à partir des patients ; 32 échantillons étaient d'aspects troubles et 77 échantillons étaient d'aspects limpides.

Nous anticipons ici les résultats bactériologiques (voir ci-dessous), les urines troubles étaient toutes infectées alors que 2/77 urines limpides étaient aussi infectées.

Tableau 4 : Résultat de la chimie des urines analysées.

aspect	présence	absence	totale
Leucocytes > 104/ml	34	75	109
Nitrites	34	75	109

D'après le **tableau 4 ;** on constate la présence de leucocytes et de nitrites dans 34 urines Analysées dont 32 troubles 77 limpide. **Legras** en **1993,** a trouvé que tous les urines contenants des leucocytes ≥10_4/ml et des nitrites étaient infectées. Ces résultats permettent de suspecter la présence des microorganismes responsables d'une infection urinaire. C'est pourquoi la leucocyturie garde une place de choix dans le diagnostic de l'infection urinaire.

1. Résultats bactériologiques (dénombrement bactérien) :

Les résultats de dénombrement des bactéries sont présentés dans le **tableau 5.**

Tableau 5 : Les résultats de dénombrement bactérien.

Numération bactérienne	présence	Fréquence (%)
Significative (≥10_5germe/ml)	34	31.19
Non significative (≤10_5germe/ml)	75	68.80
Totales	109	100

Le tableau ci-dessus montre une uroculture significative observée chez 34 patients soit 31.19%. Ce taux est supérieur à les résultats obtenus par **Hassaine,. (2002**), qu'a trouvé dans deux hôpitaux de l'ouest algérien : Ain-Temouchent et Maghnia soit respectivement 26,4% et 20,7% d'IUN.et par **ZENATI,. (2016)** dans Centre Hospitalo- Universitaire (CHU) de Tlemcen.

2. Isolement :

Les résultats d'isolement bactérien sont représentés dans la Figure ci-dessous (figure 12) :

Due à des changements physiologiques, fonctionnels et structurels qui subissent les femmes enceintes qui les rendent plus sensibles à divers germes. **Bovil et al (1998)**.

6.Aspect d'e.coli sur différents milieux :

L'identification des souches d'*E. Coli* a été basé sur les méthodes microbiologiques standards à savoir l'aspect macroscopique, microscopique,

6.1. Germes sur milieu (HEKTOEN,GN,chrom agar) :

1- sur Hektoen *e.coli* se presente sous forme des colonies saumons ou oranges (figure12)



Figure 12 : Aspect *d'E.coli* sur Hektoen.

2-sur GN *e.coli* , petites à moyennes colonies, arrondies, lisses (figure13)

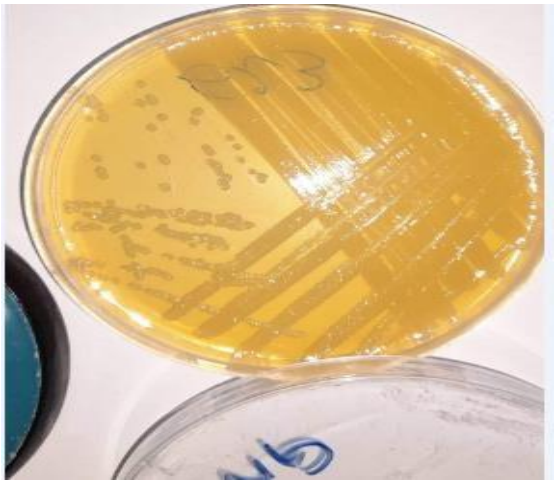


Figure13 : Aspect *d'E.coli* sur GN.

3-sur ChromAgar *e.coli* se presente sous formes des colonies rose foncé à rougeâtre (figure14)



Figure 14 : *E.coli* sur ChromAgar.

L'utilisation de chrom agar permet d'identifier 24 souches d'*E.coli* (rose foncé).

6.2. Purification :

Sur GN les colonnies d'E.coli sont petites à moyennes colonies, arrondies, lisses

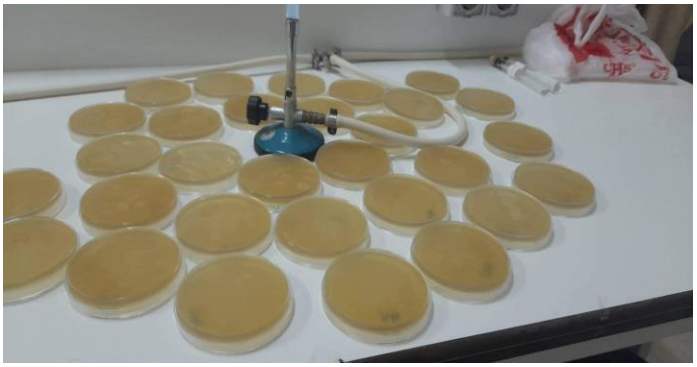


Figure 15 : Purifiacation sur GN.

7. **Identification** :

7.1. La coloration de Gram :

Les *E. coli* se présentent après coloration de Gram sous forme des petits bacilles roses généralement isolés (Figure 16).

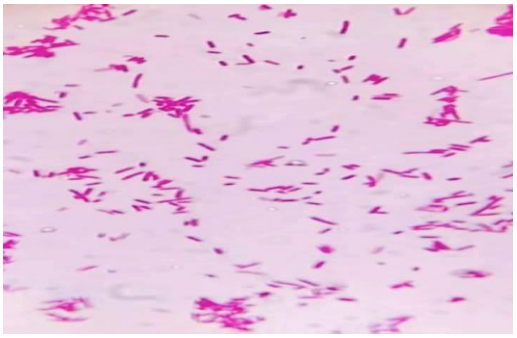


Figure 16 : Coloration de GRAM d'*E. Coli*.

7.2. Test catalase :

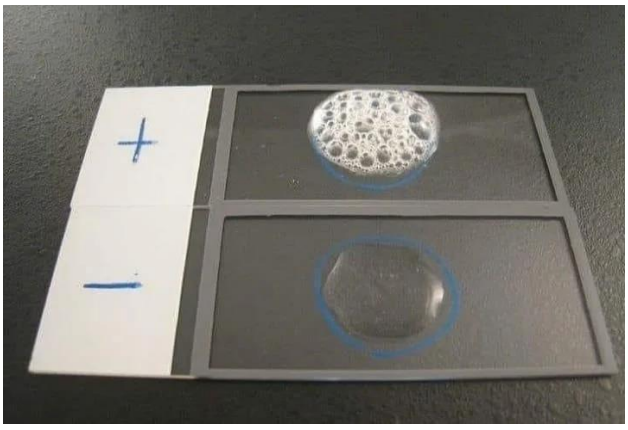


Figure 17 : Teste catalase.

7.3. Test oxydase

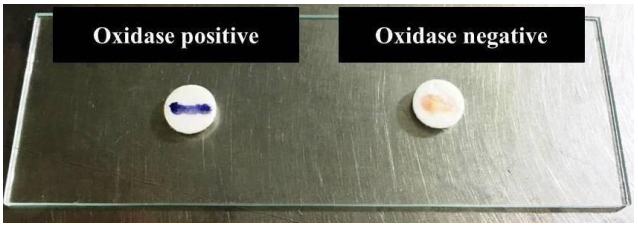


Figure 18 : Test oxydase.

7.4. Sur TSI :

Sur TSI, le profil d'*E.coli* est : A/A/Gaz (Acide/Acide/Gaz). Car c'est une bactérie à métabolisme fermentaire qui fermente plusieurs sucres dont le lactose et le glucose, avec production de gaz qui provoque décollement et cassure de la gélose TSI (Figure19).

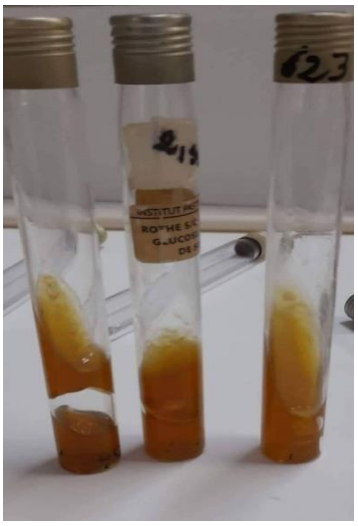


Figure 19 : *E. coli* sur milieu TSI.

7.5. La galerie API20E :

Cette technique nous a permis de caractériser 21 souches d'*E. Coli*, avec 7 profils numériques différents : **4165572 ; 6165572 ; 6165573 ; 6065573 ; 7264572 ; 7165522 ; 7165502**

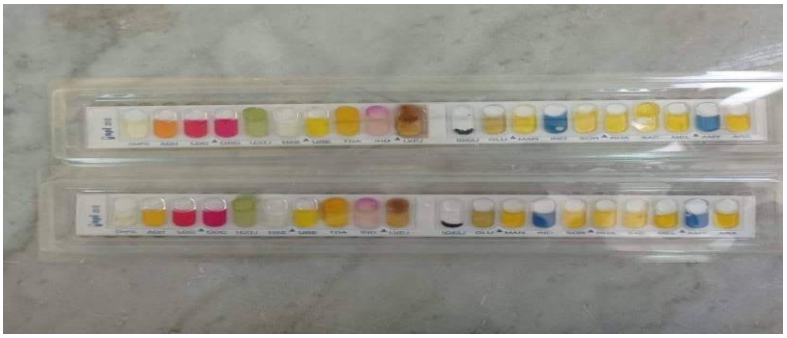


Figure 20 : Galerie API 20 E d'E. Coli.

L'utilisation des procédures d'identification (TSI ; galerie API 20 E) nous permis d'éliminer 3 souches des 24 souches identifiées précédemment par chrom agar

8. Répartition des germes isolés :

Les principaux germes isolés sont représentés par la figure 21

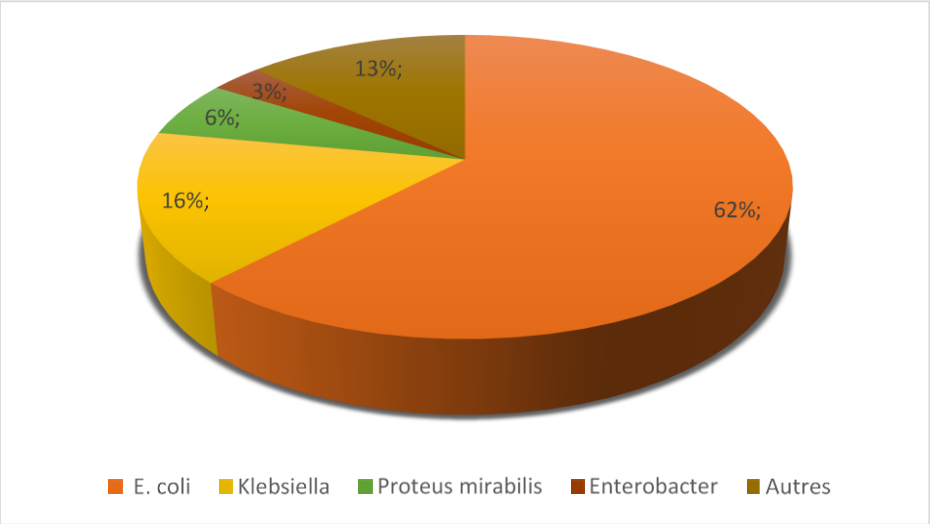


Figure 21 : Répartition des bactéries responsables d'infections urinaires chez la femme en Fonction de l'espèce

D'après **la figure 21**, on remarque *qu'E. Coli* est l'espèce la plus fréquemment isolée (62%), Klebsiella (16%), Proteus miranilis (6%), Enterobacter (3%) et les autres germes (13%).

Notre fréquence d'isolement de l'espèce E. coli est très proche à celle depar **ZENATI ., (2016)** dans Centre Hospitalo- Universitaire (CHU) de Tlemcen (63%) et proche à celle de **Zahlane *et al.*, (2009)** qui ont trouvé 65% d'*E coli* à l'hôpital de Marrakech (Maroc). Par contre **Barka *et al., (*2014)** ont trouvé 19.16% d'*E.coli* à l'hôpital de Maghnia. Et inferieur àcelle de **Moumen t *al* .,(2015)** qui ont trouvé (42%) et proche à 58.52% de Blida **(Dadoun et *al* 2019)**

L'isolement fréquent d'*E. Coli* à partir des prélèvements urinaires peut être expliqué par la Physiopathologie de ce type d'infection qui est en général ascendante. Il existe une forte colonisation du périnée par les entérobactéries d'origine digestive et en particulier *E.coli* **(Larabi *et al.*,2003).**

9. Répartition d'E. Coli en fonction de catégories infectées :

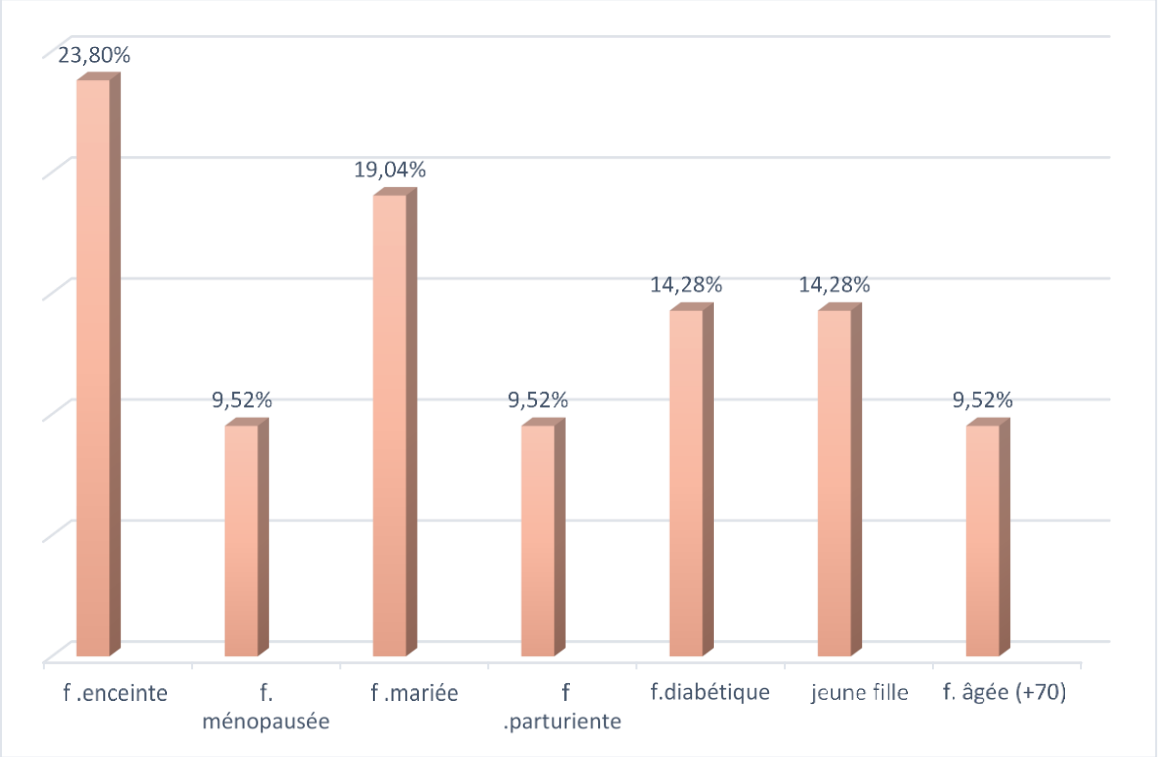


Figure 22 : Répartition d'*E. Coli* en fonction de catégories infectées.

Nos Résultats ont montrés (23.80 %) des femmes enceintes ont été infectées, de plus l'urine des femmes pendant la grossesse est un milieu favorable à la croissance de la plupart des agents pathogènes car elle contient de grandes quantités d'albumine et d'acides aminés. les femmes enceintes ont aussi des mécanismes de défenses faibles tout au long de leur grossesse qui les rendent plus sensibles aux agents pathogènes. **Salwa .,(2018).**

9. Fréquences des urines infectées et non infectées en fonction de l'âge :

Les résultats des urines infectées et non infectées en fonction d'âge sont montré dans le **tableau 7.**

Ages (ans)	21-30	31-40	40-58	60 ≥
Infectées	20	05	05	04
Non infectées	47	08	10	10
Fréquence (%)	61.46	11.92	13.76	12.84

Tableau 7 : Fréquences des urines infectées en fonction des tranches d'âge.

Le tableau ci-dessus montre que les patients qui ont un âge compris entre 21 et 30 ans montrent une incidence d'infection urinaire importante (61.46%), proche à (58.4 %) de **Salwa .,(2018).**

L'étude a révélé que (11.92%) appartenaient au groupe d'âge des 31 à 40 ans inférieure a (26%) trouver par .,**Salwa (2018).**

Aussi**,** l'infection est présente chez les sujets âgées plus de 60 ≥ ans (12.84)**.** L'infection urinaire chez les patients âgés est aggravée par la fréquence des formes sévères et compliquées, du fait de l'état d'immunodépression due à l'âge. Cette prévalence élevée peut être expliquée par de nombreux facteurs plus ou moins intriqués, anatomiques, fonctionnels ou immunologiques **(Lobel et Soussy., 2007).** Chez la femme ménopausée, lacarence hormonale modifie la flore vaginale et provoque la disparition des lactobacilles etune alcanisation du pH favorisant ainsi la colonisation des urines par les souches uropathogènes **(Boscia *et al.*,1986).**

10. Répartition des souches d'*E. Coli* isolées selon l'origine :

code	service
EC1	Urologie
EC2	médicine généraliste
EC3	gynécologue
EC4	gynécologue
EC5	gynécologue
EC6	Urologie
EC7	médicine généraliste
EC8	médicine généraliste
EC9	gynécologue
EC10	gynécologue
EC11	gynécologue
EC12	gynécologue
EC13	Urologie
EC14	gynécologue
EC15	gynécologue
EC16	médicine généraliste
EC17	gynécologue
EC18	gynécologue
EC19	gynécologue
EC20	gynécologue
EC21	médicine généraliste

Tableau 8 : Répartition des souches selon les services.

11. Résultats d'antibiogramme :

L'interprétation des diamètres des zones d'inhibition est réalisée selon le tableau de lecture de CLSI 2008 (voir ANNEX)

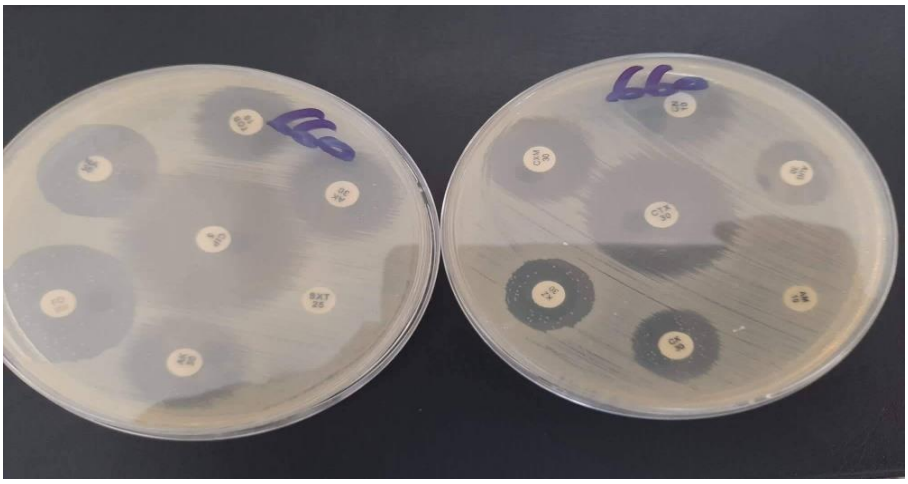


Figure 23 : Antibiogramme *d'E. Coli* isolée des infections urinaires.

Les résultats d'étude de la résistance des *E.coli* aux antibiotiques sont présentés dans les tableaux et la figure suivante :

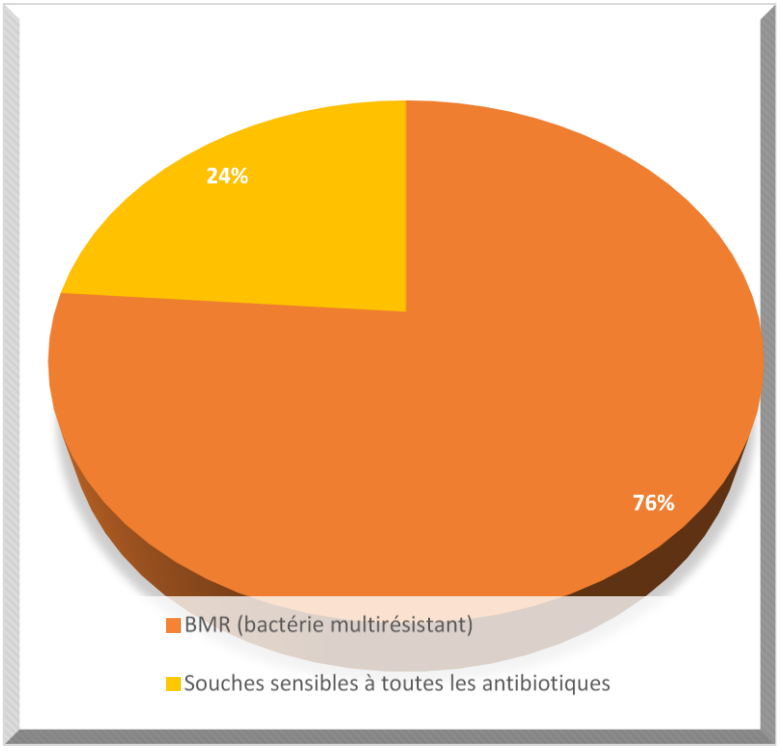


Figure 24 : Types des souches *e.coli* selon leur sensibilité aux antibiotiques.

	CX 30	CIP 5	NA 30	TE 30	SXT 25	TOB 10	AK30	CN10	FO200	AMC 30	CTX 30	CXM 30	KZ 30	AM 10
EC1	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
EC2	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R	I	S	R	R
EC3	S	S	S	S	I	S	S	S	S	R	R	S	S	R
EC4	S	S	S	I	R	S	I	S	S	I	R	S	S	R
EC5	R	S	S	S	R	S	S	S	S	I	I	S	S	R
EC6	S	S	S	S	R	S	S	S	S	I	R	S	S	R
EC7	S	S	S	I	I	R	S	S	S	I	I	S	S	R
EC8	R	S	S	S	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S
EC9	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
EC10	S	S	S	S	I	S	S	S	S	R	S	S	S	R
EC11	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
EC12	S	S	S	S	S	S	I	S	S	R	S	S	S	R
EC13	R	S	S	S	R	S	S	S	S	I	R	S	S	R
EC14	I	S	S	S	I	S	S	S	S	R	R	S	S	R
EC15	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
EC16	I	S	S	S	I	S	S	S	S	R	S	S	S	R
EC17	S	S	S	S	I	S	S	S	S	R	S	S	S	R
EC18	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
EC19	S	S	S	S	I	S	S	S	S	R	S	S	S	R
EC20	S	S	S	S	I	S	S	S	S	R	S	S	S	R
EC21	I	R	R	I	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R

Tableau 9 : Résultats d'antibiogramme de toutes les souches.

11.1. Analyse des résultats d'antibiogramme :

L'analyse du spectre de sensibilité et de résistance d'*E.coli* uropathogène aux antibiotiques testés,résumés dans la Figure 25 :

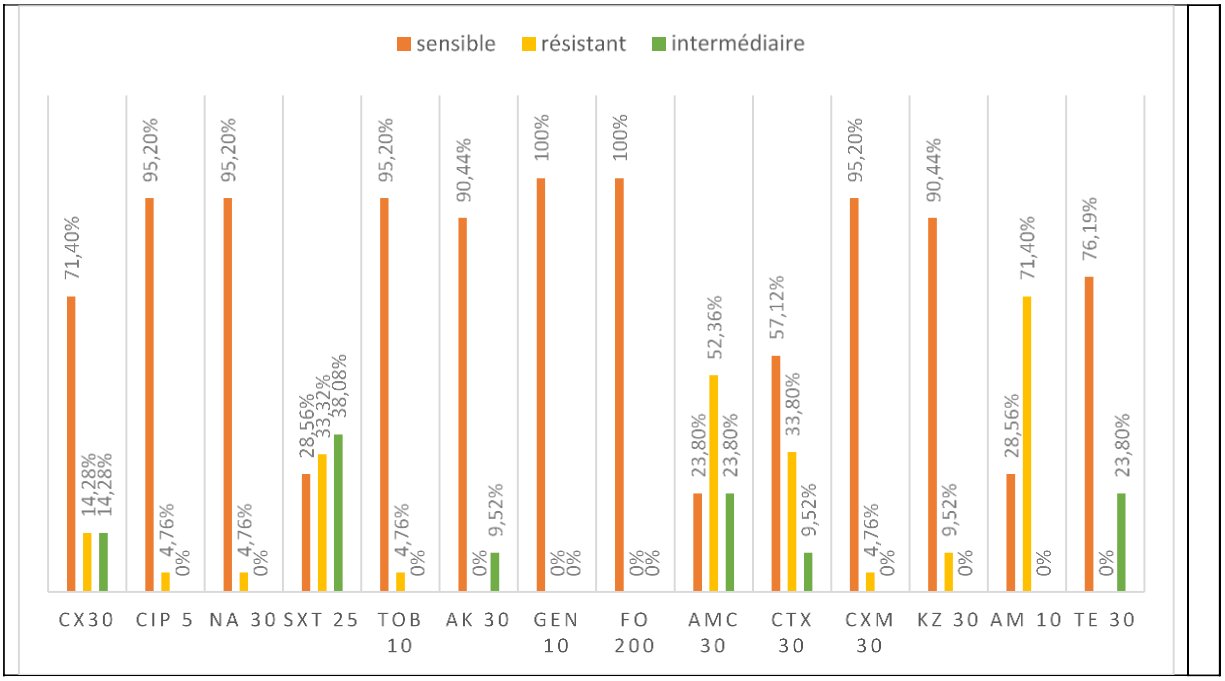


Figure 25 : Taux de résistance d'E. Coli aux différents antibiotiques**.**

La Gentamicine était l'anti-infectieux le plus fréquemment actif (100 % des souches sensibles) avec Fosfomycine (100% des souches sensibles) semblable 99.4 % et 99% trouver par (**Bruyèr),** suivi de TOB, CXM, NA, CIP (95.20% de sensibilité) puis du KZ, AK (90.44 %). Puis les autres antibiotiques.

Dans notre étude nous avons trouvé 71.40% des souches résistantes à l'AM. Supérieur à 23.470% trouvé par **(Dadoun et *al*., 2019**).

Pour l'association amoxicilline + acide clavulanique (AMC) le taux de résistance retrouvé dans notre étude est de (52.38%), un niveau de résistance élevé ce taux de résistance élevé peut être expliqué par l'utilisation abusive de cet antibiotique dans nos structures sanitaires mais aussi par l'automédication. L'évolution de la résistance de l'Escherichia coli à l'amoxicilline –acideclavulanique, est due principalement à l'usage itératif de cet antibiotique en milieu communautaire et hospitalier (**Delphine Chervet)**.

Pour le GEN notre résultat de sensibilité est 100% supérieur à 88.57% de **(Dadoun et *al* .,2019)**

Pour le FO notre résultat de sensibilité est 100% proche à 97.12 % de **(Dadoun et *al* .,2019)**

Pour l'association Triméthoprime + Sulfaméthoxazol (SXT) on a trouvé (33.32%), un taux de résistance très faible par rapport à (60 %) trouver par **Lacheheub et *al.*, (2016**), et faible a (par rapport à celui trouver par **Ilyass .,2019** (48.1%), et supérieure à (26%) de **Delphine Chervet** et a (23.5 %) de **Farcy .,(2008) .**

Cette fréquence de résistance pourrait être expliquée par un recours excessif à cet antibiotique dans le traitement des infections digestives et respiratoires.

Dans notre travaille, le taux de résistance à la ciprofloxacine (CIP) est de (4.76%) un taux trèsproche à (53.7 %) **de Raghu., 2016**.

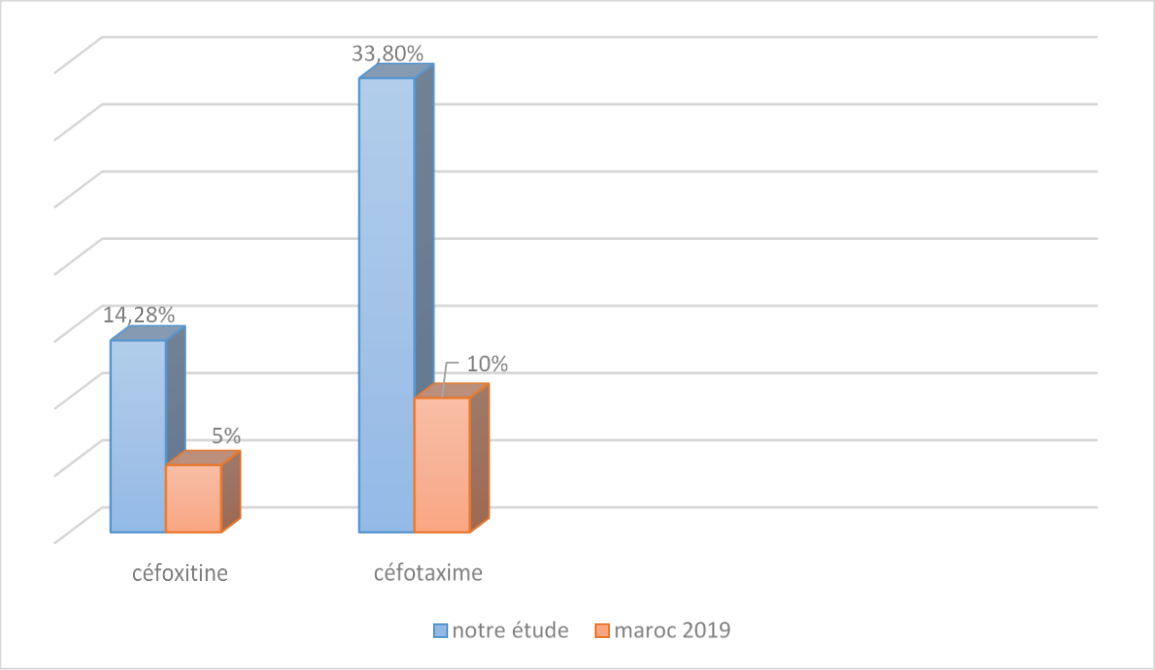


Figure 26 : Taux de résistance d'*E. Coli* aux céphalosporines en Algérie et au Maroc (**Ilyass 2019)**.

Le taux des deux antibiotiques de notre étude est élevé par rapport à celle de (**Ilyass .,2019).**

11.2. Profil de résistance antibiotique d'*E. Coli* :

Profil	Nombre des souches	Pourcentage %
SXT/AMC/KZ/AM	1	4.76%
AMC/CTX/AM	1	4.76%
SXT/CTX/AM	2	9.52%
CX/SXT/AM	1	4.76%
TOB/AM	1	4.76%
CX/SXT/AMC	1	4.76%
CX/SXT/CTX/AM	1	4.76%
CTX/AM	1	4.76%
AMC/AM	6 souches	23.8%
CIP/NA/SXT/AMC/CTX/CXM/KZ/AM	1	4.76%

Au totale 16 souches **multirésistantes(BMR)** 76.2 %et 5 souches tous sensible 23.80%

Tableau 10 : Profil de résistance antibiotique d'*E. Coli*

A. discussion :

Les infections urinaires sont un problème de santé qui affecte les femmes, en particulier pendant la période de grossesse, et c'est l'une des principales causes de fausses couches, de naissances prématurées et de sous-développement des nourrissons. Le traitement précoce de

L’infection réduit la probabilité de complications qui peuvent être très dangereuses pour la mère et le fœtus. [6 d] Dans cette étude, la prévalence des infections urinaires était de 29.35%(32 patients) d’un total de 109 patients, et plus élevée chez les femmes enceintes 23 .80 % ainsi que chez les femmes mariées 19.04 %, et était moins élevée chez les femmes célibataires 14.26% . Et les autres résultats sont repartis en femmes ménopausée, parturientes et diabétiques.

Cette incohérence et cette différence de résultats peuvent être dues à des variations dans le contexte environnemental et les habitudes sociales des communautés, en plus de la situation économique, de la sensibilisation et de la connaissance des normes d'hygiène du client. La parité et l'âge gestationnel affectaient significativement la prévalence de l'infection des voiesurinaires. Ceux-ci ont déjà été rapportés Les femmes enceintes au 3e trimestre de leur grossesse en cours et celles ayant plus d'un enfant étaient majoritairement à risque de contracter une infection des voies urinaires. Plusieurs changements anatomiques et hormonaux chez les femmes enceintes entraînent une dilatation urétrale et une stase urinairequi contribuent à un risque accru de développer une infection urinaire [16d]. Concernant la résidence des femmes l'urine des femmes pendant la grossesse est un milieu favorable à la croissance de la plupart des agents pathogènes car elle contient de grandes quantités d'albumine et d'acides aminés. Les femmes enceintes ont également des mécanismes de défense faibles tout au long de leur grossesse qui les rendent plus sensibles aux agents pathogènes, une étude britannique portant sur 1 000 femmes enceintes a montré que les bactéries plasma-négatives avaient un effet sur le taux d'infections urinaires et enregistraientle troisième rang dans le total des bactéries.

Les bactéries qui causent les infections urinaires sont les mêmes causes de maladie chez les femmes non enceintes. *Escherichia coli* représente entre 80 et 90 % des causes d'infection Habituellement, les agents responsables de la bactériurie non symptomatique chez les femmes sont des bactéries qui coexistent dans le système reproducteur féminin et les intestins. Différents déterminants du virus, tels que les adhérences et l'inactivité causées par l'utérus, jouent un rôle dans les infections urinaires.

Conclusion générale :

La résistance aux antibiotiques est devenue un problème majeur de santé publique en Algérie et à travers le monde. En effet, au cours de ces dix dernières années, nous avons Constaté une importante augmentation de la résistance aux antibiotiques en particulier chez *E. coli.* Pour des raisons physiologiques, anatomiques et hygiéniques, Les infections urinaires sont fréquentes chez la femme. Dans la présente étude notre objectif était centré autour d'une investigation de l'état actuel de sensibilité aux antibiotiques chez *Escherichia coli* responsable des infections urinaires chez la femme dans la région d'étude.

Les résultats de cette étude montrent une prévalence des infections urinaire chez la femme estimée à 29.35%, avec un taux d'isolement d'*E.coli de* 62%, un taux élevé qui confirme les résultats des études précédentes.

On a constaté queles taux de résistance le plus élevé est observé avec l'ampicilline (71.40%), et l'AMC 52%.

La Gentamicine et Fosfomycine sont les anti-infectieux les plus fréquemment actifs (100% desensibilité), suivis par la Ciprofloxacine et l'Acide Nalidixique(NA) (95%).

Des résistances enregistrés vis-à-vis les céphalosporines, avec des souches multi-résistantes.

L'importance de ces résistances aux antibiotiques est probablement la conséquence de l'usage inapproprié de ces molécules dans notre pays surtout des pénicillines qui sont utilisés fréquemment au cours de n'importe quelle infection. L'automédication représente également un réel problème favorisant rapidement les émergences et les résistances des germes. L'antibiorésistance est un phénomène naturel d'adaptation des bactéries à leur environnement, surtout accentué et accéléré par l'utilisation abusif des antibiotiques. Par conséquent, la sensibilisation des médecins à demander un examen cytobactériologique des urines avec antibiogramme est primordiale pour tout patient présentant des signes suspects d'infection urinaire. En Algérie il y' une nécessité croissante de surveillance de l'efficacité des antibiotiques, pour éviter la propagation et l'émergence des souches multi-résistantes. D'autres études sont nécessaires et des mesures strictes pour arriver à cet objectif.

Bibliographie

1- Andremont, A., Pression. (2002). De sélection antibiotiques, flores commensales et Évolutions de la résistance. J Pédiatr Puericulture ; 15(3) : 160-65.

2-Aguiniga, L. M., Yaggie, R. E., Schaeffer, A. J., and Klumpp, D. J. (2016). Lipopolysaccharide domains modulate urovirulence. Infect. Immun. 84, 3131–3140. doi: 10.1128/IAI.00315-16

3-Barka M.S., Benyoub N., Zaoui, H. (2014). Prevalence of urogenital tract infections during
pregnancy in Maghnia hospital (Algeria).

4-Barnhart, M. M., and Chapman, M. R. (2006). Curli biogenesis and function. Ann. Rev. Microbiol. 60, 131–147.

5-Baylis, C. L., Penn, C. W., Thielman, N. M., Guerrant, R. L., Jenkins, C., & Gillespie, S.H. (2006). Escherichia coli and Shigella spp. In S. H. Gillespie, & P. M. Hawkey (Eds.), Principles and Practice of Clinical Bacteriology (2nd ed., pp. 347-365). England, UK: John Wiley and Sons Ltd.

6-Bertholom, C. (2016). Épidémiologie des infections urinaires communautaires et nosocomiales. Option/Bio

7-Bevilacqua, S. (2011). Évaluation de l'impact d'une équipe opérationnelle en infectiologie sur la consommation et le coût des antibiotiques au CHU de Nancy. (Essai d'intervention Contrôlé).these de doctorat .universitie de nancy

8-Bielecki, P., Muthukumarasamy, U., Eckweiler, D., Bielecka, A., Pohl, S., Schanz, A., et al. (2014). In vivo mRNA profiling of uropathogenic Escherichia coli from diverse phylogroups reveals common and group-specific gene expression profiles. Mbio 5:e01075-14. doi: 10.1128/mBio.01075-14

9-Bien, J., Sokolova, O., and Bozko, P. (2012). Role of uropathogenic Escherichia coli virulence factors in development of urinary tract infection and kidney damage. Int. J. Nephrol. 2012:681473. doi: 10.1155/2012/681473.

10-Boscia, J. A., Kobasa, W. D., Knight, R. A., Abrutyn, E., Levison, M. E., & Kaye, D. (1986). Epidemiology of bacteriuria in an elderly ambulatory population. *The American Journal of medicine*, *80*(2), 208-214.

11- **Bruyère, M. Vidoni , Y. Péan, J.A. Ruimy,R. Elfassi** , Analyse microbiologique de plusde 600 infections urinaires fébriles prises en charge dans un réseau de soin

12- **Busch, A., and Waksman, G. (2012).** Chaperone–usher pathways: diversity and pilus assembly mechanism. Philos. Trans. R. Soc. Biol. Sci. 367, 1112. doi: 10.1098/rstb.2011.0206

13- **Bush, K., Jacoby, G.A, Medeiros, A. (1995).** A functional classification scheme for betalactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrob. Agents. Chemother. 39:1211–33.

14- **Bradford PA**. Extended-spectrum β-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clin Microbiol Rev 2001;14:933-51

15- **Chao, H., Chen, C., Chen, S., & Chiu, C. (2006). Bacterial enteric infections in children.**

16- **Chapman, M. R., Robinson, L. S., Pinkner, J. S., Roth, R., Heuser, J., Hammar, M., et al. (2002).** Role of Escherichia coli curli operons in directing amyloid fiber formation. Science 295, 851–855. doi: 10.1126/science.1067484

17- **Cai, W., Wannemuehler, Y., Dell'anna, G., Nicholson, B., Barbieri, N. L., Kariyawasam, S., et al. (2013).** A novel two-component signaling system facilitates uropathogenic Escherichia coli's ability to exploit abundant host metabolites. PLoS Pathog. 9:e1003428. doi: 10.1371/journal.ppat.1003428

18- **Cash, P. (2014).** Proteomic analysis of uropathogenic Escherichia coli. Expert Rev. Proteomics 11, 43–58. doi: 10.1586/14789450.2014.877845

19- **Catherine Branger, (2007),** DCEM1, enseignement dirigé de bacteriologie, Univ. Paris7, faculté de medecine Denis Diderot.

20- **Delphine Chervet** ; Infection urinaire en ville : épidémiologie actuelle des résistances bactériennes

21- **Dhakal, B. K., Kulesus, R. R., and Mulvey, M. A. (2008).** Mechanisms and consequences of bladder cell invasion by uropathogenic Escherichia coli. Eur. J. Clin. Invest. 38, 2–11. doi: 10.1111/j.1365-2362.2008.01986.x

22- **Epok, J .E. C. (1999).** L'infection urinaire à Bamako, aspect épidémiologique et étiologique Thèse, Pharm, Bamako,these de doctorat. Faculté de Médecine de Pharmacie et D'Odontostomatologie mali.

23- **Eguchi, Y., Ishii, E., Hata, K., and Utsumi, R. (2011).** Regulation of acid resistance by connectors of two-component signal transduction systems in Escherichia coli. J. Bacteriol. 193, 1222–1228. doi: 10.1128/JB.01124-10

24- **Ellis, T. N., and Kuehn, M. J. (2010).** Virulence and immunomodulatory roles of bacterial outer membrane vesicles. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 74, 81–94. doi: 10.1128/MMBR.00031-09

25- **Eto, D. S., Jones, T. A., Sundsbak, J. L., and Mulvey, M. A. (2007).** Integrinmediated host cell invasion by type 1-piliated uropathogenic Escherichia coli. PLoS Pathog. 3:e100. doi: 10.1371/journal.ppat.0030100

26- **Farcy de Pontfarcy**, ECBU réalisé en ville : évaluation des pratiques et impact sur le bon usage des antibiotiques [Thèse d'exercice]. [Paris, France] : faculté de médecine, 2008

27- **Flores-Mireles, A. L., Walker, J. N., Caparon, M., and Hultgren, S. J. (2015).** Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. Nat. Rev. Microbiol. 13, 269–284. doi: 10.1038/nrmicro3432

28- **Floyd, K. A., Moore, J. L., Eberly, A. R., Good, J. A., Shaffer, C. L., Zaver, H., et al. (2015)**. Adhesive fiber stratification in uropathogenic Escherichia coli biofilms unveils oxygen-mediated control of type 1 pili. PLoS Pathog. 11:e1004697. doi: 10.1371/journal.ppat.1004697

29- **Foxman, B. (2014).** Urinary tract infection syndromes occurrence, recurrence, bacteriology, risk factors, and disease burden. Infect. Dis. Clin. North Am. 28, 1–13. doi: 10.1016/j.idc.2013.09.003.

30- **Géraldine, J.(2010)..**Emergence des entérobactéries sécrétrices de β- lactamases à spectre élargi. Communication de G. Arlet, lors du 38e Colloque national des biologistes des hôpitaux .Muller M.P. Résistance des bacilles Gram négatif aux β-lactamases.Cattoir V. Les nouvelles BLSE.

31- Giron, J. A., Torres, A. G., Freer, E., and Kaper, J. B. (2002). The flagella of enteropathogenic Escherichia coli mediate adherence to epithelial cells. Mol. Microbiol. 44, 361–379. doi: 10.1046/j.1365-2958.2002.02899.x

32- Goyal, P., Krasteva, P. V., Van Genven, N., Gubellini, F., Van Den Broeck, I., Troupiotis-Tsailaki, A., et al. (2014). Structural and mechanistic insights into the bacterial amyloid secretion channel CsgG. Nature 516, 250–253. doi: 10.1038/nature13768

33- Hahn, E., Wild, P., Hermanns, U., Sebbel, P., Glockshuber, R., Haner, M., et al. (2002). Exploring the 3D molecular architecture of Escherichia coli type 1 pili. J. Mol. Biol. 323, 845–857.

34- Hannan, T. J., Totsika, M., Mansfield, K. J., Moore, K. H., Schembri, M. A., and Hultgren, S. J. (2012). Host-pathogen checkpoints and population bottlenecks in persistent and intracellular uropathogenic Escherichia coli bladder infection. FEMS Microbiol. Rev. 36, 616–648

35- Hassaine, H.,Larbi, M., Maamar, H.(2002). Essai de dépistage des infections urinaires d'origine hospitalières dans deux centres hospitaliers en Algérie: Hôpital d'Ain-Témouchent et Maghnia

36- Huletsky, A., Knox, J. R., Levesque, R. C.(1993). Role of Ser-238 and Lys-240 in the hydrolysis of 3rd generation cephalosporin's by SI-IV-type B-lactamases probed by sitedirected mutagenesis and 3-dimensional modeling. J. Biol. Chem. 268: 3690-3697.

37-. Ilyass 2019 ES-SAOUDY bactériologique des infections urinaires à l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech

38- JEAN-PASCAL DEL BANO. 2021 ECBU : technique, résultats et interprétation.

39- Johnson, J. R., Jelacic, S., Schoenin, L. M., Clabots, C., Shaikh, N., Mobley, H. L. T., et al. (2005). The IrgA homologue adhesin Iha is an Escherichia coli virulence factor in murine urinary tract infection. Infect. Immun. 73, 965–971. doi: 10.1128/IAI.73.2.965-971.2005

40- Kaper, J. B., Nataro, J. P., and Mobley, H. L. T. (2004). Pathogenic Escherichia coli. Nature Reviews Microbiology 2, 123–140. doi: 10.1038/nrmicro818

41- Keita, A. (1999). Résistance aux antibiotiques des bactéries isolées chez les malades en Consultation externe au service de bactériologie à l'I.N.R.S.P. (Institut national de recherche

En Santé publique).

42- **Kline, K. A., Falker, S., Dahlberg, S., Normark, S., and Henriques-Normark, B. (2009).** Bacterial adhesins in host-microbe interactions. Cell Host Microbe 5, 580–592. doi: 10.1016/j.chom.2009.05.011

43- **Klemm, P., Vejborg, R. M., and Hancock, V. (2010).** Prevention of bacterial adhesion. Appl. Microbiol. Biotechnol. 88, 451–459. doi: 10.1007/s00253-010-2805-y

44- **Lacheheub Lyna , Bendagha Yasmine ;** Les infections urinaires : Université des Frères Mentouri Constantine 2016

45- **Larabi, K., Masmoudi, A., Fendri, C. (2003**). Etude bactériologique et phynotypes de résistance des germes responsables d'infections urinaires dans un CHU de Tunis : à propos de 1930 cas. Revue, Médecine et maladies infectieuses

46- **Legras, A., Cattier, B., Perrotin, D. (1993).** Dépistage des infections urinaires dans un service de réanimation: intérêt des bandelettes réactives. *Médecine et maladies infectieuses*, *23*(1), 34-3.

47- **Lo, A. W., Moriel, D. G., Phan, M. D., Schulz, B. L., Kidd, T. J., Beatson, S. A., et al. (2017).** 'Omic' approaches to study uropathogenic Escherichia coli virulence. Trends Microbiol. doi: 10.1016/j.tim.2017.04.006. [Epub ahead of print]

48- **Lobel, B ., Soussy**, **C . (2007).** Les infections urinaires. Paris : Springer-Verlag .p.75.

49- **Nagamatsu, K., Hannan, T. J., Guest, R. L., Kostakioti, M., Hadjifrangiskou, M., Binkley, J., et al. (2015).** Dysregulation of Escherichia coli alphahemolysin expression alters the course of acute and persistent urinary tract infection. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 112, E871–E880. doi: 10.1073/pnas.15003 74112

50- **Mavromatis, C. H., Bokil, N. J., Totsika, M., Kakkanat, A., Schaale, K., Cannistraci, B. V., et al. (2015).** The co-transcriptome of uropathogenic Escherichia coli-infected mouse macrophages reveals new insights into host-pathogen interactions. Cell. Microbiol. 17, 730–746. doi: 10.1111/cmi.12397

51- **Moriel, D. G., Tan, L., Goh, K. G. K., Phan, M. D., Ipe, D. S., Lo, A. W., et al. (2016).** A novel protective vaccine antigen from the core Escherichia coli genome. mSphere 1, 13. doi: 10.1128/mSphere.00326-16

52- Moumen chentouf , Benzekoura , Chouiref et Benarba , Journal de recherche chimique et pharmaceutique , 2015 , 7(4) :963-966 ;Prévalence et caractérisation des infection urinaires chez diabétique algériens

53- Nakamura, Y., Yamamoto, N., Kino, Y., Yamamoto, N., Kamei, S., Mori, H., et al. (2016). Establishment of a multi-species biofilm model and metatranscriptomic analysis of biofilm and planktonic cell communities. Appl. Microbiol. Biotechnol. 100, 7263–7279. doi: 10.1007/s00253-016-7532-6

54- Nesta, B., Spraggon, G., Alteri, C., Moriel, D. G., Rosini, R., Veggi, D., et al. (2012). FdeC, a novel broadly conserved Escherichia coli adhesin eliciting protection against urinary tract infections. MBio 3, 9. doi: 10.1128/mBio.00010-12

55- O'Brien, V. P., Hannan, T. J., Nielsen, H. V., and Hultgren, S. J. (2016). Drug and vaccin development for the treatment and prevention of urinary tract infections. Microbiol. Spectr. 4, 42. doi: 10.1128/microbiolspec.UTI-0013-2012

56- OUAMROUCHE . R Dr BEKKI. N Dr DIB . INFECTIONS URINAIRES : Novembre 2019

57- Palou, J., Angulo, J. C., De Fata, F. R., Garcia-Tello, A., Gonzalez-Enguita, C., Boada, A., et al. (2013). Randomized comparative study for the assessment of a new therapeutic schedule of fosfomycin trometamol in postmenopausal women with uncomplicated lower urinary tract infection. Actas Urol. Esp. 37, 147–155. doi: 10.1016/j.acuroe.2012.06.006.

58--Parish, A., and Holliday, K. (2012). Long-term care acquired urinary tract infections' antibiotic resistance patterns and empiric therapy: a pilot study. Geriatr. Nurs. 33, 473–478. doi: 10.1016/j.gerinurse.2012.05.003.

59- **Paterson, D. Bonomo, R. (2005).** Extended-spectrum 3-1actamases: a clinical update.

Clinical microbiology reviews. *657-686.*

60- Philippon, A., Arlet, G. (2005). Les B-lactamases chez les bacilles à gram négatif: que de Nouveautés en 15 ans! Antibiotiques 2005; 7: 247-259 Paterson, D. Bonomo, R. (2005). Extended-spectrum 3-1actamases: a clinical update. Clinical microbiology reviews. 657-686.

61- Pavese P ; infection urinaires nosocomiales :Méd Mal Infect ; 2003 ;33 ;266s-274s.

62- Perilli, M., Felici, A., Franceschini, N., De Santis, A. N. N. A. L. I. S. A., Pagani, L., Luzzaro, F., Amicosante, G. (1997). Characterization of a new TEM-derived beta-lactamase produced in a Serratia marcescens strain.*Antimicrobial agents and chemotherapy*, *41*(11), 2374-2382.

63- Petty, N. K., Ben Zakour, N. L., Stanton-Cook, M., Skippington, E., Totsika, M., Forde, B. M., et al. (2014). Global dissemination of a multidrug resistant Escherichia coli clone. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 111, 5694–5699. doi: 10.1073/pnas.1322678111

64- Pratt, L. A., and Kolter, R. (1998). Genetic analysis of Escherichia coli biofilm formation: roles of flagella, motility, chemotaxis and type I pili. Mol. Microbiol. 30, 285–293. doi: 10.1046/j.1365-2958.1998.01061.x

65- Raghu 2016 Epidémiologie de la résistance chez les entérobactéries isolées sur les ECBU réalisés dans un service d'urgence

66- Reigstad, C. S., Hultgren, S. J., and Gordon, J. I. (2007). Functional genomic studies of uropathogenic Escherichia coli and host urothelial cells when intracellular bacterial communities are assembled. J. Biol. Chem. 282, 21259–21267. doi: 10.1074/jbc.M611502200

67- Schwan, W. R. (2011). Regulation of fim genes in uropathogenic Escherichia coli. World J. Clin. Infect. Dis. 1, 17–25. doi: 10.5495/wjcid.v1.i1.17

68- Simpson, B. W., May, J. M., Sherman, D. J., Kahne, D., and Ruiz, N. (2015). Lipopolysaccharide transport to the cell surface: biosynthesis and extraction from the inner membrane. Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. 370, 8. doi: 10.1098/rstb.2015.0029

69- Skaar, E. P. (2010). The battle for iron between bacterial pathogens and their vertebrate hosts. PLoS Pathog. 6:e1000949. doi: 10.1371/journal.ppat.1000949

70- Spaulding, C. N., and Hultgren, S. J. (2016). Adhesive pili in UTI pathogenesis and drug development. Pathogens 5, 18. doi: 10.3390/pathogens5010030

71- Stock, A. M., Robinson, V. L., and Goudreau, P. N. (2000). Twocomponent signal transduction. Annu. Rev. Biochem. 69, 183–215. doi: 10.1146/annurev.biochem.69.1.183

72- Stoesser, N., Sheppard, A. E., Pankhurst, L., De Maio, N., Moore, C. E., Sebra, R., et al. (2016). Evolutionary history of the global emergence of the Escherichia coli epidemic clone ST131. MBio 7, e02162. doi: 10.1128/mBio.02162-15

73- Subashchandrabose, S., Hazen, T. H., Brumbaugh, A. R., Himpsl, S. D., Smith, S. N., Ernst, R. D., et al. (2014). Host-specific induction of Escherichia coli fitness genes during human urinary tract infection. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 111, 18327–18332. doi: 10.1073/pnas.1415959112

74- Tomenius, H., Pernestig, A. K., Jonas, K., Georgellis, D., Mollby, R., Normark, S., et al. (2006). The Escherichia coli BarA-UvrY two-component system is a virulence determinant in the urinary tract. BMC Microbiol. 6:27. doi: 10.1186/1471-2180-6-2

75- Vigil, P. D., Stapleton, A. E., Johnson, J. R., Hooton, T. M., Hodges, A. P., He, Y. Q., et al. (2011). Presence of putative repeat-in-toxin gene tosA in Escherichia coli predicts successful colonization of the urinary tract. MBio 2, 10. doi: 10.1128/mBio.00066-11

76- Werneburg, G. T., Henderson, N. S., Portnoy, E. B., Sarowar, S., Hultgren, S. J., Li, H. L., et al. (2015). The pilus usher controls protein interactions via domain masking and is functional as an oligomer. Nat. Struct. Mol. Biol. 22, 540–546. doi: 10.1038/nsmb.3044

77- Wright, K. J., Seed, P. C., and Hultgren, S. J. (2005). Uropathogenic Escherichia coli flagella aid in efficient urinary tract colonization. Infect. Immun. 73, 7657–7668. doi: 10.1128/IAI.73.11.7657-7668.2005

78- Wiles, T. J., Kulesus, R. R., and Mulvey, M. A. (2008). Origins and virulence mechanisms of uropathogenic Escherichia coli. Exp. Mol. Pathol. 85, 11–19. doi: 10.1016/j.yexmp.2008.03.007

79- Wurpel, D. J., Moriel, D. G., Totsika, M., Easton, D. M., and Schembri, M. A. (2015). Comparative analysis of the uropathogenic Escherichia coli surface proteome by tandem mass-spectrometry of artificially induced outer membrane vesicles. J. Proteomics 115, 93–106. doi: 10.1016/j.jprot.2014.12.005

80- Zahlane.,Zougarhi, L .,Soraa, N.,Haouach, K., Admou, B., Arsalane, L.,Chabaa L(2009).Épidémiologie et résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées d'infections urinaires à l'hôpital universitaire Ibn Tofail de Marrakech

81- Zhang, G., Meredith, T. C., and Kahne, D. (2013). On the essentiality of lipopolysaccharide to Gram-negative bacteria. Curr. Opin. Microbiol. 16, 779–785. doi: 10.1016/j.mib.2013.09.007

82- Zahir, H., Draiss, G., Rada, N., Abourrahouat, A., Ait sab Imane, Et all Écologie microbienne et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées d'infections urinaires chez l'enfant au Maroc. Revue Francophone Des Laboratoires, 2019(511), 65–70.

83. VEYSSIERE, Anaïs, Jennifer 2019 à Bordeaux LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES LES PLUS COMMUNEMENT RENCONTREES DANS LES INFECTIONS COMMUNAUTAIRES Etat des lieux en 2019

84. D.MOHAMMEDI Classification et mode d'action des antibiotiques

85. les antibiotique esi ue 2.11 s3 Dr**. V.Caveriviere**

86. Conférence de Consensus co-organisée par la SPILF et l'AFU Infections urinaires nosocomiales de l'adulte – Mercredi 27 novembre 2002

87.Vanessa Latini Keller, Noëlle Junod Perron, Jean-Daniel Graf, Catherine StoermannChopard Analyse d'urines : l'ABC du praticien Rev Med Suisse 2009;5:1870-1875 .Articles thématiques : médecine ambulatoire

88.Site de MICROBILOGIE CLINIQUE

89.Standarisation for antimicrobial sucsubltilly testing . Twentyfirst . Internationalsupplement CLSI M100s-24 vol 34 n°1 2014

90.World Health Organisation(OMS). Antimicrobial resistance: Global Report on Surveillance 2014: WHO Geneva; 2014. Google Scholar .

91.Zafindrasoa Domoina Rakotovao-Ravahatr1, Fidiniaina Mamy Randriatsarafara, Saïda Rasoanandrasana, Léa Raverohanta, Andriamiadana Luc Rakotovao. Phénotypes de résistance des souches d'Escherichia coliresponsables d'infection urinaire au laboratoire du Centre Hospitalo-Universitaire de Befelatanana Antananarivo. Pan African Medical Journal.2017.

ANNEXE

Annexe 1 :

Milieu	Composition (gramme par litre)
Gélose nutritive (GN)	Extrait de viande 1 g Extrait de levure 2 g Peptone 5g Chlorure de sodium 5g Agar 12g pH 7,0
Gélose Hektoen	Protéose-Peptone 12,0 g Extrait de levure 3,0 g Désoxycholate de sodium 9,0 g Lactose 12,0 g Saccharose 12,0 g Salicine 2,0 g Bleu de bromothymol 65 mg Fuchsine acide 100 mg Thiosulfate de sodium 5,0 g Citrate ferrique ammoniacal 1,5 g Chlorure de sodium 5,0 g Agar 15,0 g pH = 7,5
Gélose Mueller-Hinton (MH)	Hydrolysat acide de caséine (peptone) 17,5 g Extrait de viande 2,0 g Amidon1, 5 g Calcium 20 à 25 mg Magnésium 10 à 12,5 mg Agar 15,0 g pH = 7,4 +/- 0,2
Milieu tri-sugar-iron (TSI)	Extrait autolytique de levure 3,0 g Extrait de viande 3,0 g Peptone 20,0 g Chlorure de sodium .....5,0 g Lactose10, 0 g Saccharose 10,0 g Glucose 1,0 g Thiosulfate de sodium 0,3 g Citrate de fer (III) 0,3 g Rouge de phénol 24,0 mg Agar agar bactériologique9, 0 g
ChromAgar	Peptone 8.0 Sodium chloride 5.0 Sodium deoxycholate 1.0 Chromogenic mix 1.5 Polypropylene glycol 10.5 Agar 15.0

Annexe 2 :

Antibiotique	Abréviation	Charge en µg
Céfotaxime	CTX	30
Céfazolin	KZ	30
Aoxicillin-acide clavulanique	AMC	30
Ampicillin	AM	10
Toboramycine	TOB	10
Acide Nalidixic	NA	30
Ciprofloxacine	CIP	5
Amikacine	AK	30
Triméthoprime + Sulfaméthoxazole	STX	
Céfoxitine	CX	30
Fosfomycine	FO	200
Gentamycine	GEN	10
Céfuroxime	CXM	30

Annexe 3 :

Table de lecture 1* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour ***Entérobactéries.***

Antibiotiques testés	Charge des Disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ampicilline	10µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	≥ 32	16	≤ 8	La réponse à l'ampicilline est valable pour l'amoxicilline
Amoxicilline +Ac. clavulanique	20/10µg	≤ 13	14 – 17	≥ 18	≥ 32/16	16/8	≤ 8/4	Les breakpoints des céphalosporines et de l'aztréonam ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques. Ainsi, l'application de ces breakpoints dépend du respect de posologies précises : céfazoline (2g toutes les 8h), céfoxitine (2g toutes les 6h), céfotaxime (1g toutes les 8h).
Céfazoline	30µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 8	4	≤ 2	
Céfalotine	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	Suite à la révision des breakpoints des céphalosporines, la lecture interprétative anciennement basée sur la détection ou non d'une BLSE, n'est plus nécessaire. La réponse R, I ou S se fait en se référant aux seuls diamètres mesurés.
Cefoxitine	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	A souligner cependant que la détection phénotypique de la BLSE garde tout son intérêt dans les études épidémiologiques et en hygiène hospitalière. (voir chapitre recherches complémentaires).
Céfotaxime	30µg	≤ 22	23 – 25	≥ 26	≥ 4	2	≤ 1	Pour prédire les résultats des céphalosporines orales quand elles sont utilisées pour le traitement des infections non compliquées du tractus urinaire, le test de la céfazoline est préféré à celui de la céphalotine.
Céfazoline (Infections non compliquées du tractus urinaire)	30µg	≤ 14	-----	≥ 15	≥ 32	-----	≤ 16	Les résultats de la céfazoline permettent de prédire les résultats pour les céphalosporines orales : céfaclor, cèfdinir, cèfpodoxime, céfprozil, céfuroxime axétil, céphalexine et loracarbef quand elles sont utilisées pour le traitement des infections non compliquées du tractus urinare dues à *E. coli*, *K. pneumoniae* et *P. mirabilis*. Cèfpodoxime, céfdinir et céfuroxime axétil peuvent être testés individuellement car certaines souches peuvent être sensibles à ces antibiotiques alors qu'elles sont résistantes à la céfazoline.
Céftazidime	30µg	≤ 17	18 – 20	≥ 21	≥ 16	8	≤ 4	Les critères d'interprétation sont basés sur la posologie de 1 g toutes les 8h.
Aztréonam	30µg	≤ 17	18 – 20	≥ 21	≥ 16	8	≤ 4	Les critères d'interprétation sont basés sur la posologie de 1g toutes les 8h.
Imipénème	10µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1	Les breakpoints des carbapénèmes ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques. L'application de ces breakpoints dépend du respect des posologies suivantes : Imipénème : 500 mg toutes les 6h ou 1 g toutes les 8h, Ertapénème : 1g toutes les 24h.
Ertapénème	10µg	≤ 18	19 - 21	≥ 22	≥ 2	1	≤ 0,5	La détection phénotypique d'une carbapénémase par le test MHT est réservée aux études épidémiologiques (voir chapitre recherches complémentaires).
Amikacine	30µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16	
Gentamicine	10µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Acide nalidixique	30µg	≤ 13	14 – 18	≥ 19	≥ 32	---	≤ 16	La sensibilité diminuée aux fluoroquinolones est détectée chez les salmonelles isolées d'infections extra-intestinales en testant l'acide nalidixique à l'antibiogramme.
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16 – 20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1	Valable pour entérobactéries autres que *Salmonella* Typhi et *Salmonella* spp. extra-intestinales.
Chloramphénicol	30µg	≤ 12	13 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	Ne pas reporter en routine pour les souches isolées d'ITU sauf pour les salmonelles. Valable pour *S.*Typhi et *Salmonella* spp. extra-intestinales.
Colistine**	CMI	-------	--------	--------	>2	------	≤2	
Furanes	300µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 128	64	≤ 32	
Fosfomycine	200µg	≤ 12	13 – 15	≥ 16	≥ 256	128	≤ 64	Indiqué uniquement pour les souches d'E.coli isolées d'infections urinaires. Le disque de 200µg contient 50µg de glucose-6-phosphate. La CMI est déterminée par la technique de dilution en gélose supplémentée de 25µg/ml de glucose 6-phosphate.

Annexe 4 : Antibiotiques testés par famille

Familles	Les antibiotiques testés
Bêta-lactamine	Amoxicilline/Ampicilline (AM) Amoxicilline + AC .Clavulanique (AMC) Céfotaxime (CTX) Céfazolline (CZ) / (KZ) Céfuroxime (CXM) Céfoxitine (FOX).
Aminosides	Gentamycine (GEN) /(CN) Amikacine (AK) Tobramycine (TOB)
Quinolones	Ciprofloxacine (CIP) Acide Nalidixique (NA)
Sulfamides et associes	Trimétgoprme + Sulfaméthoxazole (SXT)
Cyclines	Tétracycline (TE)
Autres	Fosfomycine (FO)

Annexe 5 :

FOX : Céfoxitine ; **AK** : Amikacine ; **KZ** : Céfazoline ; **AMC** : Amoxicilline + AC clavulanique ; **AM** : Ampicilline ; **CTX** : Céfotaxime **; CIP** : Ciprofloxacine ; **NA** : Acide Nalidixique ; **GEN** : Gentamycine ; **TOB** : Tobramycine ; **FO** : Fosfomycine ; **CXM** : Céfuroxime ; **SXT**:Triméthoprime + sulfaméthoxazole ; **TE** : Tétracycline