REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHECHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de Master

En Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème :

Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de β-lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées à l'hôpital de Médéa

Présenté par :

-Moghrani Hanane -Aouissi Meriem

Soutenu le 19/06/2018 devant le jury composé de :

– Salem S.	MAB	Présidente	UYF-Médéa
– Djenane Z.	MCB	Examinatrice	UYF-Médéa
– Chami B.	MAA	Examinateur	UYF-Médéa
– Achek R.	MAA	Promoteur	UYF-Médéa
– Rahal M.	MAA	Co-promoteur	UYF-Médéa
– Mokhtari .M	Médecin	Co-promoteur	EPH Médéa

2017-2018



Dédicaces

Je dédie ce travail :

A mon père

Qui m'a permis de réaliser et de réussir mes études, et

Sans qui tout cela n'aurait pas été possible

Merci pour vos conseil, et vos encouragements, je vous en

Serai pour toujours reconnaissante.

A ma mère

Source d'amour, de tendresse et de bienêtre, à la lumière

De mon existence.

A ma grand mére

A mes très cher frères :

Abd Kader, Abd nour, Saïd

A mes très chères sœurs :

Hayat, Souad, Hamida, Houria

Les enfants de ma soeur :

Ahmed, Malak, Nardjes, Serine, Adam

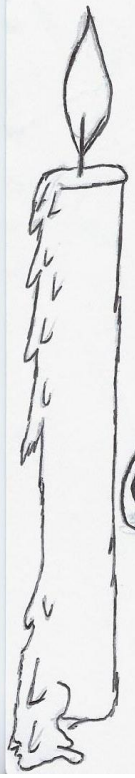
A mes amies

Iman, Hanane, Saliha, Sihem, Fairouze, Dahbiya, Zineb , Loubna

A mon binôme HANANE source de l'amitié, Merci pour tous ces bons moments passés avec toi

Merci pour tous nos fous rires, pour nos folles soirées,

pour tous au long de ces cinq derniéres années.



MERIEM

Dédicace

Je dédie ce travail :

A mon père

Qui m'a permis de réaliser et de réussir mes études, et

Sans qui tout cela n'aurait pas été possible

Merci pour vos conseil, et vos encouragements, je vous en

Serai pour toujours reconnaissante.

A ma mère

Source d'amour, de tendresse et de bienêtre, à la lumière

De mon existence.

A ma grand mére

A mes très cher frères :

Abd Kader, Abd nour, Saïd

A mes très chères sœurs :

Hayat, Souad, Hamida, Houria

Les enfants de ma soeur :

Ahmed, Malak, Nardjes, Serine, Adam

A mes amies

Iman, Hanane, Saliha, Sihem, Fairouze, Dahbiya, Zineb , Loubna

A mon binôme HANANE source de l'amitié, Merci pour tous ces bons moments passés avec toi

Merci pour tous nos fous rires, pour nos folles soirées,

pour tous au long de ces cinq derniéres années.

MERIEM

Dédicace

*On remercie **Allah** le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.*

** Je dédie ce travail … **

A mon très cher père Abdelkader

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge d'adulte.

Puisse dieu te garder et te procurer santé et longue vie.

A ma mère

Ma douce et tendre maman. Quoique je fasse, je ne pourrais te rendre ce que tu as fait pour moi. Si je suis arrivée là, c'est bien grâce à toi. Que dieu te donne longue vie et te protège

A la mémoire de ma grand-mère, qu'Allah garde son âme dans son vaste paradis

A mes très chèrs frères et sœurs

En témoignage de mon profond attachement, je vous souhaite une vie pleine de bonheur, santé et réussite.

A mes très chères tantes

Avec mon grand amour et toute ma tendresse, je vous souhaite un avenir plein de joie, de réussite et surtout de santé.

A ma jumelle et ma chère binôme AOUISSI MERIEM

A mes chères amies

Au souvenir des moments qu'on a passé ensemble.

Vous m'avez offert ce qu'il y a de plus cher : l'amitié.

Je vous souhaite beaucoup de succès, de réussite et de bonheur.

Enfin, à toutes les personnes qui m'ont aidée de près ou de loin a la réalisation de ce travail.

HANANE

REMERCIEMENTS

*En premier lieu nous tenons à remercier **Allah**, le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience de mener à terminer ce travail*

Ce mémoire n'aurait pas pu être réalisé sans la contribution de nombreuses personnes que nous tenons à remercier par ces quelques lignes.

A Mme. SALEM F.
Qui m'a fait l'honneur d'accepter de présider le jury d'évaluation de cette thèse. Merci pour sa disponibilité et son écoute.

A Mr CHAMI B.
Qui m'ont fait l'honneur d'accepter d'examiner et d'évaluer ce travail, Nos plus sincères remerciements

A DJENANE Z.
Pour avoir fait l'honneur d'examiner ce travail
Pour l'intérêt qu'elle a accordé au sujet et pour ses encouragements
Remerciements distingués

Nous tenons à remercier vivement notre encadreur Monsieur ACHEK R. Maître Assistant à l'Université de Médéa qui a fourni des efforts énormes, par ses informations ses conseils et ses encouragements.

A Mr RAHAL M.
Soit vivement remerciée pour avoir accepté de co-encadrer ce travail.
Remerciements et hommages respectueux

Nos remerciements les plus sincères s'adressent en particulier au Docteur Mokhtari médecin épidémiologiste à l'hôpital de Médéa, ainsi qu'à tout le personnel de laboratoire de bactériologie , en particulier Madame Ben Naceur et Madame Boutrif pour toutes les données fournies, pour leur accueil chaleureux et pour leur disponibilité.

Enfin nous remercierons chacune des personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

HANANE ET MEREIM

Liste des abréviations

° C	Degré Celsius
%	Pourcentage
AMP	Ampicilline
AMC	Amoxicilline + Acide Clavulanique
A RN	Acide ribonucléique
AFU	l'Association Française d'Urologie
API	Appareillage et Procédé d'Identification
ATM	Aztréonam
AK	Amikacine
ADN	Acide Désoxyribonucléique
BLSE	β-lactamases à spectre étendu
BMR	Bactéries multi résistantes
BU	Bandelette urinaire
BGN	Bacilles à Gram négatif
C3G	Céphalosporines de troisième génération
CAZ	Ceftazidine
CIP	Ciprofloxacine
COL	Colistine
CZ	Cefazoline
CTX	Céfotaxime
DO	Densité Optique
E P H	Etablissement populaire hospitalier
ECBU	Examen cytobactériologique des urines
ESBL	Entérobactéries productrice de BLSE
FO	Fosfomycine
FOX	Cefoxitine

GM	Gentamycine
GN	Gélose nutritive
KPC	Klebsiella pneumonie producteur de carbapénémase,
IVU˙	Infections des voies urinaires.
IU	Infections urinaires.
IM	Intra musculaire
IV	Intra veineuse
I	Intermédiaire
IPM	Imipenème
IST	Infections sexuellement transmissibles
MF	l'échelle Mac Farland
MI,	Médecine Interne
NET	Nétilmicine
OMS	Organisation Mondial de Santé.
pH	Potentiel hydrogène
PO	Per os
PLP	protéines liant les pénicillines
PIP	Pipéracilline
PRSA	Staphylocoque aureus résistant à la pénicilline,
R	Résistant
SXT	Cotrimoxazole
SAMR	Staphylocoque aureus résistant à la méthicilline
SPILF	Société de pathologie infectieuse de langue française
S	Sensible
TCC	Ticarcilline + ac.clavulanique
TM	Tobramycine
µL	microlitre
UFC	Unité Formant Colonie

VRE	Entérocoque résistant à la vancomycine
VRSA	Staphylocoque aureus résistant à la vancomycine,
CTX-M	Céfotaxime-Munich
TEM	Temoneira
SHV	Sulfhydryle
NDM-1 :	New-Delhi mettallo-beta-lactamase.

Liste des Tableaux

N°	Titre	P
01	Indications cliniques de L'antibiothérapie d'infections unitaires.	**18**
02	Les caractères d'identification biochimiques des genres les plus fréquemment rencontrés.	**20**
03	Motif d'hospitalisation chez les malades	**45**
04	Répartition de l'infection urinaire selon les services d'hospitalisation	**48**
05	Répartition de l'infection urinaire selon les Facteurs de risques	**49**
06	Répartition de l'infection urinaire selon la durée d'hospitalisation	**50**
07	Répartition globale des germes trouvés	**53**
08	Répartition globale de l'antibiorésistance d'A.baumanni ; d'E. coli et de K. pneumonie	**55**
09	Répartition globale des souches BLSE	**56**
10	Profil de l'antibiorésistance des principaux germes trouvés ; E. coli, KPN et Acenitobacter baumani	**58**

Liste des Figures :

N	Titre	P
01	Système Urinaire chez l'homme et la femme.	**04**
02	Appareil urinaire de la femme.	**04**
03	Appareil Génito-urinaire de l'homme	**04**
04	Mécanisme d'action des antibiotiques	**22**
05	Evolution de la découverte des antibiotiques et de l'emergence des résistance aux antibiotiques	**24**
06	Structure simplifies des divers B-lactamines	**28**
07	Souche de Klebsiella pneumoniae productrice de ß-lactamase à spectre élargie	**34**
08	Répartition des cas dépistée selon l'âge à l'EPH de Médéa (Avril 2018).	**43**
09	Répartition des cas dépistée selon le sexe à l'EPH de Médéa (Avril 2018)	**44**
10	Répartition des échantillons dépistés selon des services d'hospitalisation	**44**
11	Répartition des échantillons dépistés selon la qualité d'admission à l'EPH de Médéa (Avril 2018)	**44**
12	Répartition des cas dépistés selon la durée d'hospitalisation à l'EPH de Médéa (Avril 2018)	**46**
13	Prévalence de l'infection urinaire selon la qualité d'admission à l'EPH de Médéa (Avril 2018)	**46**
14	Prévalence de l'infection urinaire selon le sexe à l'EPH de Médéa (Avril 2018)	**47**
15	Répartition de l'infection urinaire selon l'Age à l'EPH de Médéa (Avril 2018)	**47**
16	Répartition de l'infection urinaire selon les services d'hospitalisation à l'EPH de Médéa (Avril 2018)	**48**
17	Répartition de l'infection urinaire selon les Facteurs de risques à l'EPH de Médéa (Avril 2018**)**	**49**
18	Répartition de l'infection urinaire selon l es signes clinique à l'EPH de Médéa (Avril 2018)	**51**
19	Répartition de l'infection urinaire selon la cytologie à l'EPH de Médéa (Avril 2018)	**51**
20	Répartition de L'IU selon la culture à l'EPH de Médéa (Avril 2018)	**52**
21	Répartition globale des germes trouvés à l'EPH de Médéa (Avril 2018)	**52**
22	Klebsiella pneumonie (photo personnelle)	**52**
23	l'identification d' *E. coli* (photo personnelle)	**54**

24	Répartition globale de l'antibiorésistance d'A.baumanni ; d'E. Coli et de KPN à l'EPH de Médéa (Avril 2018)	**54**
25	Répartition globale des souches BLSE à l'EPH de Médéa (Avril 2018)	**56**
26	Aspect de l'ATB de la souche *E .coli* BLSE + sur milieu MH (Photo personnelle)	**57**
27	test de conformation de BLSE ou test de double disque de la souche *E .coli* sur milieu MH (photo personnelle)	**57**

Résumé

ملخص

بهدف دراسة الجوانب الوبائية والجرثومية لالتهابات المسالك البولية , وكذلك مقاومة الجراثيم المسؤولة عن عدوى التهابات المسالك البولية على مستوى المؤسسة العمومية الاستشفائية لولاية المدية . أجريت هذه الدراسة في مختبر علم الجراثيم في مستشفى المدية لمدة شهرين (مارس-أبريل 2018).
تم أخذ عينات البول من جميع المرضى في 4 أقسام استشفائية : الطب الداخلي ، وطب الأطفال والأمومة والأمراض المعدية ، وشملت الدراسة أيضا مرافقي المرضى وكذا الطاقم الطبي لكل قسم .

تم إخضاع العينات لفحص البول وقد تم التعرف على البكتيريا المعزولة على أساس اختبار حساسيتها للمضادات الحيوية .

شملت الدراسة 117 شخصا كانوا في عمر الشباب, إذ بلغ متوسط أعمارهم 34.6 سنة, وبلغ معدل انتشار التهابات المسالك البولية لديهم 14% و قد كانت نسبة انتشار العدوى لدى النساء اكبر منها مدى الرجال 15.9% مقابل 7% للرجال.
الجراثيم الرئيسية المعزولة هي : الاشريشيا القولونية 27.78 % تليها الكلابسيلا الرئوية 22.22% ثليها انتيروباكتر 16.66% ثم اسينيتوباكتر 11.11% فالمكورات العنقودية و بروتيوس و الزائفة الزنجارية وكذا بروفيدونسيا بنسبة 5.56 % لكل منهم .
تظهر النتائج زيادة مقاومة البكتيريا المعوية تجاه عائلات مختلفة من المضادات الحيوية ، خاصة BLSE 38.89 % .

هذه النتائج تستجدي ضرورة عقلنة وصف المضادات الحيوية و ذلك بالتوفيق بين العلاج بها و ان يكون الاستخدام على أساس اختبار الحساسية للمضادات الحيوية .

الكلمات المفتاحية : التهابات المسالك البولية , اختبار المضادات الحيوية , مقاومة المضادات الحيوية , المدية BLSE .

Résumé :

Dans le but d'étudier les aspects épidémiologiques et microbiologiques ainsi que la résistance des germes responsables des infections urinaires au niveau de l'établissement populaire hospitalières (EPH) de Médéa

Cette étude a été menée au sein de laboratoire de bactériologie à l'hôpital de Médéa durant une période de deux mois (mars-avril 2018). Les prélèvements urinaires ont été effectué chez tous les malades hospitalisés dans 4 services : médecine interne, pédiatrie, maternité et maladies infectieuses, la population d'étude incluse aussi les gardes malades et le personnel de ces services. Les échantillons sont soumis à l'étude cytobactériologique avec identification et antibiogramme des germes isolés.

La population de l'étude constituée de 117 personnes était pratiquement jeune avec une moyenne d'âge de 34.6 ans. La prévalence des infections urinaires était de 14,5% avec prédominance d'infections urinaires chez le sexe féminin que chez le sexe masculin (15,9 % vs 7 %).

Les principaux germes isolés ont été : *E.coli (*27,78%), *Klebsiella pneumonie* (22,22%), *Entérobacter* spp (16,66%), *Acinitobacter baumannii* (11,11%). Cependant, les *Staphylococcus* spp , *Proteus mirabilis, Psendomonas aeruginosa* et *Providencia* spp ne représentent que de 5,56 % .

Les résultats montent une résistance accrue des entérobactéries vis-à-vis des différentes familles d'antibiotiques, notamment les BLSE 38.89 %.

Ces résultats suggèrent la nécessité de la gestion de la prescription des antibiotiques, tout en adaptant l'antibiothérapie à l'antibiogramme.

Mots-clés : Infection urinaire, Antibiogramme, Antibiorésistance, BLSE, Médéa.

Abstract

In order to study the epidemiological and microbiological aspects as well as the resistance of bacteria responsible for urinary infections at the hospital of Medea, this study was conducted in the bacteriology laboratory at Medea Hospital for a period of two months (March-April 2018).

The urine samples were taken from all hospitalized patients in 4 services: internal medicine, pediatrics, maternity and infectious diseases, the population studied included also the sick wardens and the services staff cited below.

The samples are submitted to the cytobacteriological study with identification and antibiogram of isolates.

The study population (117 people) was almost young with an average age of 34.6 years. The prevalence of urinary tract infections was 14.5% with prevalence of urinary tract infections in females compared to males (15.9% vs 7%).

The main isolated organisms were: *E.coli* (27.78%), *Klebsiella pneumonia* (22.22%), *Enterobacter spp* (16.66%), *Acenitobacter baumannii* (11.11%). However, *Staphylococcus spp., Proteus mirabilis, Psendomonas aerugenosa* and *providencia spp* represent only 5.56%.

The results show increased resistance of enterobacteria towards different antibiotic classes, especially ESBL 38.89%.

These results suggest the need for the management of prescription antibiotics, while adapting the antibiotherapy to the antibiogram.

Keywords: Urinary infection, Antibiogram, antimicrobial resistance, ESBL, Medea .

Sommaire

Sommaire

Dédicaces

Remerciement

Liste des abréviations

Liste de tableaux

Liste des figures

Résumé

Introduction 1

Partie 1 : Etude bibliographique

Chapitre 1 : Les Infections urinaire

I.1. Définitions 3

I.2. Rappel sur l'appareil urinaire 3

I.3. Classification des infections urinaires 5

I. 3.1. Selon la localisation 5

I.3.1.1. La cystite 5

I.3.1.2. L'urétrite 5

I.3.1.3. La pyélonéphrite 5

I. 3.2. Selon la complication 5

I.3.2.1. Infections urinaires simples 5

I.3.2.2. Infections urinaires à risque de complications 6

I.3.2.3. Infection urinaire grave 6

I.3.3. Cystite récidivante 6

I.3.4. Colonisation urinaire / Bactériurie asymptomatique 6

I.3.5. Infection urinaire nosocomiale 6

I.4. Manifestations épidémio-cliniques 7

I.4.1. Infection urinaire symptomatique 7

I. 4.2. Infection urinaire asymptomatique (colonisation urinaire) 7
I.5. Etiologie 7
I.5.1. Les bacilles à Gram négatif (BGN) 7
I.5.2. Les Cocci à Gram Positif 8
I.6.Physiopathologie.....8
I.6.1. Origine de l'infection 8
I.6.1.1. Infection endogène (auto-infection).....8
I.6.1.2. Infection exogène 8
I.6.2 Voies de contamination 9
I.6.2.1.Voie ascendante (péri-urétrale)..... 9
I.6.2.2. Voie descendante hématogène 9
I.6.2.3. Voie lymphatique 9
I.6.3.Facteurs de risque 9
I.6.3.1. Facteurs Intrinsèques.....9
I.6.3.2. Facteurs extrinsèques 10
I.7. Diagnostic..... 11
I.7.1. Diagnostic clinique 11
I.7.2. Diagnostic microbiologique 11
I.7.2.1. Analyses biochimiques 11
I.7.2.2. Examen cytobactériologique des urines (ECBU).....12
I.8. Traitement des infections urinaires 17
I.8.1. Antibiothérapie 17
I.8.2. Phagothérapie 17
Chapitre 2: **Les entérobactéries productrices de beta-lactamase à spectre élargie**.
1. Entérobactéries.....19
1.1. Historique et taxonomie 19
1.2. Définition et caractéristiques 19

1.3. Habitat 20
1.4. Pouvoir pathogéne 21
2. Résistance aux antibiotiques 22
2.1. Définition des antibiotiques 22
2.2. Mode d'action des antibiotiques 22
2.3. Type de résistance aux antibiotiques 22
2.3.1. Résistance naturelle 23
2.3.2. Résistance acquise 24
2.4. Les bactéries multirésistantes 25
2.4.1. Définition 25
2.4.2. Les types de BMR 25
2.5. Les β-lactamines 26
2.5.1. Caractéristiques 26
2.5.2 Mécanisme de résistance aux B-lactamines 28
2.5.2.1. Diminution de la perméabilité 29
2.5.2.2. Système d'efflux 29
2.5.2.3. Modification des PLP 29
2.5.2.4. Production de β-lactamases 30
2.6. Les aminosides 30
2.6.1. Définition et classification 30
2.6.2. Mode d'action 30
2.7. Quinolones 31
2.7.1. Définition 31
2.7.2. Mode d'action 31
2.8. Les Béta-Lactamases.....31
2.8.1 Définition 31
2.8.2. Historique de BLSE.....32

2.8.3. Méthode de détection de BLSE produites par les entérobactéries 33

Partie 2 : Etude expérimentale

Chapitre 1 : Matériel et Méthodes

1. Méthodologie 35
1.1 L'objectif principal 35
1.1.1. Objectifs secondaires 35
1.2. Type d'étude 35
1.3. Lieu d'étude 35
1.4. Période d'étude 35
1.5. La population d'étude 36
1.5.1 .Critères d'inclusion.....36
1.5.2. Critères d'inclusion.....36
1.6. Matériels utilisée 36
1.6.1. Instruments et appareillages 36
1.6.2. Réactifs utilisés 36
1.6.3. Les antibiotiques.....36
1.6.4. Milieux de cultures 36
2. Méthodes 37
2.1. Recueil des donnes 37
2.2. Prélèvements 38
2.2.1. Recueil des urines 38
2.2. 2. Conditions de conservation et de transport de l'urine 38
2.3. Analyses de laboratoire.....39
2.3.1. Analyses biochimiques 39
2.3.2. Examen cytobactériologique des urines (ECBU).....39

2.3.2.1. Examen cytologique.....39

2.3.2.2. Examen bactériologique 39

2.4. Identification 40

2.4.1Coloration de Gram.....40

2.4.2. Test de Catalase.....41

2.4.3. Test d'oxydase 41

2.4.4. La galerie API 20E (Appareillage et Procédé d'Identification).....41

2.4.5. L'Antibiogramme.....42

3. Résultats

3.1. Description de la population.....43

3.1.1. Répartition des échantillons selon l'Age 43

3.1.2. Répartition des échantillons selon le sexe 43

3.1.3. Répartition des échantillons dépistés selon les services d'hospitalisation....44

3.1.4. Répartition des échantillons dépistés selon la qualité d'admission 44

3.1.5. Motif d'hospitalisation chez les malades 45

3.1.6. Répartition des cas dépistés selon la durée d'hospitalisation 46

3.2 .Description de l'infection urinaire..... 46

3. 2.1. Prévalence de l'infection urinaire selon la qualité d'admission.....46

3.2.2. Prévalence de l'infection urinaire selon le sexe 47

3.2.3. Répartition de l'infection urinaire selon l'Age 47

3.2.4. Répartition de l'infection urinaire selon les services d'hospitalisation 48

3.2.5. Répartition de l'infection urinaire selon les Facteurs de risques 49

3. 2.6. Répartition de l'infection urinaire selon la durée d'hospitalisation 50

3 2.7. Répartition de l'infection urinaire selon l es signes clinique 51

3.2.8. Répartition de l'infection urinaire selon la cytologie.....51

3.2.9. Répartition de l'infection urinaire selon la culture 52

3.2.10. Répartition globale des germes trouvés 52

3.2.11. Répartition globale de l'antibiorésistance d'A.baumanni ; d'E. coli et de KPN 54

3.2.11.Distribution globale des souches BLSE.....56

3.2.12. Profil de l'antibiorésistance des principaux germes trouvés ; E. coli, KPN et Acinitobacter baumani.....58

4. Discussion 59

Conclusion.....65

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

Introduction

Les infections des voies urinaires sont parmi les infections bactériennes les plus courantes, affectant 150 millions de personnes chaque année dans le monde. En 2007, aux États-Unis seulement, il a été estimé que 10,5 millions de visites au cabinet pour des symptômes de l'infection urinaire (constituant 0,9% de tous les visites) et 2-3 millions de visites aux urgences (**Flores-Mireles *et al*., 2015).**

Les infections urinaires sont parmi les infections bactériennes les plus fréquentes tant en médecine de ville qu'en milieu hospitalier, de ce fait, les infections urinaires nosocomiales se classent en premier ou en deuxième rang **(Bergogne-Bérézin, 2006).** Ces infections du tractus urinaire sont ainsi responsables d'une part significative de la charge de travail dans beaucoup de laboratoires cliniques de microbiologie **(Brahimi , 2013).**

Décrivant la région méditerranéenne **Amazian** et ses collaborateurs en 2010 ont montré que les infections urinaires étaient les infections les plus fréquentes : elles représentaient 25,9% de l'ensemble des infections nosocomiales contractées et une prévalence de 2.6%. L'importance des sites d'infection en termes de fréquence était néanmoins différente entre les pays ; en Algérie le taux de prévalence des IU est de 1.8 %. **(Amazian *et al* ., 2010)**

L'infection urinaire est définie par la présence de germes et de leucocytes dans les urines, et peut se développer sur un appareil urinaire sain ou pathologique. Elle peut être aiguë ou chronique, simple ou compliquée. Elle atteint les deux sexes et frappent à tout âge **(Meyrier *et al* ., 1985).**

Les bacilles à Gram négatif sont les germes les plus incriminés dans ces infections avec une prédominance des Entérobactéries. D'autres bactéries (cocci Gram positif) peuvent être rencontrées dans le tractus urinaire (**Lecomte, 1990).**

L'antibiorésistance croissante de ces bactéries impliquées dans les IU limite ainsi le choix des antibiotiques. Depuis plus de 20 ans, la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de 3éme génération (C3G) ne cesse d'augmenter et prendre l'ampleur notamment par l'acquisition de β-lactamases à spectre étendu (BLSE). De nombreuses études signalent la progression continue de ce type de résistance à l'échelle mondiale **(Coque *et al*., 2008).**

Les EBLSE représentaient 30.28% des isolats d'entérobactéries en milieux hospitalier, les données retenues étant celles de 12 laboratoires .une stabilité de taux est notée par rapport aux précédentes années **(RSRBA ,2010) .**

A l'EHUO, le pourcentage de souches d'EBLSE, en réanimation adulte, était de 100% pour les bactéries suivantes, à savoir : *Klebsiella spp ; E .coli , P. mirabilis* **(Dali-yahia *et al* .,2010)**

Les infections causées par les souches productrices de BLSE sont associées à une morbidité et une mortalité élevées, à une prolongation de la durée de l'hospitalisation et à une augmentation des coûts d'hospitalisation **(Patterson, 2001; Masterton *et al*., 2003).**

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre problématique qui traite les questions suivantes : Quel est la fréquence des infections urinaires au niveau de l'hôpital de Médéa, quelles sont les bactéries couramment isolées des échantillons des urines chez les malades, quelles sont les circonstances et les facteurs de risques entourant ces infections.

Afin de bien structurer notre démarche pratique, des objectifs principaux et d'autres complémentaires ont été définis visant à introduire puis analyser les diverses données. De la sorte, nous avons été amené à :

1. Evaluation de la fréquence des infections urinaires chez les patients hospitalisés dans différents service au niveau de l'hôpital de Médéa.
2. Isolement et identification de principales bactéries responsables des infections urinaires.
3. Détermination de la sensibilité ou la résistance des bactéries isolées à diverse classes d'antibiotiques.
4. Discuter les principaux facteurs de risque entourant cette problématique des infections urinaires.

Partie 1 : Etude bibliographique

Chapitre1 : les infections urinaires

I L'INFECTION URINAIRE

I.1. Définitions :

Le terme d'infection urinaire (IU) regroupe un ensemble d'entités cliniques dont le dénominateur commun est l'invasion de l'arbre urinaire par des germes pathogènes.

Les infections urinaires sont d'une extrême fréquence. Elles viennent après les infections respiratoires au second rang des motifs de consultation et de prescription d'antibiotiques **(Akpabie et prieur, 2001)** L'infection urinaire correspond à l'agression d'un tissu par un ou plusieurs microorganismes, générant une réponse inflammatoire et des symptômes de nature et d'intensité variable selon le terrain. Biologiquement, elle est définie par la présence significative de bactéries dans l'urine au moins à 10^5 germes/ml d'urine, accompagnée d'une leucocyturie pathologique supérieure ou égale à 10^4 cellule/ml d'urine **(Humbert, 1997).**

I.2. Rappel sur l'appareil urinaire :

L'appareil urinaire contient deux parties **(Rossant *et al*., 2010)** :

- Le haut de l'appareil urinaire qui comprend : les deux reins (production d'urine) et les deux uretères.
- Le bas de l'appareil urinaire qui comprend : la vessie (réservoir des urines), l'urètre (canal situé sous la vessie qui permet l'évacuation des urines), et la prostate (glande située autour de l'urètre) (**figure.1**).

En effet, chez la femme, le méat urinaire est proche de l'anus où sont toujours présentes des bactéries (**figure.2**). Lors de processus d'infections, les bactéries peuvent remonter le long de l'urètre vers la vessie et se proliférer dans l'urine. Un défaut d'hygiène locale peut donc favoriser les IU chez la femme.

L'homme est relativement protégé des IU par la distance qui sépare l'anus de son méat urinaire (**figure.3**), l'orifice situé à l'extrémité du gland (la longueur de l'urètre masculin est en moyenne de 16 cm, alors que celle de l'urètre féminin est de 2 cm) **(Rossant *et al*., 2010).**

L'IU chez l'homme est plus souvent se résultent d'une traduction d'une anomalie au niveau des voies urinaires, en particulier l'existence d'un adénome de la prostate (qui provoque une stase des urines dans la vessie). La forme des uretères et de la vessie prévient le retour de l'urine vers les rein **(Rossant *et al*., 2010).**

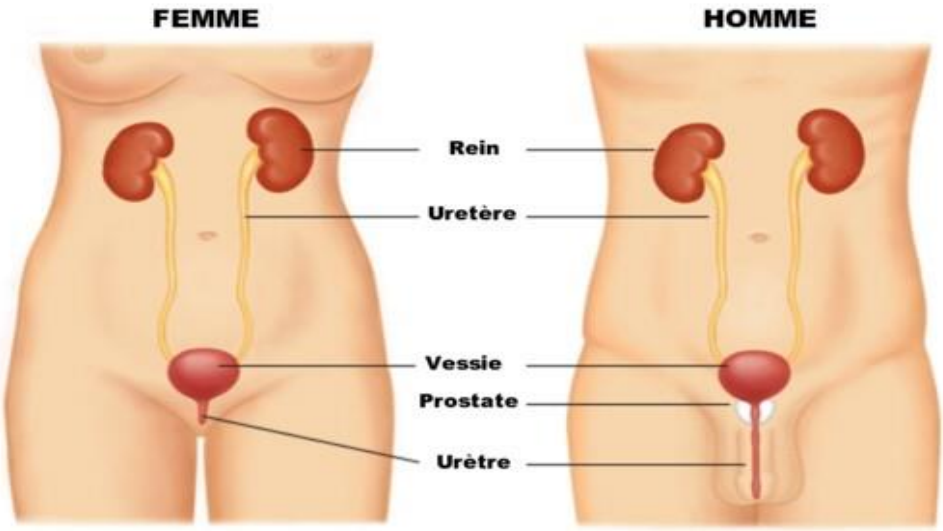


Figure 1 : Système Urinaire chez l'homme et la femme (Anonyme 1)

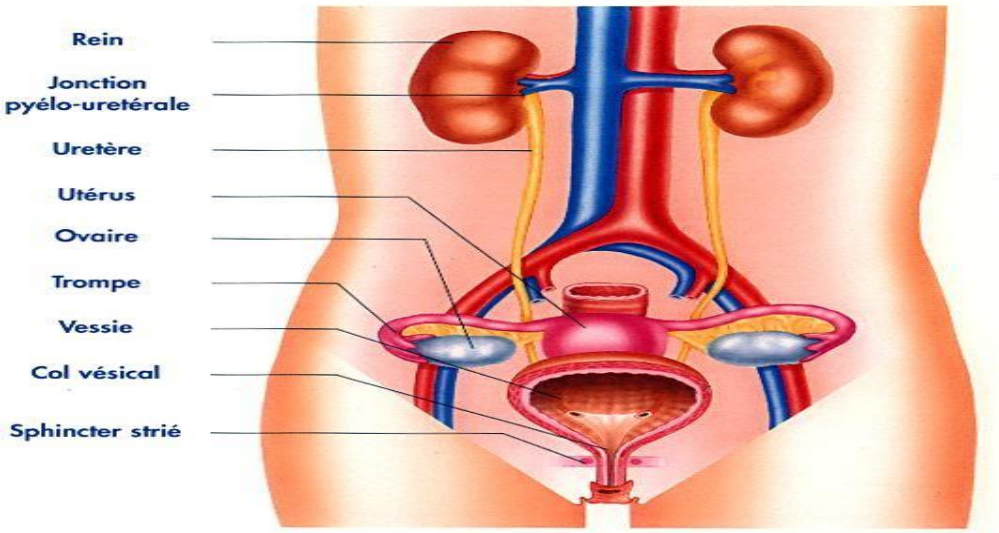


Figure 2 : Appareil urinaire de la femme (Anonyme 2)

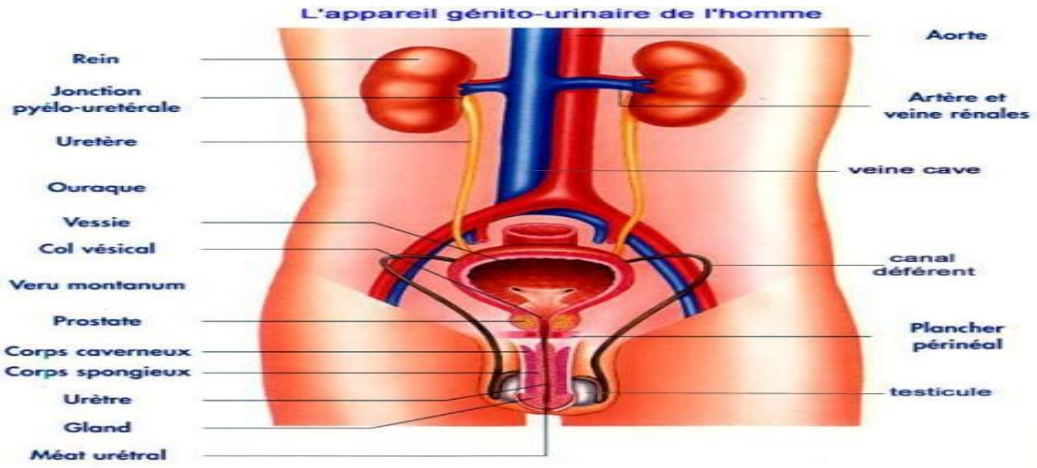


Figure 3 : Appareil Génito-urinaire de l'homme (Anonyme 2)

I.3. Classification des infections urinaires :

I. 3.1. Selon la localisation :

L'infection urinaire peut être localisée dans les voies urinaires basses (cystite, urétrite, épididymite), ou hautes (pyélonéphrite) (**ASNM, 2008).**

I.3.1.1. La cystite :

C'est l'une des formes les plus courantes des infections du bas de l'appareil urinaire. Elle touche presque uniquement les femmes. Il s'agit de l'inflammation de la vessie. La plupart du temps, l'inflammation est provoquée par la prolifération de bactéries intestinales de type *Escherichia coli* **(Guy Albert, 2008)** Mais elle peu être due à d'autres bactéries (*Staphylococcus, Proteus, Klebsiella*…).

En général, les femmes font des cystites, car leur urètre est beaucoup plus court que celui de l'homme, donc les micro-organismes peuvent migrer très rapidement dans la vessie surtout s'il y a une irritation au niveau du méat urinaire **(Perino, 2012).**

I.3.1.2. L'urétrite :

L'urétrite touche uniquement l'urètre. Il s'agit d'une Infection Sexuellement Transmissible (IST) courante chez les hommes, mais les femmes peuvent aussi en souffrir. Différents agents infectieux peuvent causer l'urétrite. Les plus communs sont : chlamydia et le gonocoque (bactérie responsable de la gonorrhée) **(Guy Albert, 2008).**

I.3.1.3. La pyélonéphrite :

La pyélonéphrite est un état plus grave, elle désigne l'inflammation du bassinet et du rein. Celle-ci résulte généralement d'une infection bactérienne. Il peut s'agir d'une complication d'une cystite non traitée ou mal traitée qui permet la prolifération des bactéries de la vessie vers les reins. La pyélonéphrite aiguë est la conséquence d'urines infectées dans le haut de l'appareil urinaire. Ce syndrome est accompagné de frissons avec une hyperthermie supérieure à 38,5°C, de douleurs avec parfois des vomissements et des signes d'atteintes du bas de l'appareil urinaire (type de brûlures) **(Guy Albert , 2008).**

I. 3.2. Selon la complication :

I.3.2.1. Infections urinaires simples :

Les infections urinaires simples sont des infections survenant chez des patients ne présentant pas de facteur de risque de complication. En pratique, elles ne concernent que la femme sans terrain particulier et sans comorbidité (plusieurs troubles associés à

un trouble ou une maladie primaire). Les IU simples comprennent les cystites aiguës simples et les pyélonéphrites aiguës simples (**ASNM, 2008).**

I.3.2.2. Infections urinaires à risque de complications :

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. Ces facteurs de risque de complication sont : les anomalies organiques ou fonctionnelles de l'arbre urinaire, quelle que soient :

- Résidu vésical, reflux, lithiase, tumeur, acte récent…etc.
- Certaines situations pathologiques (diabète, immunodépression, insuffisance rénale,…).
- Certains terrains physiologiques (homme, sujet âgé avec une comorbidité, grossesse…).

Toute infection urinaire survenant chez l'homme est automatiquement considérée comme une IU a risque de complication et gérée comme une prostatite aigue (inflammation de la glande prostatique d'origine bactérienne) (**ANSM, 2008).**

I.3.2.3. Infection urinaire grave :

Qu'elle soit initialement simple ou à risque de complications, une IU peut s'accompagner d'un sepsis grave, d'un choc septique ou d'une indication de drainage chirurgical ou interventionnel (**ASNM, 2008).**

I.3.3. Cystite récidivante Sont qualifiées de récidivantes les cystites qui se répètent avec une fréquence particulièrement élevée (la survenue de 4 épisodes durant une période de 12 mois consécutifs) (**ASNM, 2008).**

I.3.4. Colonisation urinaire / Bactériurie asymptomatique :

La colonisation urinaire correspond à une situation de portage, c'est-à-dire à la mise en évidence d'un micro-organisme, lors d'un prélèvement urinaire correctement réalisé, sans que ce micro-organisme ne génère en soi de manifestations cliniques **(Frédérique et *al*., 2008).** Pendant la grossesse, le seuil retenu pour parler de bactériurie asymptomatique est de 10^5 UFC/ml. En dehors de la grossesse, le terme de colonisation urinaire est préférable à celui de bactériurie asymptomatique et correspond à la même entité sans notion de seuil.

I.3.5. Infection urinaire nosocomiale :

Une IU est dite nosocomiale lorsqu'elle est acquise dans une structure de soins ou d'une manière plus générale reliée à la prise en charge du patient. L'origine des bactéries

nosocomiales est endogène (flore du patient) dans les deux tiers des cas, ou exogène **(Doco-Lecompte, 2008).**

I.4. Manifestations épidémie-cliniques :

Les symptômes classiques d'infection urinaire aiguë inférieure comprennent la dysurie, la fréquence urinaire et la douleur sous-pubienne plus ou moins hématurie **(Bent *et al.*, 2002)**

I.4.1. Infection urinaire symptomatique :

Ce type d'infection survient plus fréquemment chez la femme que chez l'homme. Selon des données épidémiologiques, 40 à 50% des femmes ont au moins une IU au cours de leur existence. Chez la femme, la fréquence augmente avec l'âge, avec deux pics, l'un au début de l'activité sexuelle et l'autre en période post ménopausique. Chez l'homme, la fréquence augmente après 50 ans, en relation notamment avec la pathologie prostatique **(Aries et Dorbane, 2014).**

I. 4.2. Infection urinaire asymptomatique (colonisation urinaire) :

La prévalence de la colonisation urinaire varie en fonction du sexe, de l'âge et de l'existence ou non d'une anomalie urologique sous-jacente. Chez la femme, la prévalence augmente avec l'activité sexuelle et avec l'âge (1 à 5 % chez la femme jeune contre 20 à 50 % après 80 ans). Elle est plus élevée chez les diabétiques (8 à 14 %). Par contre, la grossesse ne semble pas augmenter la fréquence de la colonisation urinaire. Chez l'homme jeune, la colonisation urinaire est exceptionnelle. La prévalence augmente après 6 ans. Dans les deux sexes, la prévalence est plus élevée chez les personnes âgées vivant en institution (15 à 50 % des personnes) **(Aries et Dorbane, 2014).**

I.5. Etiologie :

Les bactéries responsables de l'IU sont presque toujours d'origine digestive. Les microorganismes retrouvés le plus fréquemment chez les patients présentant une infection urinaire sont décrits comme uro-pathogènes **(Hannedouch, 2000)**, ceci inclut :

I.5.1. Les bacilles à Gram négatif (BGN) :

La plupart des IU sont dues à la propagation par voie ascendante des bactéries d'origine intestinale (**Colasson *et al.*, 1981),** d'où la prédominance des Entérobactéries au sein

desquels :

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

Par ailleurs, d'autres BGN, *Pseudomonas aeruginosa* sont responsables des infections urinaires iatrogènes, résultant d'une contamination par des manœuvres instrumentales endo-urinaires (sonde à demeure, urétro-cystoscopie…) **(Colasson *et al.*, 1981).**

I.5.2. Les Cocci à Gram Positif :

Les infections urinaires à Cocci à Gram Positif sont rares, parmi ces bactéries :

- Staphylocoques : *S. saprophyticus, S. haemolyticus, S. epidermidis, S. aureus* ;
- Staphylocoques des groupes D sont rares ;
- Staphylocoques des groupes B **(Colasson *et al.*, 1981).**

I.6. Physiopathologie :

I.6.1. Origine de l'infection :

I.6.1.1. Infection endogène (auto-infection) : sont celles où le malade fait une infection à ses propres germes qui sont souvent d'origine digestive et dont le risque est d'autant plus important lorsqu'il existe une incontinence anale ou une diarrhée, ou au décours d'une procédure invasive de soins (sondage vésical, cathétérisme…), ou en raison d'une fragilité particulière. Ces cas ne peuvent qu'être majorés au cours de l'alitement à l'hôpital du fait de l'immobilisation et de la situation de dépendance du patient **(Aninch et Tanagho, 1991 ; Bruyére *et al.*, 2008 ; Nour, 2004).**

I.6.1.2. Infection exogène : sont celles où le malade fait une infection à partir d'un germe qui lui a été transmis soit par manu-portage (via le personnel de soins ou plus rarement, directement d'un patient à un autre), soit par du matériel ou des instruments mal désinfectés, ou bien par l'environnement hospitalier (eau, air, surface, alimentation…). En réalité, la majorité de ces infections sont évitables **(Aninch et Tanagho, 1991).**

I.6.2.Voies de contamination :

L'arbre urinaire est normalement stérile, à l'exception de la partie distale de l'urètre. Elle contient des germes issus de la flore digestive, de la flore cutanée et de la flore génitale. Les micro-organismes peuvent atteindre l'appareil urinaire essentiellement par voie ascendante, les voies hématogène et lymphatique sont également possibles mais plus rares **(SPILF et AFU, 2002).**

I.6.2.1.Voie ascendante (péri-urétrale) : est la plus fréquente (97% des cas). Elle survient à partir d'une colonisation périnéale par des entérobactéries provenant de la région anale. Par la suite, les urines infectées gagnent le haut appareil à l'occasion d'un reflux vésico-urétral transitoire, secondaire à l'inflammation du trigone vésical. Cette voie de colonisation est plus fréquente chez les femmes que les hommes pour des raisons anatomiques de proximité **(Caron, 2003 ; Pinganaud et Rainfray, 2004 ; Toutou-Sissoko,2006).**

I.6.2.2. Voie descendante hématogène : est moins fréquente, elle survient lors d'une septicémie ou lors d'une bactériémie, surtout chez l'immunodéprimé et le diabétique **(Chartier,2002).**

I.6.2.3. Voie lymphatique : est une voie controversée. Les germes intestinaux traverseraient les anastomoses entre le colon et le rein droit**.** L'IU est le résultat d'une interaction entre la virulence des germes et les moyens de défense qui protègent la muqueuse et l'hôte **(Chartier, 2002).**

I.6.3. Facteurs de risque :

I.6.3.1. Facteurs Intrinsèques :

a. Âge et sexe du patient :

Sexe : l'IU est plus fréquente chez la femme que chez l'homme. En effet, la proximité entre le tube digestif et l'appareil génito-urinaire chez la femme rend le risque relativement plus élevé.

Âge : les patients de plus de 65 ans sont plus exposés au risque d'IU. La vieillesse est ainsi un des facteurs favorisants de l'apparition d'une bactériurie **(Nicolle et Bjornson ., 2002).**

b. Durée d'hospitalisation : La durée du séjour est primordiale dans le risque d'apparition d'une IU. L'hospitalisation entraine une modification de la flore cutanée du patient. L'allongement du séjour préopératoire majore les complications de décubitus et

s'associe souvent à des explorations invasives pour lesquelles les complications septiques sont réelles (**Cruse et Foord, 1980 ; Lobal *et al* ., 2003**).

c. Maladies sous-jacentes et état immunitaire : Le risque est majoré lorsque l'IU survient chez **: (Cox ; 1988).**

- Les patients neutropéniques, immunodéprimés (greffe d'organe, corticothérapie au long cours supérieure à 10 mg/j).
- Les diabétiques, et cela à cause de la glycosurie qui altère l'activité des polynucléaires, la phagocytose et la vidange vésicale, ce qui entraine un déséquilibre favorisant l'infection.
- La femme enceinte
- Les patients ayant une cardiopathie, une insuffisance rénale ou, une hypertension artérielle.
- Les malades souffrant de malnutrition

d. Motif d'hospitalisation : Les IU dans le cadre de la chirurgie urologique, sont des infections du site opératoire. Elles sont directement liées à l'acte chirurgicale chez des patients dont le terrain est favorable à leur développement ou présentant des anomalies. Leurs principaux facteurs de risque sont l'existence d'une anomalie obstructive, (lithiase, tumeurs, diverticules vésicaux) ou d'une anomalie anatomique (reflux vésico-urétéral, autres anomalies congénitales) ou d'une anomalie fonctionnelle (vessie neurologique) **(Gouzit et al., 2002).**

e. L'antibiothérapie et les immunosuppresseurs : Certains traitements tels que l'administration d'immunosuppresseurs ou d'antibiothérapie à large spectre, qui déséquilibrent les flores commensales de barrière des patients et participent à la sélection des bactéries multi- résistantes, favorisent la survenue des infections **(SMS, 2005)**

I.6.3.2. Facteurs extrinsèques :

Les IU surviennent dans la majorité des cas chez les patients sondés ou après cathétérisme des voies urinaires (cystoscopie, chirurgie urologique…). Ces infections sont essentiellement liées à la durée du cathétérisme, à la technique de pose, au type de système de drainage utilisé et à sa mauvaise gestion.

a. Durée du cathétérisme : Plus la durée du cathétérisme est prolongée, plus le risque d'acquisition d'une IU est important.

b. Technique de pose : Il existe deux fois plus de risque de bactériurie quand la sonde est posée par un personnel qui n'est pas spécifiquement formé. La présence de bactéries au niveau du méat urétral lors du sondage multiplie par trois le taux de bactériurie en 48 heures après la pose de la sonde vésicale. Ce phénomène est plus marqué chez l'homme, bien que la colonisation du méat soit significativement plus fréquente chez la femme. Dans 85% des cas, le germe retrouvé dans les urines et sur le méat est le même **(Gouzit *et al*., 2002).**

I.7. Diagnostic :

I.7.1. Diagnostic clinique :

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

I.7.2. Diagnostic microbiologique :

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

- Test de bandelette urinaire (BU).
- Examen cytobactériologique des urines (ECBU)

I.7.2.1. Analyses biochimiques : Test rapide indirect qualitatif par bandelette urinaire :

L'utilisation des bandelettes urinaires permet d'orienter le diagnostic d'infection. Ces bandelettes réactives utilisent des méthodes biochimiques pour déceler la présence de leucocytes, nitrites et/ou de globules rouges dans les urines.

a. Technique :

L'échantillon d'urine contenu dans le tube est correctement homogénéisé (mélangé) en tournant lentement, à plusieurs reprises le tube, puis la bandelette est immergée pendant une seconde (au maximum) dans l'urine en humectant entièrement

toutes les zones réactives. Ensuite, la tranche de la bandelette est égouttée rapidement en le passant sur un papier absorbant afin de supprimer l'excédent d'urine. Enfin, le chronomètre est enclenché. **(Roubaud *et al* ., 2014)**

b. Lecture :

Maintenir la bandelette horizontalement face au tube pour faire la lecture;
- Après 1 minute lire les résultats pour les nitrites, le pH, les protéines et le sang.
- Après 2 minutes lire le résultat pour les leucocytes

La bandelette urinaire sert comme une aide au diagnostic ; sa positivité impose la réalisation systématique d'un ECBU.

I.7.2.2. Examen cytobactériologique des urines (ECBU) :
L'ECBU va permettre d'apprécier de façon quantitative et qualitative la présence d'éléments figurés (leucocyturie, hématurie, cellules épithéliales) et de micro organismes (bactériurie, candidurie). La leucocyturie, la nature des micro-organismes isolés ainsi que le niveau de bactériurie ou de candidurie sont des critères importants dans l'interprétation de l'ECBU **(Cavallo et Garrabé, 2003)**

a. Examen macroscopique :

Une urine normale est jaune et limpide. Les urines sont observées après homogénéisation. La présence ou pas d'un trouble : un trouble correspond souvent à une infection bactérienne mais la présence de nombreux cristaux peut également troubler l'urine. La couleur : une coloration rose ou rouge de l'urine permet de suspecter une hématurie .

b. Examen microscopique :

Leucocyturie :
Elle est considérée comme le témoin d'une atteinte inflammatoire des tissus de l'arbre urinaire **(Cavallo et Garrabé, 2003).**

Parmi les méthodes de mesure la numération en cellule sur une urine non centrifugée et homogénéisée avec quantification des leucocytes par millimètre cube ou par millilitre s'est imposée comme une méthode simple et fiable **(Cavallo et Garrabé, 2003).**

La leucocyturie est mesurée par numération dans un volume donné de l'urine homogénéisée sur cellule de type Malassez, de préférence a usage unique **(REMIC, 2007).**

Le nombre des leucocytes trouvé est rapporté par millilitre des urines. En cas d'infection urinaire, un processus inflammatoire se traduit par la présence de plus de 10^4 leucocytes/ ml, parfois en amas, fréquemment associée à une hématurie supérieure à 10^4 hématies/ml dans environ 30 % des cas. La présence de cylindres doit être signalée **(Janviera *et al*., 2008).**

Bactériurie :

La culture quantitative des urines contribue à définir l'infection urinaire. Les méthodes de culture les plus utilisées comme l'étalement avec une öse calibrée ou la méthode de la lame immergée détectent des bactériuries ou candiduries à partir d'un seuil d'environ 10^2 UFC/ml d'urine. Par la méthode de l' öse calibrée (étalement de 10 µL d'urines), la présence d'une colonie sur la gélose représente environ 10^2 UFC/ml (limites de confiance pour un seuil à 95 % : 0,3 à 5,6 × 10^2 UFC/ml)

La pratique d'une coloration de Gram sur une urine non centrifugée et homogénéisée est hautement recommandée car elle présente plusieurs intérêts :
• Elle permet une orientation diagnostique et éventuellement le choix de milieux de culture et de conditions de culture spécifiques ;
• La présence de micro-organismes au fort grossissement en immersion (× 1000) est bien corrélée avec la présence d'une bactériurie ≥ 10^5 UFC/ml : elle présente une sensibilité et spécificité de 90 % pour un microorganisme par champ et une spécificité de 99 % à partir de cinq micro-organismes par champ. **(Cavallo et Garrabé, 2003).**

c. Mise en culture :

La mise en culture doit répondre à un double objectif : isolement et énumération des espèces bactériennes. C'est la seule méthode qui permet une identification exacte des microorganismes qui colonisent l'urine.
Chaque prélèvement a fait l'objet d'une uroculture sur gélose nutritive (GN) avec

dénombrement des microorganismes (bactériurie) et sur milieu spécifique Hektoen pour les BGN.

Technique d'ensemencement : **Méthode à l'anse calibrée**

C'est une anse métallique calibrée à 10µl, elle est utilisée pour ensemencer les géloses nutritives et sélectives. Une goutte d'urine est prélevée verticalement avec l'anse calibrée et par capillarité est ensemencée par stries sur la boite de gélose : une strie centrale est ensemencée puis perpendiculairement réaliser un isolement de haut en bas de la boite en desserrant légèrement les dernières stries.
Elle consiste à mettre les boites ensemencées dans l'étuve à 37°C pendant 18 à 24h.

Identification :

Cette technique consiste à effectuer des tests biochimiques par une méthode spécifique à chaque famille de microorganisme.

- **Test de Catalase :**

Ce test est à la base utilisé pour l'identification des bactéries à Gram positif. Quelques gouttes d'eau oxygénée sont déposées dans un tube propre, puis à l'aide d'une pipette pasteur, l'inoculum bactérien est rajouté. L'observation du résultat est immédiate (une libération d'oxygène gazeux si le résultat positif).

- **d'oxydase :**

Un disque d'oxydase est introduit dans une suspension épaisse de 0,5 ml d'eau physiologique. Une coloration violette du milieu après 30 à 60 secondes est due à la présence d'une oxydase d'où une réaction positive

- **La galerie API 20E (Appareillage et Procédé d'Identification)** :

Cette galerie a été utilisée, après avoir trouvé des difficultés pour identifier la souche par la galerie classique.

Principe :

Le système API de BioMérieux est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des bactéries. Lorsqu'une suspension bactérienne de densité convenable est répartie dans les différentes alvéoles qui composent la micro galerie (contenant de substrats déshydratés), les métabolites produits durant la période d'incubation se traduisent par des changements de couleur spontanés ou révélés par addition de réactifs. Elle permet

l'identification d'une centaine de bacilles à Gram négatif dont les Entérobactéries. Elle comprend 20 tests biochimiques.

Technique :

- **Préparation de la galerie :**

Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide ;

Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

- **Préparation de l'inoculum :**

  - 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 Mac Farland).

- **Inoculation de la galerie :**

  -Introduire la suspension bactérienne dans chaque tube à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, pointe appuyée à l'intérieur et sur le côté pour éviter la formation de bulles.

- **Incubation** : Incuber la boite 24 heures à 37°C.
- **Interprétation :** 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 du Tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique

L'Antibiogramme

L'antibiogramme est une analyse bactériologique du laboratoire qui permet d'apprécier in vitro la sensibilité ou la résistance de l'agent infectieux à plusieurs antibiotiques. Le procédé consiste à tester l'efficacité de divers antibiotiques sur les colonies obtenues. Il existe de nombreuses méthodes pour réaliser un antibiogramme dont les plus répondus sont : la méthode par diffusion en milieu gélosé et diffusion en milieu liquide (le plus souvent automatisée) **(Squali, 2007).**

- **Antibiogramme par diffusion des disques :**

Milieu pour antibiogramme :

- Il doit être coulé en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm.

-Les géloses doivent être séchées avant l'emploi.

Préparation de l'inoculum :

A partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide

d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Dans le cas de *Streptococcus* spp. Et d*'Haemophilus* spp. Utiliser un écouvillon pour prélever plus facilement les colonies bactériennes.

Bien décharger l'anse ou l'écouvillon dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.

Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 MF ou à une D.O. de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm. L'utilisation d'un densitomètre est fortement souhaitable.

Ensemencement :

-Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.

- L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) 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 faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.
- Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri , il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

Application des disques d'antibiotiques :

Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotique sur une boîte de 90 mm.Pour les bactéries exigeantes (*Streptococcus* spp. *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis, Haemophilus* spp…..), ne pas mettre plus de 4 disques par boîte de 90 mm.

- Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces bactériologiques stériles et ne pas déplacer les disques après application.

La liste des antibiotiques à tester selon la bactérie isolée, figure dans les tableaux n° 1 **(annexe 3)** et n° 2**(annexe 4).**

Conditions d'incubation :

Respecter la température, l'atmosphère et la durée d'incubation recommandées pour chaque bactérie.

Lecture :

Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.

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

Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton au sang, les mesures de diamètres de zones d'inhibition seront prises, boîte de Pétri ouverte et bien éclairée.

Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes.

- Classer la bactérie dans l'une des catégories S, R ou I. **(Rahal *et al.* , 2011)**

I.8. Traitement des infections urinaires:

I.8.1. Antibiothérapie :

L'antibiothérapie est le moyen thérapeutique, pour le traitement d'une infection urinaire en utilisant un ou plusieurs médicaments anti-infectieux, appartenant à la classe des antibiotiques, et dont l'activité s'exerce contre les bactéries à l'origine de cette infection. Après réalisation d'un ECBU, l'antibiothérapie est indispensable. De nombreux antibiotiques ont une excellente diffusion urinaire. Leur pénétration tissulaire est cependant variable. Lorsque la bactérie est normalement sensible, une monothérapie est recommandée (Tableau 01) **(Mal, 1991).**

Il existe deux types d'antibiothérapie: l'antibioprophylaxie et l'antibiothérapie curative. L'antibioprophylaxie ou l'antibiothérapie préventive, n'est qu'une des méthodes à côté de toutes les mesures d'hygiène pour prévenir une infection urinaire. Après confirmation que l'ECBU est positif, un ou plusieurs antibiotiques peuvent êtres prescrits pour la personne malade. L'antibiothérapie curative est réalisée lorsque l'antibioprophylaxie s'avère insuffisante, dans ce cas l'acte chirurgical est nécessaire **(Lobel et stoussy, 2007).**

I.8.2. Phagothérapie :

La phagothérapie est une technique très efficace, qui consiste en l'utilisation de bactériophages préalablement sélectionnés pour traiter divers infection bactériennes. Elle est relativement méconnue dans la médecine occidentale mais très utilisée en Europe **(Geoffry, 2010)**.

En 2011, face à l'augmentation des infections nosocomiales et de la résistance des microorganismes aux antibiotiques habituels, et la carence en nouvelles molécules thérapeutiques, des recherches encouragées par l'OMS ont été entreprise. Les premiers

résultats ont montré que les bactériophages avaient des effets sur les infections urinaires, cette méthode améliore notamment l'action des antibiotiques **(Dublanchet et patey, 2011).** Cette ancienne thérapie, dite phagothérapie, suscite de nouveaux espoirs en tant que traitement complémentaire aux antibiotiques dans certaines infections à bactéries multirésistantes.

Tableau 01 : Indications cliniques de L'antibiothérapie d'infections unitaires. **(Pourrat et Guibert ,1993)**

Type d'infection	**Antibiothérapie**	
Infections urinaires	**1ère intention**	**2éme intention**
Cystite aiguë simple	-Péfloxac(Péflacine monodose) -Fosfomyeine- Trométamol	- Acide pipéimidique -Une céphalosporine de 1ère gêner.
Pyélonéphrite aiguë ou simple	-Une fluoroquinolone orale ou -Une céphalosporine 1ère gêner. IM	-Amoxicillinc + ac. clavulanique (PO) Céphalosporine 3èmc gêner.IM
Cystite compliquée aiguë ou chronique	-Fluoroquinolone ou betalactamines (amoxicilline+ ac. clavulanique)	- Sulfamide + triméthoprime
Pyélonéphrite chronique simple	- Fluoroquinolone	-Sulfamide+ triméthoprime ou bêta-Iactamine
Pyélonéphrite compliqué	-Fluoroquinolones +aminoside - Céphalosporine de 3ème gêner.	-Fluoroquinolone + céphalosporine 3ème gêner.
Prostatite aiguë et chronique	- Fluoroquinolone	- Sulfamide -h triméthoprime

PO. = Per os **IM =** Intra musculaire **IV =** Intra veineuse

Chapitre 2 : entérobactéries productrices de beta-lactamase à spectre élargie

1. Entérobactéries :

1.1. Historique et taxonomie :

Les entérobactéries constituent un grand groupe de bactéries ayant une forte similitude. La création de ce groupe a été proposée par Rahn en 1937 qu'il dénomma enterobacteriaceae et dans lequel il rassembla les genres bactériens déjà décrits (tels que *Escherichia, Salmonella, Klebsiella, Shigella*). Les entérobactéries sont des Eubactéries, appartiennent à la division des Proteobacteria, la classe des Gammaproteobacteria, à l'ordre des Enterobacteriales et à la famille des Enterobacteriaceae. La subdivision des genres et espèces est basée sur la comparaison des caractéristiques physiologiques, biochimiques, antigéniques et génétiques des bactéries. Le séquençage des gènes codant pour l'ARNr 16S et surtout des gènes codant l'ARN polymérase B permet en effet une identification très précise de toutes les espèces **(Joly et Reynaud, 2002).**

1.2. Définition et caractéristiques :

Les entérobactéries constituent une famille bactérienne hétérogène regroupant un grand nombre d'espèces. Au niveau phénotypique, ce sont des bacilles Gram négatif droits ; mobiles par flagelles péritriches, ou immobiles (**Tableau 2**) ; non sporulés ; aérobies facultatifs, produisant de l'acide à partir du glucose ; pas de besoin en sodium, ni de stimulation ; catalase positive ; oxydase négative ; réduisent habituellement les nitrates en nitrite (pas en N2) ; ARNr 16S de gamma-protéobactéries. (**Madigan et Martinko, 2007; Cristain, 2008).**

Les différences entre les nombreux genres et espèces viennent de critères plus précis (Tableau 2), comme la fermentation des différents sucres, la production ou non de sulfure, la production d'indole, la production d'uréase, la présence ou l'absence d'enzymes du métabolisme (désaminases, décarboxylases)…etc**. (Meziani, 2012)**

Leur principale particularité commune est d'être présente dans la flore digestive de l'homme et des animaux à sang chaud. Leur distribution dans la nature est néanmoins plus large, puisqu'on les retrouve notamment chez les végétaux et dans l'environnement (sol et eau). Par leur particularité métabolique, certaines entérobactéries participent au cycle naturel des matières organiques, d'autres peuvent coloniser et dégrader des produits agroalimentaire ou encore provoquer des maladies parfois graves chez l'homme ou chez l'animal (**Cristain , 2008).**

Cette famille présente une grande facilité de culture : les milieux les plus simples (gélose ordinaire) suffisent pour cultiver la plupart des espèces contenant dans cette famille et le substrat énergétique de base (glucose) est également suffisant. La température optimale de développement se situe entre 24 et 37°C (germes mésophiles) (**Cristain , 2008).**

Tableau 2 : Les caractères d'identification biochimiques des genres les plus fréquemment rencontrés.

Caractère / Bactérie	mobilité	lactose	ONPG	mannitol	citrate	Gaz en glucose	H_2S	VP	Nitrate réductase	Nitrite réductase
Salmonella typhimurium	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-
Citrobacter freundii	+	-/+	+	+	+/-	+	+/-	-	+	-
Citrobacter koseri	+	+/-	+	+	+	+	-	-	+	-
Escherichia coli 1	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-
Escherichia coli 2 Alcalescens	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-
Escherichia coli2 Dispar	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-
Shigella sonnei	-	- (+tardif)	+	+	-	-	-	-	+	-
Enterobacter agglomerans	+	+/-	+	+	+	-	-	+	+	-
Enterobacter cloacae	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-
Serratia liquefaciens	+	-/+	+	+	+	-	-	+/-	+	-
Serratia marcescens	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-
Klebsiella oxytoca	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-
Klebsiella pneumoniae	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-
Proteus mirabilis	+	-	-	-	+/-	+	+	-	+	-
Morganella morganii	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-

1.3. Habitat :

Les entérobactéries sont des hôtes normaux du tube digestif de l'homme et de tous les animaux à sang chaud **(Freney *et al.*, 2007).**

Escherichia coli (colibacille) est l'espèce dominante de la flore intestinale aérobie. elle s'est retrouvée également au niveau de diverse muqueuses chez l'homme et chez les animaux **(Livrelli *et al.*, 2007).**

Klebsiella pneumoniae ou pneumo bacille fried lander est une bactérie saprophyte qui est très répandue dans la nature. Elle peut cependant, se trouver à l'état commensal dans le

tube digestif et les cavités naturelles en particuliers les voies respiratoires de l'homme **(Drancourt *et al*., 2007).**

Chez l'homme, *Enterobacter cloacae* est isolé de fèces. Dans la nature, on le rencontre dans les eaux usée, le sol, les aliments et l'environnement hospitalier.

Proteus mirabilis, ce sont des saprophytes de l'intestin dans lequel on ne les trouves normalement qu'en petit nombre. Ces bactéries sont aussi des hôtes normaux des téguments, des voies respiratoires supérieures et des orifices naturels. Ils sont répandus dans la nature, dans le sol, les eaux, notamment les eaux d'égout. Ce sont des pathogènes occasionnels.

Serratia marecescens colonise le système respiratoire, digestif et urinaire des patients. Bien que les germes isolés en milieu hospitalier soient le plus souvent responsables d'une colonisation asymptomatique **(Joly et Reynaud, 2003).**

1.4. Pouvoir pathogéne :

Le pouvoir pathogène des entérobactéries chez l'homme est considérable. Les infections sont soit bien définies et peuvent concerner tous les sujets soit non spécifiques touchant les sujets immunodéprimés, en particulier ceux qui sont hospitalisés. Dans la majorité des cas, l'origine de l'infection est soit endogène à partir des flores bactériennes, soit exogène provenant de milieu extérieur. Les entérobactéries sont responsables de nombreuses infections :

- Les infections communautaires, il s'agit principalement des infections urinaires majoritairement provoquées par E. coli, les intoxications alimentaires provoquées par les Salmonelles, les infections pulmonaires provoquées par *Klebsiella pneumoniae.*
- Les infections nosocomiales, sont fréquentes à type d'infections urinaires, des plaies opératoires, d'infections pulmonaires, de septicémies, ainsi que d'autres localisations. En plus des bactéries déjà citées dans les infections communautaires avec un profil de multi résistance on cite: *Enterobacter* sp, *Serratia* sp **(Avril *et al*., 2000 ; Joly et Reynaud, 2002).**

2. Résistance aux antibiotiques :

2.1. Définition des antibiotiques:

Agents antibactériens synthétiques et/ou semi-synthétiques. Le mot antibiotique fut crée en 1889 par Paul Vuillemin. Un antibiotique est un dérivé produit par le métabolisme de micro-organismes possédant une activité antibactérienne à faible concentration et n'ayant pas de toxicité pour l'hôte. Cette notion a été étendue aux molécules obtenues par hémisynthèse **(Bryskier, 1999)**.

2.2. Mode d'action des antibiotiques:

- Action sur la paroi bactérienne (peptidoglycane) ;
- Action sur la structure de la membrane cytoplasmique bactérienne ;
- Action sur la synthèse protéique bactérienne ;
- Action sur la synthèse de l'ADN de la bactérie ;
- Action sur la synthèse des folates **(Yala *et al.*, 2001)**.

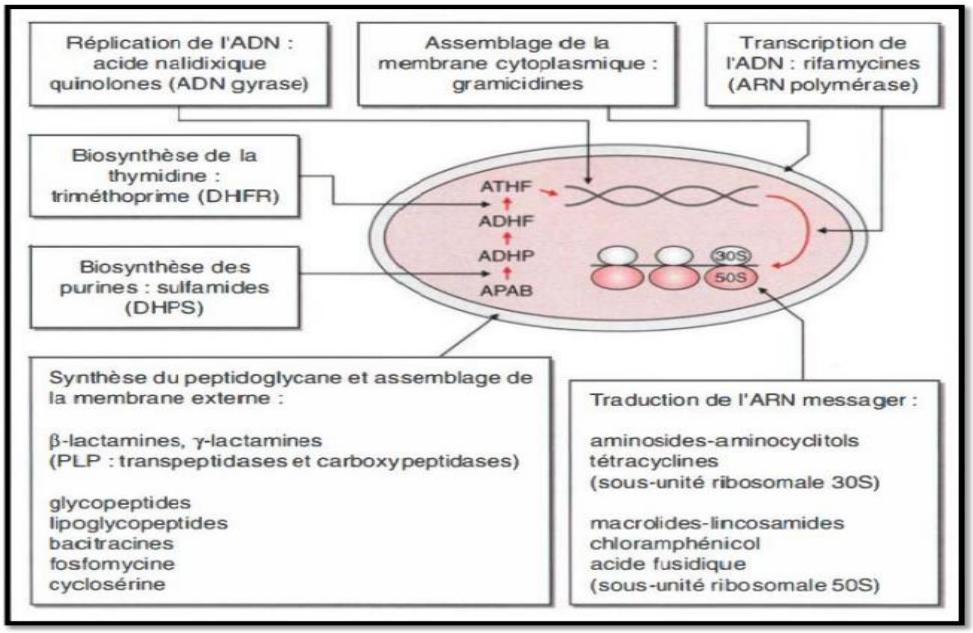


Figure 4: Mécanisme d'action des antibiotiques **(Paul, 1997)**

2.3. Type de résistance aux antibiotiques :

La résistance bactérienne se définit comme la capacité de continuer à croitre ou à survivre en présence de l'antibiotique. Les conditions d'activité d'un antibiotique sont de posséder une cible spécifique, de demeurer sous forme active, d'accéder à la cible et d'interagir efficacement avec elle en la désactivant.

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

La résistance naturelle est programmée sur le génome et constante à l'intérieur du taxon ; elle constitue un critère d'identification stable d'une espèce. Les résistances acquises sont quant à elles consécutives à des modifications de l'équipement génétique **(Diallo, 2013).**

2.3.1. Résistance naturelle :

La résistance naturelle est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce. Ce type de résistance est détecté dès les premières études réalisées afin de déterminer l'activité d'un antibiotique et contribue à définir son spectre antibactérien. Elle peut être due à l'inaccessibilité de la cible pour l'antibiotique qui est une conséquence des différences existant entre les structures pariétales bactériennes, à une faible affinité de la cible pour l'antibiotique, ou encore à l'absence de la cible **(Poyart, 2003).**

La résistance naturelle est stable, transmise à la descendance mais pas ou peu transmissible sur un mode horizontal. La résistance naturelle a pour support génétique le chromosome bactérien **(Sekhri, 2011).**

Ainsi, les membres de la tribu des Proteae sont naturellement résistants aux Nitrofuranes et à la colistine. Concernant la sensibilité aux β-lactamines, les entérobactéries sont classiquement divisées en quatre classes :

- Celles qui ne produisent pas naturellement de β-lactamase comme *Salmonella* et *Proteus mirabilis* ou produisent une céphalosporinase à très bas niveau comme *Escherichia coli* et *Shigella* **(classe 1)** ;
- Celles qui produisent naturellement une pénicillinase comme *Klebsiella*, *Citrobacter diversus*, *Citrobacter amalonaticus* et *Escherichia hermanni* **(classe 2)** ;
- Celles (les plus nombreuses) qui produisent naturellement une céphalosporinase **(classe 3)** ;
- Celles qui produisent à la fois une pénicillinase et une céphalosporinase comme *Yersinia enterocolitica* **(classe 4)**.

D'autres enzymes particulières ne rentrent pas dans cette classification : céfuroximase de *Proteus vulgaris* et *Proteus penneri* ou β-lactamase à spectre étendue (BLSE) chromosomique de *Kluyvera* , *Rahnella* , *Citrobacter sedlakii* et *Erwinia persicina* **(Denis *et al*., 2007).**

2.3.2. Résistance acquise :

Ce terme est utilisé pour désigner le résultat d'un processus permettant à des bactéries d'une espèce originellement sensible de devenir résistante à un ou plusieurs antibiotiques (figure 2) **(Diallo, 2013).**

La résistance bactérienne acquise n'apparaît que chez quelques souches d'une espèce donnée normalement sensible, elle est due à l'emploi en thérapeutique des antibiotiques **(Poyart, 2003).**

Sur le plan génétique, la résistance peut être acquise par deux voies totalement distinctes, soit des mutations affectant des gènes présents sur le chromosome, soit l'acquisition de gènes étrangers. Ces gènes peuvent provenir du chromosome d'espèces différentes ou être véhiculés par des éléments génétiques mobiles pouvant être transférés d'une bactérie à l'autre, on parle alors de transmission **(Galimand *et al.*, 2005).**

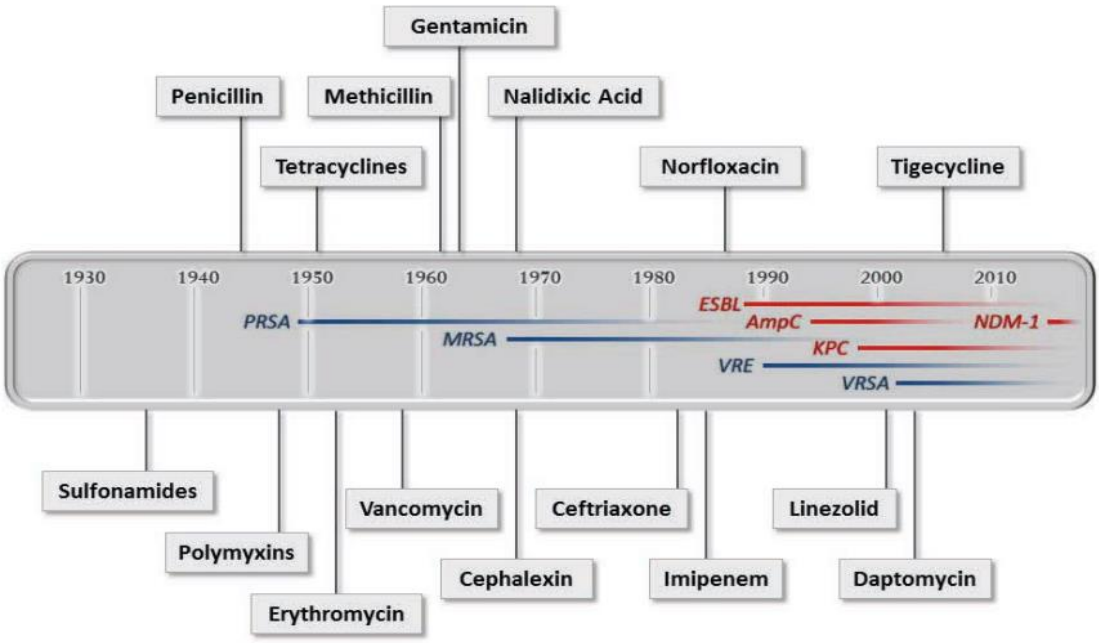


Figure 5 : Evolution de la découverte des antibiotiques et de l'émergence de la résistance aux antibiotiques.

PRSA : *Staphylocoque aureus* résistant à la pénicilline, **MRSA** : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline, **ESBL** : Entérobactéries productrice de BLSE, **VRE** : Enterocoque résistant à la vancomycine, **VRSA** : *Staphylococcus aureus*

résistant à la vancomycine, **KPC** : *Klebsiella pneumonie* producteur de carbapénémase, **NDM-1** :New-Delhi mettallo-beta-lactamase.

2.4. Les bactéries multirésistantes :

2.4.1. Définition

Les bactéries sont dites multi résistantes (BMR) aux antibiotiques lorsque, du fait de l'accumulation des résistances naturelles et acquises, elles ne sont plus sensibles qu'à un nombre restreint d'antibiotiques utilisables en thérapeutique. La multirésistance concerne les bactéries responsables d'infections communautaires à l'exemple des pneumocoques ou les bacilles de la tuberculose et les bactéries responsables d'infections nosocomiales ou associées aux soins. Certaines résistances sont particulièrement importantes à prendre en compte, car elles concernent des espèces bactériennes qui sont à la fois commensales susceptibles de disséminer dans la population générale et à fort potentiel pathogène. C'est le cas des *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM) et des entérobactéries productrices de β-

lactamases à spectre étendu (EBLSE**). (SBMRSF, 2005).**

2.4.2. Les types de BMR

a. Hospitaliers :

SARM : *S. aureus* résistante à la Méthicilline est une des principales espèces responsables d'infection nosocomiale. Le développement incontrôlé des épidémies de SARM et les preuves répétées de leur diffusion clonale justifient à eux seuls la mise en place d'un programme de lutte contre les BMR. Les SARM représentent 5 à 10% des bactéries isolées des infections nosocomiales (IN), il sont résistants à toutes les ß-lactamines et très souvent résistants aux aminosides, aux macrolides et aux fluoroquinolones **(Vincent, 2000).**

-EBLSE : les entérobactéries productrice de beta-lactamase à spectre élargie dans leur ensemble représentent 35 à 40% des bactéries responsables d'IN. Les EBLSE représentent environ 1% des bactéries isolées des IN. La tendance à la diffusion clonale des EBLSE est bien démontrée. Les souches EBLSE principalement *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes* et à un moindre degré *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter sp* sont résistantes à de nombreuses ß-lactamines

(sauf imipénème), et souvent céphamycines pour les espèces qui y sont naturellement sensibles, et très souvent résistantes aussi aux aminosides et aux fluoroquinolones. **(Vincent, 2000)**

-Entérocoque résistante à la vancomycine (ERV) : représentent environ 1% des souches d'entérocoques isolées à l'hôpital. On retrouve principalement :

-*Acinetobacter baumannii* : représentent 2 à 4% des bactéries responsables d'IN, jouent un rôle non négligeable dans certains secteurs hospitaliers (soins intensifs) et sont parfois à l'origine de bouffées épidémiques dans lesquelles la contamination de l'environnement des patients porteurs joue un rôle. Certaines souches épidémiques résistantes à l'imipénème conduisent à des impasses thérapeutiques **(Vincent, 2000).**

-*Pseudomonas aeruginosa* multirésistante : les souches de *P.aeruginosa* résistantes aux ßlactamines (ticarcilline, ceftazidime ou imipénème) ont tendance à être résistantes aussi aux aminosides et aux fluoroquinolones. Dans les hôpitaux concernés, ces souches doivent faire l'objet d'une stratégie spécifique, notamment d'une politique de prescription des antibiotiques, et des mesures de contrôle de l'environnement **(Vincent, 2000).**

Les BMR communautaire sont des bactéries impliquées dans les infections survenant en dehors d'un établissement de santé, par opposition des BMR hospitaliers.

Ces germes sont caractérisés par une probabilité de résistances relativement faibles, les plus fréquentes de ce type de BMR sont les pneumocoques et les bacilles de la tuberculose**(Znazen *et al* ., 2004).**

- *Streptococcus pneumoniae* : est un pathogène majeur, responsable d'infections communautaires à type de pneumonies, de bactériémies, de méningites, d'otites et de sinusites, la pneumocoque a acquis au cours des cinq dernières décennies de nombreuses résistances à : sulfamides ,tétracyclines, érythromycine, pénicilline et chloramphénicol .La résistance du pneumocoque aux ß-lactamines est liée à une modification des protéines de liaison aux pénicillines (PLP). la surveillance de la sensibilité du pneumocoque aux antibiotiques est nécessaire afin d'adapter les recommandations thérapeutiques des infections penumococciques .
- *Bacille de la tuberculose* : Le bacille de la tuberculose peut devenir résistant aux antimicrobiens utilisés pour guérir la maladie, La tuberculose multi résistante (MR) est une tuberculose contre laquelle l'isoniazide et la rifampicine, les 2
- antituberculeux les plus puissants, ne sont pas efficaces, La mauvaise gestion du traitement antituberculeux et la transmission interhumaine expliquent la propagation de la tuberculose multi résistante **(Znazen *et al* ., 2004).**

2.5. Les β-lactamines :

2.5.1. Caractéristiques :

Les β-lactamines constituent la famille d'antibiotique la plus vaste et la plus importante, aussi bien par le nombre que par la diversité des molécules utilisables par leurs indications en thérapeutique et en prophylaxie des infections bactériennes. Cette famille comprend un grand nombre de molécules, toutes caractérisées par une structure de base : le noyau de base est le cycle β-lactame, Les antibiotiques de cette famille sont bactéricides **(Cavallo *et al.*, 2004).**

Elles partagent une structure commune qui comprend de façon constante un cycle β-lactame et, pour la plupart d'entre elles, un second cycle Ainsi, en fonction des cycles et des chaines latérales associées (Figure 2), il existe :

- Les pénicillines également appelées les pénames : les molécules de ce groupe possèdent un cycle thiazolidine accolé au noyau β-lactame. Elles différent par la nature de leur chaine latérale **(Nauciel, 2000).**
- Les céphalosporines : constituées d'un noyau β-lactame associé à un noyau dihydrothiazine **(Yala *et al.*, 2001).**
- Les carbapénèmes : se distinguent des pénicillines par la présence d'un atome ce carbone au lieu d'un soufre en position 1 et une liaison insaturée en C2-C3, également présenté sur les céphalosporinases **(Wolff *et al.*, 2009).**
- Les monobactames : le noyau est limité au cycle β-lactame. Seul l'aztréonam est à l'heur actuelle utilisé en clinique humaine **(Chaabane *et al.*, 2009).**

Les clavames : leur représentant est l'acide clavulanique. Ces molécules sont des inhibiteurs β-lactamases, ayant une structure de pénicilline mais dépourvues d'activité antibiotique significative, ont la propriété de se lier à certaines β-lactamases et de les inhiber de manière irréversible **(Perronne, 1999).**

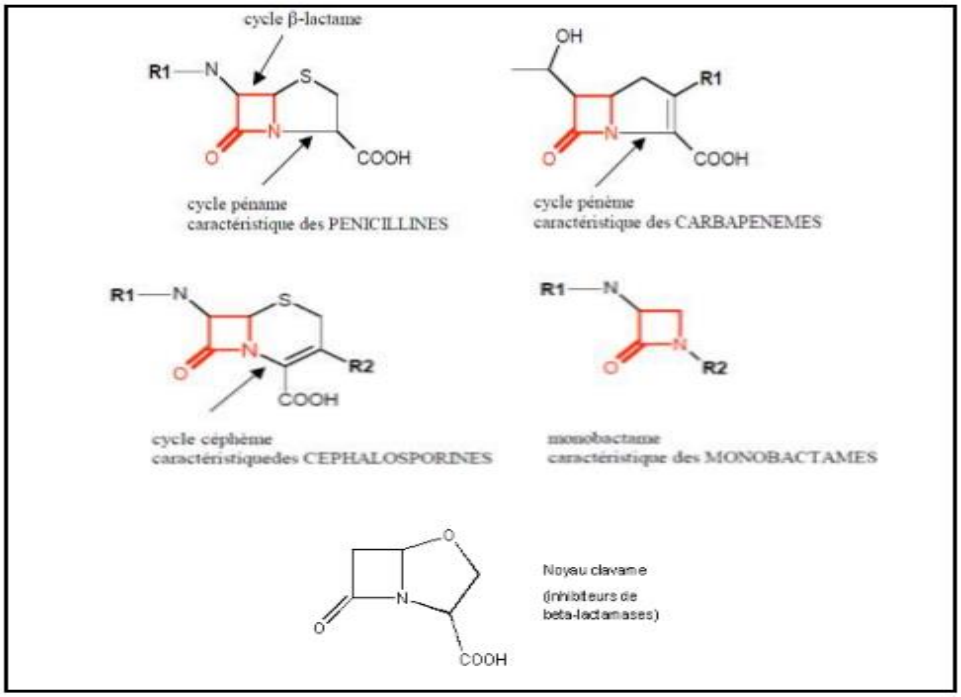


Figure 6 : Structure simplifie des divers B-lactamines **(Charlies *et al*., 1998)**

Les β-lactamines ont un mécanisme d'action identique, elles inhibent la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne en se fixant de façon covalente sur certaines enzymes responsables de la transpeptidation, étape essentielle de la synthèse du peptidoglycane, les empêchant ainsi d'assurer leurs fonctions **(Cavallo *et al*., 2004).**

Ces enzymes sont situées sur la face externe de la membrane interne et sont nommées protéines liant les pénicillines ou PLP **(Fauchère et Avril., 2002).** Les PLP sont présentes En quantité variable (de 3 à plus de 8) selon les espèces bactériennes et présentent des affinités différentes pour chaque famille de β-lactamines **(Fisher *et al*., 2005).**

2.5.2 Mécanisme de résistance aux B-lactamines :

De manière générale, les entérobactéries utilisent différents mécanismes pour développer une résistance aux β-lactamines : il peut s'agir de troubles de perméabilité pour les antibiotiques, ce qui empêche la pénétration de l'antibiotique dans la bactérie, de systèmes d'efflux qui permettent d'évacuer les antibiotiques qui auraient pénétré dans la bactérie, ou de modification de la cible bactérienne de l'antibiotique (exemples : les sites de liaison des pénicillines, les pénicillines binding proteins (PBP) ou les protéines liant les pénicillines (PLPs), ce qui empêche la synthèse de la paroi de la bactérie). Mais le plus fréquemment, il

s'agit d'enzymes détruisant les β-lactamines, les β-lactamases **(Vora et Auckenthaler, 2009).**

2.5.2.1. Diminution de la perméabilité :

La pénétration des β-lactamines, molécules hydrophiles, à travers la membrane externe s'effectue à travers les porines qui sont des canaux protéiques remplis d'eau. Ainsi, la sensibilité aux β-lactamines dépend du nombre de porines fonctionnelles. L'altération des porines par mutation est à l'origine de résistances acquises aux β-lactamines, soit par une modification structurale d'une porine essentielle, ce qui a été décrit chez E. coli, soit par une diminution quantitative des porines, qui est la situation la plus fréquente **(Kumar et Schweizer, 2005).**

Bien que plus rare, La disparition de porine provoque l'augmentation des concentrations minimales inhibitrices de certaines β- lactamines comme cela a été mis en évidence chez certaines entérobactéries (*Enterobacter aerogenes, Klebsiella pneumoniae, Serratia marcescens, Enterobacter cloacae, Salmonella* Typhimurium et *Escherichia coli*) et chez *P. aeruginosa* **(Yoshimura et Nikaido, 1982 ; Nikaido, 2000).**

2.5.2.2. Système d'efflux :

Le système d'efflux actif est efficace grâce aux protéines transmembranaires ancrées dans la membrane plasmique mais également dans la membrane externe des bactéries Gram négatif **(Walsh., 2003).** Des mutations dans les régions régulatrices des opérons des systèmes d'efflux multi-drogues peuvent conduire à une surexpression des systèmes d'efflux constitutifs, associée ou non à une perte des porines, et conférer une multirésistance aux antibiotiques. L'implication des systèmes d'efflux dans la résistance aux β-lactamines a été clairement identifiée dans plusieurs études en particulier chez *K. pneumoniae*. Cependant ce type de mécanisme touchant préférentiellement la céfoxitine et les C2G semble difficile à distinguer du point de vue phénotypique des résistances par modification des porines **(Bialek-Davenet *et al.*, 2011 ; Robin *et al.*, 2012).**

2.5.2.3. Modification des PLP :

La résistance aux β-lactamines, conférée par les PLPs, chez les bactéries à Gram négatif joue un rôle mineur dans la résistance comparativement aux bactéries à Gram positif **(Spratt *et al.*, 1989).** Cette résistance peut avoir lieu par des mutations dans les gènes

chromosomiques codant pour les PLPs ou par l'acquisition de gènes étrangers codant pour des nouveaux PLPs ayant une affinité différente aux β-lactamines **(Georgopapadakou, 1993).**

Chez les entérobactéries, des souches de *Proteus mirabilis* résistantes à l'imipenème et au mécillinam ont été observées suite à une perte d'affinité de la PLP2 et à une diminution de la quantité de PLP1. Cependant, ce type de mécanisme reste très rare chez ce groupe bactérien **(Neuwirth et al., 1995).**

2.5.2.4. Production de β-lactamases:

Chez les entérobactéries, la production de β-lactamases est le mécanisme prédominant de résistance aux β-lactamines **(Livermore, 2003).**

2.6. Les aminosides :

2.6.1. Définition et classification:

Sont des antibiotiques bactéricides de la famille des aminoglycosides, ils comprennent la kanamycine,l'amikacine,la gentamycine, la nétilmycine, la tobramycine **(Bryskier, 1999)**. Ce sont des hétérosides naturels formés par un ou plusieurs glycosides liés à un aminocyclitol **(yala *et al,* 2001)**.

Il existe plusieurs centaines de molécules naturelles et hémi-synthétiques. Elles sont classées par UMEZAWA en 1979 en fonction de la structure chimique centrale en trois classes :

- La Streptamine
- La 2-désoxystreptamine
- La Streptidine **(Bryskier,1999)**

2.6.2. Mode d'action :

Le spectre d'action des aminosides est large, agissant sur les bacilles Gram négatifs aérobies notamment les entérobactéries et sur les bacilles à Gram positif (*Listeria*). Ils sont actifs sur les *Staphylococcus aureus* sécréteurs de pénicillinase, sur les cocci à Gram négatif. Ces antibiotiques sont inactifs sur les streptocoques, pneumocoques, les entérocoques et les anaérobies. Les aminosides perturbent la synthèse des protéines au niveau de la sous-unité 30S des ribosomes des bactéries entrainant la destruction bactérienne **(yala *et al,* 2001)**.

2.7. Quinolones :

2.7.1. Définition:

Les quinolones sont des antibiotiques synthétiques, découvertes en 1962 par Lesher qui a isolé l'acide nalidixique à partir d'une préparation de chloroquine destinée au traitement du paludisme, la fluoration de ces molécules en position 6 a permis d'étendre leur spectre d'activité selon la génération de la molécule à *Pseudomonas aeruginosa*, aux coques à Gram positif, aux bactéries intracellulaires et aux anaérobies **(Meradi *et al*, 2009)**, ces fluoroquinolones, qui sont des quinolones de deuxième génération (norfloxacine, péfloxacine, ciprofloxacine) **(Yala *et al*, 2001)**, sont largement utilisés en médecine humaine et vétérinaire, notamment dans le cas d'infections urinaires et respiratoires **(Meradi *et al*, 2009)**.

2.7.2. Mode d'action:

Les fluoroquinolones ne sont pas actives sur les entérocoques, malgré leur efficacité sur les bactéries à gram négatif, leur utilisation doit être raisonnée afin de contrôler l'émergence de résistances **(Botto, 2002)**. Les fluoroquinolones ont un spectre d'activité élargi, qui recouvre les bactéries à Gram négatif, les cocci à Gram positif dont l'activité est 100 à 1000 fois plus élevée que celles des quinolones de 1ère génération (sauf streptocoques et pneumocoques).

L'ofloxacine et la Ciprofloxacine ont une activité sur *Mycobacterium tuberculosis* **(Yala *et al*, 2001)**.

Les Quinolones inhibent spécifiquement la synthèse d'ADN bactérien en agissant sur les topoisomérases de type II ainsi que la topoisomérase IV. Elles se fixent sur la sous-unité A de la gyrase (cible préférentielle des bactéries à gram négatif) **(Meradi *et al*, 2009).**

2.8. Les Béta-Lactamases :

2.8.1 Définition :

Les β-lactamases ont été identifiées en 1940 par Abraham et Chain, qui ont mis en évidence une enzyme capable d'empêcher l'action de la pénicilline chez E. coli ; ils la nommèrent pénicillinase **(Abraham et Chain, 1940).**

Les β-lactamases sont des enzymes hydrolysant les β-lactamines en ouvrant le cycle bêta-lactame et menant à la perte d'un groupement carboxyle, provoquant l'inactivation de l'antibiotique en question **(Ambler, 1980)**. Ces enzymes sont localisées au niveau de l'espace périplasmique chez les bactéries Gram négatif **(Medeiros, 1984).**

La présence de ce type de mécanisme de résistance au sein de souches pathogènes fait peser un risque majeur d'inadéquation thérapeutique et donc d'échec thérapeutique **(Schwaber et Carmeli, 2007)**, et est également un facteur de diffusion.

2.8.2. Historique de BLSE :

Le premier mécanisme de résistance aux β-lactamines était la production de pénicillinase à spectre étroit après la commercialisation de la pénicilline au début des années 40 . Devant l'émergence de ces enzymes, des céphalosporines à spectre élargie de troisième génération (C3G) ont été développées dans les années 70-80. Cependant, leur utilisation hospitalière intensive a favorisé l'apparition précoce (1983) de nouvelles enzymes capables de les hydrolyser **(Knothe *et al.*, 1983)**. Ces enzymes, du fait de l'élargissement de leur activité, sont appelées B-lactamases à spectre étendu (BLSE) . La première BLSE décrite en 1993 en Allemagne était isolée en milieu hospitalier **(Anderson *et al.*, 2006 ; Kim *et al.*, 2002)** Ces BLSE principalement produites par les *Klebsiella* spp et les *Enterobacter* spp étaient associes à de nombreuses épidémies hospitalières notamment en réanimation. **(Lautenbach *et al.*, 2001).** Les BLSE les plus fréquentes étaient de type Temoneira (TEM) ou Sulfhydryl (SHV) . En 1989, un nouveau type de BLSE capable d'hydrolyser le céfotaxime a été isolé chez un enfant de 4 mois à Munich d'ou sa désignation CTX-M (CTX Pour céfotaxime et M pour Munich).

L'émergence des CTX-M a apporté des changements majeurs dans l'épidémiologie des BLSE. En effet, à l'inverse des BLSE classique de type TEM ou SHV issues de mutations génétiques des pénicillinases, les BLSE de type CTX-M dérivent des gènes chromosomiques naturellement présents chez les bactéries du genre *kluyvera* provenant de l'environnement et ont été transférés par l'intermédiaire d'un plasmide à une souche adaptée à l'homme, l'*E.coli.* **(Anderson *et al.*, 2006 ;Schwaber *et al.*, 2006).** Les BLSE initialement produites par des espèces responsables d'épidémies hospitalières, sont aujourd'hui majoritairement produites par les *E.coli*, principale espèce d'entérobactéries présente dans le microbiote intestinale de l'homme. **(Nordmann *et al.*, 2011).** Dés les années 2000, le CTX-M est devenu le type dominant chez les entérobactéries BLSE et est en pleine expansion dans plusieurs pays dans le monde (**Lautenbach *et al.*, 2001 ; Anderson *et al.*, 2006 ;Young, 2008)**.

Les plasmides, éléments génétiques mobiles, ont joué un rôle central dans la dissémination des souches productrices de BLSE qui sont désormais aussi bien retrouvées en milieu

hospitalier qu'en milieu communautaire. Les BLSE restent principalement produits par les entérobactéries mais peuvent également être produites par des bactéries non fermentaires telles que les *pseudomonas* spp. Et *Acinetobacter* spp **(Aiken *et al.*, 2011).** En effet, les plasmides permettent le transfert du gène de résistance BLSE entre les espèces d'entérobactéries et à d'autres familles de bactéries. **(Stewardson *et al.*, 2013).**

2.8.3. Méthode de détection de BLSE produites par les entérobactéries :

a. Test de synergie :

Les BLSE dérivées des enzymes de classe A (Ambler) sont inhibées par les inhibiteurs de β-lactamases (acide clavulanique, sulbactam et tazobactam) **(Rahal *et al.*, 2011).**

Technique :

La recherche de la BLSE se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme en déposant un disque d'amoxicilline+acide clavulanique (AMC 20/10µg) à 30mm centre à centre d'un disque de C3G (Céfotaxime : CTX 30µg ou Ceftriaxone : CRO 30µg). Incuber 18H à 35°C

Pour les autres BLSE de classe A (CTX-M, CMT, …).

Le test de synergie doit être fait dans les mêmes conditions standards de l'antibiogramme en déposant un disque d'AMC à 30mm centre à centre d'un disque de : CAZ, CTX ou CRO et ATM en raison de l'existence de phénotypes de résistance différents (céfotaximase ou ceftazidimase …) **(Rahal *et al.*, 2011).**

Lecture :

La production d'enzyme peut se traduire par l'apparition d'une image de synergie ou bouchon de champagne entre les disques :

- AMC et CTX
- AMC et CAZ
- AMC et ATM.

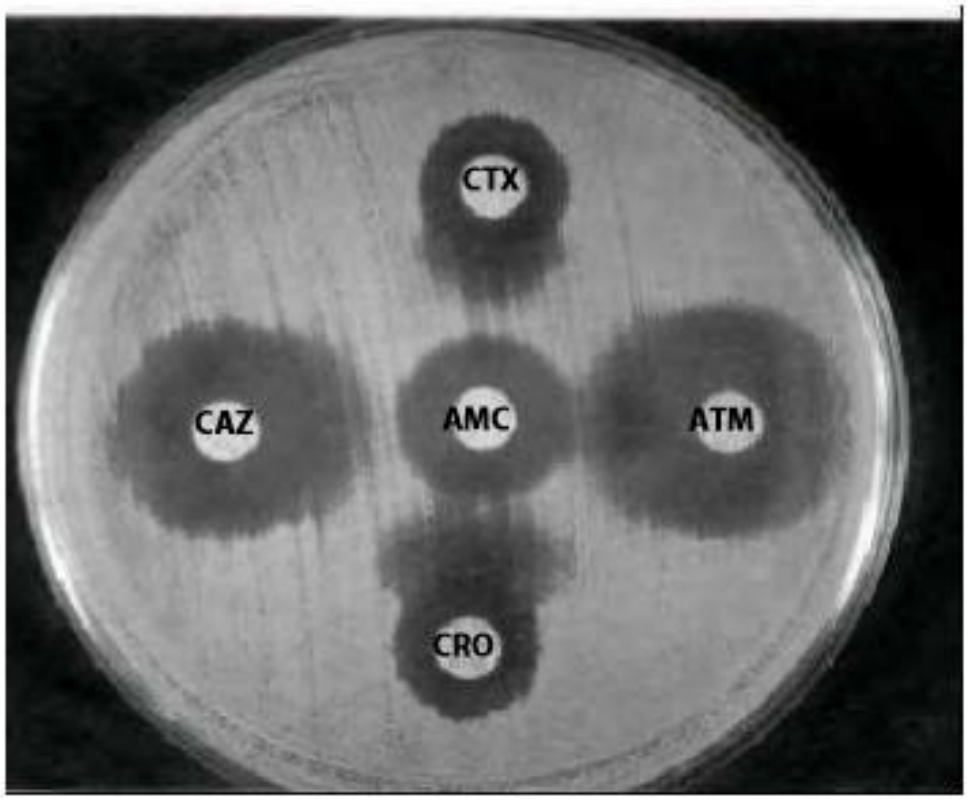


Figure 7 : Souche de *Klebsiella pneumoniae* productrice de *ß*-lactamase à spectre élargi **(Bouchon de champagne) (Rahal *et al.*, 2011)**

Partie 2 : Etude expérimentale

Chapitre 1 : Matériel et Méthodes

1. Méthodologie :

1.1. L'objectif principal :

Dans le but d'étudier les aspects épidémiologiques et microbiologiques des infections urinaires communautaires nous avons fixé comme objectif principal :

- Déterminer le taux de prévalence globale des infections urinaires des malades et du personnel ainsi que les gardes malades au niveau de l'EPH de Médéa.

1.1.1. Objectifs secondaires :

1. Etudier les variations de la fréquence des infections urinaires dans 4 services : médecine interne, pédiatrie, maternité et maladies infectieuses.
2. Identifier les caractéristiques des malades infectés.
3. Identifier les facteurs de risques.
4. L'identification des principaux germes impliqués dans les infections urinaire.
5. Déterminer le profil de résistance de ces germes aux différents antibiotiques.

1.2. Type d'étude :

Il s'agit d'une étude de prévalence des infections urinaires réalisée au niveau de 4 services d'hospitalisation. .

1.3. Lieu d'étude :

Cette étude a été menée au sein de 4 services d'hospitalisation : médecine interne, pédiatrie, maternité et maladies infectieuses. La manipulation des prélèvements a été effectuée dans le laboratoire de bactériologie à L'hôpital de Médéa.

1.4. Période d'étude :

L'étude a été conduite pendant deux mois allant de mars à avril 2018.

1.5. La population d'étude :

Cette étude a été effectuée sur tous les malades hospitalisés dans les 4 services avec leurs gardes malades ainsi que le personnel de ces services.

1.5.1 .Critères d'inclusion :

On a inclus tous les malades hospitalisés, dans les différentes unités des 4 services concernés par l'étude et leurs gardes malades ainsi que les personnels des différents services.

1.5.2. Critères d'inclusion :

- Les malades qui quittent l'hôpital le jour de l'enquête.
- Les personnes qui refusent de participer a l'enquête quelque soit malade, garde malade ou personnel.

1.6. Matériels utilisée

1.6.1. Instruments et appareillages

Flacons Stériles, Boites Pétri. Anse De Platine. Les Ecouvillons. Pince. Compresses Stériles Bandelettes Réactives. Étuve. Bec Bunsen. Réfrigérateur. Microscope Optique. Agitateur Vibrant. Portoir. Eau Physiologique Stérile. Gants. Pipette Pasteur. Lames Et Lamelles.

1.6.2. Réactifs utilisés

- Galerie API 20 E.
- Huile de vaseline.
- Lugol.
- Violet de Gentiane.
- Alcool.
- Fuchsine basique.

1.6.3. Les antibiotiques.

1.6.4. Milieux de cultures :

- Gélose nutritive ordinaire. **(annexe 2)**
- Milieu Hektoen. **(annexe 3)**
- Milieu Muller-Hinton. **(annexe 4)**

2. METHODES

2.1. RECUEIL DES DONNES :

on a fait appel à des fiches d'enquête **(annexe 1)** qui comportent des données administratives :

- Code d'admission.
- Nom et prénom.
- Sexe.
- Âge.
- Qualité d'admission.
- Date d'hospitalisation.

Des données cliniques :

- Sondage urinaire
- Cathéter central
- Cathéter sous cutané
- Intubation
- Hospitalisation antérieure
- Traitement d'antibiotiques
- Signe clinique de l'infection urinaire
- Immunodépression
- Chirurgie des vois urinaire
- Cancer évolutif
- Diabètes
- Tabac
- Obésité
- Grossesse en cours

Et des données biochimiques, cytologiques et bactériologiques de l'urine :

- Bandelette urinaire

Cytologie : 1- Leucocytaire 2-Germe

- Résultat de la culture

- Germe isolé
- Type de germe trouvé
- Résistance de germe

2.2. Prélèvements

2.2.1. Recueil des urines

L'objectif majeur est de recueillir l'urine vésicale, normalement stérile en évitant sa contamination lors de la miction par la flore commensale qui colonise l'urètre et la région périnéale.

Chez un patient non sondé la méthode la plus classique consiste à prélever, après toilette locale des organes génitaux externes, le second jet d'urines (20 à 30 ml) dans un récipient stérile après avoir éliminé le premier jet (environ 20 ml), considéré comme non représentatif de l'urine vésicale car trop souvent contaminé par la flore commensale urétrale et périnéale (**Covallo, 2003)**

La toilette locale est effectuée avec un antiseptique de type Dakin stabilisé ou plus simplement avec de l'eau savonneuse suivie d'un rinçage à l'eau

Chez le nourrisson, on peut utiliser une poche plastique stérile appliquée sur la peau soigneusement nettoyée et qui ne devra pas rester en place plus de 30 min. Chez le sujet incontinent ou handicapé, le recueil par sondage urinaire à l'aide d'une sonde de petit calibre n'est acceptable que chez la femme si le recueil des urines lors de la miction est impossible. (**Covallo, 2003)**

Chez le patient porteur de sonde urinaire, il ne faut en aucun cas prélever dans le sac collecteur où la pullulation microbienne est importante, ni rompre le caractère clos du système en déconnectant la sonde du sac collecteur pour prélever les urines. Le recueil se fera par ponction directe dans la paroi de la sonde après désinfection. Un site de ponction spécifique est incorporé dans la plupart des sondes. (**Covallo 2003)**

2.2. 2. Conditions de conservation et de transport de l'urine.

L'objectif recherché ici est de diminuer la pullulation microbienne en diminuant le plus possible le délai entre le prélèvement et l'analyse L'urine ne doit pas séjourner plus de 2 h à température ordinaire pour éviter une multiplication.

L'urine peut en revanche, être conservée à + 4 °C pendant au moins 24 h sans modification de la bactériurie**. (Covallo, 2003)**

On a accompagné tout prélèvement d'une étiquette de renseignement et dès l'arrivé au laboratoire, il faut enregistrer le nom, prénom, l'âge du patient, la date et le numéro d'enregistrement ainsi que le service demandeur.

2.3. Analyses de laboratoire

2.3.1. Analyses biochimiques : Test rapide indirect qualitatif par bandelette urinaire :

Ces bandelettes à usage unique sont plongées brièvement dans l'urine fraîche de manière à ce que toutes les zones réactives soient au contact de l'urine. Puits elle doit être égouttée en passant le bord de la BU contre le rebord du récipient. La BU est maintenue en position horizontale pour éviter toutes interférence entre les plages réactives, puis lues par référence à une échelle colorimétrique **(Laville et Martin, 2003**). On peut ainsi déterminer :

-Le pH

- La présence de glucose à une concentration supérieure à 5,5 mmol/L ;

- La présence de sang

-La présence de nitrates (=infection à entérobactéries) et de leucocytes (≥10 leucocytes/mm3).

2.3.2. Examen cytobactériologique des urines (ECBU)

Cet examen consiste à un examen cytologique suivi d'un examen bactériologique.

2.3.2.1. Examen cytologique :

-Examen macroscopique : les urines doivent être analysées sans retard. Les urines sont normalement jaune claires et doivent être limpide. L'émission d'urines troubles suggère une infection urinaire. **(Denis et al, 2007)**

-Examen microscopique : Il se réalise, au microscope, sur une urine fraîchement prélevée à l'objectif **(x40),** et sa préparation se fait comme suit **(Branger *et al*, 2004)**

-Homogénéiser soigneusement l'urine par retournement du flacon d'urine correctement bouché.

-Déposer sur une lame de Malassez, à l'aide d'une pipette propre, une goutte d'urine (sa taille doit être suffisante pour occuper la totalité du volume sous la lamelle mais pas trop grosse de façon à ce que l'urine ne déborde pas de la lamelle).
- Recouvrir d'une lamelle.

***Observation microscopique :**

- Explorer soigneusement la totalité de la lamelle pour repérer et quantifier :

-les éléments cellulaires : leucocytes, hématies, cellules épithéliales, rénales, ou autres

-les cristaux, les cylindres granuleux (mieux repérable à l'obj x10)

En cas d'infection urinaire le processus inflammatoire se traduit par la présence de :
- Leucocytes ≥104/ml parfois en amas,

2.3.2.2. Examen bactériologique

-La mise en culture:

La culture des urines contribue à définir l'infection urinaire :
- Homogénéiser l'urine puis ensemencer avec une anse calibrée (10µL) **(Grosjean *et al*,2011).**
- L'ensemencement doit répondre au double but de dénombrer les bactéries et d'isoler la ou les bactéries en cause en obtenant des colonies bien distinctes les unes des autres. **(Denis *et al*, 2007).**

2.4. Identification :

2.4.1. Coloration de Gram :

C'est la coloration de base en bactériologie et permet de l'affinité tinctoriale des bactéries, leur morphologie et leur mode de regroupement. Elle permet une classification des bactéries selon leur structure.

Lecture :

Les bactéries à Gram positif apparaissent violettes.

Les bactéries à Gram négatif apparaissent roses.

2.4.2. Test de Catalase :

Ce test est à la base utilisé pour l'identification des bactéries à Gram positif. Quelques gouttes d'eau oxygénée sont déposées dans un tube propre, puis à l'aide d'une pipette pasteur, l'inoculum bactérien est rajouté. L'observation du résultat est immédiate (une libération d'oxygène gazeux si le résultat positif).

2.4.3. Test d'oxydase:

On introduit un disque d'oxydase dans une suspension épaisse de 0,5 ml d'eau physiologique. On remarque une coloration violette du milieu après 30 à 60 secondes due à la présence d'une oxydase d'où une réaction positive.

2.4.4. La galerie API 20E (Appareillage et Procédé d'Identification)

Cette galerie a été utilisée, après avoir trouvé des difficultés pour identifier la souche par la galerie classique.

-**<u>Technique</u> :**

- **Préparation de la galerie**

  - réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide ;
  - déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

- **Préparation de l'inoculum**

  - 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 Mac Farland).

- **Inoculation de la galerie :**

  -Introduire la suspension bactérienne dans chaque tube à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, pointe appuyée à l'intérieur et sur le côté pour éviter la formation de bulles.

- **Incubation**

  -Incuber la boite 24 heures à 37°C.

- **Interprétation** 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 du Tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique.

2.4.5. L'Antibiogramme

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

Lecture

- Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.

Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton simple, les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de Pétri fermée. Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton au sang, les mesures de diamètres de zones d'inhibition seront prises, boîte de Pétri ouverte et bien éclairée.

-Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes.

-Classer la bactérie dans l'une des catégories S, R ou I.

Résultats et Interprétation

3. Résultats

3.1. Description de la population :

3.1.1. Répartition des échantillons selon l'Age :

Sur un total de 145 échantillons demandé au laboratoire de bactériologie pour l'analyse ECBU,117 prélèvements ont été réalisé, le pourcentage pour chaque résultat est représenté dans la figure 1 :

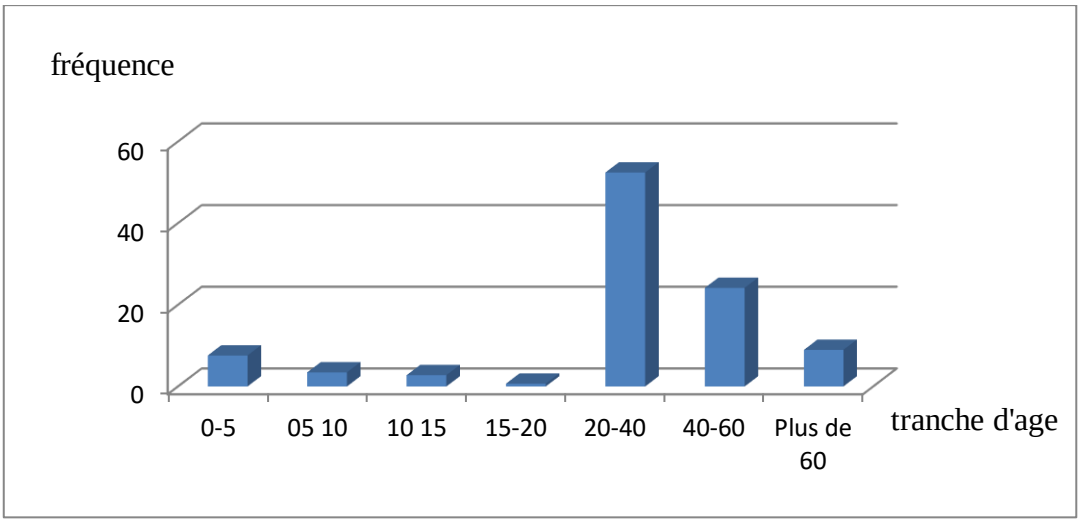


Figure 08: Répartition des cas dépistée selon l'âge à l'EPH de Médéa.

D'après ces résultats ; l'âge moyenne est de 34,6 ans IC (31.5 – 37.75), l'effectif le plus élevé des patients se rencontre dans la tranche entre 20 et 40 ans soit 52.41%.

Nous avons dépisté l'infection urinaire chez 3 nourrissons de moins de 3 mois et 1 cas dont l'âge est moins d'un an.

3.1.2. Répartition des échantillons selon le sexe :

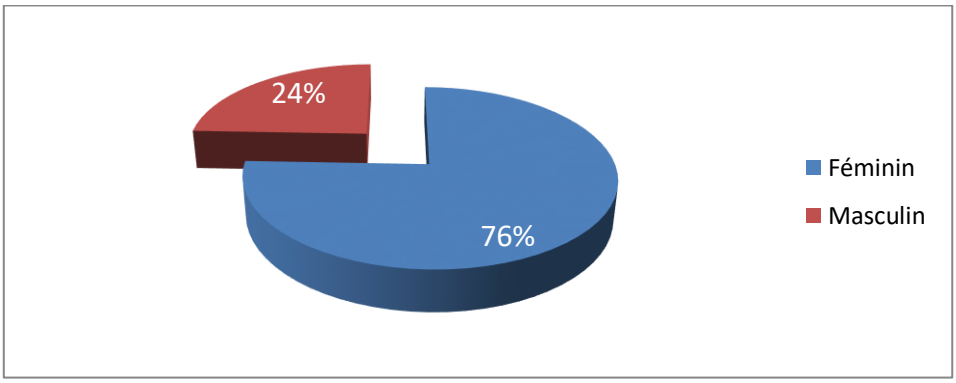


Figure 09: Répartition des cas dépistée selon le sexe à l'EPH de Médéa

D'après les résultats obtenus, le dépistage a touché plus des femmes avec (75.21%) des cas ; que des hommes 24.79%.

3.1.3. Répartition des échantillons dépistés selon les services d'hospitalisation :

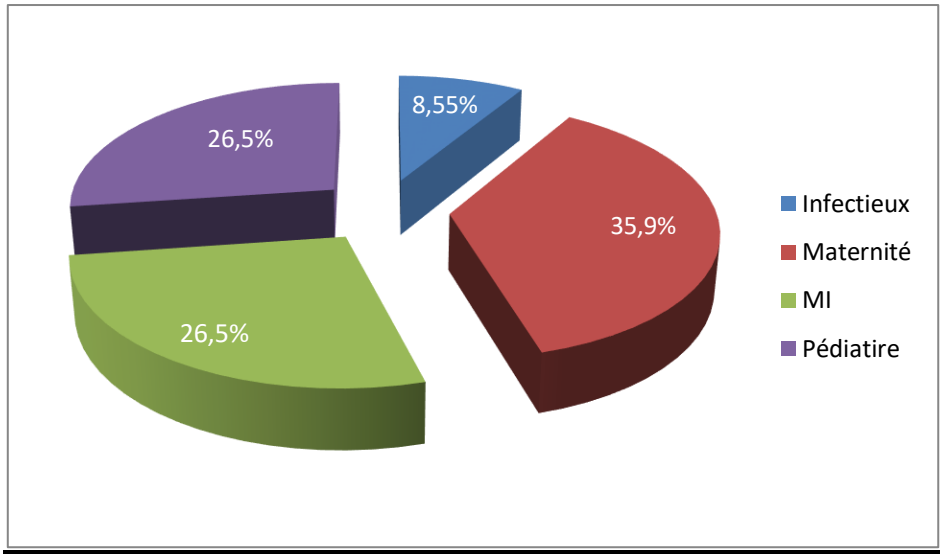


Figure 10 : Répartition des échantillons dépistés selon des services d'hospitalisation

L'enquête de dépistage des infections urinaire est réalisée au niveau des services suivant : maternité (35%), médecine interne (29%), pédiatrie (26%), et infectieux (9%). Il est a constaté que la taille d'échantillon entre les services est légèrement équilibrée.

3.1.4. Répartition des échantillons dépistés selon la qualité d'admission :

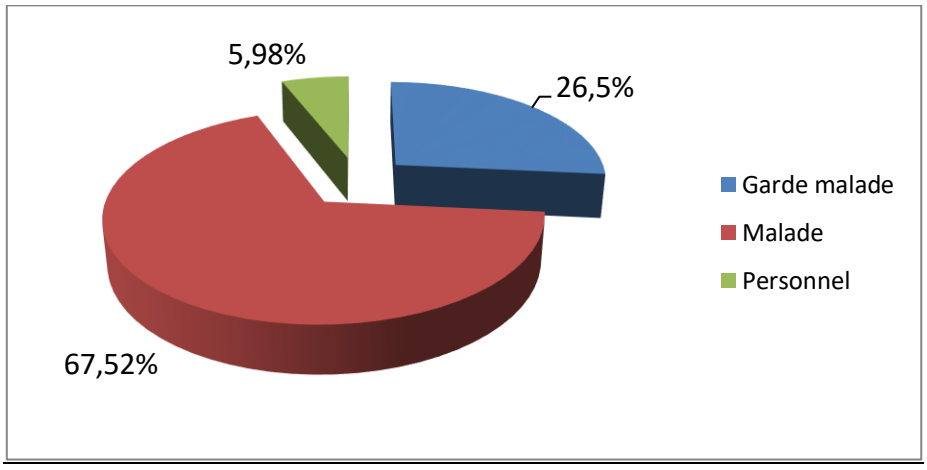


Figure 11 : Répartition des échantillons dépistés selon la qualité d'admission à l'EPH de Médéa

Selon les résultats obtenus, on observe que la majorité des cas dépistés sont des malades avec un pourcentage de 67.52 %, suivi par les gardes malades (26.5%) et 5.98 % pour les personnels de santé.

3.1.5. Motif d'hospitalisation chez les malades

Tableau 03: Motif d'hospitalisation chez les malades

Qualité d'admission	Effectif	Fréquence %
Accouchement et césarienne	37	38,1
maladie infectieuse	18	18,6
cardiopathie vasculaire	11	11,2
diabète et endocrinologie	6	6,2
Menace d'accouchement prématuré	6	6,2
Vomissement	2	2,1
Embolie pulmonaire	2	2,1
Fibrome	2	2,1
neurologie	2	2,1
Rhumatisme	2	2,1
Spina bifida	2	2,1
Tumeur	3	3,1
Altération de l'état général	1	1,0
Détresse respiratoire fébrile	1	1,0
Hyper protéinémie	1	1,0
Maladie cœliaque	1	1,0
Total	97	100,0

Prés de 40% des cas dépisté parmi les malades sont admise pour un accouchement - césarienne, et 18.6% des malades présentent une maladie infectieuse, les maladies cardiovasculaire représente plus de 11% suivi par les maladies endocrinienne et diabète

6 %.

3.1.6. Répartition des cas dépistés selon la durée d'hospitalisation

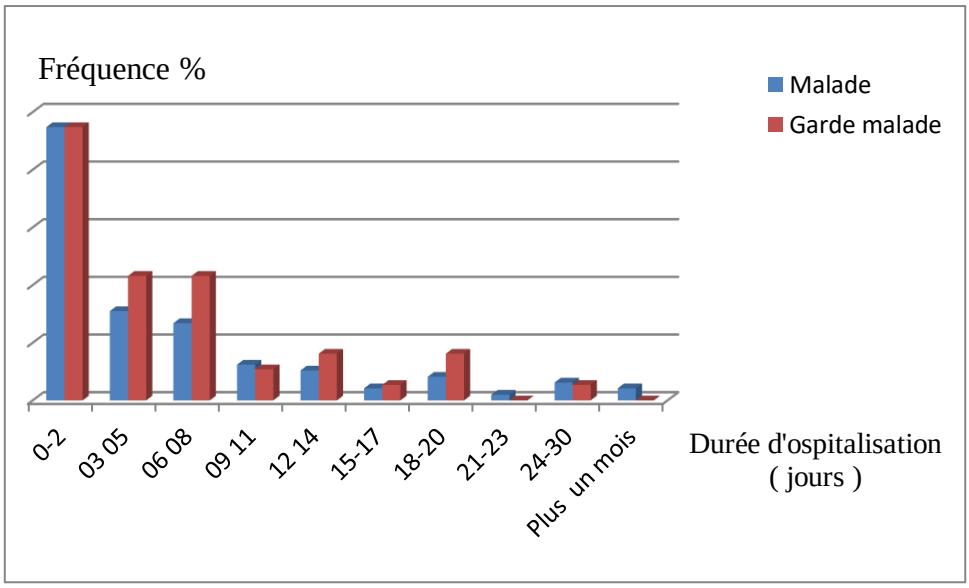


Figure 12: Répartition des cas dépistés selon la durée d'hospitalisation à l'EPH de Médéa

La durée d'hospitalisation chez les gardes malades est de 5.4 jours, contre 6.4 jours chez les malades. Prés de la moitié des malades ont une durée d'hospitalisation mois de 3 jours.

3.2. Description de l'infection urinaire

Le taux global des infections urinaire est de 11.3% parmi l'ensemble des cas dépistés.

3. 2.1. Prévalence de l'infection urinaire selon la qualité d'admission

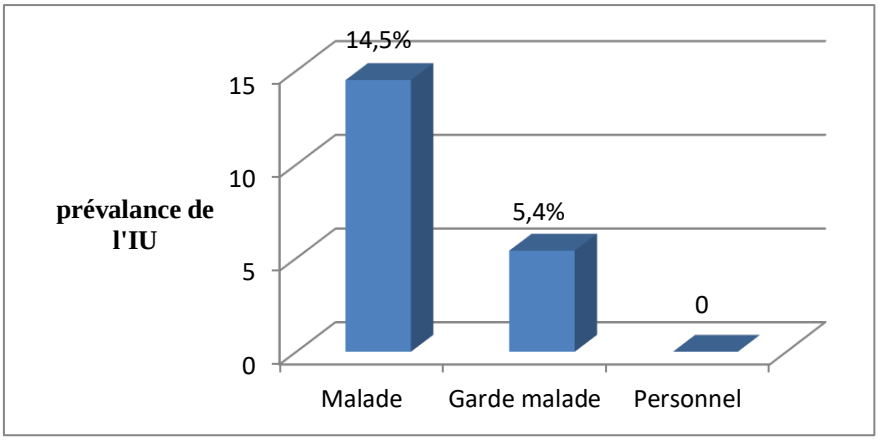
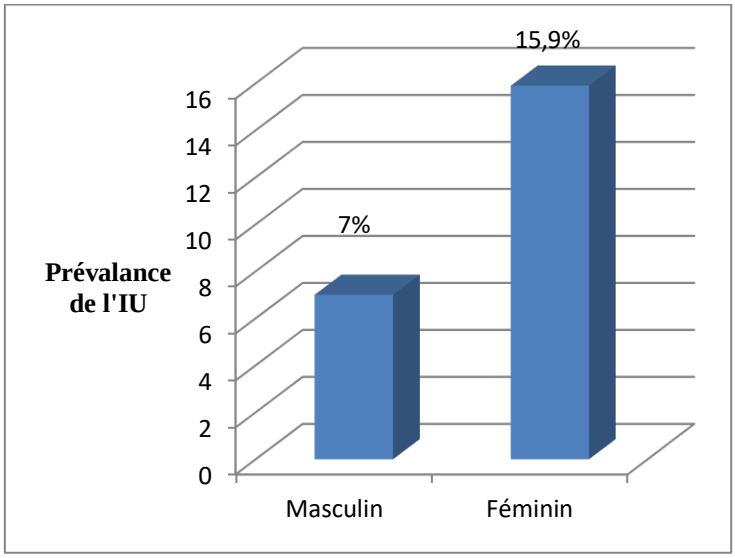


Figure 13 : Prévalence de l'infection urinaire selon la qualité d'admission à l'EPH de Médéa

Sur un totale de 117 échantillons, plus de 14.5% cas malades dépiste ont présente une infection urinaire, et prés de 5.4% des garde malade ont présente aussi une infection urinaire au cours de leurs séjour à l'EPH Médéa. Aucun personnel de sante n'a présente une infection lors de cette enquête

3.2.2. Prévalence de l'infection urinaire selon le sexe :



X=1.8 OR=0.3 (0.07-1.78)

Figure14 : Prévalence de l'infection urinaire selon le sexe à l'EPH de Médéa

On note une prédominance de l'infection urinaire chez le sexe féminin avec une prévalence de 15.9% contre 7 % pour les hommes

3.2.3. Répartition de l'infection urinaire selon l'Age

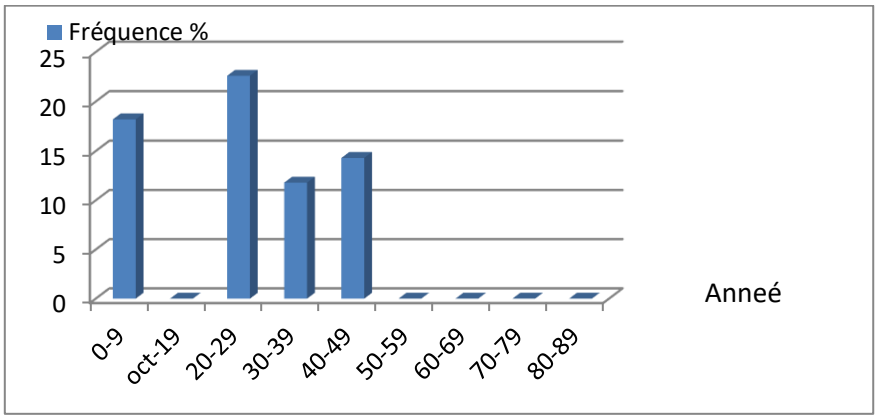


Figure15 : Répartition de l'infection urinaire selon l'Age à l'EPH de Médéa.

L'infection urinaire est d'ordre de 0 à 18.2% chez les moins de 20 ans, et 11.8 à 22.6% chez les adultes, le mode est enregistrée pour la tranche d'âge 20 30 ans ; puis on note une baise des infections urinaires pour l'adulte plus de 50 ans. La moyenne d'âge pour les cas positive est de 33.7 ans.

3.2.4. Répartition de l'infection urinaire selon les services d'hospitalisation :

Tableau 04 : Répartition de l'infection urinaire selon les services d'hospitalisation

Service	Effectif	Infection urinaire	Prévalence %
Infectieux	10	2	20
Maternité	42	9	21,4
Médecine interne	34	4	11,7
Pédiatrie	31	2	6,4
Total	**117**	**17**	**14,5**

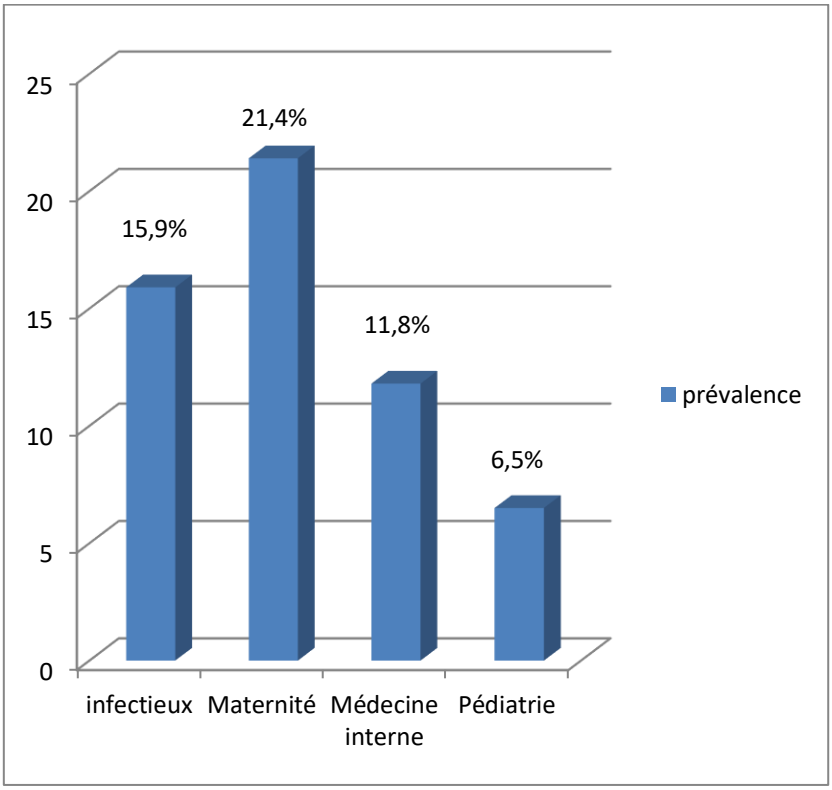


Figure 16 : Répartition de l'infection urinaire selon les services d'hospitalisation à l'EPH de Médéa

On note une prédominance des patients présents une infection urinaire au niveau de service de Maternité avec un pourcentage de 21.4% suivi par les deux services d'infectieux et MI avec (15.9% ; 11.8), et le service de Pédiatrie en dernier lieux avec 6.5 % .

3.2.5. Répartition de l'infection urinaire selon les Facteurs de risques

Tableau 05 : Répartition de l'infection urinaire selon les Facteurs de risques

Facteurs intrinsèques	Effectif	Infection urinaire		OR
		Effectif	Prévalence %	
Immunodépression (IMM)	11	2	18	OR=1.2 (0.2-6.4)
Chirurgie des voies urinaire (CH VU)	0	0	0	
Cancer évolutif (CE)	3	1	33.3	OR=2.0 (0.6-20)
Diabètes(Diabt)	12	1	8.33	OR=0.7 (0.08- 5.9)
Tabac (Tab)	2	0	0	
Grossesse en cours (Grss)	10	3	30	OR=2.5 (0.13-13.6)
Intubation (Intb)	0	0	0	
Cathéter sous cutané (CSC)	75	13	17.3	OR=0.28 (0.8-7.6)
Traitement d'antibiotiques (T/ATB)	26	5	19.2	OR=1.5 (0.5—5.0)
Sondage urinaire (SU)	20	5	25	OR 1.6 (0.3 – 4.7)
Hospitalisation antérieur (Hosp)	15	2	13.33	OR0.8 (0.14—3.4)

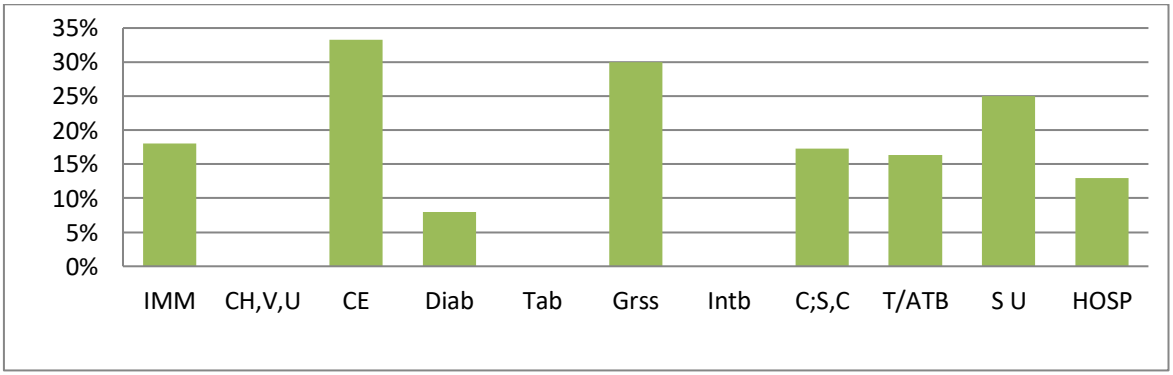


Figure17 : Répartition de l'infection urinaire selon les facteurs de risques à l'EPH de Médéa

La présence de la grossesse et du cancer chez les malades augmente deux fois le risque d'infection urinaire avec un taux de 30 et 33.3 % respectivement.

Le sondage urinaire repesent un véritable facteur de risque, avec une prévalence de

25 % d'UI (OR =1.6)

On note une prévalence de 17.3% pour les malades avec un Cathéter sous cutané

3. 2.6. Répartition de l'infection urinaire selon la durée d'hospitalisation :

Tableau 06: Répartition de l'infection urinaire selon la durée d'hospitalisation

La durée d'hospitalisation	Effectif	Malade à infection urinaire	
		Effectif	Fréquence
0-2	49	9	15,79
3-5	18	1	4,348
6-8	18	1	4,762
9-11	7	2	25
12-14	5	0	0
15-17	3	2	66,67
18-20	5	1	14,29
30-32	2	0	0
plus mois	3	0	0
Total	110	17	14.5
La durée moyenne	6.86	5.82	

D'après les résultats obtenus, on a trouvé que parmi 110 malades hospitalisés 49 patients ont séjourné entre 0 et 2 jours avec une prévalence d'IU de 15.79 %. , cette dernière est très élevée entre une durée de 15 à 17 jours avec un pourcentage de 66.67 % d'UI.

3 *2.7.* Répartition de l'infection urinaire selon l es signes clinique

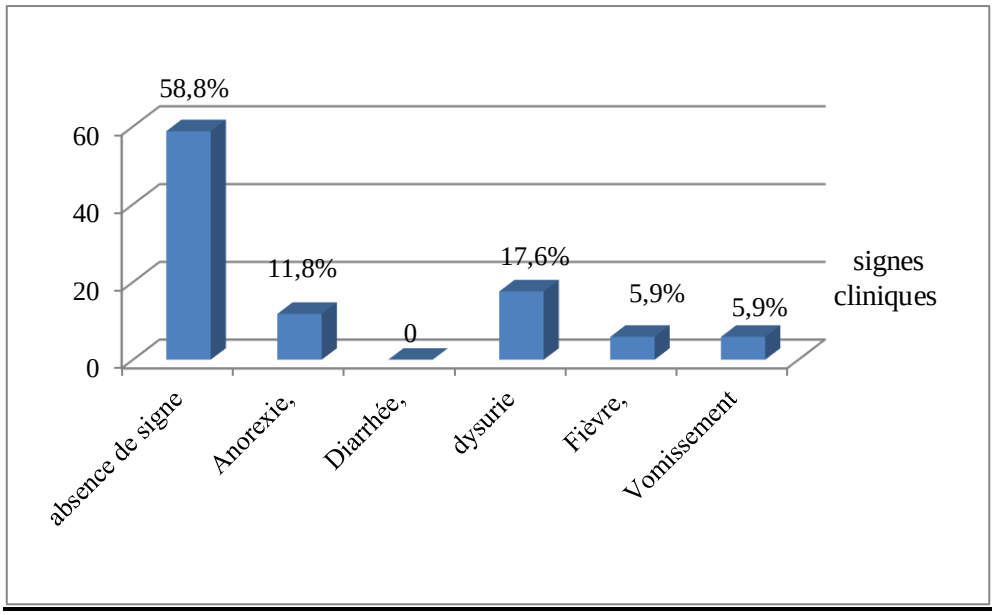


Figure 18: Répartition de l'infection urinaire selon l es signes clinique à l'EPH de Médéa

Plus de la moitie des cas n'ont pas présenté des signes clinique, par contre la dysurie et l'anorexie sont des signes pathognomonique (17.6%, 11.8%) , suivie par la fièvre et vomissement avec 5.9%

3.2.8. Répartition de l'infection urinaire selon la cytologie:

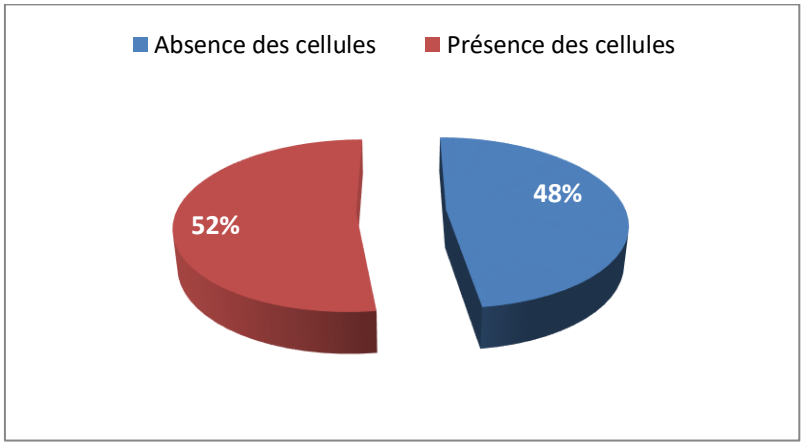


Figure 19 : Répartition de l'infection urinaire selon la cytologie à l'EPH de Médéa

La présence des cellules à L'examen cytologique est dans 48% des cas dépistés et tous les prélèvements des cas d'infection urinaire sont positifs.

3.2.9. Répartition de l'infection urinaire selon la culture :

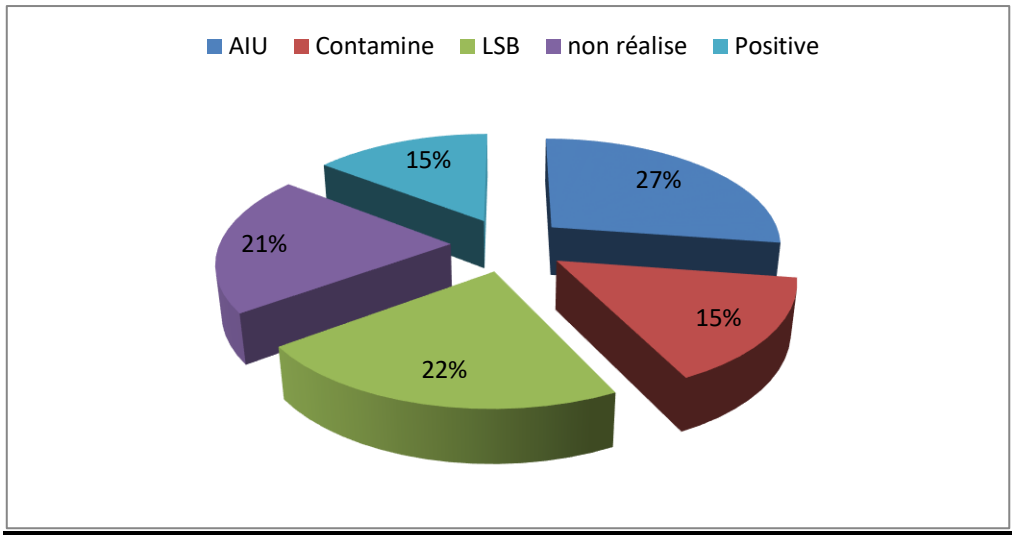


Figure 20 : Répartition de L'IU selon la culture à l'EPH de Médéa

Parmi les 61 cas de cytologie positive 17 cas ont une culture positive, la contamination des prélèvements est de l'ordre de 15.3%, LSB : la présence des leucocytes en absences de bactérie est de 22.2%, et 27.3 % des cas sont négatives.

3.2.10. Répartition globale des germes trouvés :

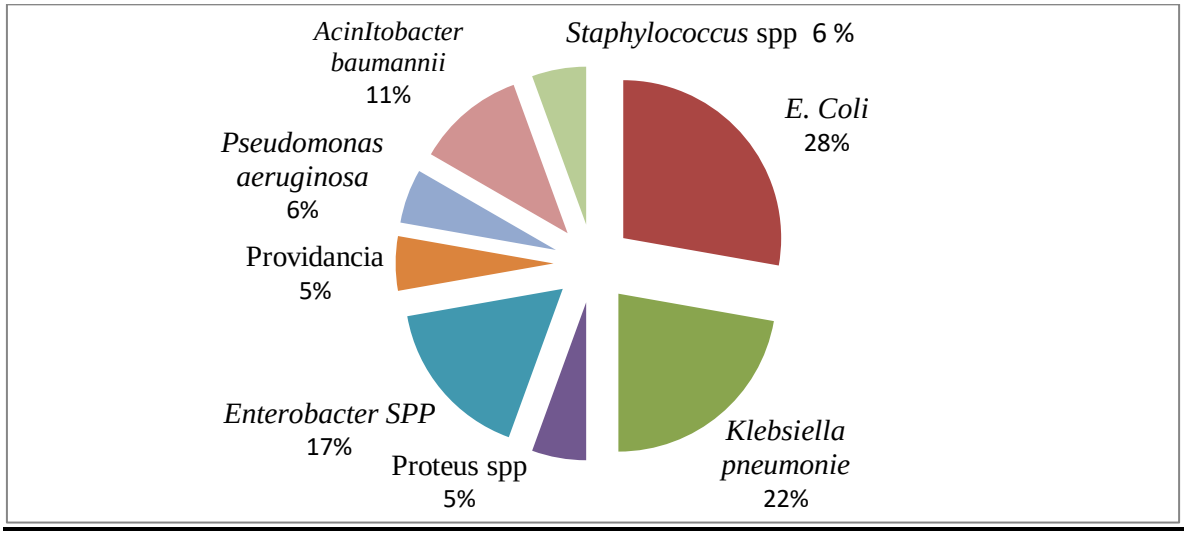


Figure 21: Répartition globale des germes trouvés à l'EPH de Médéa

Tableau 07 : Répartition globale des germes trouvés

Bactéries	Germes	Effectifs	%	TOTAL
Entérobactéries	*E. Coli*	5	27.78	77.78
	Klebsiella pneumpnie	4	22.22	
	Proteus spp	1	5.56	
	Enterobacter	3	16.66	
	Providancia	1	5.56	
Bacilles Gram négatif non fermentaires	*Pseudomonas aeruginosa*	1	5.55	16.6
	Acinetobacter baumannii	2	11.11	
Cocci Gram positif	*Staphylococcus sp*	1	5.56	5.56
Totale		18	100. 00	100.00

Sur les 18 germes isolés ; les Gram négatif sont dominés par les Entérobactéries avec un pourcentage de 77.78 % , dont on a un pourcentage de 28% pour *E .coli* ; 22% pour *Klebsiella pneumonie* et 17% pour *Enterobacter* spp contre 5.56% % des Gram + qui sont représentés principalement par *Staphylocoque* spp.

11% pour *A. Baumannii* . les autres germes (*Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus* spp…) sont présents avec des pourcentages faibles.



Figure (22) : l'identification de *Klebsiella pneumonie* (photo personnelle)



Figure (23) : l'identification d' *E. coli* (photo personnelle)

3.2.11. Répartition globale de l'antibiorésistance d'*A.baumanni* ; d'*E. coli* et de *K pneumonie* (KPN) .

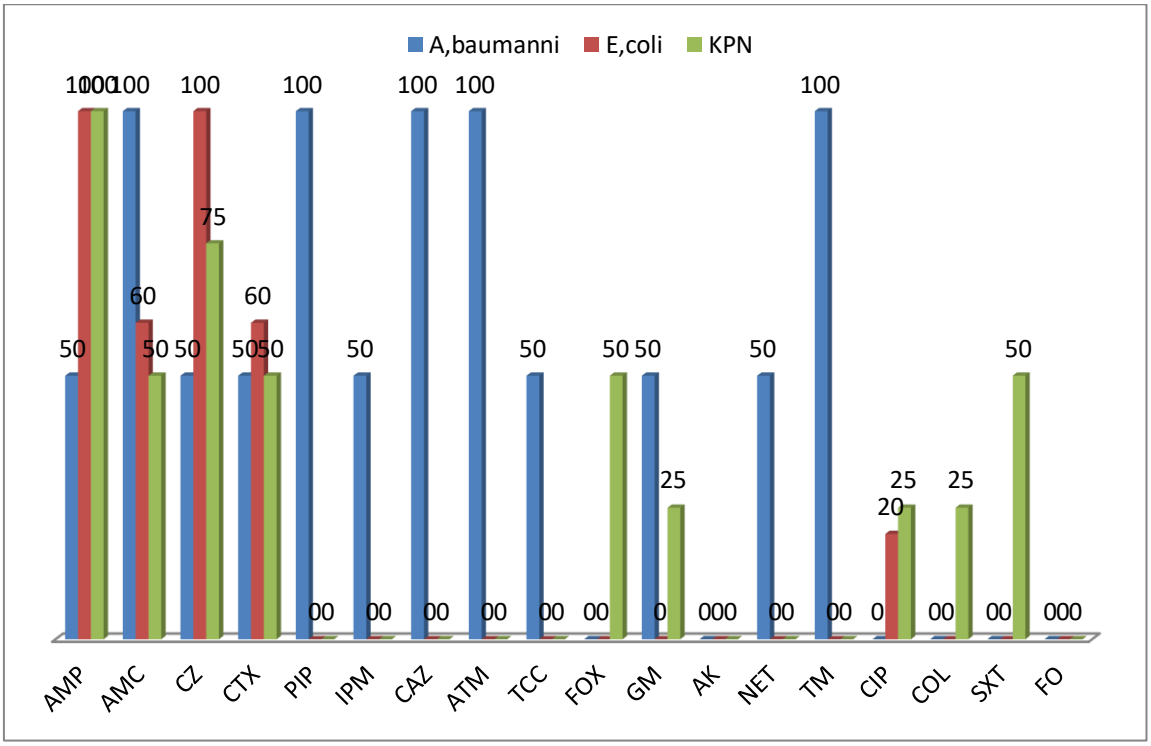


Figure 24 : Répartition globale de l'antibiorésistance *d'A.baumanni* ; *d'E. Coli* et de *Klebsiella pneumonie* à l'EPH de Médéa

Tableau 08 : Répartition globale de l'antibiorésistance *d'A.baumanni* ; *d'E. Coli* et de *Klebsiella pneumonie* à l'EPH de Médéa

Antibiotique			*A .baumannii*		*E .coli*		*K .pneumonie*	
			R	(%)	R	(%)	R	(%)
Beta lactamines	Ampicilline	AMP	1	50	5	100	4	100
	Amoxicilline + Acide Clavulanique	AMC	1	50	3	60	2	50
	Cefazoline	CZ	1	50	5	100	3	75
	Céfotaxime	CTX	1	50	3	60	2	50
	Pipéracilline	PIP	2	100	N.t	0	N.t	0
	Imipenème	IPM	1	50	0	0	0	0
	Ceftazidime	CAZ	2	100	N.t	0	N.t	0
	Aztréonam	ATM	2	100	N.t	0	N.t	0
	Ticarcilline + ac.clavulanique	TCC	1	50	N.t	0	N.t	0
	Cefoxitine	FOX	N.t	0	0	0	2	50
Aminosides	Gentamycine	GM	1	50	0	0	1	2
	Amikacine	AK	0	0	0	0	0	0
	Nétilmicine	NET	1	50	N.t	0	N.t	0
	Tobramycine	TM	2	100	N.t	0	N.t	0
quinolones	Ciprofloxacine	CIP	0	0	1	20	1	25
Divers	Colistine	COL	0	0	0	0	1	25
	Cotrimoxazole	SXT	0	0	0	0	2	50
	Fosfomycine	FO	0	0	0	0	0	0

Nt : non testé R : Résistant

D'après ces résultats, nous avons noté :

-une résistance totale à l'ampicilline concernant les deux germes *E. coli* et *K .pneumonie* .

-*L'A.baumannii* présente une résistance de 100 % à l'Amoxicilline + Acide clavulanique Pipéracilline, Ceftazidime, Tobramycine et à la Aztréonam ; ces résultats confirme la multi résistance de cette bactérie.

-Une résistance modérée à la Céfotaxime, varie entre 50 et 60 % pour les 3 bactéries .

- Une résistance nulle à la Fosfomycine pour chacune des 3 bactéries.

3.2.11. Distribution globale des souches BLSE :

Tableau 09 : Répartition globale des souches BLSE.

Germes	Effectif	Souche BLSE	Rapport
Escherichia coli	5	3	3/5
Enterobacter spp	3	1	1/3
Acinetobacter baumannii	2	0	0
Klebsiella pneuminiae	4	2	2/4
Providancia spp	1	1	1
Staphylococcus spp	1	0	0
Proteus mirabilis	1	0	0
Pseudomonasa aeruginosa	1	0	0
Total	**18**	**7**	

Les résultats montrent que parmi les 18 germes isolés , on a 7 souches BLSE dont la prévalence est de 38.89 % .

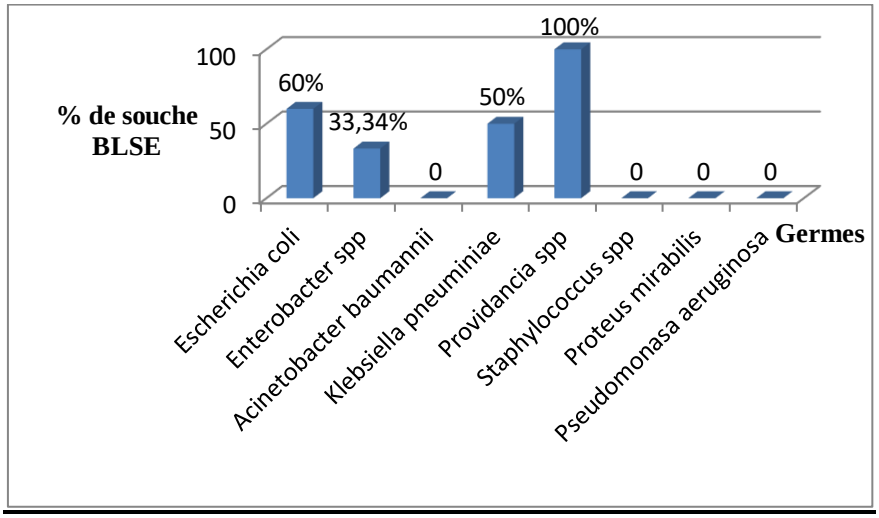


Figure 25 : Répartition globale des souches BLSE à l'EPH de Médéa

Selon le tableau 11 on peut noter que 38.89% des bactéries sont des souches BLSE **.**

-Plus de la moitié des souches *d'E .coli* sont des souches productrices de beta-lactames avec un pourcentage de 60%, cependant le reste de souches sont dépourvus de cette enzyme

-On a isolé deux souches BLSE de KPN (50%)

-La seule souche isolée de *Providencia* spp est aussi BLSE.

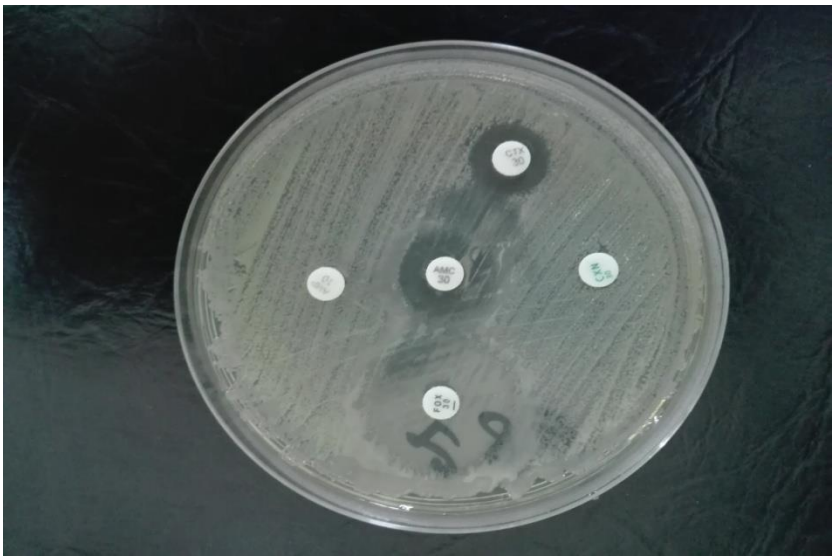


Figure (26) : Aspect de l'ATB de la souche *E .coli* BLSE + sur milieu MH

(Photo personnelle)

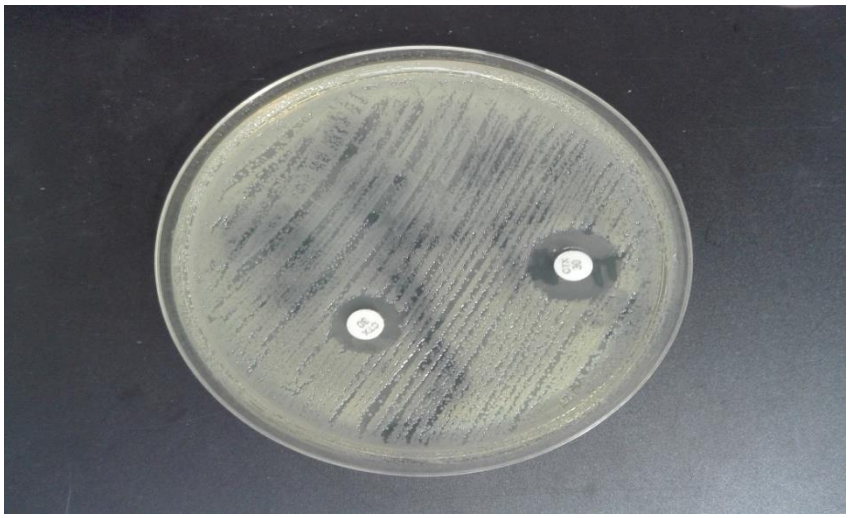


Figure (27) : test de conformation de BLSE ou test de double disque de la souche *E .coli* sur milieu MH (photo personnelle)

3.2.12. Profil de l'antibiorésistance des principaux germes trouvés ; *E. coli,* *Klebsiella pneumonie* et *Acenitobacter baumani*

Tableau 10 : Profil de l'antibiorésistance des principaux germes trouvés ; *E. coli*, *Klebsiella pneumonie* (KPN) et *Acenitobacter baumani* à l'EPH de Médéa .

Germes	Type de profil	Nombre	Rapport
E.coli+KPN	AMP	2	2/11
E .coli	AMP + CXN	1	1/11
KPN	AMP + CXN+ CX	1	1/11
E. coli	AMP+AMC+CTX+ CXN	1	1/11
KPN	APM+AMC+CTX+CXN+SXT	1	1/11
E. coli	AMP+AMC+CTX+CXN+CIP	1	1/11
E. coli	AMP+AMC+CTX+ CXN +SXT	1	1/11
KPN	APM+AMC+CTX+CXN+SXT +CIP+CX+GMN	1	1/11
A.baumannii	PIR +CAZ +ATM +GMN +TMN +TET	1	1/11
A.baumannii	AMP +AMC +CXN +CTX +NET +CAZ +ATM +TET +TMN +IPM +PIR +TCC	1	1/11
	Total	11	

Selon le tableau ci dessus ; la distribution globale de la résistance permet d'observer 5 profils pour *E. coli* et 4 profils pour *K.pneumonie* ,dont le profil APM est commun entre le deux présent un pourcentage de 18.19% .

La multirésistance est présente dans les 3 types de germes isolés, Elle est observée dans 4 profils regroupent 4 souches dont 2 pour *E .coli* et 2 pour *K. pneumonie*.

Ces souches multi résistantes sont des souches BLSE.

4. Discussion

Le diagnostic d'une infection urinaire repose sur des signes cliniques et biologiques. Il est confirmé par l'examen cytobactériologique des urines qui doivent être pratiqué au moindre doute d'infection urinaire. L'infection urinaire est affirmée par une bactériurie >105/ml lors d'une ECBU réalisé correctement. Une concentration comprise entre 103/ml et 105/ml doit être considérée comme douteuse et doit faire renouveler l'examen. Une concentration inférieure à 103/ml est généralement le reflet d'une contamination et ne permet pas d'affirmer l'existence d'une IU (**Cavallo et Garrabe, 2003**).

Sur l'ensemble de 117 prélèvements, 61 cas de cytologie positive dont17 cas ont une culture positive qui représente une prévalence de 14.5%.

Les infections urinaires étaient les infections les plus fréquentes : elles représentaient 25,9 % de l'ensemble des infections nosocomiale contractées et une prévalence de 2,6 % dans la région méditerranéenne cependant la prévalence en Algérie est de taux de 1.8% **(Amazian *et al* ., 2010) .**

Décrivant les patients participant a cette enquête et d'après les résultats, on a constaté que toutes les tranches d'âge ont été touchées mais avec des fréquences différentes.

L'effectif le plus élevé des patients se rencontre dans la tranche entre 20 et 40 ans soit 52.41 %, l'âge moyen est de 34,6 ans ; ce dernier est inferieur à celui trouvé par **Amazian en 2010** et ses collaborateurs qui ont montré que :

Sur 4634 patients. L'âge moyen était de 41,1 ans (écart type [ET] 23,4) et la médiane de 42 ans et de 37.5 en Algérie ; 19,4 % des patients étaient âgés de 65 ans ou plus.

On a également noté au cours de notre étude que parmi les ECBU demandés il ya une prédominance du sexe féminin avec une prévalence de 75.21% contre 24.79 % pour les hommes.

Notre résultat montre une durée moyenne d'hospitalisation de 6.86 jours.

Selon **Amazian en 2010** et ses collaborateurs :

La durée moyenne de séjour des patients au moment de l'étude était de 15,4 jours (ET 24,3), la médiane se situant à 8 jours. La durée moyenne de séjour la plus élevée était

enregistrée en Algérie (20,7 jours, p = 0,02) et la plus faible au Maroc (7,7 jours, p < < 0,001). **(Amazian *et al* ., 2010)**

Apres avoir analysé les résultats on a constaté que toutes les tranches d'âge ont été touchées mais avec des fréquences différentes.

D'après ces résultats, l'effectif le plus élevé des patients se rencontre dans la tranche entre 20 et 29 ans soit 22.6%. .La moyenne d'âge pour les cas positive est de 33.7 ans

Selon **Bergogne, (2008),** l'importance des infections urinaires chez les femmes appartenant à la catégorie d'âge adulte peut être expliquée, par des facteurs anatomique et physiologique favorisant spécifiquement l'installation des germes pathogènes (urètre court, grossesse…).

Durant la période de l'étude on a trouvé une prédominance du sexe féminin avec une prévalence de 15.9% contre 7 % pour les hommes.

La plupart des études faites ont montré que les femmes ont beaucoup plus tendance à avoir des infections urinaires que les hommes. **(Haab *et al*., 2006). De Mouy** et ses collaborateurs ont rapporté une fréquence de 76,2 % chez les femmes et 23,8 % chez les hommes en France. **(De Mouy *et al*., 1996)**

Donc ce ci est lié aux raisons qui viennent :

- l'anatomie de l'appareil génital chez la femme favorise l'IU. Elle a un urètre très court, facilite l'accès de bactéries à la vessie. . La proximité entre l'anus et le méat urinaire facilite grandement l'accès de l'urètre aux bactéries intestinales provenant de rectum.

En outre l'homme a un appareil génital bien protégé ; l'urètre est plus long.

- Chez certaines femmes, l'augmentation de l'activité sexuelle peut provoquer les symptômes d'une IU **(Berthelemy, 2014).**

- les femmes enceintes sont particulièrement à risque en raison de la pression exercée par le bébé sur le système urinaire, les changements hormonaux, aussi la grossesse dilate les voies excrétrices **(Mauroy *et al*., 1996).**
- après la ménopause, les IU peuvent être plus fréquentes à cause de l'absence de certaines hormones **(Berthelemy, 2014)**.

Les plus grands échantillons arrivés au laboratoire de bactériologie à l'EPH de Médéa sont issus de service de maternité avec un pourcentage de (35%), suivi par médecine interne (29%), pédiatrie (26%), et infectieux (9%).

Les facteurs de risque liés à la survenue d'IU dans notre étude rejoignent ceux de la littérature, à savoir : le sexe féminin, le sondage urinaire et l'infection urinaire à répétition **(Vittori *et al*., 2012 ; Park *et al*., 2012).**

Au cours de notre étude, excepté le tabac et la chirurgie des vois urinaire et l'intubation tous les autres facteurs de risque étaient significativement associés à la survenu d'IU dont la présence de la grossesse et du cancer chez les malades augmente deux fois le risque d'infection urinaire avec un taux de 30 et 33.3 % respectivement.

Pour le diabète on a noté une prévalence de 8% et OR=0.7, et à partir de cela nous concluons que c'est un facteur préventif.

Selon **Maunand (2002)** Les infections urinaires sont souvent plus sévères et plus souvent compliquées lorsqu'elles surviennent chez un patient atteint de diabète.

Notre étude montre que plus de la moitie des cas n'ont pas présenté des signes clinique, par contre la dysurie et l'anorexie sont des signes pathognomonique (17.6%, 11.8%), Ses signes varient selon le germe responsable de l'IU.

Les résultats de l'examen cytologique montre la positivité de 61 cas dont 17 ont une culture positivité .La contamination des prélèvements est de l'ordre de 15.3%,

Selon **Bruyère** et ses collaborateurs une leucocyturie associée à une hématurie et/ou une nitriturie peuvent être causée par une infection urinaire (**Bruyère *et al*., 2008).**

Selon **(Pecher, 1994)** Une concentration inférieure à 103/ml est généralement le reflet d'une contamination et ne permet pas d'affirmer l'existence d'une IU.

Les résultats de l'analyse de la fréquence des espèces microbiennes responsables d'infection urinaire montrent la prédominance des entérobactéries avec un pourcentage de 77.78 %

Puisque l'infection urinaire est presque toujours acquise par voie ascendante à partir de la flore digestive et périnéale, et de ce fait presque toujours composée d'entérobactéries.

Au Maroc, **Sekhsokh** et ses collaborateurs ont trouvé 85 % d'entérobactéries en 2005 (**Sekhsokh *et al*., 2008).**

E. coli occupe la première place (22%) suivi de *Klebsiella pneomonie* (22%%) puis vient en 3ème position pour *Enterobacter* spp (17%) et 11% pour *A. Baumannii* les autres germes *(Pseudomonas aeruginosa ,Staphylococcus* spp…) sont présents avec des pourcentages faibles.

Ces résultats concordent avec ceux de **(Lemort *et al*., 2006)** et **(Prouzergue, 2011)** mettant en relation la présence de cette bactérie avec la physiologie de l'infection urinaire qui est en général ascendante. Il existe une forte colonisation du périnée par les entérobactéries d'origine digestive, et en particulier *E. Coli*.

Ainsi, *E. Coli* possède des adhésines, capables de lier la bactérie à l'épithélium urinaire et d'empêcher son élimination par les vidanges vésicales **(Sekhsokh *et al*., 2008).**

Selon **Larabi *et al* (2003),** *Klebsiella et Proteus* secrètent une uréase qui alcalinise l'urine, dont le pH naturellement acide empêche la prolifération des germes.

Selon **Lobel et Soussy (2007),** *E.coli* est le germe le plus souvent retrouvé au cours de l'IU, cette prédominance est en rapport avec leurs caractères de virulence

De son part, **Perrin** et collaborateurs ont trouvé 63,6 % *d'E. coli* et 6,3 % de *Klebsiella pneumoni*e. **(Perrin *et al*., 1998).**

Concernant l'antibiorésistance cette étude a permis de dégager plusieurs points :

1-Le plus haut taux de résistance est noté avec les bétalactamines :

* entre 50 et 100 % pour *K .pneumonie et A.baumannii* et 60 jusqu'à 100% concernant

E. coli

* résistance à100 % pour l'ampicilline concernant les deux bactéries *E. coli* et *K .pneumonie*

2-La Fosfomycine conserve en revanche une excellente activité sur les 3 bactéries.

3-Sensibilité totale aux aminosides pour *E. coli.*

Une étude réalisée à l'hôpital d'Ain M'lila en Constantine, Algérie, a rapporté que l'ampicilline est devenu l'antibiotique le moins actif sur *E coli* mais les C3G sont en revanche très actifs sur cette bactérie (**Bouzenoune *et al*., 2009).**

On note une résistance à 25 % de *K .pneumonie* à la colistine cependant **Mezghani Maalej** et son équipe ont constaté une résistance de cette espèce à la colistine (60,2 %). **(Mezghani Maalej *et al*., 2012)**

Cette résistance *d'E. coli* et de *K.pneumonie* à l' ampicilline' peut être expliqué par l'utilisation abusive et incontrôlé de ce type d'antibiotique avec ou sans avis d'un médecin.

4-Résistance de 100 % à l'Amoxicilline + Acide clavulanique Pipéracilline, Ceftazidime, Tobramycine et à la Aztréonam .

Selon (**Eyquem *et al*., 2000)** ; *Acinitobacter baumannii* est de puis longtemps méconnu en tant qu'agent d'infections nosocomiales. Il se caractérise par une grande résistance aux antibiotiques et elle est naturellement résistante aux AMINOPENICILLINES, aux CEPHALOSPORINES de 1ère et 2ème génération et le TRIMETHOPRIME.

Ces résultats peuvent être expliqués dans 50 % des isolats que *Klebsiella* à la capacité de produire bêta-lactamases à large spectre et elle est résistante à de nombreuses classes d'antibiotiques ;cependant le pourcentage atteint le 60 % concernant les souches *d'E coli.*

D'une façon générale la fréquence de souches possédant une bétalactamase à spectre élargi (BLSE) est égale à 38.89% des isolas.

Selon les résultats obtenus la distribution globale de la résistance permet d'observer 5 profils pour *E. coli* et 4 profils pour *K.pneumonie* dont le profil APM est commun entre les 2 bactéries.

La multirésistance est présente dans les 3 types de germes isolés.

Elle est observée dans 6 profils regroupent 4 souches dont 2 pour *E .coli* et 2 pour *K. pneumonie* et 2 pour *A .baumannii* .

Une étude Sud-Coréenne récemment publiée **(Akkoyun *et al* ., 2008)** suggère la limitation de l´utilisation des fluoroquinolones et la réduction des procédures invasives telles que le sondage urinaire comme moyen de contrôle sur les facteurs de risque

favorisant multirésistance de la bactériémie nosocomiale à *E.Coli* et à *Klebsiella pneumonie* **(Lazrak *et al*., 2014).**

Conclusion

CONCLUSION

Les infections urinaires représentent une problématique inquiétante de santé en raison de leur fréquence et la diversité des germes responsables. Elles sont souvent considérées comme banales et bénignes, et peuvent aussi avoir des conséquences pathologiques sévères et entrainent des complications graves, notamment des atteintes de la fonction rénale. L'infection urinaire est cliniquement asymptomatique dans la majorité des cas, donc l'ECBU devra être effectué systématiquement, surtout devant toute fièvre inexpliquée.

Cette étude nous a permis de conclure que la fréquence des infections urinaires a été plus importante chez les patients féminins que celui masculin.

L'épidémiologie bactérienne des IU n'a pas beaucoup changé au cours de ces dernières années, elle reste dominée par les entérobactéries. Durant notre étude, les bactéries isolées ont été pour la plupart des bacilles à Gram négatif dont *E. coli* en chef de file suivie par *Klebsiella pneumonie, Enterobacter* spp, *Acinitobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa, Proteus mirabilis* et *Providencia* spp.

Les cocci à Gram positif sont principalement représentées par : *Staphylococcus* spp

Nos résultats révèlent que la prévalence des Entérobactéries productrices de BLSE est assez importante en milieux hospitalier soit 38,89 %. Notant que 60% des souches d'*Escherichia coli* étaient productrices de BLSE suivis par *Klebsiella pneuminiae* (50%), *Enterobacter* spp (33.34%). La seule souche de *Providencia* isolée était aussi productrice de BLSE.

La sensibilité des entérobactéries peut être altéré par le développement d'une résistance provenant de l'utilisation inconsciente des antibiotiques, surtout au sein des établissements de santé où le germe devient plus résistant

- Au terme de notre travail, nous tiendront à signaler l'importance et la pertinence de cette problématique d'une part, et d'autres part il est cruciale de mettre l'accent sur la multifactorialité des causes intervenant dans l'apparition et l'émergence de la multi-résistance des entérobactéries.
- Nous proposant quelques suggestions et recommandations, tant pour les personnels de santé que pour les malades et la communauté :

- Aujourd'hui plus que jamais, la maîtrise de la dissémination des infections urinaires doit passer par l'éducation des personnels en matière d'hygiène, ainsi qu'une politique cohérente d'hygiène notamment dans les services hospitaliers à forte prévalence.
- Le contrôle régulier et la révision de toutes les prescriptions d'antibiotiques «tout en réduisant celles à large spectre», sont utiles et constituent un des facteurs qui va contribuer à l'amélioration de la qualité de la prise en charge des patients.
- Dans ce domaine, plus pratiquement, la coopération permanente entre clinicien et microbiologiste est nécessaire pour un double objectif: thérapeutique et prophylactique : le médecin consulat ne doit pas proposer directement sans tenir compte les résultats de l'antibiogramme.
- La surveillance de la résistance des souches aux antibiotiques doit être continue et systématique, basée sur une politique la prévention des infections nosocomiales et des études épidémiologiques prospectives.
- Orienter les études vers des progrès génétique par l'utilisation des nouvelles technologies de pointe permettant une meilleure caractérisation des supports génétiques des résistances d'une part, et d'autres par pour pallier aux phénomènes de transfert génétique entre les souches bactériennes.
- Finalement, on peut affirmer qu'aucun remède miracle ne permet d'éviter l'émergence des souches résistantes, ce phénomène est enrayé par des « mesures simples » d'hygiène et éducation sanitaire.

.

Référencées bibliographiques

A

-**Abraham E.P, Chain E**. 1940. An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. Nature. 1940 ; 146: P 837.

-**Aiken AM, Mturi N, Njuguna P, Mohammed S, Berkeley JA, Mwangi I et al.** Risk and causes of paediatric hospital-acquired bacteraemia in Kilifi District Hospital, Kenya: a prospective cohort study. Lancet. 2011 ; 378: P 2021–27.

-**Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé**. Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires chez l'adulte. Médecine et maladies infectieuses. juin 2008 ; 38S : 203-P 252.

-**Akkoyun S, Kuloglu F, Tokuç B**. Etiologic agents and risk factors in nosocomial urinary tract infections. Mikrobiyol Bul. APR 2008 ; 42(2):P 245-54.

-**Akpabie A, Prieur B**. Germes urinaires et leur sensibilité aux antibiotiques en gériatrie. Med Mal Infect. 2001 ; 31 :P 461-467.

-**Amazian k , Rossello J ,Castella A , Sekkat S, Terzaki S, Dhidah L, Abdelmoumène T**, **Fabry J.** et les membres du réseau NosoMed Prévalence des infections nosocomiales dans 27 hôpitaux de la région méditerranéenne.2010 ; P 1074-1075.

-**Ana L, Flores-Mireles, Jennifer N Walker, Michael Caparon, and Scott J. Hultgren.** Department of Molecular Microbiology and Center for Women's Infectious Disease Research, Washington University School of Medicine, Box 8230, 660 South Euclid Avenue, St. Louis, Missouri.2015; P 63110–1093, USA.

-**Anderson DJ, Engemann JJ., Harrell LJ, Carmeli Y, Reller LB and Kaye KS.** Predictors of mortality in patients with bloodstream infection due to ceftazidime-resistant Klebsiella pneumoniae. Antimicrob Agents Chemother. 2006 ; 5:P 1715 –1720.

-**Aninch JW Mc, Tanagho EA.** Smith Urologie, Piccin , 12ème édition. 1991 ;P 207-218.

- **Aries W, Dorbane S, Ghiat I,** Infections urinaires communautaires à Escherichia coli, Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du doctorat en pharmacie, université Constantine 1. 2014.

-**Avril J. M, Dabernat H , et Monteil D.** Bactériologie clinique. 3éme Ed. Ed Ellepses. Paris. 2000 ; P 602.

-**Avril J, Dabernat H , Denis F ,et Monteil H**. Bactériologie clinique. Eme édition. Ellipses. Paris.2000 ; P 171-229.

B

-**Bent S, Nallamoth BK, Smil DL, et al**. Does Woman have a cute Urinary Tract infection. JAMA 2002 ; 287 :P 2701-10.

-Bergogne B. Infection urinaire basse épidémiologie bactérienne et recommandation. Edition Ellipses.2006 ; P 2-3.

Bergogne-Bérézin E. Antibiothérapie des infections urinaires basses, bases cliniques, microbiologiques et pharmacologiques. Actualités thérapeutiques, Antibiotiques.2006 ; 8 : 51-62.

-Berthélémy S. «Une patiente souffrant d'une infection urinaire », Masson, France, Actualités pharmaceutiques. 2014 ; N° 536 : P 41-44.

-Bialek-Davenet S, Marcon E, Leflon-Guibout V, Lavigne J.P, Bert F, Moreau R and Nicolas-Chanoine M.H. In vitro selection of ram R and sox R mutants overexpressing efflux systems by fluoroquinolones as well as cefoxitin in Klebsiella pneumoniae. Antimicrob. Agents Chemother.2011 ; 55 (6): 2795–2802.

-Botto H. 2003. Infections urinaires nosocomiales de l'adulte.2003 ; conférence de consensus 2002.

-Bouzenoune, Boudersa F, Bensaad A, Harkat F , Siad N. Les infections urinaires à Ain M'lila (Algérie). Résistance aux antibiotiques des 239 souches isolées entre 2006 et 2007 Med Mal Infect 39. 2009 ;142–143.

-Brahimi L, Sensibilité aux antibiotiques des Entérobactéries isolées d'infections urinaires. Thèse pour l'obtention du doctorat en pharmacie, Université Rabat. 2013.

-Bruyère F, Cariou G, Boiteux J-P, Hoznek A, Mignard J-P, Escaravage L, Bernard L, Sotto A, Soussy C-J, Coloby P. le CIAFU Progrès en Urologie 18 Suppl. 1.2008 ; S1-S3.

-Bruyère F, Cariou G, Boiteux J-P, Hoznek A, Mignard J-P, Escaravage L, Bernard L, Sotto A, Soussy C-J, Coloby P. et CIAFU, (2008). Les infections urinaires. Progrès en Urologie 18 Suppl.1. 2008 ; S4-S8.

-Bryskier A. 1999. Antibiotiques. Agent antibactériens et antifongiques. Ellipses ; Paris.1999 ; p 54- 436-445.

C

-Caron F. Physiopathologie Des Infections Urinaires Nosocomiales. Médecine Et Maladies Infectieuses. 2003, P 438–446.

-Cavallo JD, Garrabé E. Outils du diagnostic biologique des infections urinaires nosocomiales (IUN) : analyse critique, France. Med Mal Infect. 2002 ; 33 (2003) : P 447–456.

-Cavallo J-D, Fabre R, Jehl F, Rapp C, Garrabé E. (2004). Bêtalactamines. EMC-Maladies infectieuses.1. 2004 ; P 129-202.

-Colasson F, Darracq Paries Jc, et Al. Les risques foetaux et maternels dans l'infection urinaire gravidique. Rev Fr. Gynécol. Obstétr. 1981 ;76 : P 269-78.

-Conférence de consensus co-organisée par la société de pathologie infectieuse de langue française (SPILF) et **l'Association Française d'Urologie (AFU**), infections urinaires nosocomiales, Paris : institut pasteur. Novembre 2002.

-Coque T, Baquerot F, and Canton R. 2008. Increasing prevalence of ESBL producing Enterobacteriaceae in Europe. Eurosurveillance.2008; 13(47) : 1–11.

-Cristian C. Microbiologie Hygiène Base microbiologiques de la diététique. Ed. TEC & DOC Lavoisier, Paris.2008 ; p 76 -86-257.

-Cruse P.J.E, Foord R, The epidemiology of wound infection, A 10-year prospective study of 62 939 wounds, Surg Clin North Am. 1980 ; 60 : 27-40.

-Chaabane A, Aouama K, Boughattas NA, Chakroun M. (2009). Allergie aux bétalactamines: mythe et réslités. Ed Elsevier Masson. Médicine et maladies infectieuses. 2009 ; 39 :P 278-287.

-Chaplin C. Conduite à tenir devant une bactéries multirésistante. Mise au point en anesthésie réanimation. 1997 ; P 563-573.

D

Dali-yahia R, Boubekri I,and Boumendii K. Résistance des bactéries aux antibiotiques : rappels et situation à l'EHUO (rapport présenté au CLIN).2010 ; Service de bactériologie de l'EHUO.

- **DeAngelis G, Allignol A, Murthy A, Wolkewitz M, Beyersmann J, Safran E et al**. Multistate modelling to estimate the excess length of stay associated with meticillin resistant Staphylococcus aureus colonization and infection in surgical patients. Journal of Hosp Infect . 2011; 78 : P 86 -91.

- **Denis F, Ploy C. M, Martin C, Bingen E. et Quentin R.** Bactériologie médicale : Techniques usuelles. Ed. Elsevier Masson SAS. 2007 ; p 335-401.

-Diallo A. Escherichia coli pathogène et résistance aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaine et animale : Prévalence et caractérisation avant et après traitement épuratoire. Thèse de doctorat. Université Paul Sabatier. Toulouse. 2013 ; p 59.

-Doco-Lecompte T, Maladies Infectieuses et tropicales Commission spécialisée des antibiotiques. 24 juin 2008, http: //www. Passeportsante. Net /fr/P/Loupe/Fiche.aspx,doc=infection_urinaire_gr.gif. 24 juin 2008.

-Drancourt M. Klebsiella pneumoniae. In Freney J, Renaud F, Leclerecq R, Riegel P. Précis de bactériologie clinique.2007 ; Edition ESKA : 1111-1114.

-Dublanchet A, Patey O, Phagothérapie, expérience personnelle alternative ou complément a l'antibiothérapie, centre hospitalier intercommunal de Villeneuve St Georges .2011.

E

-Eyquem A, Alouf J, Montagnier L. « Traité de microbiologie clinique: deuxièmes mises à jour et compléments », PICCIN, Italie. 2000 ; PP 84-85, ISBN: 88-299-1545-9.

F

- **Fauchère J-L, Avril J-L (2002)**. Bactériologie générale et médicale. Ed ellipses. 2002 ; p 280.

-Fisher J-F, Meroueh S-O et al. (2005). "Bacterial resistance to beta-lactam antibiotics: compelling opportunism, compelling opportunity". Chem Rev.2005 ; 105 (2): 395-424.

- Freney J, Croze M. Entérobactériaceae-généralités. In Freney J, Renaud F, Leclerecq R, Riegel P .Précis de bactériologie clinique. 2007 ;Edition ESKA :P 979-798.

-Frédéric J, Elvire M-K, Audrey M, Jean DC. les difficultés d'interprétation de l'examen cytobactériologique des urines, Revue Francophone des Laboratoires, volume 2008, issue 406.Novembre 2008 ; P 51-59.

G

-Galimand M, Sabtcheva S, Courvalin P,et Lambert T. Worldwide disseminated armA aminoglycoside resistance methylase gene is borne by composite transposon Tn1548. Antimicrob Agents Chemother.2005; 49: P 2949-2953.

-Geoffry W. Phagothérapie : principes et perspective – Paris. 2010 ; P 94.

- Georgopapadakou N.H. Penicillin-binding proteins and bacterial resistance to β-lactams. Antimicrob. Agents Chemother. 1993 ; 37: P 2045-2053.

-Guy Albert K, Mémoire L'étude bactériologique des infections urinaires au centre Pasteur du Cameroun. 2008 ;10P : P 11- 50.

H

-Haab F, Costa P, Colau J-C, Gérard A, Liard F, Bohbot J-M, Leng J-J, Lobel B, Soussy C-J, Boulanger P. « Les infections urinaires de la femme en médecine générale: Résultats d'un observatoire réalisé auprès de 7916 patientes », Masson, Paris, France, La Presse Médicale.2006, Vol 35, Issue 9, Part 1.2006 ; P : 1235-1240.

-Hannedouche T, Infection Urinaires. Nephrohus online. 2000.

-Humbert G, Ecologie bactérienne des infections urinaires. L'Eurobiologiste. 1997 ; p 31-59.

-Hannedouche T, Infection Urinaires. Nephrohus online. 2000.

-https://www.coloplast.fr/Global/France/Sondes/Incontinence_appareil_urinaire, 512x338.jpg (Anonyme 1)

-http://www.medecine-et-sante.com/gimages/urinair_fem.jpg http://www.medecine-et-sante.com/gimages/urinair_hom.jpg (Anonyme 2)

J

-Janviera F, Mbongo-Kamaa E, Merensa A, Cavallo JD. Les difficultés d'interprétation de l'examen cytobactériologique des urines. Revue Francophone des laboratoires. 2008; N°406.

-Joly B. et Reynaud A.(2002). Entérobactéries : Systématique et méthodes de diagnostic. Ed TEC & DOC et Ed médicales Inter Nationales. Paris.2002 ; P 356.

-Joly B, Reynaud A. Entérobactéries. Systématique et méthodes de diagnostic (Coll. Monographie de microbiologie). 2003.

-Joly B. et Reynaud A.(2002). Entérobactéries : Systématique et méthodes de diagnostic. Ed TEC & DOC et Ed médicales Inter Nationales. Paris.2002 ; P 356.

K

-Kim YK, Pai H, Lee HJ, Park SE, Choi EH, Kim J, Kim JH, and Kim EC. Bloodstream infections by extended -spectrum β-lactamase -producing

Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae in children: epidemiol ogy and

clinical outcome. Antimicrob. Agents Chemother. 2002 ; 46: P 1481-1491.

-**Kim BN, Woo JH, Kim MN, Ryu J, and Kim YS.** Clinical implications of extended-spectrum beta-lactamase producing Klebsiella pneumoniae bacteremia. Journal Hosp Infect. 2002 ; 52 :P 99 -106.

-**Kumar A, and Schweizer, H.P**, Bacterial resistance to antibiotics: Active efflux and reduced uptake. Adv Drug Delivery Rev, 2005, 57: P 1486-1513.

L

-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.

-**Lobel B, Patard JJ. Guille F**. Infection nosocomiale en urologie, Encycl Méd Chir, Urologie, 2003, 18-080-A-10, P 4.

- **Lobel B et Soussy C**, Les infections urinaires – Paris, 2007, 82p.

-Lobel. B et Soussy. C-J. « Les infections urinaires », Springer, Paris, 2007, PP 10-13, ISBN-13 : 978-2-287- 25172-6.

- **Lecomte F**, Infections urinaires. Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris), AKOS Encyclopédie pratique de Médecine, 4-0880, 1990, P4

- **Le Minor L. et Veron M. (1989)**. Bactériologie médicale. 2e édition. Edition Flammarion Médecine-Sciences. Paris. P 312-459.

-Livermore DM, "Bacterial Resistance: Origins, Epidemiology, and Impact," An O fficial Publication of the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis, 2003, 36(1): P 11–13.

-**Livrelli V, Boonet R, Joly B**, Darfeuille-Michaud A, Escherichia coli et autre Escherichia, Shigella. In Freney J, Renaud F, Leclercq R, Riegel P, Précis de bactériologie clinique, 2007, Edition ESKA, P 989-1004.

-Les services du ministère de la santé, Santé publique. Les infections nosocomiales, Médecine et Droit, 2005, P 15-22.

M

- Madigan M. et Martinko J. (2007). Biologie des micro-organismes. 11

ème Edition. PEARSON Education, France. P 354-355.

-Mal M, 2éme conférence de consensus en thérapeutique, anti-infectieuse. Antibiothérapie des voies urinaires, 1991, 12 : P 51-4.

-Masterton R., Drusano G, Paterson D.L, and Park G. 2003. Appropriate antimicrobial treatment in nosocomial infections-the clinical challenges. J Hosp Infect.2003; 55: P 1–12.

-Mauroy B, Beuscart C, Biserte J, Colombeau P, Cortesse A, Delmas V, Fendler J-P, Mangin P, Mouton J, Tostain. Y .« L'infection urinaire chez la femme enceinte », Roubaix, France, Progrès en Urologie. 1996 ; 6 : P 607-622

-Medeiros A. β-lactamases. Bnt. Med. Buli. 1984 ; 40 : P 18-27.

-Meradi L, Djahoudi A, Abdi A, Bouchakour M, Perrier Gros Claude J-D, Timinouni M. 2009.Resistance aux quinolones de types qnr, aac (60)-Ib-cr chez les entérobactéries isolées a` Annaba en Algérie. Pathologie Biologie 59(2011) e73-e78.>, texte court. Médecine et maladies infectieuses.2003 ; P 370–375.

-Meyrier A. Les infections de l'appareil urinaire. Ed. Méd. Merck, Sharp, Dohme, et Chibret. Paris: 1, 1985 : P 226

- Meziani M. Mémoire de Magistère, Contribution du diagnostic biochimique bactérien dans l'établissement des parentés phylogénétiques : Cas des Entérobactéries et Pseudomonas, Université Mentouri Constantine.2012 ; p 3

-Mezghani Maalej S, Rekik Meziou M, Mahjoubi F, Hammami A. « Épidémiologie de la résistance à la colistine chez les entérobactéries à Sfax (Tunisie) », Masson, Sfax, Tunisie, Médecine et maladies infectieuses. 2012, Vol 42 ; N°6 : P 256-263.

-**Mohamed A. L , Ghita E.B, Soumia J, Nadia K**, **Mohamed A, Tarik S.H** .Profil de l'infection urinaire nosocomiale dans un service de nephrology. 2014 ; P 3-4.

N

-**Nauciel C.** Bactériologie médicale. Ed ellipses. 2000 ; P 56.

-**Neuwirth C, Siebor E, Duez J.M, Péchinot A and Kazmierczak A**. Imipenem resistance in clinical isolates of Proteus mirabilis associated with alterations in penicillinbinding proteins. J Antimicrob Chemother. 1995 ; 36(2): P 335–342.

- **N icolle LE, Bjornson J**, Harding GKM, Mac Donell, JA, Bacteriuria in elderly institutionalized men, N Engl J Med,(2002). 309: P 1420-1425.
-**N ikaido**, H, "Crossing the envelope: how cephaslosporinsreach their targets." Clin Microbiol Infect, 2000, 6: P 22-26.

-**Nordmann P, Cuzon G, Naas T**. The real threat of Klebsiella pneumoniae carbapenemase-producing bacteria. Lancet Inf Dis. 2009 ; 9 : P 228-36.

- **Nour C,** Germes urinaires et leur résistance, thèse de pharmacie, Faculté de médecine et pharmacie de Rabat, Université Mohammed. 2004, ; N° 60.

O

- **Organisation Mondiale de la Santé**. Manuel sur le PCIME: la prise en charge des maladies de l'enfant.

P

-**Park SY, Kang CI, Joo EJ**. Risk Factors for Multidrug Resistancein Nosocomial Bacteremia Caused by Extended-Spectrumβ -Lactamase-Producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae. Microb Drug Resist. Oct 2012 ;18(5):P 518-24.

-**Paul H. Roy**. Dissémination de la résistance aux antibiotiques : le génie génétique à l'œuvre chez les bactéries. Médecine/ sciences.1997 ; n° 8-9 : vol. 13.

-**Patterson, J.E**. 2001. Antibiotic utilization: is there an effect on antimicrobial resistance. Chest. 2001 ; 119: P 426–30.

-**Pecher j-c , jacobs .** le diabète sucré. 2eme édition ; édition maloine, canada.1994.

-**Perino L**. Infections urinaires cystite aigue de la femme, Actualité claude Bernard INFO Lyon1. 2012.

-**Perrin M, Le Garzic J, Tas A, Avril J-L.** « Infections urinaires communautaires et nosocomiales à bacilles à Gram négatif en milieu gériatrique », Masson, USA, Médecine et Maladies Infectieuses. 1998 ; Vol 28 ; Issues 6-7, P 505–510.

-**Perronne Christain.** Maladies infectieuses. 1999 ; Vol 1 : p 65.

-**Pourrat et Guibert.** Bilan urinaire en pratique médicale quotidienne, Biologiste et praticien,Paris. 1993 ; N° 93.

-**Poyart C**. Cours de professeur POYART dans la Faculté de Médecine Necker-Enfants malades. 2003 ; p 62.

R

-**Rahal K, Benslimani A, Tall-Maamar H, Missoum M.F.K, Kechih-Bounar, Ammari H.** Standardisation de l'antibiogramme A L'Echelle National (MEDECINE HUMAIN ET VETERINAIRE). 2011 ; 6 éme Edition : P 25-26.

-**Rahal K, Benslimani A , Tali-Maamar H, Missoum M.F.K, Kechih-Bounar S, Ammari H** ,2011 Standardisation De l'antibiogramme A L'Echelle Nationale (MEDECINE HUMAIN ET VETERINAIRE).2011 ; 6éme Edition : P 50-51.

-**REMIC**. Examen cytobactériologique des urines, 3me édition pp 25-30. Référentiel en microbiologie médicale, Edition 2M2, Montmorency. 2007 ; p 25-30.

-**Réseau de surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotique**. Ministére de la santé de la population et de réforme hospitaliére, Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques : 13éme rapport d'évaluation, 2011 ; P 140.

-**Robin F, Gibold L, Bonnet R,** Résistances naturelles et acquises aux β- lactamines chez les entérobactéries : comment les identifier en pratique quotidienne, Revue Francophone des laboratoires. 2012 ; 445: P 47-58.

-Rossant L, Rossant-Lumbroso J, Encyclopédie médicale, Les infections urinaires. 2010.

S

-Schwaber M.J, and Carmeli Y. 2007. Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum beta-lactamase production in Enterobacteriaceae bacteraemia: a systematic review and meta-analysis. J Antimicrob Chemother.2007 ; 60 : P 913-920.

-Sekhri A. N. Fréquence et marqueurs épidémiologiques de Klebsiella pneumoniae dans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Benbadis de Constantine. Thèse pour l'obtention du grade de Docteur en sciences .Université Mentouri Constantine.2011 ; p 44.

-Sekhsokh Y, Chadli M, El Hamzaoui S.A. « Fréquence et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées dans les urines », Masson, Rabat, Maroc, Médecine et Maladies Infectieuses. 2008 ; Vol 38, Issue 6, P 324–327.

-Sirot D, et al., Transferable resistant to third generation cephalosporins in clinical isolates of Klebsiella pneomoniae : identification of CTX-1 a novel beta- lactamase. J Antimicrob chemother, 1987 ; 20 : p 323-33.

- **Spratt B.G, Zhang Q.Y, Jones D.M, Hutchison A, Brannigan J.A and Dowson C.G.** Recruitment of a penicillin-binding protein in gene from Neisseria flavescens during the emergence of penicillin resistance in Neisseria meningitidis. Proc Natl Acad Sci. USA. 1989 ; 86(22): P 8988-8992.

- **Squali Z**. Examen cytobactériologique des urines (ECBU). 2007 ; P 21-22.

-Stephan R , et Untermann F. Virulence Factors and Phenotypical Traits of

Verotoxin-Producing Escherichia coli Strains Isolated from Asymptomatic Human Carriers. J Clin Microbiol. 1999 ; 37: 1570-1572.

-Storberg Viktor. ESBL -producing Enterobacteriaceae in Africa - a non-systematic literature review of research published 2008-2012. Infection

Ecology and Epidemiology . 2014 ; 4 : P 20342.

- **Stewardson A, Fankhauser C, De Angelis G, Rohner P, Safran E, Schrenzel J et al**. Burden of bloodstream infection caused by extended-spectrum beta -lactamase -producing Enterobacteriaceae determined using multistate modeling at a Swiss University Hospital and a nationwide predictive model. Infect Control Hosp Epidemiol. 2013; 34: P 133 -43.

-**Soussy CJ, Carret G, Cavallo JD et al**. Antibiogram Committee of the French Microbiology Society. Report 2000–2001. Pathol Biol . 2000; 48: P 832 –71.

-**Surveillance des bactéries multirésistantes dans les établissements de santé en France**, Réseau BMR-Raisin,Résultats. 2005.

T

- **Tansarli GS, Poulikakis P, Kapaskelis A and Falagas ME**. Proportio n of extended-spectrum bet -lactamases (ESBL)-producing isolates among Enterobacteriaceae in Africa: evaluation of the evidence-systematic review. J Antimicrob Chemother . 2014; 69: P 1177 -1184.

-**Toutou Sissoko M**, Infections Urinaires A Bamako, Aspects Epidemiologiques, Bacteriologiques Et Cliniques, Thèse De Pharmacie Faculté De Médecine De Pharmacie Et D'odontostomatologie, université de BAMAKO. 2006.

V

-**Vincent J.** Bactéries multirésistantes dans les hôpitaux français : bilan en 2000 et perspectives de surveillance nationale dans le cadre du Réseau d'Alerte d'Investigation et de Surveillance des Infections Nosocomiales (RAISIN). 2000.

-**Vittori M, D'Addessi A, Sasso F**. Microbio logical follow-up of nosocomial infections in a single urological center. Urologia.Dec 2012; 79 (19): P 147-51.

-**Vora S, Auckenthaler R.** Q ue signifie «bêtalactamases à spectre élargi» en pratique? Rev Med Suisse. 2009 ; 5: P 1991-1994.

W

-**Walsh C,** Antibiotics: actions, origins, resistance, American Society for Microbiology press, Washington. 2003.

-**Wolff M, Joly-Guillou ML, Pajot O. (2009)**. Les carbapénèmases. Comparative review of carbapenemes. Reanimation. 2009 18: P 199- 208.

Y

-**Yala D, Merad A-S, Mohameddi D, Ooar Korich M-N. (2001)**. Classification et mode d'action des antibiotiques. Ed Médecine du Maghreb.2001. 91 :1.

-**Yala D, Merad A.S, Mohamedi D et Ouar Korich M.N**. Classification et mode d'action des antibiotiques. Médecine du Maghreb.2001 ; n°91.

-**Yoshimura F, and N ikaido, H**, Permeability of Pseudomonas aeruginosa outer membrane to hydrophilic solutés. J Bacteriol, 1982, 152(2): P 636-642.

Z

-**Znazen A et al.** Résistance de streptococcus pneumoniae aux antibiotiques en Tunis : étude multicentrique, Laboratoire de Microbiologie, CHU Habib Bourguiba, Sfax. Laboratoire de Microbiologie, Hôpital d'enfant, Tunis. Laboratoire de Microbiologie, CHU Charles Nicolle, Tunis. 2004.

Annexes

LES ANNEXES

Annexes 1 : **ETABLISSEMENT PUBLIQUE HOSPITALIER DE MEDEA**

SERVICE D'EPIDEMIOLOGIE ET DE MEDECINE PREVENTIVE

Etude de prévalence des infections urinaire à l'EPH Médéa

Date de l'enquête : / /2018

Service : (1) Médecine interne (2) Pédiatre (3) Maternité (4) Infectieux

2-Les donnés de population :

-Code d'admission :

-Age (date de naissance) :

-Sexe : (1) masculin (2) féminin

-Qualité d'admission : (1) malade (2) Garde malade (3) personnel

-Date d'hospitalisation: / /2018

3-Dispositif invasif :

Sondage urinaire : Oui /Non

Type : (1) Sonde 2G (2) Sonde 3G (3) Auto sondage Durée de sondage :

Intubation : Oui /Non Cathéter central: Oui /Non Cathéter sous cutané : Oui /Non

4- Aspect clinique :

Hospitalisation antérieure: Oui /Non Motif d'hospitalisation :

Traitement d'antibiotiques avant 24h d'hospitalisations : Oui /Non

Signe clinique :

(1) Fièvre, (2) Anorexie, (3) vomissement, (4) Diarrhée, (5) dysurie (6) pollakiurie

5- **Prélèvement et résultat de laboratoire :**

Malade est il prélevée : Oui /Non Bandelette urinaire : 1(+) 2(++) 3(+++) 4(-)

Cytologie : leucocytaire : (1) présence (2) absence

- germe : (1) présence (2) absence

Nombre de germe : 1- 2-

Type de germe :

Culture : LSB AIU Contaminé positif Non réalisé

Résistance de germe : .....

6-ATCD du patient

Immunodépression : oui /non chirurgie des vois urinaire : Oui /Non

Cancer évolutif: Hémopathie /Tumeur solide /pas de tumeur -Diabètes: Oui /Non

-Tabac : Oui /Non - Obésité : Oui /Non -Grossesse en cours : Oui /Non

Annexes 2 :

Table de lecteur : valeur critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour les entérobactéries.

ATB testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)		
		R	I	S	R	I	S
Ampicilline	10 µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	≥ 32	16	≤ 8
Amoxicilline + Acide clavulanique	20/10 µg	≤ 13	14 – 17	≥ 18	≥ 32/16	16/8	≤ 8/4
Céfazoline	30 µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 8	4	≤ 2
Céfalotine	30 µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Cefoxitine	30 µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Céfotaxime	30 µg	≤ 22	23 – 25	≥ 26	≥ 4	2	≤ 1
Ceftriaxone	30 µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1
Imipénème/Meropénème	10 µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1
Ertapénème	10 µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23	≥ 1	0,5	≤ 0,25
Amikacine	30µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16
Gentamicine	10 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4
Acide nalidixique	30 µg	≤ 13	14 – 18	≥ 19	≥ 32	-	≤ 16
Ciprofloxacine	5 µg	≤ 15	16 – 20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1
Chloramphénicol	30 µg	≤ 12	13 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Colistine	-	-	-	-	-	-	-
Furanes	300 µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 128	64	≤ 32
Fosfomycine	200 µg	≤ 12	13 – 15	≥ 16	≥ 256	128	≤ 64
Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole	1.25/23.75 µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 4/76	-	≤ 2/38

CMI : Consentration minimale inhibitrice.

S : sensible

R : Resistant

I : Intermédiar

Annexes 3 :

Tableau 2 : liste des antibiotiques à tester pour les bactéries non exigeante.

Entérobactéries	*Pseudomonas spp.*	*Acinetobacter spp.*	*Staphylococcus spp.*	*Enterococcus spp.*
Ampicilline* (10 µg)	Ticarcilline (75 µg)	Ticarcilline (75 µg)	Pénicilline (10 UI)	Ampicilline* (10 µg)
Amoxicilline + Acide clavulanique (20/10 µg)	Ticarcilline + acide clavulanique (75/10 µg)	Ticarcilline + acide clavulanique (75/10 µg)	Oxacilline (1 µg)	Gentamicine (120 µg)
Céfalotine **** (30 µg)	Pipéracilline (100 µg)	Pipéracilline (100 µg)	Cefoxitine (30 µg)	Streptomycine (300 µg)
Céfazoline (30 µg)	Ceftazidime (30 µg)	Ceftazidime (30 µg)	Amikacine (30 µg)	Erythromycine (15 µg)
Cefoxitine (30 µg)	Aztréonam (30 µg)	Imipénème (10 µg)	Gentamicine (10 µg)	Furanes (300 µg)
Céfotaxime** (30 µ g)	Imipénème (10 µg)	Amikacine (30 µg)	Kanamycine (30 µg)	Tétracycline *** (30 µg)
Imipénème (10 µg)/ Meropénème (10 µg)	Amikacine (30 µg)	Gentamicine (10 µg)	Erythromycine (15 µg)	Vancomycine (30 µg)
Ertapénème (10 µg)	Gentamicine (10 µg)	Tobramycine (10 µg)	Clindamycine (2 µg)	Teicoplanine (30 µg)
Amikacine (30 µg)	Tobramycine (10 µg)	Nétilmicine (CMI seulement)	Pristinamycine (15 µg)	Lévofloxacine (5 µg)
Gentamicine (10 µg)	Nétilmicine (30 µg)	Ciprofloxacine (5 µg)	Ofloxacine (5 µg)	Rifampicine (5 µg)
Acide nalidixique (30 µg)	Ciprofloxacine (5µg)	Lévofloxacine (5 µg)	Chloramphénicol (30 µg)	Fosfomycine (200 µg)
Ciprofloxacine (5 µg)	Lévofloxacine (5 µg)	Doxycycline*** (30 µg)	Vancomycine (CMI seulement)	Quinupristine – Dalfopristine (15 µg)
Colistine (10 µg) *****	Fosfomycine (50 µg) +50 µg G6P	Triméthoprime + Sulfaméthoxazole (1.25/23.75 µg)	Teicoplanine (30 µg)	Chloramphénicol (30 µg)
Chloramphénicol (30 µg)	Rifampicine (30 µg)	Colistine (CMI seulement)	Rifampicine (5 µg)	
Furanes (300 µg)	Colistine (10 µg)	Rifampicine (30 µg)	Triméthoprime + Sulfaméthoxazole (1.25/23.75 µg)	
Triméthoprime + Sulfaméthoxazole (1.25/23.75 µg)			Tétracycline*** (30 µg)	
Fosfomycine (200 µg)			Acide fusidique (10 µg)	
			Fosfomycine (50 µg)	
			Composé vibriostatique O/129 *****	

* Répense d'interprétation valable pour l'amoxicilline

** Répense d'interprétation valable pour céfriaxone, céfxime, céfoperazone, céfdimiret cefpodoxime .

*** Répense d'interprétation valable pour tétracycline et doxycyilime

**** répense d'interprétation valable pour céfalexine, céfaclor.

*****ATB testé a visée diagnostic

SPP : sous espéce

Annexe 4 :

Tableau 05 : Technique d'antibiogramme (diffusion de disque antibiotique).

Milieu pour l'antibiogramme
- Il doit être coulé en boites de Pétri sur une épaisseur de 4 mm - Les géloses doivent être séchées avant l'emploi
Préparation de l'inoculum
- A partir d'une culture pure de 18 à 24 heures sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Dans le cas de *Streptococcus* spp. et d'*Haemophilus* spp. utiliser un écouvillon pour prélever plus facilement les colonies bactériennes. - Bien décharger l'anse ou l'écouvillon dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile a 0,9%. Dans le cas de *Neisseria gonorrhoeae*, décharger l'anse dans 1 à 2 ml de tampon phosphate stérile à pH 7,2. - Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 MF ou à une D.O. de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm. L'utilisation d'un densitomètre est fortement souhaitable. - La suspension bactérienne à 0,5 MF doit être diluée au 1/10ème dans le cas où l'on teste des molécules à charge SFM (c'est-à-dire des ATB pour lesquels il n'existe pas encore de critères d'interprétation dans la technique CLSI).
Ensemencement
- Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum. - L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) 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 boite de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. - Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boites de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.
Application des disques d'ATB
- Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'ATB sur une boite de 90 mm. - Pour les bactéries exigeantes (Streptococcus spp., *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus* spp…..), ne pas mettre plus de 4 disques par boite de 90 mm. - Presser chaque disque d'ATB à l'aide de pinces bactériologiques stériles et ne pas déplacer les disques après application. La liste des ATB à tester selon la bactérie isolée, figure dans les tableaux n° 1 et 2.
Conditions d'incubation
- Respecter la température, l'atmosphère et la durée d'incubation recommandées pour chaque bactérie (voir tableau n°5).
Lecture
- Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse. - Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton simple, les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boite de Pétri fermée. - Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton au sang, les mesures de diamètres de zones d'inhibition seront prises, boite de Pétri ouverte et bien éclairée. - Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes. Classer la bactérie dans l'une des catégories S, R ou I.

Annexes 5 :

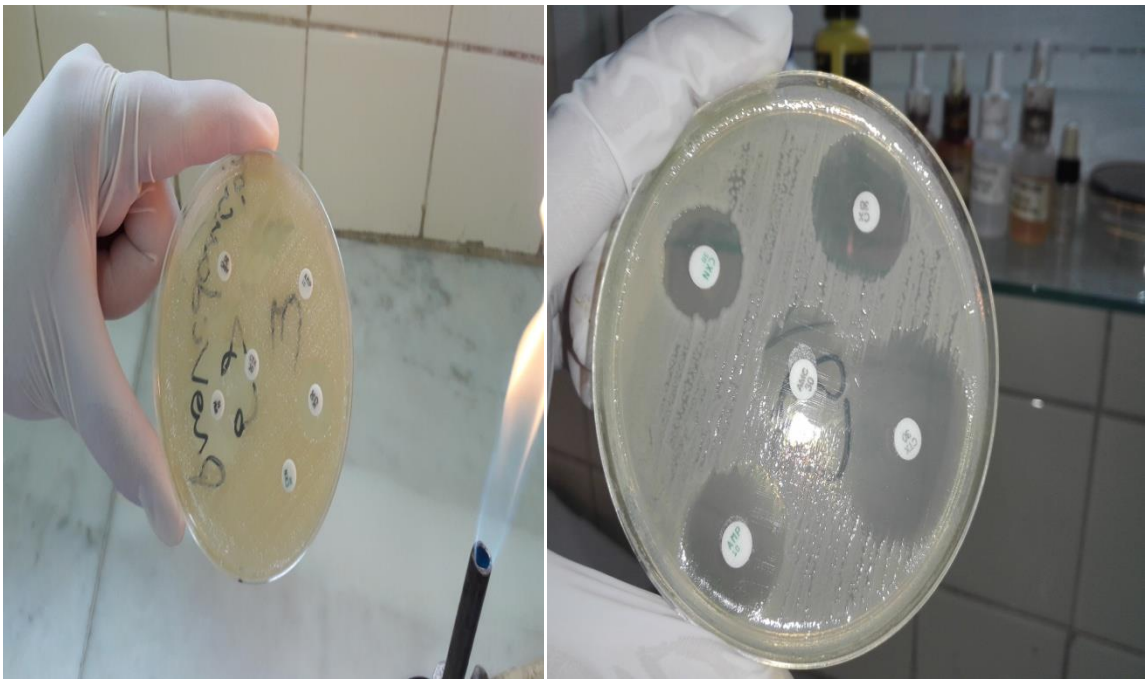


Figure 1 : L'Antibiogramme de souche *providencia spp.*



Figure 2 : Aspect des colonies d' *E.coli* sur le milieu Hektoen.

Annexes 6 :

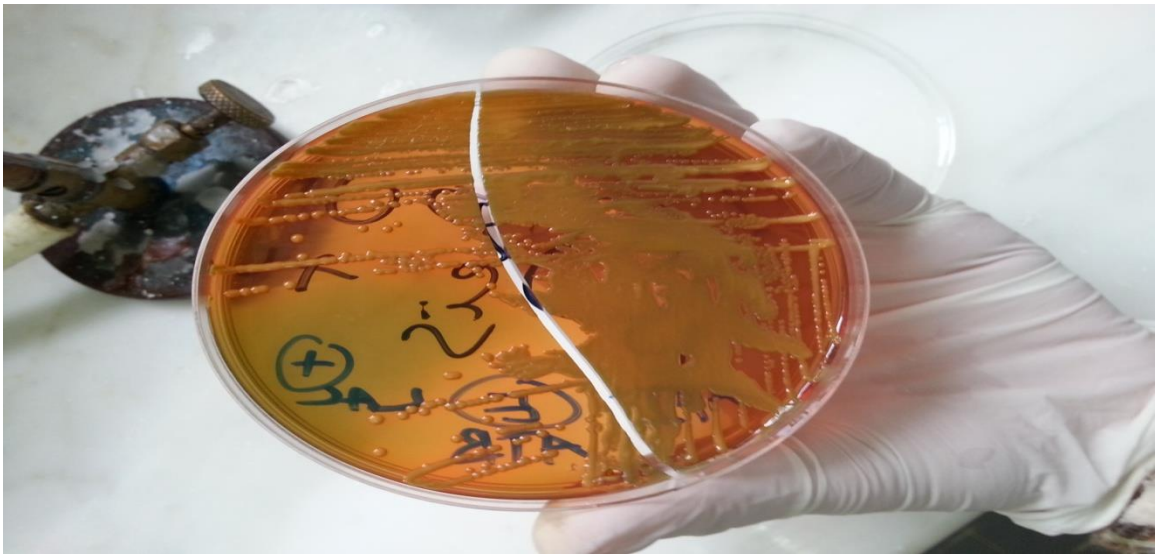


Figure 2 : Aspect des colonies de *klebsiella pneumoniae* sur milieu Héktoen.(photo originale)

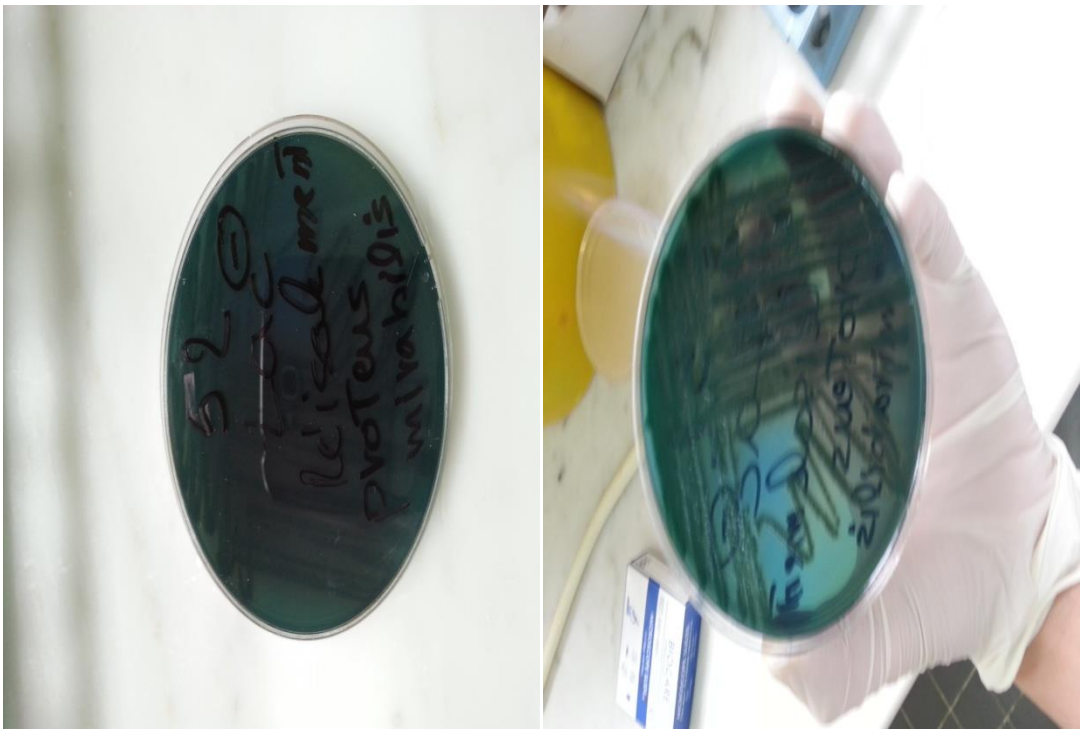


Figure 3 : Aspect des colonies de proteus mirabilis sur milieu Héktoen.(photo originale)

Annexe 7 :

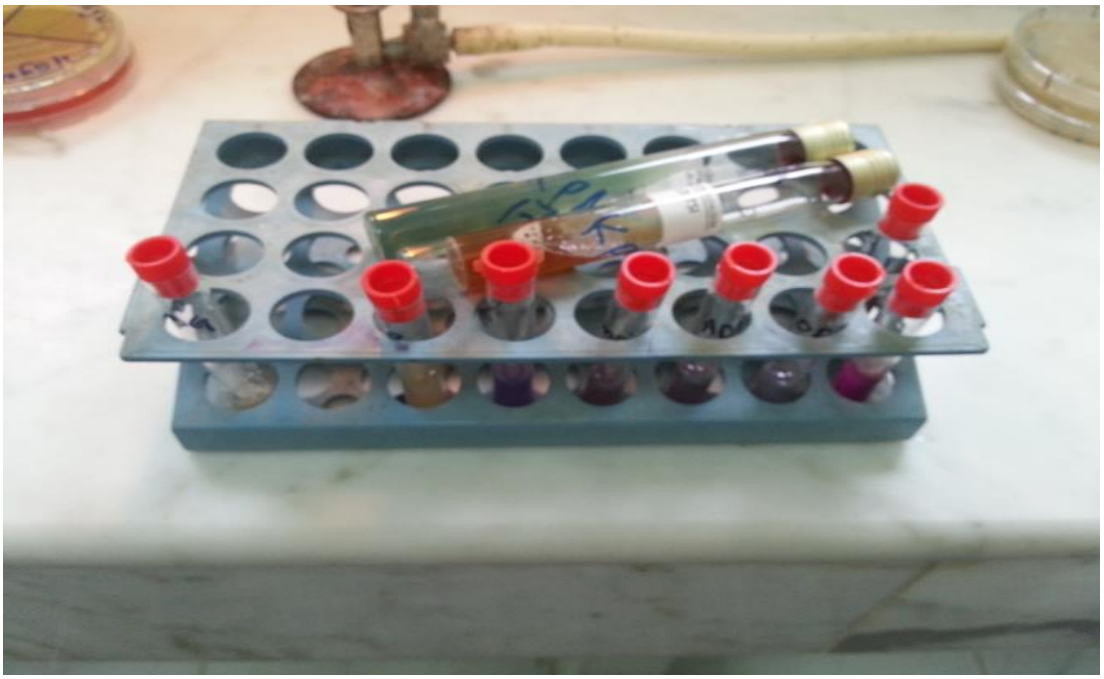


Figure : La galeries classique de souche KPN productrice de BLSE (photo originale).



Figure : L'Antibiogramme de klebsiella pneumoniae productrice de BLSE (photo originale).

Annexe 8 : Test de confermation ou technique de double disque pour la détection des EBLSE.

Indications	Ce test devra être fait systématiquement devant : - L'absence de synergie avec diminution des diamètres des C3G - La présence d'une résistance aux molécules suivantes : ampicilline, ticarcilline, céfazoline avec un diamètre < 6 mm, par contre l'AMC[1] présente un diamètre d'inhibition.
Technique	Ce test se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme. - Appliquer les disques d'ATB : - Déposer un disque d'AMC et un disque de C3G (CTX[2] ou CRO[3]) à une distance de 30 mm (centre à centre). - Laisser diffuser les ATB pendant une heure, à la température ambiante (sur la paillasse), la boite sera déposée couvercle vers le haut. - Apres 1H d'incubation, ôter le disque d'AMC (ou de TCC[6]) et le remplacer par un disque de CTX ou CRO (ou CAZ[4]). - Incuber la boite 18 heures à 35°C.
Lecture et interprétation	Le test du double disque est positif quand le diamètre d'inhibition autour du C3G, appliqué après diffusion du disque AMC ou TCC est ≥ 5 mm par rapport au diamètre d'inhibition autour du disque de C3G.
Contrôle de qualité	Les mêmes techniques seront réalisées en parallèle pour les souches : - *E. coli* ATCC 25922 non productrice de BLSE. - *K. pneumoniae* ATCC 700603 productrice de BLSE.

AMC : Amoxicilline + acide clavulanique.

CTX : Céfotaxime. **CRO** : ceftriaxone. **CAZ** : ceftazidime. **ATM** : aztréonam.

TCC : Ticracilline + acide clavulanique . **CMI** : Concentration minimale inibitrice.

ATCC : Amzerican type culture collection.

Annexe 9 : Teste de synergie pour la détection des EBLSE.

Les BLSE dérivées des enzymes de classe A (Ambler) sont inhibées par les inhibiteurs de ß-lactamases (acide clavulanique, sulbactam et tazobactam).	
Technique	La recherche de la BLSE se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme en déposant un disque d'amoxicilline+acide clavulanique (AMC[1] 20/10 µg) à 30 mm centre à centre d'un disque de C3G (CTX[2] 30 µg ou CRO[3] 30 µg). Incuber 18 heures à 35°C.
Lecture	La production d'enzyme peut se traduire par l'apparition d'une image de synergie ou bouchon de champagne entre les disques : - AMC et CTX - AMC et CAZ [4] - AMC et ATM [5]
Absence de synergie	En l'absence d'une image de synergie, la production de BLSE sera suspectée devant toute diminution du diamètre autour des disques de C3G
Risque d'erreur d'interprétation	Chez *Klebsiella oxytoca*, *P.vulgaris*, *P.penneri*, *Citrobacter koseri*, le test de synergie est positif avec aztréonam et / ou ceftriaxone, mais reste négatif avec ceftazidime dont l'activité est conservée, signe d'hyperproduction de ß-lactamase naturelle chromosomique ou aztréonamase.

A souligner cependant que la détection phénotypique de la BLSE garde tout son intérét dans les études épidémiologiques et en hygiéne hospitaliére.

AMC : amoxicilline + acide clavulanique

CTX : Céfotaxime

CRO : cefriaxone

CAZ : ceftazidime

ATM : aztréonam

Annexe 10 :Composition des milieux d'isolement

- Gélose nutritive

Extrait de viande……01g

Extrait de levure…….....02g

Peptone…….....05g

Chlorure de sodium……05g

Agar……...15g

Eau distillée : 1000 ml

pH = 7,4

- Gélose Hektoen

Protéose-
peptone.....12 g

Extrait de levure…….....03 g

Lactose…….....12 g

Saccharose…….....12 g

Salicine…….....02 g

Citrate de fer III et d'ammonium.....1,5g

Sels biliaires…….....09 g

Fuchsine acide…….....0,1 g

Bleu de bromothymol.....0,065 g

Chlorure de sodium…….05 g

Thiosulfate de sodium..... 05 g

Agar.....14 g

Eau distillée : 1000 ml

pH = 7,5

Annexe 11: Composition du milieu utilisé pour l'antibiogramme.

- Gélose Mueller-Hinton

Infusion de viande de bœuf…….....300ml

Peptone de caséine……17,5g

Amidon de maïs……1,5g

Agar……17g

Eau distillée : 1000 ml

pH = 7,4

Annexe 12 : Composition des milieux utilisés pour l'identification biochimique.

- Milieu TSI

Peptones de caséine…….....15g

Peptones de viande…….....05g

Extraits de viande……..03g

Extrait de levure…….....03g

Chlorure de sodium……05g

Lactose……...10g

Saccharose……..10g

Glucose……...01g

Citrate de fer III et d'ammonium……...0,5g

Thiosulfate de sodium……...0,5g

Rouge de phénol……...0,024g

Agar……..12g

Eau distillée : 1000 ml

pH = 7,4

-Milieu Urée Indole

Urée…….....2,0g

L-tryptophane……...0,3 g

KHPO4 ……0,1 g

KH2PO4……...0,1g

NaCl……. 0,5g

Alcool à 95 °C…….....1,0 g

Rouge de phénol à 1 %.....0,25 g

Eau distillé : 100 ml

pH=7

- Milieu citrate de Simmons

Citrate de sodium……02 g

Bleu de bromothymol……..0,08 g

Chlorure de sodium……..05g

Sulfate de magnésium…….....0,2 g

Hydrogénophosphate de potassium…….....01 g

Dihydrogénophosphate d'ammonium…….....01g

Agar…….....15 g

Eau distillée : 1000 ml

pH = 6,9

-Réactifs utilisés :

-Réactif de la recherche de l'oxydase

Disques imprégnés d'une solution à 1% de chlorhydrate de

Tétraméthylparaphénylènediamine.

-Réactif de Kovacs

P-dimethyl aminobenzaidéhyde……..…… 7g/l

Alcool amylique……75ml

Acide chlorhydrique concentré ……20ml

-Réactif de Voges-Proskauer

VP I

Hydroxyde de Potassium…….40g/l

Eau……100ml

VP II

Į-naphtol ……..…… 6 g/l

Ethanol ……..…… 100ml

-Réactif TDA

Perchlorure de fer ….…….. 3,4g/l

Eau distillée stérile …… 100ml

Annexe 13 : Galerie API 20 E

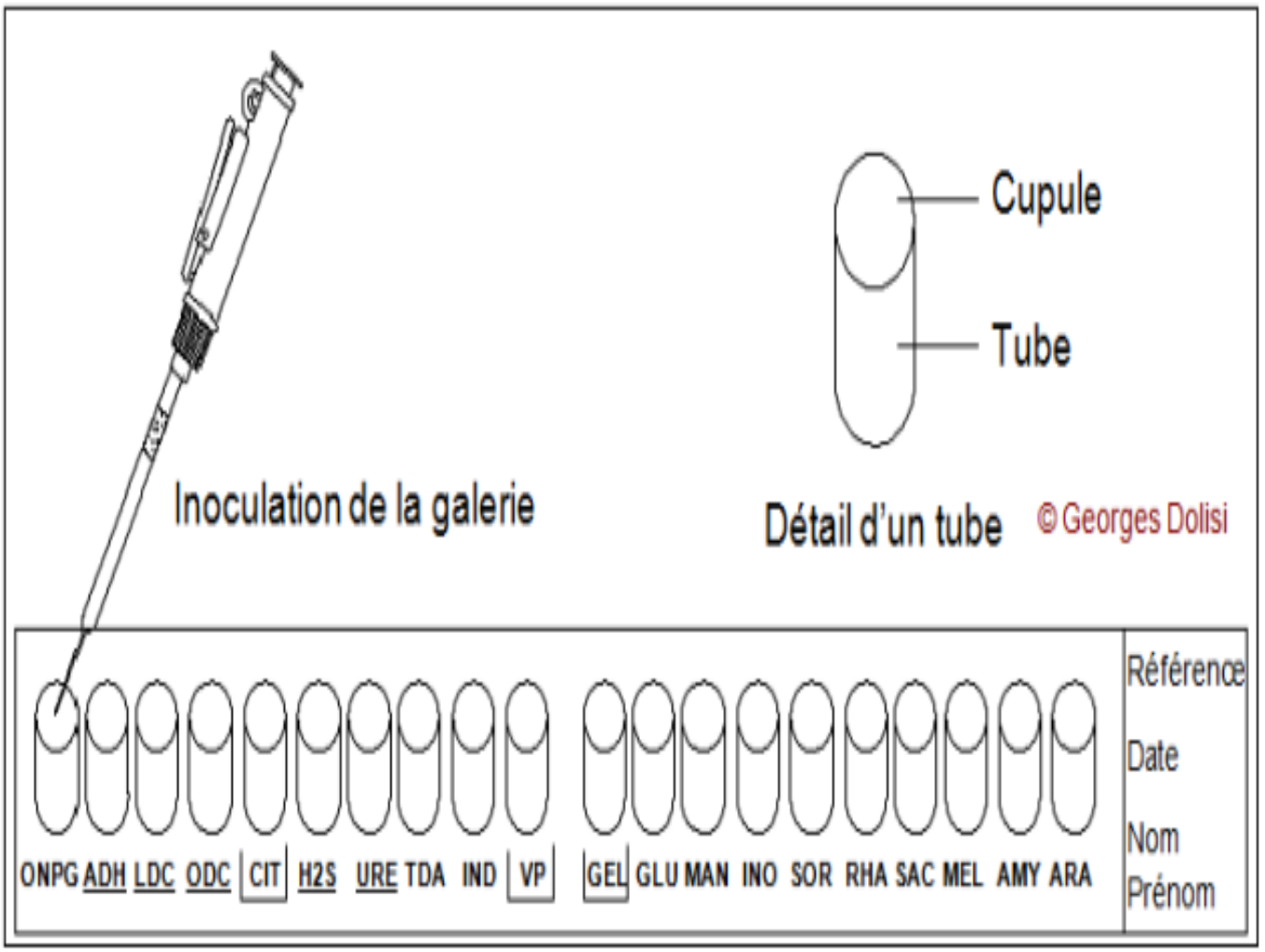
Inoculation de la galerie API 20 E

- Avec la suspension bactérienne et la pipette ayant servi au prélèvement, remplir tubes et cupules des | CTI | VP | GEL | tests

- Remplir uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests.

- Créer une anaérobiose dans les tests ADH, LCD, ODC, URE, H2S en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.

- Refermer la boîte d'incubation et la placer dans l'étuve à 35 - 37° C pendant 18 à 24 Heure.



Annexe 14 :

Tableau : D'identification de la galerie API 20 E.

TUBE	REACTIONS		COMMENTAIRES
	POSITIVE	NEGATIVE	
ONPG	Jaune	Incolore	Une teinte jaune pâle est souvent obtenue, la considérer comme une réaction négative.
ADH	Rouge ou Jaune	Jaune	
LDC	Rouge ou Jaune	Jaune	
ODC	Rouge ou Jaune	Jaune	
CIT	Turquoise ou bleu foncé	Vert pâle ou jaune	La lecture se fait dans la partie supérieure de la cupule (en aérobie)
H_2S	Dépôt noir	Aucun dépôt noir	
URE	Rouge ou Jaune	Jaune	
TDA	Brun-rouge	Jaune	Ajouter 1 goutte de chlorure de fer à 10%. Lire immédiatement la réaction
IND	Anneau rouge	Jaune	Ajouter 1 goutte du réactif de James. Lire la réaction immédiatement
VP	Rose foncé ou rouge	Incolore ou rose pale	Ajouter 1 goutte de KOH à 40% puis 1 goutte d'alpha-naphtol à 6%. Lire la réaction après 10 minutes.
GEL	Diffuse du pigment	Aucune diffusion, incolore	La répartition des particules solides à travers la cupule doit être considérée comme une réaction négative.
GLU MAN INO SOR RHA SAC MEL AMY ARA	Jaune	Bleu ou bleu-vert	La fermentation des sucres commence dans la partie la plus anaérobique du microtube (partie inferieure). Il faut lire ces réactions à partir de la base de la cupule vers le haut. Une couleur jaune au fond indique une réaction positive

Annexe 15 : Coloration de Gram

1. Prélèvement

- A partir d'une culture liquide : prélever un aliquote de suspension à l'anse (ou à la pipette stérile) après avoir homogénéisée le milieu

- A partir d'un milieu solide : réaliser une suspension en eau physiologique à partir d'une culture jeune et prélever un aliquote de suspension à l'anse de platine (ou à la pipette stérile)

- A partir de produits alimentaires ou biologiques : prélever un aliquote du produit (dilué ou non) à l'anse (ou à la pipette stérile) après avoir homogénéisée le milieu

2. Réalisation du frottis

Etaler sur 1 à 2 cm par un mouvement circulaire en partant du centre de la lame.

Le frottis réalisé doit être :

- MINCE et HOMOGENE, étendu sur la lame sans toucher les bords

- Réalisé sur une lame propre et dégraissée, une goutte d'eau déposée en surface doit s'y étaler complètement.

3. Séchage

- à la température du laboratoire, si possible

- ou bien à chaleur douce : platine chauffante à 37° ou au-dessus de la veilleuse du bec bunsen, à hauteur suffisante. NE JAMAIS CHAUFFER BRUTALEMENT

4. Fixation

But : tuer les bactéries, fixer leur structure cytologique, et les faire adhérer à la lame.

- Fixation par la chaleur :

- à utiliser seulement pour les frottis effectués à partir de cultures bactériennes

- passer la lame-frottis situé sur le dessus dans la flamme chauffante, LENTEMENT et 3 à 4 fois de suite (attention de bien tenir la lame avec une pince) et laisser refroidir.

- Fixation par l'alcool : employé quel que soit le produit traité.

- recouvrir la lame pendant 5 min avec de l'alcool puis rincer à l'eau déminéralisé et égoutter le frottis avant coloration.

Annexe 16 :

Principe: La coloration permet de distinguer les bactéries GRAM + des GRAM – grâce à leurs différences de nature de paroi.

ETAPES	MODE OPERATOIRE	TEMPS	PRINCIPE
COLORATION PRIMAIRE	- Recouvrir la lame de **cristal violet ou violet de gentiane** - Rincer à l'eau distillée et récupérer le cristal violet dans un bêcher (ne pas le jeter dans le bac à coloration)	1 minute	Le colorant violet pénètre dans les cellules bactériennes
MORDANÇAGE	- Recouvrir de **Lugol** - Rincer à l'eau distillée et l'égoutter	1 minute	Il se forme un complexe chimique entre le violet et le Lugol qui fixe le violet et colore le cytoplasme de toutes les bactéries en violet.
DECOLORATION	-Tenir la lame inclinée et faire couler pendant **quelques secondes** de l'alcool à 95° jusqu'à écoulement incolore. - Rincer immédiatement à l'eau distillée et égoutter	5 secondes environ	L'alcool dissout le violet de gentiane, si la paroi bactérienne est perméable à l'alcool (les lipides sont dissous par l'alcool), celui-ci pénètre dans les bactéries et décolore leur cytoplasme : les bactéries deviennent incolores. Si les bactéries ont une paroi imperméable à l'alcool (épaisse et sans lipides), elles restent colorées en violet et elles sont dites GRAM + ou positif.
COLORATION SECONDAIRE	- Recouvrir la lame de **fuschine** - Rincer à l'eau distillée	1 minute	La fuschine recolore en rose les bactéries précédemment décolorées : les bactéries Gram – ou négatif.
SECHAGE	- Egoutter entre 2 morceaux de papier-filtre et laisser sécher		