

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université De Blida -1-



**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de
Biologie**

**Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du Diplôme de
MASTER**

Filière : Science de la nature et de la vie

Option : Microbiologie

Thème :

**Etude de la résistance bactérienne chez des patients ayant des
infections urinaires et mesure de la Concentration Minimale
Inhibitrice (CMI) par une adaptation au E-test**

Réalisé par : Mlle. MIRAOUI Céline

Mlle. AKLI Kamélia

Soutenu le : 06-07-2022

Devant le Jury composé de :

Mme. CHELGHOUM H.	MCA	Présidente
Mme. MOHAMED MAHMOUD F.	MCA	Examinatrice
Mr. BESSAAD A.	MCA	Promoteur
Mr. OULDROUIS H.	Médecin biologiste	Co-promoteur

Année universitaire : 2021-2022



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à ceux qui, quel que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour. On dit que les mots prennent plaisir quand la parole manque.

A toi Mon grand-père, mon rayon de soleil comme j'avais l'habitude de t'appeler. Toi qui a toujours été là pour moi. Je dédie cet événement marquant de ma vie en ta mémoire. Je souhaite te remercier pour m'avoir légué cette éducation et ces idéaux. J'aurai tellement aimé que tu sois là présent à mes côtés comme tu l'as toujours été.

J'aimerais pour finir citer cette phrase de Victor Hugo, qui prend tout son sens ici « tu n'es plus là où tu étais, mais tu es partout là où je suis.

A mes chers parents en témoignage de mes reconnaissances envers le soutien, les sacrifices et tous les efforts qu'ils ont fait pour moi.

Mon frère, mes grands-parents et ceux qui ont partagé avec moi tous les moments d'émotions lors de la réalisation de ce travail et qui m'ont chaleureusement supporté et encouragé tout au long de mon parcours.

A tous mes amis qui m'ont toujours encouragé et à qui je souhaite plus de succès.

Ma binôme, pour sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet. Je n'aurais jamais pu imaginer partager ce travail avec aucune autre personne. Tu es plus qu'une binôme pour moi. Ayant fait notre premier pas à l'université ensemble, nous voici maintenant main dans la main entraînés de clôturer ce laborieux parcours. Merci pour tout

A tous ceux que j'aime et que je n'ai pas pu citer.

A. Kamelia.



Dedications

I dedicate this humble work to:

My family, starting with

My parents, my source of joy and motivation

My mother for her kindness, her sweetness and her tender spirit. For being there through those nights when I needed her and for sacrificing so much for us.

My father, my hero, the shoulder on which I rest my head whenever I need to. For always being present and always finding the right words. For his trust and for being the sweetest and most understanding father on earth.

I Hope this achievement will make you both proud of the daughter you've raised.

My two brothers who'd anything and everything in their power to protect me.

My grandmothers for being the most caring human beings on earth and for being two stars that are still shining bright in my life. God bless them.

My late grandfather Akli whom I didn't get the chance to meet and my late grandfather Papa Ahmed whom I miss more than anything. My love for you shall live forever.

My aunts, uncles and cousins

I Also would like to dedicate this work to my close friends with whom I share my laughs and learn my life lessons.

To anyone who's contributed in the realization of this work.

*And last but certainly not least, to my lovely friend before being my partner in this work, **AKLI Kamélia** for the 5 years we've spent together. For the laughs, the fights and the memories that will last forever. I wish you the best.*

M. Céline.

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions dieu le tout puissant de nous avoir donné la force et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

Comme nous remercions également :

Mr BESSAAD Amine dont nous tenons à saluer la qualité de l'encadrement, sa rigueur et sa disponibilité durant la préparation de ce mémoire.

Mr Hachmi OULDROUIS pour nous avoir fait découvrir ce sujet, pour avoir mis son laboratoire à notre disposition ce qui n'est pas peu et de même que pour le temps qu'il nous a consacré au détriment de son propre travail

Madame CHELGHOUM , pour son partage scientifique sans limites lors de notre parcours universitaire ainsi que pour avoir accepté de présider le jury.

Madame MOHAMED MAHMOUD, pour le savoir exceptionnel dont elle nous a fait part en tant qu'enseignante et d'avoir accepté d'examiner ce travail

Toute l'équipe du laboratoire d'analyses médicales du Dr OUDROUIS dont Madame SEMANA.F, Mademoiselle TANDJAOUI.B et Monsieur MAHDAOUI.M pour leur assistance tout le long de la réalisation de ce mémoire ainsi que Mademoiselle RAMDHANI pour sa bienveillance et la positivité qu'elle n'a cessé de nous apporter

Mr Brahim ERRAHMANI pour son aide considérable lors de la réalisation de nos tests statistiques

Et pour finir, nous remercions toutes et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'aboutissement de ce travail .

Table des matières

Introduction	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique	2
I.1. Les infections urinaires	2
I.1.1 L'urine et l'appareil urinaire.....	2
I.1.1.1. L'urine.....	2
I.1.1.2. L'appareil Urinaire	2
I.1.2. L'infection urinaire.....	3
I.1.2.1. Modes de colonisation	3
I.1.2.2. Les types d'infection urinaire.....	4
I.1.2.3. Les facteurs favorisant l'infection :.....	4
I.1.4. Les bactéries pathogènes communes impliquées dans les infections urinaires	5
I.2. L'antibiothérapie et la résistance bactérienne	5
I.2.1. Définition d'un antibiotique.....	5
I.2.2. Les classes d'antibiotiques.....	5
I.2.2.1. Les bêta-lactamines	5
I.2.2.2. Les aminosides	6
I.2.2.3. Les macrolides et apparentés	6
I.2.2.4. Les quinolones et fluoroquinolones.....	7
I.2.2.5. Les cyclines.....	7
I.2.3. Modes d'action des antibiotiques	8
I.2.3.1. Les bêta-lactamines	8
I.2.3.2. Les aminosides	8
I.2.3.3. Les macrolides	8
I.2.3.4. Les quinolones et fluoroquinolones.....	8
I.2.3.5. Les tétracyclines	8
I.2.3.6. Autre	9
I.2.4. La résistance bactérienne	9
I.2.4.1. La résistance intrinsèque (naturelle)	10
I.2.4.2. La résistance acquise.....	10
I.2.5. Les principaux mécanismes de résistances	10
I.2.5.1. Inactivation enzymatiques	11

I.2.5.2. Imperméabilité.....	11
I.2.5.3. Efflux actif.....	11
I.2.5.4. Modification de la cible	12
I.2.6. Facteurs favorisant la résistance bactérienne	12
I.2.7. Conséquences de l'antibiorésistance	13
I.3. Antibiothérapie des infections urinaires.....	13
I.3.1. L'antibiogramme	13
I.3.1.1. Méthode de diffusion sur milieu solide.....	14
I.3.1.2. Méthode de dilution.....	14
I.3.2. Intérêt de la mesure de la CMI	14
Chapitre II : Matériel et méthodes	15
II.1. Matériel	15
II.1.1. Matériel biologique.....	15
II.1.2. Matériel non biologiques.....	15
II.2. Méthodes	15
II.2.1. Etude de la résistance	15
II.2.2. Conception d'un test mimant le E-Test commercialisé (CMI).....	16
II.2.2.1. Approche d'une conception artisanale	16
II.2.2.3. Confection de la bandelette	17
II.2.2.4. Validation de l'efficacité et la stabilité des bandelettes	20
II.2. Analyse statistique.....	26
III.1. Constat sur la résistance aux antibiotiques (rétrospective)	28
III.1.1. L'infection urinaire selon l'âge et le sexe.....	28
III.1.1.1. Effectif de l'infection urinaire selon l'âge et le sexe.....	28
III.1.1.2. Fréquence des germes retrouvés dans les infections urinaires selon le sexe	30
III.1.1.3. Réponses des souches d'entérobactéries aux divers antibiotiques.....	32
III.1.1.4. La sensibilité aux antibiotiques en fonction des différents germes des entérobactéries	34
III.1.1.5. <i>Staphylococcus spp</i>	35
III.1.1.5.a. Réponse en fonction des différents Staphylocoques.....	35
III.1.1.6. <i>Pseudomonas spp</i>	36
III.1.1.7. <i>Enterococcus spp</i>	36
III.1.1.8. <i>Streptococcus spp</i>	37
III.2. Conception d'un test mimant le E-Test commercialisé (CMI).....	37

III.2.1. Approche d'une conception artisanale d'un kit commercialisé (disques d'antibiotiques)	37
III.2.1.1. La gentamicine et la ciprofloxacine.....	37
II.2.1.1.a. La gentamicine et la ciprofloxacine testés sur <i>E.coli</i> ATCC25922.....	37
II.2.1.1.b. La Gentamicine et la Ciprofloxacine testées sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	38
III.2.1.2. Imipenème.....	39
II.2.1.3. L'amoxiciline + l'acide clavulanique (Augmentin).....	40
II.2.1.4. La céfazoline	40
III.2.2. La conception de la bandelette.....	41
III.2.2.1. La bandelette cloisonnée	42
III.2.2.2. La bandelette à spots.....	56
III.2.2.3. Comparaison entre les résultats obtenus sur l'ancienne et la nouvelle bandelette avec le milieu gélosé.....	61
III.2.2.3.b. La ciprofloxacine.....	62
Conclusion.....	64
Références bibliographiques	66
Annexes	72

Liste des figures

Figure 1: Le système urinaire chez l'homme et la femme (Hakkache,2015).....	3
Figure 2 : Les différents modes d'action des antibiotiques (Chaussade et al. 2013)	9
Figure 3 : Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques dans les bactéries Gram négatifs (Guardabassi et Courvalin ,2005).....	11
Figure 4 : Disposition des différentes concentration d'antibiotique sur la bandelette	18
Figure 5: Les différentes concentrations d'antibiotiques déposées sur la bandelette de 0,6x0,6 cloisonnée pour la Céfazoline	19
Figure 6: Les différentes concentrations d'antibiotiques déposées sur notre bandelette pour la Ciprofloxacine.....	19
Figure 7: Illustration de la nouvelle bandelette à spots	20
Figure 8 : Isolement de deux souches de patients (une <i>K.pneumoniae</i> et une <i>E.coli</i>)	21
Figure 9 : La méthodologie de notre étude.....	27
Figure 10 : La distribution des patients par âges par sexe.....	28
Figure 11 : Les différents germes retrouvés dans les infections urinaires ainsi que la répartition des entérobactéries	30
Figure 12: La répartition des entérobactéries selon le sexe.....	31
Figure 13 : Les résistances des entérobactéries aux divers antibiotiques.....	34
Figure 14 : Les résistances des <i>Staphylococcus spp</i> aux divers antibiotiques	35
Figure 15 : Comparaison entre les disques d'antibiotiques conçus pour la gentamicine et la Ciprofloxacine avec leurs disques commercialisés sur la souche de référence <i>E.coli</i> ATCC 25922.....	37
Figure 16 : Comparaison entre les disques d'antibiotiques conçus pour la gentamicine et la Ciprofloxacine avec leurs disques commercialisés sur la souche de référence <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	38
Figure 17: Résultat obtenu en testant les disques d'antibiotiques conçus pour l'imipénème sur la souche de référence <i>E.coli</i> ATCC 25922 en se référant au disque commercialisé	39
Figure 18: Résultat obtenu en testant les disques d'antibiotiques conçus pour l'imipénème sur la souche de référence <i>P.aeruginosa</i> 27853 en se référant au disque commercialisé.....	39
Figure 19: Comparaison entre les disques d'antibiotiques conçus pour l'Augmentin avec le disque commercialisé sur la souche de référence <i>E.coli</i> ATCC 25922.....	40

Figure 20: Résultat obtenu en testant les disques d'antibiotiques conçus pour la Céfazoline sur la souche de référence E.coli25 ATCC 25922 en se référant au disque commercialisé	40
Figure 21 : Résultat obtenu en testant la Céfazoline avec une concentration initiale de 512 µg/5µl sur une bandelette de 0,5x0,5 cm sur E.coli ATCC 25922	42
Figure 22: Résultat obtenu avec la nouvelle bandelette de 0.6x0.6cm cloisonnée avec la colle sur la souche de E.coli ATCC 25922	43
Figure 23 : Résultat obtenu avec les cloisons de vernis à ongle.....	44
Figure 24 : Résultat obtenu avec une bandelette cloisonnée avec du vernis avec une dilution initiale de 500µg/5µl sur E.coli ATCC 25922	45
Figure 25 : Résultat obtenu avec une bandelette cloisonnée en vernis avec une dilution initiale de 10µg/5µl sur E.coli ATCC 25922	46
Figure 26 : Résultat obtenu avec une bandelette cloisonnée en vernis avec une dilution initiale de 10µg/5µl sur P.aeruginosa ATCC 27853	46
Figure 27 : Le résultat obtenu lors du test de répétabilité de la céfazoline réalisé sur la souche de control E.coli ATCC25922.....	47
Figure 28 : Le résultat obtenu lors du test de répétabilité de la ciprofloxacine réalisé sur la souche de control E.coli ATCC25922 et la souche de control P.aeruginosa ATCC27853	48
Figure 29 : Disposition des spots des différents patients sur milieu gélosé ainsi que la souche de control E.coli ATCC25922 sous forme de trait sur la boite témoin	50
Figure 30 : Inhibition partielle (léger film) de la souche de contrôle E.coli ATCC 25922 ainsi que les souches de patients 1,5,11 et 13 Pour une valeur de CMI équivalent à 1,95µg/ml	50
Figure 31 : Inhibition de tous les patients sauf ceux qui présentent une résistance envers la céfazoline (2,3,9,10,12,15) Pour une valeur de CMI équivalent à 500µg/ml	50
Figure 32 : Boite témoin illustrant les 15 spots de patients déposés ainsi que les 2 stries des souches de control (E.coli ATCC 25922 et P.aeruginosa ATCC 27853)	53
Figure 33 : Inhibition de la souche de control E.coli ATCC 25922 ainsi que les patients 4 , 6 et 11 à une valeur de CMI équivalente à 0,024µg/ml	54
Figure 34 : Inhibition de la souche de control P.aeruginosa ATCC 27853 à une concentration de CMI équivalente à 0,19µg/ml.....	54
Figure 35: Résultat obtenu lors du test de la céfazoline avec la nouvelle bandelette sur E.coli ATCC25922	56
Figure 36: Résultat obtenu lors du test de la ciprofloxacine avec la nouvelle bandelette sur E.coli ATCC25922.....	56

Figure 37: Résultat obtenu lors du test de la ciprofloxacine avec la nouvelle bandelette sur P.aeruginosa ATCC27853.....	57
Figure 38: Résultat obtenu avec la nouvelle bandelette de céfazoline sur E.coli ATCC25922	58
Figure 39: Les différents résultats des CMI des souches de patients obtenues avec la bandelette à spots pour la céfazoline	58
Figure 40: Les résultats de CMI obtenus lors du test des souches de référence avec la bandelette à spots pour la ciprofloxacine.....	59
Figure 41: Les différents résultats des CMI des souches de patients obtenues avec la bandelette à spots pour la ciprofloxacine.....	60

Liste des tableaux

Tableau I : Les antibiotiques utilisés pour la conception des disques ainsi que leur dilutions	17
Tableau II : Schéma pour la préparation des dilutions d'antibiotiques	23
Tableau III : Schéma pour la préparation des dilutions de la Ciprofloxacine	24
Tableau IV : La fréquence des germes responsables des infections urinaires selon le sexe...	30
Tableau V : Réponses des entérobactéries aux divers antibiotiques	32
Tableau VI : Les réponses des entérobactéries aux antibiotiques.....	34
Tableau VII : La réponse des staphylococcus spp	36
Tableau VIII : Les valeurs obtenues pour les disques d'antibiotiques.....	41
Tableau IX : Les résultats obtenus sur milieu gélosé et la bandelette pour la céfazoline.....	49
Tableau X : L'intervalle utilisé pour la comparaison des valeurs entre le milieu gélosé et la bandelette pour la ciprofloxacine	52
Tableau XI : Résultats obtenus sur milieu gélosé et la bandelette pour la ciprofloxacine.....	53
Tableau XII : Les valeurs de CMI retrouvées pour la céfazoline avec la bandelette à spots ainsi que les valeurs de CMI sur milieu gélosé	59
Tableau XIII : Valeurs de CMI retrouvées pour la céfazoline avec la bandelette à spots ainsi que les valeurs de CMI sur milieu gélosé	61
Tableau XIV : Résultats obtenus sur le milieu gélosé, l'ancienne bandelette et la nouvelle bandelette pour la céfazoline.....	62
Tableau XV : Résultats obtenus sur le milieu gélosé , l'ancienne bandelette et la nouvelle bandelette pour la ciprofloxacine	62

ملخص

أصبحت مقاومة الفئات المختلفة من المضادات الحيوية مشكلة صحية عالمية إن الوصفة الفوضوية لهؤلاء ودون معرفة الجرعة الدقيقة تعزز نمو هذه المقاوم وبالتالي، فإن الغرض من هذه الدراسة هو إجراء ملاحظة على مقاومة المضادات الحيوية في التهابات المسالك البولية من ناحية، ومن ناحية أخرى إجراء اختبار يمكن أن يحل نسبيًا محل E-test يستعمل الاختبار لقياس الحد الأدنى من التركيز المثبط لجرعة أكثر دقة من المضاد الحيوي. في الجزء الأول من العمل، درسنا 250 ملف للمرضى الذين يعانون من التهابات المسالك البولية. ثم قمنا، للجزء الثاني، بعمل شريطين، أحدهما مقسم والأخر به اقراص لقياس الحد الأدنى للتركيز المثبط تم اختبار كلا الشريطين، على السلالات المرجعية، وعلى سلالات المرضى الذين يعانون من عدوى المسالك البولية، والتي تم أخذها من صناديق المضادات الحيوية. يتم التحقق من نتائج السلالات المرجعية لأول مرة من خلال التحقق من القيم المسجلة في جدول القيم الحدية للتركيزات المثبطة الدنيا للسلالات المرجعية التي تمت إزالتها من توحيد المضادات الحيوية لاختبارات الحساسية على المستوى الوطني، الإصدار الثامن، أبريل 2020. ثم مرة ثانية، مصحوبة باختبار سلالات المريض، بالطريقة المرجعية لقياس الحد الأدنى للتركيز المثبط وهو التخفيف على وسط أغار وجدنا هيمنة البكتيريا المعوية (80.4%) تليها بسودوموناس (6.80%)، اونتيروكوكوس (6.80%)، سنافيلوكوكوس (4.80%) وفي النهاية ستريبتوكوكوس (1.2%).

لوحظ أعلى تواتر للمقاومة في هذه المجموعة للمضادات الحيوية التالية: الأمبيسيلين (76.62%) والأموكسيسيلين (67.62%). لاحظنا أيضًا حساسية 100% للامينيم.

لقياس الحد الأدنى للتركيز المثبط، يعطي الشريط البقع نتائج أقرب إلى طريقة التخفيف على وسط أغار مقارنة بالشريط وإدراكًا للارتفاع النيزكي لمقاومة المضادات الحيوية في التهابات المسالك البولية، فإن قياس الحد الأدنى من التركيز المثبط ضروري لوصفة طبية دقيقة وفعالة للمضادات الحيوية. يمكن أن يكون شريط الاختبار لدينا بديلاً مثيراً للاهتمام للـ E-test .

حيث يقدم للمختبرات الطبية أداة يمكن الوصول إليها ماليًا وموثوقة تقنيًا تخضع لتأكيد هذه النتائج لاحقًا لقياس الحد الأدنى للتركيز المثبط، يعطي الشريط الاقراص نتائج أقرب إلى طريقة التخفيف على وسط أغار مقارنة بالشريط المقسم.

وإدراكًا للارتفاع النيزكي لمقاومة المضادات الحيوية في التهابات المسالك البولية، فإن قياس الحد الأدنى من التركيز المثبط ضروري لوصفة طبية دقيقة وفعالة للمضادات الحيوية. يمكن أن يكون شريط الاختبار لدينا بديلاً مثيراً للاهتمام للاختبار الإلكتروني، حيث يقدم للمختبرات الطبية أداة يمكن الوصول إليها ماليًا وموثوقة تقنيًا تخضع لتأكيد هذه النتائج لاحقًا

الكلمات الرئيسية: التهابات المسالك البولية، ومقاومة المضادات الحيوية، والحد الأدنى من التركيز المثبط،

E-test

Résumé

La résistance aux différentes classes d'antibiotiques est devenue un problème de santé mondial. La prescription anarchique de ceux-ci et sans connaître la posologie exacte favorisent davantage l'essor de cette résistance.

Ainsi, le but de cette étude est de faire d'une part un constat sur les résistances aux antibiotiques dans les infections urinaires et d'autre part mettre en place un test qui pourra relativement remplacer le E-test pour la mesure de la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour une posologie plus précise de l'antibiotique.

Nous avons, dans une première partie du travail, étudié 250 antibiogrammes positifs de patients ayant des infections urinaires. Ensuite nous avons, pour une deuxième partie, confectionné deux bandelettes, une cloisonnée et une autre à spots pour la mesure de la CMI.

Les deux bandelettes ont été testées, sur des souches de référence (*Escherichia coli* ATCC 25922 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853), et sur des souches de patients ayant une infection urinaire, repiquées à partir de boîtes d'antibiogrammes. Les résultats des souches de référence sont validés une première fois par vérification des valeurs enregistrées dans le tableau des valeurs limites des concentrations minimales inhibitrices pour les souches de références retiré du livre de Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale, 8ème édition, Avril 2020. Puis une deuxième fois, accompagnés de ceux du test des souches de patients, par la méthode de référence pour la mesure de la CMI qui est celle de dilution sur milieu gélosé.

Nous avons constaté une prédominance des entérobactéries (80.4%) suivies de *Pseudomonas spp* (6.80%), *Enterococcus spp* (6.80%), *Staphylococcus spp* (4.80%) et au final de *Streptococcus spp* (1.2%). La fréquence de résistance la plus élevée a été observée dans ce groupe pour les antibiotiques suivants : l'ampicilline (76.62%) et l'amoxicilline (67.62%). Nous avons observé également 100% de sensibilité des souches des entérobactéries envers l'imipénème.

Pour la mesure de CMI, la bandelette à spots donne des résultats plus proches de la méthode de dilution sur milieu gélosé comparée à la bandelette cloisonnée.

Réalisant la montée fulgurante de la résistance aux antibiotiques dans les infections urinaires, la mesure de la CMI s'impose pour une prescription précise et efficace des antibiotiques. Notre bandelette peut être une alternative intéressante au E-test, offrant aux laboratoires d'analyses

médicales un outil accessible financièrement et fiable techniquement sous réserve de confirmer ces résultats ultérieurement.

Mots clés : Infections urinaires, Résistance aux antibiotiques, CMI, E-test

Abstract

Resistance to different classes of antibiotics has become a global health problem.

The anarchic prescription of these and without knowing the exact dosage promote the growth of this resistance.

Thus, the purpose of this study is to make an observation on one hand on antibiotic resistance in urinary tract infections and on the other hand to put in place a test that can relatively replace the E-test for the measurement of the minimum inhibitory concentration (MIC) for a more accurate dosage of the antibiotic.

In the first part of the work, we studied 250 positive antibiograms of patients with urinary tract infections. Then we have, in the second part, made two strips, one partitioned and another with spots for the measurement of the MIC.

Both strips were tested, on reference strains (*Escherichia coli* ATCC 25922 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853), and on strains of patients with urinary tract infections, retrieved from antibiograms. The results of the reference strains were validated for the first time by checking the values recorded in the table of limit values of the minimum inhibitory concentrations for the reference strains removed from the Standardisation of sensitivity tests antibiotics at the national level, 8th edition, April 2020. Then a second time accompanied by those, the test of patient strains, by the reference method for the measurement of the MIC which is the dilution on agar medium.

We found a predominance of enterobacteria (80.4%) followed by *Pseudomonas spp* (6.80%), *Enterococcus spp* (6.80%), *Staphylococcus spp* (4.80%) and ultimately *Streptococcus spp* (1.2%). The highest frequency of resistance was observed in this group for ampicillin (76.62%) and amoxicillin (67.62%). We also observed 100% sensitivity to imipenem.

For the measurement of MIC, the spots' strip gives results closer to the method of dilution on agar medium compared to the partitioned strip.

Realizing the meteoric rise of antibiotic resistance in urinary tract infections, the measurement of MIC is necessary for a precise and effective prescription of antibiotics. Our test strip can be an interesting alternative to E-Test, offering medical laboratories a financially accessible and technically reliable tool subject to confirming these results later.

Keywords : Urinary Tract Infections, Antibiotic Resistance, MIC, E-test

Introduction

Introduction

Les maladies infectieuses ont toujours été l'une des premières causes de morbidité et de mortalité dans le monde (Jauffret-Roustide et Nicolay,2008), parmi lesquelles, on retrouve les infections urinaires qui sont les infections les plus rencontrées après les infections respiratoires. La découverte des antibiotiques a créé l'espoir d'enrayer toutes les maladies infectieuses. Cependant, l'exposition croissante des bactéries aux antibiotiques a favorisé la sélection de souches résistantes, entraînant parfois des blocages thérapeutiques mettant fin à cette "fatale illusion" (Sekhsokh et *al.*, 2008 ; Mangin,2016).

Face à la montée fulgurante de la résistance aux antibiotiques, il devient indispensable de les utiliser de manière rationnelle afin de préserver leur efficacité (Jauffret-Roustide et Nicolay,2008).

Ainsi, l'optimisation des traitements d'antibiotiques en plus d'une meilleure gestion de ces derniers serait le fruit d'une collaboration entre cliniciens et microbiologistes, passant par exemple par l'évaluation de l'activité des antibiotiques par l'antibiogramme, suivie de la concentration minimale inhibitrice (CMI). Ceux-ci interviennent dans le choix de la molécule et de la posologie (Aubert et Carricajo ,2004).

Pour être réalisée en routine, la méthode de référence de la détermination des CMI par la technique de dilution en milieu gélosé est longue et fastidieuse. En revanche, la technique du E-test a révolutionné la mesure de la CMI par sa rapidité (Perry *et al.*, 1999).

Toute fois elle reste chère et inaccessible en Algérie. Un inconvénient qui a été derrière notre intérêt à confectionner un test qui pourrait remplacer un tant soit peu le E-test.

Cet objectif sera accompagné d'un défrichage du terrain par le biais d'une étude rétrospective pour l'évaluation des résistances des germes pathogènes retrouvés dans les infections urinaires face aux antibiotiques.

Nos deux objectifs ont été réalisés au sein du laboratoire d'analyses médicales du Dr. Hachmi OULDROUIS

Chapitre I :
Synthèse bibliographique

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1. Les infections urinaires

I.1.1 L'urine et l'appareil urinaire

I.1.1.1. L'urine

L'urine est produite par colature du sang par les reins. Ce liquide biologique normalement stérile contient des déchets corporels et il sera éliminé de l'organisme par le biais du système urinaire (Botto *et al.*,2003).

I.1.1.2. L'appareil Urinaire

L'appareil urinaire est un système biologique responsable de la production, le stockage et l'évacuation des urines (Laforet,2009). Il a un rôle primordial dans le fonctionnement du corps humain dont : le maintien de l'homéostasie et l'expulsion des déchets toxiques (Dupont,2015).

Il se compose de (**figure 1**) :

- Deux reins symétriques en forme d'haricots qui assurent la filtration du sang, le maintien de l'homéostasie et la fabrication par la suite des urines
- Deux uretères qui sont des canaux dont la fonction principale est de conduire l'urine des reins jusqu'à la vessie
- Une vessie dont les deux rôles principaux sont la collecte des urines et par la suite leur évacuation. (Laforet, 2009).
- Un urètre qui est la voie d'élimination de l'urine de la vessie vers le milieu extérieur, il varie selon le sexe (Hakkache,2015).

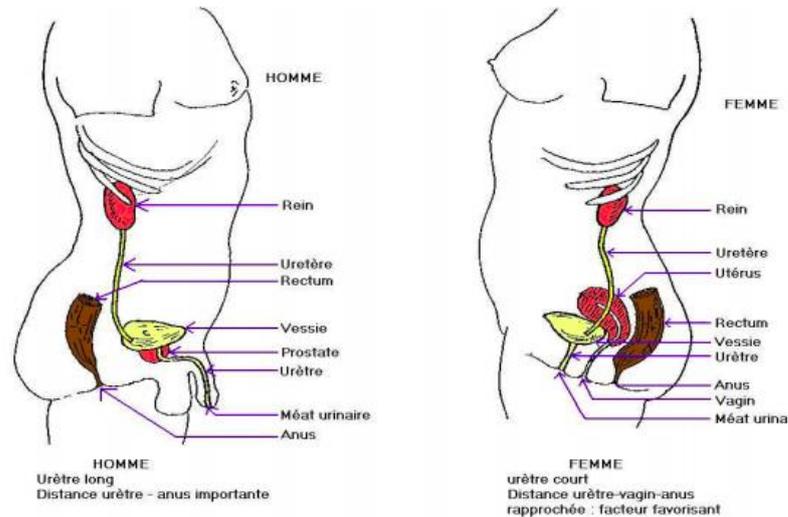


Figure 1: Le système urinaire chez l'homme et la femme (Hakkache,2015)

I.1.2. L'infection urinaire

L'infection urinaire est définie comme étant une invasion de micro-organismes d'un ou de plusieurs tissus de l'arbre urinaire qui induit une réponse inflammatoire et des symptômes d'intensité variable selon le lieu de l'infection (Benhiba *et al.*,2015).

I.1.2.1. Modes de colonisation

Il existe deux voies de colonisation bactérienne : la voie ascendante et descendante

I.1.2.1.a. Voie ascendante

La plus fréquente, elle résulte d'une remontée de germes du méat urétral à la vessie, elle peut être spontanée ou provoquée.

- ❖ **Spontanée** : Elle est généralement provoquée par des germes provenant de la flore fécale. Elle est plus courante chez la femme que chez l'homme vu les dispositifs anatomiques (urètre plus long chez l'homme).
- ❖ **Provoquée** : Dû à un risque iatrogène instrumental comme par exemple une montée de sonde ou cystoscopie, elle entraîne une remontée de germes du méat urétral à la vessie, voire aux uretères.

I.1.2.1.b. Voie descendante :

C'est la voie la moins rencontrée, on retrouve la voie Lymphatique et la voie Hématogène.

- ❖ **La voie lymphatique** : Elle implique la migration des bactéries du côlon par la voie lymphatique vers la voie d'excrétion urinaire, où elles provoquent une bactériurie initiale, qui se transforme ensuite en une véritable infection secondaire (TRAORE,2006)
- ❖ **La voie hématogène** : C'est la colonisation du rein par des germes présents dans le sang lors d'une septicémie pendant la filtration glomérulaire (Vorkafer , 2018).

I.1.2.2. Les types d'infection urinaire

L'infection urinaire est classée en deux catégories selon le lieu d'infection, on parle alors d'infection haute et basse.

L'infection haute correspond à une pyélonéphrite et l'infection basse comprend une cystite, une urétrite et une prostatite (Talha,2021).

I.2.2.2.a. Les infections urinaires hautes

- ❖ **La pyélonéphrite** : C'est une atteinte des reins, elle s'accompagne d'un état fébrile et douleur à la percussion de la loge rénale. (Emonet et al.,2011).

I.2.2.2.b Les infections urinaires basses :

- ❖ **La cystite** : C'est l'inflammation de la vessie, le plus souvent d'origine bactérienne, bénigne, toujours d'origine ascendante (Stark, 1997).
- ❖ **L'urétrite** : C'est une infection sexuellement transmise, elle touche l'urètre masculin provoquant une inflammation (Masson, 2002).
- ❖ **La prostatite** : C'est une infection génito-urinaire retrouvée chez les hommes uniquement. Elle est définie comme étant l'inflammation de la glande prostatique (Barry ,2021).

I.1.2.3. Les facteurs favorisant l'infection :

I.1.2.3.a. Liés à la bactérie :

Ce sont les facteurs d'adhésion et de virulence produits par les bactéries uropathogènes et la présence d'un important inoculum bactérien dans les voies urinaires (Djennane *et al* ., 2009)

I.1.2.3.b. Liés à l'hoste :

- **Âge avancé** : l'incontinence urinaire et les troubles mictionnels

- Sexe féminin : l'urètre féminin plus court et proche du vagin et du périnée ce qui rend sa colonisation par des bactéries d'origine fécale plus facile contrairement au sexe masculin qui ont un urètre plus long et moins exposé aux infections urinaires.
- Antécédents d'infections urinaires récurrentes
- L'état physiologique : Grossesse
- Les maladies : le diabète, l'immunodépression, l'insuffisance hépatique ...
- Facteurs génétiques : le phénotype non sécréteur du facteur de Lewis des groupes sanguins ABO, les antécédents d'infection urinaire maternelle et dans l'enfance.
- Facteurs anatomiques : anomalies génito-urinaires fonctionnelles et anatomiques
- Facteurs comportementaux : rapports sexuels fréquents, hygiène négligée ou excessive, l'utilisation de spermicides ...
- Prise récente d'antibiotiques, quel qu'en soit le motif de prescription.
- Le sondage et les gestes endo-urétral (Lobel et Soussy , 2007;Vorkafer , 2018).
-

I.2.4. Les bactéries pathogènes communes impliquées dans les infections urinaires

Généralement, ces infections sont dues à des bactéries provenant du tube digestif. Dans la grande majorité des cas, on trouve les Entérobactéries en tête de liste avec prédominance de *Escherichia coli* dans 90% des cas suivie de *Proteus mirabilis*. Chez la jeune femme on note la présence de *Staphylococcus saprophyticus*. Dans des cas plus rares on peut trouver : *Pseudomonas aeruginosa*, *Corynebacterium urealyticum* et Entérocoques (Pilly ,2019).

I.2. L'antibiothérapie et la résistance bactérienne

I.2.1. Définition d'un antibiotique

Un antibiotique est une substance naturelle ou synthétique capable d'inhiber la croissance d'un micro-organisme ou de le détruire. Il est utilisé à des fins thérapeutiques dans le cas des maladies d'origine bactérienne (Etebu et Arikekpar ., 2016).

I.2.2. Les classes d'antibiotiques

Il existe cinq principales classes, ces classes peuvent elles aussi être divisées en sous-classes.

I.2.2.1. Les bêta-lactamines

L'ensemble des molécules appartenant à cette famille contient un noyau bêta-lactame qui est la partie active de la molécule. Cette famille contient un groupe principal connu sous le

nom de Pénicillines qui est divisé en (Pénicilline G et Y, formes retard (Benzathine Benzylpénicilline), Pénicilline du groupe A (Amoxicilline), Pénicilline du groupe M (Cloxacilline, Oxacilline), Carboxypénicillines (Ticarcilline), les Uréidopénicillines (Pipéracilline), les Aminopénicillines (Pivmecillinam), la Témocilline (dérivé de la Ticarcilline).

Puis derrière les Pénicillines on a un autre principal sous-groupe nommé Céphalosporines. Ces céphalosporines sont divisées en 3 générations :

- Céphalosporine de 1ere génération ou C1G (Céfalexine, Céfalotine, Céfazoline)
- Céphalosporine de 2eme génération ou C2G (Céfuroximes, Céfoxitine)
- Céphalosporine de 3eme génération ou C3G (Céfixime, Cefpodoxime, Céfotiam, Céfépime, Céfotaxime, Ceftazidime, Ceftriaxone).

En dernier il y a les Carbapénèmes avec l'Ertapénème, l'Imipenem, Méropénem en ajoutant à cela un Monobactam, l'Aztréonam.

I.2.2.2. Les aminosides

Sont constitués de deux principaux sous-groupes en fonction de la substitution sur l'Aminocyclitol (aglycane) :

- Sous-groupe des Désoxystreptamines substitués en 4,6 qui inclut l'Amikacine et la Tobramycine (dérivés de la Kanamycine) et la Gentamicine et ses dérivés (Nétilmicine).
- Sous-groupe des Désoxystreptamines substitués en 4,5 qui inclut la Néomycine.

En dernier la Streptomycine qui n'appartient à aucun sous-groupe car c'est un dérivé non substitué de la Streptamine.

I.2.2.3. Les macrolides et apparentés

Ils se divisent en 3 catégories :

- Les macrolides vrai ou macrolides à 14 chaînons qui inclut la Clarithromycine, l'Erythromycine, la Zoxithromycine et la Dirithromycine
- Les macrolides particuliers à 15 chaînons
 - Les Azalides (azithromycine)
 - Les Kétolides (télithromycine dont la commercialisation a cessé récemment)

- Les macrolides à 16 chaînons, Spiramycine et ses dérivés (josamycine , midécamycine) .
Les lincosamides (Clindamycine, Lincomycine) et les synergistines (Dalfopristine, Quinupristine et Pristinamycine) appartiennent à la catégorie des apparentés.

I.2.2.4. Les quinolones et fluoroquinolones

Sont divisées en :

- Quinolones de 1er génération (acide pipémidique, flumérique dont l'arrêt de commercialisation date du début d'année 2019) et fluoroquinolones (enoxacine, loméfloxacin, norfloxacin), cette subdivision (quinolones 1er génération et fluoroquinolones est à visée urinaire)
- Fluoroquinolones à visés systémiques (Ofloxacin, Ciprofloxacine, Péfloxacin qui a été éliminée)
- Fluoroquinolones anti-pneumococques ils agissent principalement sur le pneumocoque (Moxifloxacin et Lévofoxacin)

Les quinolones et fluoroquinolones sont à utiliser avec précaution suite à la présence de nombreuses résistances.

I.2.2.5. Les cyclines

Sont aussi connues sous le nom de Tétracycline on retrouve la Lymécycline, Doxycycline, Minocycline et Tigécycline.

- En plus des cinq classes citées précédemment, on retrouve : les fosfomycines, les lipoglycopeptides ou glycopeptide (Vancomycine, Teicoplanine, Dalbavancine), un lipopeptide (Daptomycine), les polymyxines, les phénicoles, les oxazolidinones, l'acide fusidique, quinoléines, la mupirocine, les sulfamides et triméthoprime, les produits nitrés et les antituberculeux. (Veyssiere, 2020).

I.2.3. Modes d'action des antibiotiques

Chaque classe d'antibiotique a son mode d'action et son lieu d'action (**figure2**).

I.2.3.1. Les bêta-lactamines

Leur cible principale est la paroi bactérienne, plus exactement les enzymes intervenant dans la synthèse de cette dernière en agissant comme inhibiteurs compétitifs. Ils inhibent la synthèse du peptidoglycane présent dans la paroi bactérienne des Gram positifs et Gram négatifs, engendrant une inhibition de la division bactérienne et de la croissance, une déformation bactérienne et une lyse rapide (Bush et Bradford ,2016).

I.2.3.2. Les aminosides

Ils ont pour cible la synthèse des protéines, plus exactement la sous unité 30s des ribosomes bactériens. Ils provoquent des erreurs lors de la lecture de l'ARNm ce qui induit une synthèse erronée des protéines (Mingeot-Leclercq *et al.*, 1999).

I.2.3.3. Les macrolides

Ils se fixent sur la sous unité 50s des ribosomes bactériens et inhibent la synthèse des protéines. Ils empêchent l'élongation de la chaîne peptidique en se fixant à l'entrée du tunnel qui permet la sortie de cette chaîne (Canu et Leclercq, 2002).

I.2.3.4. Les quinolones et fluoroquinolones

Les quinolones bloquent la synthèse de l'ADN en ayant comme cible les 2 enzymes, l'ADN-gyrase et la topoisomérase I, responsables du maintien de la structure de l'ADN. L'inhibition de ces deux enzymes induit un signal engendré par le blocage de la réplication et l'accumulation de l'ADN coupé, ce qui active le système SOS qui va provoquer la mort de la cellule bactérienne (Mérens et Servonnet, 2010).

I.2.3.5. Les tétracyclines

Les tétracyclines ciblent les ribosomes bactériens, plus exactement la sous-unité 30S et inhibent la synthèse des protéines en empêchant l'attachement de l'ARNt-aminoacyl au site de l'accepteur ribosomique (A) (Chopra et Roberts, 2001).

I.2.3.6. Autre

I.2.3.6.a. Les polymyxines : Leur cible principale est le lipopolysaccharide des membranes externes des bacilles à Gram négatif. Elles causent la lyse de la membrane plasmique ce qui induit la mort de la bactérie (Dortet *et al.*, 2016)

I.2.3.6.b. La fosfomycine : Elle bloque l'étape initiale de la synthèse de la paroi bactérienne en inhibant une enzyme responsable de la première étape de la synthèse du peptidoglycane (Pourbaix et Guérin, 2016)

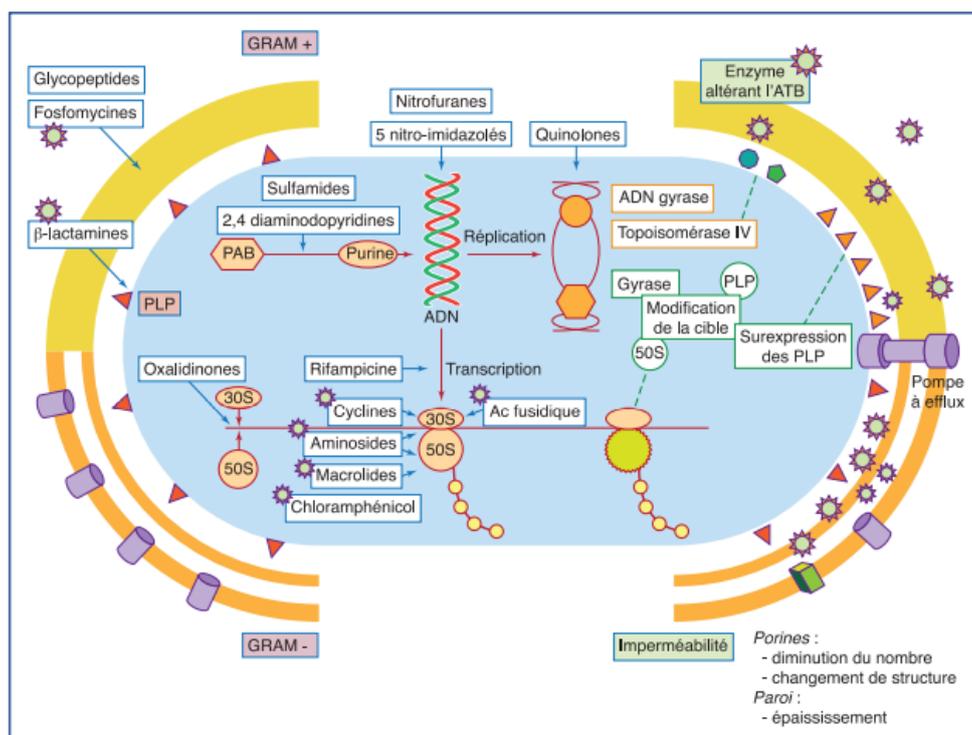


Figure 2 : Les différents modes d'action des antibiotiques (Chaussade et al. 2013)

I.2.4. La résistance bactérienne

C'est la capacité d'une bactérie à survivre et à lutter contre un antibiotique, ce qui entraîne l'absence de tout effet bactéricide et/ou bactériostatique sur celle-ci (MacGowan et Macnaughton., 2017)

Cette résistance peut être intrinsèque ou acquise :

I.2.4.1. La résistance intrinsèque (naturelle)

Se définit comme une tolérance voire une insensibilité vis à vis d'une molécule particulière. On la trouve chez toutes les bactéries de la même espèce ou du même genre. Elle définit le spectre d'action de l'antibiotique. La diminution de la sensibilité à un antibiotique peut être dû à :

- Une affinité diminuée du composé pour la cible bactérienne (par exemple la faible affinité de l'acide nalidixique pour la gyrase des entérocoques.
- La molécule d'antibiotique n'accède pas à la cellule bactérienne (impermeabilité de la membrane externe des bactéries Gram- aux glycopeptides comme la vancomycine).
- Ejection de l'antibiotique par des pompes à efflux chromosomiques (Résistance au tétracycline, chloramphénicol et aux quinolones chez *Pseudomonas aeruginosa*)
- Inactivation de l'antibiotique par la production d'enzyme (la production d'une B-lactamase AMPc chez certains membres de la famille des Enterobacteriaceae.

I.2.4.2. La résistance acquise

Elle se définit comme une caractéristique propre à quelques souches bactériennes d'un genre ou d'une espèce particulière, conduisant à la diffusion de résistance au sein de populations de gerles normalement sensibles (Guardabassi et Courvalin, 2006).

I.2.5. Les principaux mécanismes de résistances

Afin de neutraliser l'action des agents antibactériens, les bactéries ont développé différents mécanismes (**figure 3**)

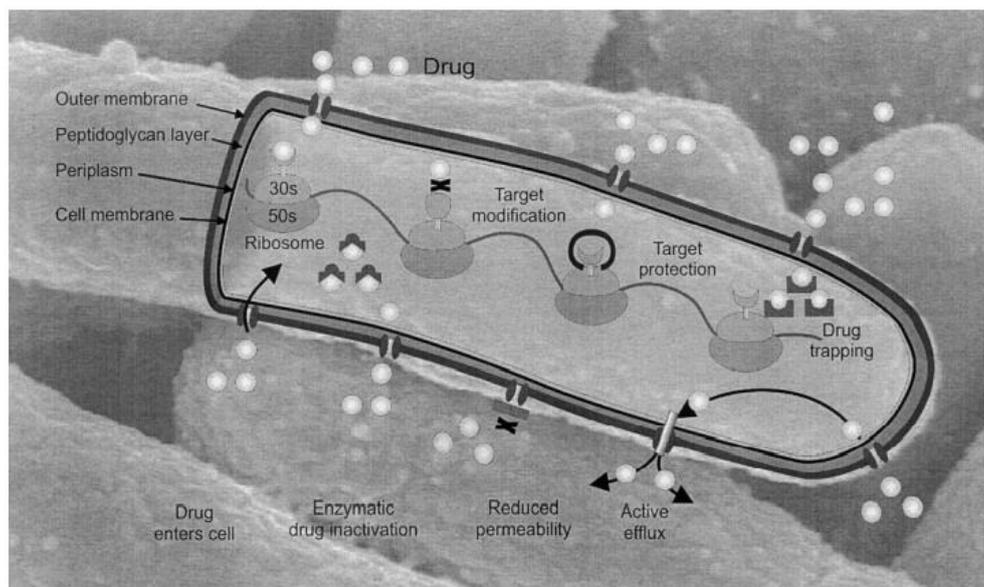


Figure 3 : Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques dans les bactéries Gram négatifs (Guardabassi et Courvalin ,2005)

I.2.5.1. Inactivation enzymatiques

Des enzymes entrent en scène pour la modification de la molécule d'antibiotique par adenylation, phosphorylation ou acétylation. Cette molécule peut aussi être dégradée par l'enzyme comme chez les bactéries à Gram négatif dont les entérobactéries (B-lactamases qui ciblent les B-lactamines) (Boutal, 2018).

I.2.5.2. Imperméabilité

Ce phénomène s'observe chez les Gram négatif car ils possèdent une membrane externe qui est composée de phospholipides et d'une couche de LPS qui agissent comme une barrière sélective dû à des glycopeptides anioniques, en ajoutant à cela la présence de porines qui permettent de faire circuler des molécules hydrophiles de taille limitée vers l'espace périplasmique et qui empêchent les antibiotiques lipophiles d'entrer dans la cellule. De plus, les bactéries à Gram négatif ont la possibilité de faire sortir des éléments comme des déchets métaboliques, des antibiotiques qui auraient des caractéristiques similaires à leurs substrats par différent système (Cockenpot ,2014)

I.2.5.3. Efflux actif

Par présence d'une pompe membranaire chez les bactéries, appelées pompes d'efflux qui engendrent une réduction des concentrations intracellulaires d'antibiotiques (Cattoir, 2004)

I.2.5.4. Modification de la cible

Cela entraîne une perte d'activité de celui-ci, soit par :

- Modification quantitatives : Comme par exemple la résistance naturelle de *Mycoplasma* face aux B-lactamines dû à l'absence de paroi
- Modification qualitatives : C'est un mécanisme fréquent de la résistance acquise cela est dû à une modification de la structure de la cible
- Protection de la cible : C'est une défense réversible de la cible comme par exemple l'élaboration de protéines empêchant la fixation des quinolones (Lesseur ,2014 ; Cardot martin ,2019)

I.2.6. Facteurs favorisant la résistance bactérienne

- Utilisation abusive dans le milieu vétérinaire :

Les animaux ont eux aussi recours aux antibiotiques face à une infection bactérienne car seuls des animaux sains peuvent fournir des denrées alimentaires sans risque pour la santé du consommateur. La majorité des animaux sont élevés en groupe et compte tenu de la proximité des animaux, le risque de contamination est grand. Le vétérinaire sera dans l'obligation de prescrire un traitement à l'ensemble du groupe sans attendre que les animaux manifestent des symptômes.

- Arrêt du traitement :

Pour obtenir une guérison définitive, il faut respecter la durée d'un traitement. Dans certains cas, pour favoriser la bonne observance des traitements, cette durée tend à être diminuée. Cependant, l'arrêt ou la durée précoce du traitement et la consommation d'antibiotiques à une concentration sub-inhibitrice provoquent un stress qui augmente la pression de sélection et ainsi augmente la résistance.

- Prescription d'antibiotiques pour des pathologies virales :

Il y'a longtemps de cela, les antibiotiques ont été prescrits à tort par les médecins. Certains symptômes sont communs chez les infections virales et bactériennes et pour cela, les médecins ont alors recours à des examens complémentaires pour pouvoir faire une distinction (ECBU, Numération sanguine, bandelette urinaire).

- Utilisation du mauvais antibiotique pour la mauvaise bactérie :

Pour éviter cela il est conseillé de procéder à des examens plus spécifiques qui permettent de trouver le germe en question, par exemple, des techniques de coloration sont utilisées notamment la coloration de Gram pour distinguer entre les bactéries à Gram positif ou Gram négative (Veyssiere 2020).

I.2.7. Conséquences de l'antibiorésistance

L'utilisation inadaptée des antibiotiques et l'administration répétée de ceux-ci chez l'homme ou l'animal crée des conditions appelées une pression de sélection, favorisant l'acquisition et la dissémination de souches résistantes aux antibiotiques. Le phénomène d'antibiorésistance a pris une ampleur considérable conduisant à la difficulté voire l'impossibilité de traiter certaines infections (Santé publique 2022).

Cette impasse thérapeutique a un impact majeur sur la santé publique et économique allongeant les durées et coûts de traitement. Mondialement, ces surcoûts sont estimés entre 300 et 1000 milliard de dollars par an d'ici 2050 (Boutal, 2018).

I.3. Antibiothérapie des infections urinaires

La prescription d'antibiotique et l'évaluation de la réponse au traitement sont une pratique quotidienne et afin d'assurer le fonctionnement de l'antibiothérapie, une bonne interprétation de l'antibiogramme s'impose (Pajot et Regnier 2007).

I.3.1. L'antibiogramme

L'antibiogramme est un test qui aide à mesurer la capacité des antibiotiques à inhiber la croissance bactérienne in vitro. Par conséquent, il livre des informations sur la sensibilité des bactéries aux agents anti-infectieux (Benouda et Tagajdid, 2008).

L'antibiogramme a un rôle crucial pour la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) d'une souche bactérienne vis-à-vis des divers antibiotiques. Par définition, la CMI est la plus faible concentration d'antibiotique capable d'induire une inhibition de la croissance bactérienne visible à l'œil nu (Faraj, 2011)

I.3.1.1. Méthode de diffusion sur milieu solide

On retrouve la méthode des disques et la méthode du E-test (Marcel, 2005)

I.3.1.1.a. Méthode des disques

C'est la plus souvent utilisée par les laboratoires. À la surface d'un milieu gélosé préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier, des disques de papier buvard imprégnés d'antibiotique à tester y sont déposés. Les disques s'entourent de zones d'inhibitions circulaires correspondant à une absence de culture

Interprétation : Le diamètre de la zone d'inhibition est mesuré et ensuite transformé en 'S'(sensible), 'R'(résistant) ou 'I'(intermédiaire) (Jehl *et al.*, 2015).

I.3.1.1.b. Bandelette contenant un gradient prédéfini et continu de concentration d'antibiotiques (E-TEST)

Le "E-test " est une méthode de mesure des CMI des agents antimicrobiens contre les bactéries, basée sur la diffusion d'un gradient antibiotique préformé à partir d'une bandelette en plastique.

La performance du test E a été évaluée par comparaison avec la méthode traditionnelle de CMI par dilution en gélose (Brown *et al.*,1991)

I.3.1.2. Méthode de dilution

I.3.1.2.a. Macro/micro-dilution en milieu liquide ou dilution en gélose

Ce sont des méthodes de référence pour mesurer les CMI. Le principe de ces méthodes consiste à préparer des dilutions d'un antibiotique dans un milieu de croissance liquide ou solide. Ce milieu contenant des concentrations décroissantes d'antibiotique est inoculé avec une suspension bactérienne incubée pendant 18-24h. (IPA, 2020).

I.3.2. Intérêt de la mesure de la CMI

Dans certains cas, le diamètre d'inhibition sur l'antibiogramme approche d'un point critique et la connaissance précise des CMI est importante et peut être très utile.

Il est aussi nécessaire de connaître la CMI dans le cas de certaines infections graves (par exemple, des pyélonéphrites graves, des endocardites ...etc.) où la concentration tissulaire de l'antibiotique doit être bien supérieure à la CMI de la bactérie pour que cet antibiotique soit efficace (Jolyguillou, 2006).

Chapitre II :
Matériel et méthodes

Chapitre II : Matériel et méthodes

Notre étude a eu lieu au niveau du laboratoire d'analyse médicales du DR Hachmi Ould Rouis à Blida, sur une période de 6 mois allant de Janvier à Juin 2022.

Portant sur une étude de la résistance en rétrospectif regroupant 250 patients présentant une infection urinaire.

Parmi les 250 dossiers étudiés, 18 ont été choisis afin de récupérer leurs souches pour la tentative de mettre en place une méthode qui permet la mesure de la CMI en mimant le E-test commercialisé.

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel biologique

Nous avons travaillé sur 18 souches de patients isolées d'antibiogrammes positifs choisies au hasard. Parmi ces souches, on retrouve 15 entérobactéries (11 *Escherichia coli* et 4 *Klebsiella pneumoniae*) et 3 *Pseudomonas aeruginosa*.

Deux souches de références ont été également utilisées au cours de nos tests microbiologiques dont *Escherichia coli* ATCC 29522 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853.

II.1.2. Matériel non biologiques

Le matériel non biologique est représenté par les instruments, les appareillages, les milieux de cultures, disques d'antibiotiques utilisés ainsi que le matériel utilisé pour la confection de notre bandelette (**Annexe I**).

II.2. Méthodes

II.2.1. Etude de la résistance

Afin d'évaluer la résistance bactérienne envers les différentes classes d'antibiotiques dans les infections urinaires et voir envers quel antibiotique les bactéries présentent le plus de résistance ou au contraire, le plus de sensibilité, 250 dossiers d'antibiogrammes positifs ont été analysés.

Différents paramètres ont été recueillis pour chaque patient (Age, sexe, bactéries isolées et profil de résistance aux antibiotiques).

II.2.2. Conception d'un test mimant le E-Test commercialisé (CMI)

II.2.2.1. Approche d'une conception artisanale

Pour une première approche d'une application traditionnelle artisanale d'un kit commercial, on commence par la fabrication de disques d'antibiotiques et par la suite mettre en place notre bandelette qui pourra peut-être nous permettre de mesurer la CMI.

Les disques ont été conçus à l'aide d'un appareil appelé machine à œillets (**Annexe I**). Cet appareil confectionne des disques de diamètre de 6mm.

Tous ces antibiotiques ont été comparés avec un disque de référence de la marque Bio-Rad en se référant aux valeurs des charges de disques trouvées dans le tableau tiré du livre de standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale, 8ème édition, Avril 2022 (**Annexe II**).

Cinq antibiotiques ont été sélectionnés pour nos essais. Il s'agit de la Gentamicine, la Ciprofloxacine et l'Imipénème testés sur *Escherichia coli* ATCC25299 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 ainsi que l'Augmentin (Amoxicilline + acide clavulanique) et la céfazoline testés sur *Escherichia coli* ATCC25922.

- Chaque disque a été testé 20 fois

Voici les étapes qu'on préconise :

II.2.2.1.a. La gentamicine

Diluer la solution mère de concentration initiale de 80mg/2ml (40 mg/ml) au 1/40 pour aboutir à une charge de disque de 10µg.

Prendre 10µl de la solution finale, la déposer sur le disque et le laisser sécher quelques minutes dans le sécheur puis le conserver dans une boîte stérile au congélateur jusqu'au moment de l'utilisation. (Le même principe sera suivi pour la gamme des antibiotiques cités par la suite, la seule différence est celle des dilutions)

II.2.2.1.b. La ciprofloxacine

Diluer la solution mère de concentration initiale de 200 mg/100ml. Prendre 1ml de la solution mère et lui ajouter 3ml d'eau distillée (dilution de 1/4) pour aboutir à une charge de disque de 5 µg.

II.2.2.1.c. L'Imipénème

Diluer 500 mg de poudre d'antibiotique dans 10 ml d'eau distillée puis faire une dilution au 1/50 pour aboutir à une charge de disque de 10µg.

II.2.2.1.d. L'Augmentin

Prendre 1 sachet d'augmentin d'1g/125mg (1g pour l'amoxicilline et 125 mg pour l'acide clavulanique). En additionnant les deux dosages, on obtient 1125mg.

Les 1125mg ont été dilués dans 3,75ml d'eau distillée pour aboutir à une charge de 30µg.

II.2.2.1.e. La céfazoline

Diluer 1 g de poudre d'antibiotique dans 10 ml d'eau, prendre 100 µl de la solution en ajoutant 3,33ml d'eau pour aboutir à une charge finale de 30 µg.

Le tableau I ci-dessous résume toutes les étapes citées auparavant

Tableau I : Les antibiotiques utilisés pour la conception des disques ainsi que leur dilutions

Antibiotique	Posologie	Dilution	Concentration initiale voulue
Gentamicine	40mg/ml	1/40	10µg
Ciprofloxacine	200mg/100ml	1/4	5 µg
Imipenème	500mg	1/50	10 µg
Amoxicilline+Ac.clav	1g/125mg	Diluer dans 3,75ml	30 µg
Céfazoline	1g	Diluer dans 10ml puis prendre 100µl et rajouter 3,33ml d'eau	30 µg

II.2.2.3. Confection de la bandelette

II.2.2.3.a. Bandelette cloisonnée (ancienne bandelette)

Pour la confection de notre bandelette, on aura besoin de papier buvard, ciseau, règle, stylo.

On commence par découper à l'aide d'un ciseau des bandelettes de dimension de 0,5*0,5 à 8cm de hauteur divisées en plusieurs cases (16 cases).

- Pour notre première tentative, la bandelette n'était pas cloisonnée.

Sur chaque case, une concentration (x) d'antibiotique est déposée en partant de la concentration la plus faible à la concentration la plus élevée.

Le premier antibiotique testé sur cette bandelette est la céfazoline qui est commercialisé sous forme de poudre injectable d'1g

En se référant aux valeurs retrouvées dans la méthode de dilution sur milieu gélosé (CMI partant de 512 $\mu\text{g}/\text{ml}$ à 0,016 $\mu\text{g}/\text{ml}$), on dilue 1g de poudre d'antibiotique dans 9,765ml d'eau distillée et on fait des dilutions de demi en demi pour aboutir à une concentration partant de 512 $\mu\text{g}/5\mu\text{l}$ à 0,016 $\mu\text{g}/5\mu\text{l}$ (dans notre bandelette on ne peut pas déposer un millilitre par case donc on a procédé par la préparation d'une solution qui va nous permettre de prendre 512ug par 5 μl qui est une quantité adéquate pour le dépôt).

Prendre 5 μl de chaque dilution et la déposer sur la bandelette en partant de la case 1 jusqu'à la case 16 en débutant de la concentration la plus faible comme montré sur la figure 4 :

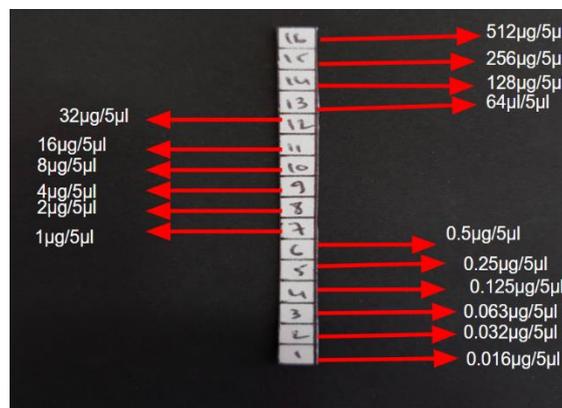


Figure 4 : Disposition des différentes concentration d'antibiotique sur la bandelette

Ayant eu une dispersion trop rapide de l'antibiotique entre les différentes cases, on décide de changer les dimensions de cette bandelette. On fabrique donc une bandelette de 8,4cm, divisée en 14 cases de 0,6x0,6cm, cloisonnée en vernis à ongles et ceci après avoir testés les différents types de cloisons (résine, colle d'écolier, pistolet à colle, colle rapide, vernis)

Au final, pour la céfazoline, on change les dilutions d'antibiotique. On décide de simplifier et de diluer 1 g de poudre d'antibiotique dans 10 ml d'eau physiologique pour aboutir à une concentration initiale de 500 $\mu\text{g}/5\mu\text{l}$.

Notre intervalle de dilution est montré sur la figure suivante (figure 5) :

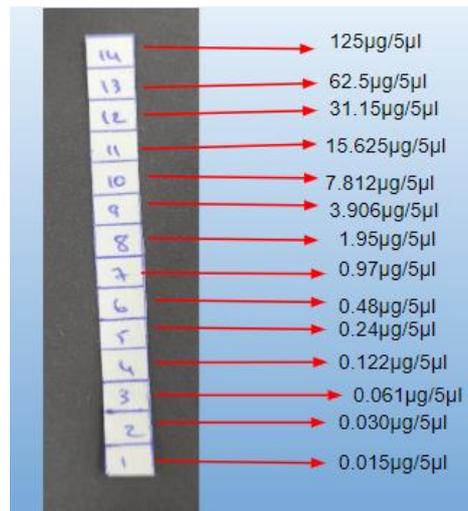


Figure 5: Les différentes concentrations d'antibiotiques déposées sur la bandelette de 0,6x0,6 cloisonnée pour la Céfazoline

En gardant le même modèle de bandelette, on teste celle-ci pour la ciprofloxacine.

L'antibiotique est sous forme de solution injectable de concentration équivalente à 100 mg/200 ml (sachant que 200 mg/100 ml = 10 µg/5 µl). On réalise des dilutions de demi en demi

Ce qui fait qu'on obtient un intervalle de dilution sur notre bandelette partant de 0,0012 µg/5 µl à 10 µg/5 µl comme montré sur la **figure 6** :

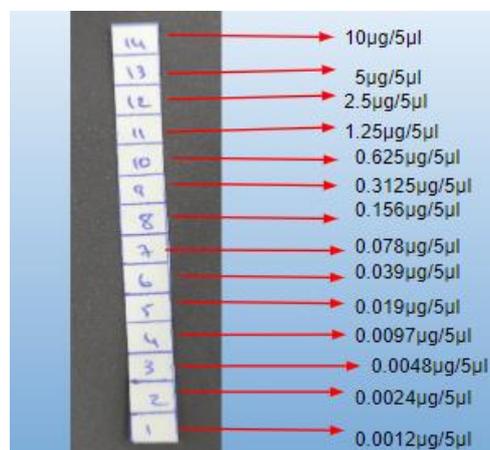


Figure 6: Les différentes concentrations d'antibiotiques déposées sur notre bandelette pour la Ciprofloxacine

II.2.2.3.b. Bandelette à spots (nouvelle bandelette)

Ayant eu un problème de résultats avec l'ancienne bandelette (bandelette cloisonnée), nous avons opté pour une nouvelle bandelette à spots qui est assez simple à réaliser.

Tout d'abord il suffit de réaliser des disques comme ceux confectionnés pour les disques d'antibiotiques puis numéroter chaque disque de 1 jusqu'à 12 (cela est ajustable selon les valeurs de concentration souhaitées). En utilisant les mêmes dilutions réalisées précédemment pour la bandelette cloisonnée sur la céfazoline et la ciprofloxacine, on vient déposer sur chaque disque la valeur appropriée d'antibiotique en débutant par la plus faible concentration par exemple pour la céfazoline sur le disque ou il est noté numéro 1 on vient déposer la concentration la plus faible qui est de 0,015µg/5µl et ainsi de suite (le même principe que celui vu précédemment dans la bandelette cloisonnée).

Après avoir mis les disques dans le sécheur, on vient les coller à l'aide du vernis à ongles sur un support en plastique comme montré sur la figure suivante (figure7) :

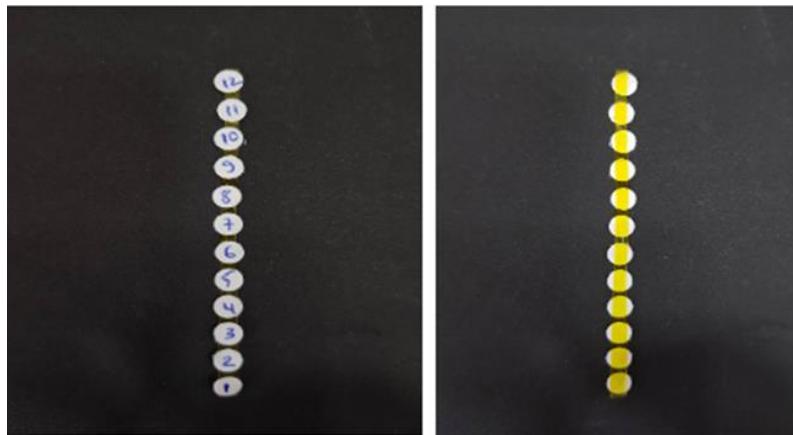


Figure 7: Illustration de la nouvelle bandelette à spots

II.2.2.4. Validation de l'efficacité et la stabilité des bandelettes

Ayant réalisé nos bandelettes et déposé les concentrations d'antibiotique qui conviennent sur chaque cases, on vient tester celles-là sur les deux souches de control (*E.coli* ATCC 25922 et *P.aeruginosa* ATCC27853). Pour la ciprofloxacine, les deux souches seront testées par contre pour la céfazoline seulement *E.coli* ATCC 25922 sera testée car les souches de *Pseudomonas spp* présentent une résistance naturelle envers cet antibiotique (IPA, 2020)

On compare nos valeurs de CMI avec le tableau des valeurs limites des concentrations minimales inhibitrices pour les souches de références retirés du livre de Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle national , 8ème édition , Avril 2020 (IPA, 2020) **(Annexe II)**

Pour la céfazoline l'intervalle de la valeur de CMI recherché pour *E.coli* ATCC 25922 est de (1-4 µg/ml).

Pour la ciprofloxacine l'intervalle de la valeur de CMI recherché pour *E.coli* ATCC 25922 est de (0,004-0,016 µg/ml), et pour *Pseudomonas* il est de (0,12-1 µg/ml).

II.2.2.4.a. Test de répétabilité

Le test a été réalisé sur la bandelette cloisonnée seulement.

On répète l'opération 30 fois pour les deux antibiotiques.

Pour la céfazoline les 30 essais ont été réalisés uniquement sur *Escherichia coli* ATCC 25922 et pour la ciprofloxacine on a réalisé 15 tests sur *Escherichia coli* ATCC 25922 et 15 sur *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

II.2.2.4.b. Comparaison entre les valeurs retrouvées sur nos bandelettes avec la méthode de référence sur milieu gélosé

Après avoir validé la CMI sur les souches de référence et comparé avec le tableau des valeurs limites des concentrations minimales inhibitrices pour les souches de références retirés du livre de Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle national, 8ème édition, Avril 2020 (**Annexe II**). On vient confirmer ces valeurs avec la méthode de référence sur milieu gélosé.

18 souches de patients ayant une infection urinaire ont été repiquées d'antibiogrammes et ré-isolées sur le milieu UriSelect (milieu chromogène qui permet de voir les différentes souches sous différentes couleurs) seront également testées pour comparer leurs CMI retrouvées avec nos bandelettes et celles retrouvées sur le milieu gélosé.

Cet isolement nous a permis de confirmer l'identification des souches repiquées (11 *E.coli*, 4 *K.pneumoniae* et 3 *P.aeruginosa*) sachant que chaque souche bactérienne a sa propre coloration (*E.coli* en rose, *K.pneumoniae* en violet et *P.aeruginosa* en vert) comme montré dans la figure suivante (figure 8)

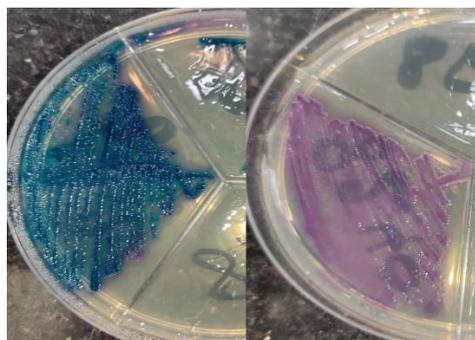


Figure 8 : Isolement de deux souches de patients (une *K.pneumoniae* et une *E.coli*)

Sur la bandelette cloisonnée, la céfazoline et la ciprofloxacine seront testées avec les 18 souches

Sur la bandelette à spots, la céfazoline et la ciprofloxacine seront testées uniquement avec 6 souches de patients prises parmi les 18 précédentes suite à la contamination du restant des souches après un certain temps.

Dans les deux bandelette les deux souches de référence seront également testées
Les étapes de dilution sur milieu gélosé sont résumées ci-dessous :

- **Milieu de culture**

Milieu Mueller-Hinton en gélose

Il est liquéfié par ébullition puis maintenu à la température de surfusion (45°C) jusqu'au moment de l'emploi

- **Préparation des boîtes de dilution**

Peser 51,20 mg de poudre titrée d'antibiotique et diluer dans le volume de solvant approprié pour obtenir une concentration stock de 5120 µg/ml (solution-mère)

Procéder aux dilutions semi-logarithmiques de raison de 2 (de demi en demi), dans le solvant approprié, jusqu'à la concentration finale de 1,25µg/ml.

Répartir 2 ml de chaque dilution d'antibiotique, dans la boîte correspondante en procédant de la plus faible concentration à la concentration la plus élevée sans changer de pipette.

Compléter chaque boîte avec 18 ml de milieu Mueller-Hinton liquéfié et homogénéiser délicatement, sans faire de bulle, le contenu des boîtes par des mouvements circulaires. La dilution obtenue (1/10ème) dans chaque boîte aboutit à une concentration finale allant de 512µg/ml à 0.125µg/ml. La gamme de dilution peut être étendue selon les valeurs souhaitées (IPA, 2020)

Les dilutions ont été préparées selon le schéma retrouvé dans le livre de Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle national, 8ème édition, Avril 2020 (**Annexe II**) en tenant compte de la posologie de chaque antibiotique, on réalise donc les dilutions suivantes :

Pour la céfazoline :

Diluer 1 g de poudre d'antibiotique dans 5 ml d'eau distillée puis faire une dilution au 1/40 pour obtenir une solution à une concentration de 5000 µg/ml (solution mère)

Réaliser des dilutions semi-logarithmiques de raison de 2 dans de l'eau stérile jusqu'à une concentration finale de 1,22 µg/ml (**tableau II**)

Tableau II : Schéma pour la préparation des dilutions d'antibiotiques

Etape	Concentration (µg/ml)	ATB (ml)	Diluant (ml)	Concentration intermédiaire	Concentration finale dans la gélose (µg/ml)
Solution mère	5000			5000	500
1	5000	2	2	2500	250
2	5000	1	3	1250	125
3	5000	1	7	625	62,5
4	625	2	2	312,5	31,25
5	625	1	3	156,25	15,625
6	625	1	7	78,125	7,8125
7	78,125	2	2	39,0625	3,90625
8	78,125	1	3	19,5315	1,95315
9	78,125	1	7	9,765	0,9765
10	9,765	2	2	4,882	0,4882
11	9,765	1	3	2,44	0,2441
12	9,765	1	7	1,22	0,122

Pour la Ciprofloxacine

Démarrer d'une solution mère dont la concentration est de 2000 µg/ml (sachant que le flacon de ciprofloxacine contient une concentration de 200 mg/100ml)

Réaliser des dilution semi-logarithmiques de raison de 2 dans de l'eau stérile jusqu'à une concentration finale de 0,0122µg/ml (**tableau III**).

Tableau III : Schéma pour la préparation des dilutions de la Ciprofloxacine

Etape	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	ATB Diluant		Concentration intermédiaire	Concentration finale dans la gélose ($\mu\text{g/ml}$)
		(ml)	(ml)		
Solution mère				2000	
1	2000	2	2	1000	100
2	2000	1	3	500	50
3	2000	1	7	250	25
4	250	2	2	125	12,5
5	250	1	3	62,5	6,25
6	250	1	7	31,25	3,125
7	31,25	2	2	15,625	1,5
8	31,25	1	3	7,8125	0,78125
9	31,25	1	7	3,90625	0,3906
10	3,90625	2	2	1,95315	0,195315
11	3,90625	1	3	0,9765	0,09765
12	3,90625	1	7	0,4882	0,04882
13	0,4882	2	2	0,2441	0,02441
14	0,4882	1	3	0,122	0,0122

Préparer une boîte témoin sans antibiotique en remplaçant le volume d'antibiotique par le même volume d'eau physiologique stérile

Après solidification, sécher les boîtes dans le sécheur.

- **Préparation de l'inoculum bactérien**

À partir d'une culture pure de 18-24h racler quelques colonies isolées à l'aide d'une anse en platine.

Décharger l'anse dans 5-10ml d'eau distillée stérile ou d'eau physiologique stérile.

À l'aide d'un spectrophotomètre, préparer un inoculum standard d'une densité optique de 0,08 à 0,10 lue à 625nm.

- **Dépôt des spots bactériens**

- Déposer les spots dans les 15 mn suivant la préparation de l'inoculum.
- Marquer la boîte de dilution d'antibiotique pour localiser et identifier chaque spot.
- Appliquer chaque spot sur la gélose, en utilisant une anse calibrée.
- Commencer par la boîte témoin, puis déposer les spots sur les différentes boîtes en allant de la plus faible concentration à la concentration la plus élevée.

Dans notre étude, on a déposé 18 spots préparés à partir d'inoculum de souches de patients récupérées des antibiogrammes.

Pour la Céfazoline on a déposé 15 spots (4 *Klebsiella pneumoniae*, 11 *Escherichia coli*) et on a tracé une strie la souche de control *Escherichia coli* ATCC 25922.

Pour la ciprofloxacine on a déposé 15 spots (3 *Klebsiella pneumoniae*, 9 *Escherichia coli*, 3 *Pseudomonas aeruginosa*) et on a tracé 2 stries des 2 souches de control *Escherichia coli* ATCC25922 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853.

Sachant que notre boîte de pétrie ne prend que 15 spots, pour la ciprofloxacine, on a retiré 2 souches de *Escherichia coli* et 1 de *Klebsiella pneumoniae* qu'on a remplacé par 3 souches de *Pseudomonas aeruginosa*.

- **Incubation**

Laisser les boîtes à températures ambiante, couvercle vers le haut, jusqu'à absorption de l'humidité (séchage des spots pas plus de 30 mn).

Renverser les boîtes et incuber à 35°C +/- 2 pendant 16-20 heures.

Placer les boîtes sur une surface sombre, non réfléchive

Noter la CMI (la plus faible concentration d'antibiotique inhibant toute croissance bactérienne visible (Ne pas prendre en considération 2 colonies ou un léger film).

Comparer les résultats obtenus des souches de contrôle aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes pour être sur des dilutions des milieux gélosés (**Annexe II**).

- **Lecture des CMI**

Placer les boîtes sur une surface sombre, non réfléchive

Noter la CMI (la plus faible concentration d'antibiotique inhibant toute croissance bactérienne visible (Ne pas prendre en considération 2 colonies ou un léger film)

Comparer les résultats obtenus des souches de control aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes pour être sur des dilutions des milieux gélosés (**Annexe IV**).

II.2. Analyse statistique

Nous avons, de façon systématique, recherché à mettre en évidence les divers liens ou corrélations pouvant exister entre les variables relatives aux germes des différentes espèces et les réponses observées pour les divers antibiotiques, c'est-à-dire des réponses (résistances ou sensibilités) plus fortement appuyées pour tel ou tel antibiotique et telle ou telle espèce (ou germe).

Ces liens ont été mis en évidence par des tests de χ^2 . Ce test est en général basé sur deux variables et le dénombrement de leurs diverses modalités. Il consiste à mettre en évidence un lien (s'il existe) entre les modalités de ces variables, comme par exemple chercher s'il existe un lien entre tel espèce (ou germe en particulier) et la réponse observée pour tel antibiotique, comme une résistance (ou sensibilité) significativement plus forte (ou plus faible).

Concernant les concentrations minimales inhibitrices (CMI), le test approprié est celui de Student pour échantillons appariés (t-test for dependent samples). En effet, pour chaque patient, ce sont les différences entre milieu gélosé et bandelette qui sont testées pour mettre en évidence une différence éventuelle des CMI moyennes entre les deux méthodes.

L'analyse statistique a été établie sur Statistica 64, version 12 de StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA. Les différences ont été jugées significatives pour $p < 0,05$.

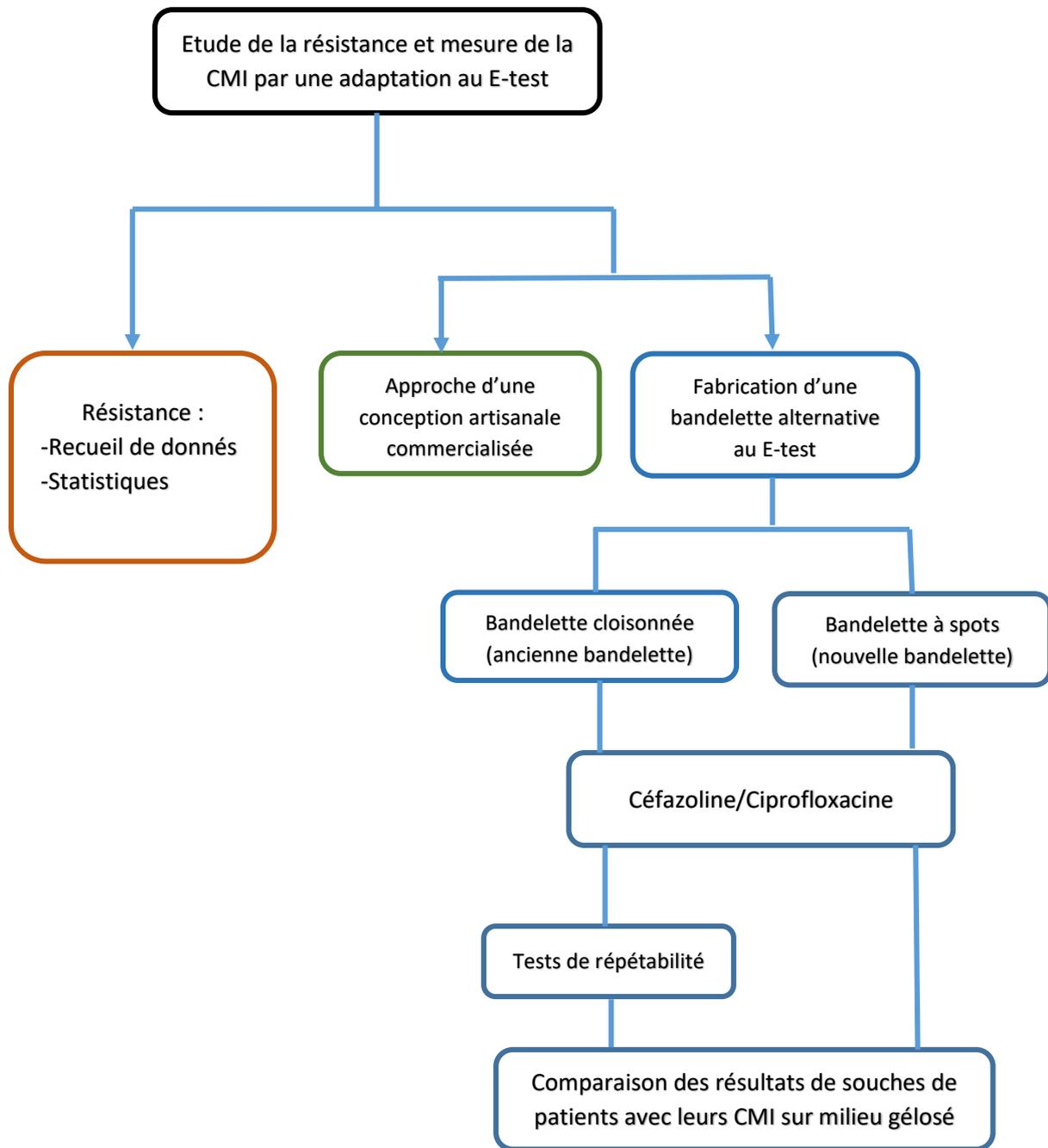


Figure 9 : La méthodologie de notre étude

Chapitre III :
Résultats et discussion

III.1. Constat sur la résistance aux antibiotiques (rétrospective)

Nos résultats sont obtenus à partir de l'étude de 250 résultats d'antibiogrammes de patients ayant des infections urinaires.

III.1.1. L'infection urinaire selon l'âge et le sexe

III.1.1.1. Effectif de l'infection urinaire selon l'âge et le sexe

- Age moyen des femmes : $42,9 \pm 1,8$ ans
- Age moyen des hommes : $46,5 \pm 4,4$ ans
- La moitié des patientes ont 41 ans ou plus (exactement 50,0%).
- La moitié des patients ont 62 ou plus (exactement 51,9%)

Les résultats sont plus détaillés dans le graphe suivant (**figure 10**) :

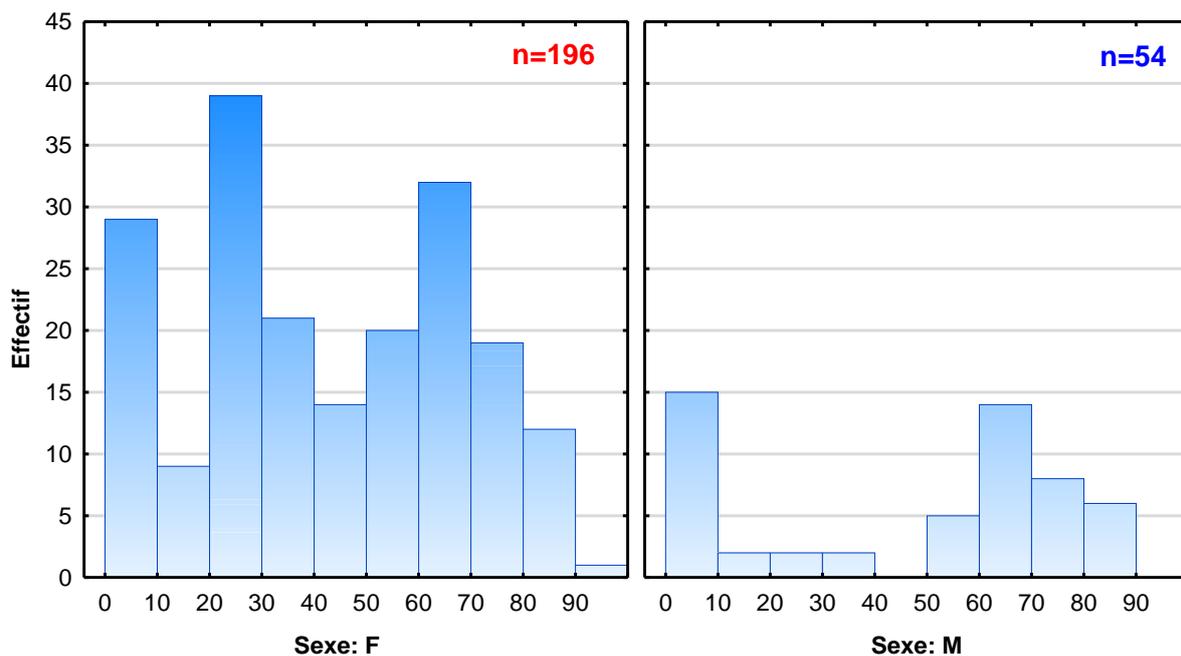


Figure 10 : La distribution des patients par âges par sexe

Nos résultats montrent que les infections urinaires touchent plus de femmes que d'hommes avec un effectif de 196 (78,4%) pour les femmes contre 54 (21,6%) pour les hommes ce qui concorde avec l'étude de Hailaji en 2016 et Larbi en 2003 qui ont trouvé une prédominance du sexe féminin avec un pourcentage de 61,7% et 85% respectivement.

Ceci est probablement dû aux facteurs de risque comme : la grossesse, l'anatomie de l'appareil urinaire de la femme qui diffère de celui de l'homme par l'urètre qui est plus court et aussi par rapport à la distance entre l'anus et l'urètre qui est plus courte aussi chez la femme, ce qui favorise les infections par des germes fécaux.

Benhiba en 2015 nous confirme l'hypothèse selon laquelle, cette prédominance est due à la taille de l'urètre qui est anatomiquement plus court chez la femme d'une part et à la grossesse d'autre part.

On remarque aussi un effectif assez élevé pour les enfants dont l'âge varie entre 0 et 10 ans, dans les deux sexes avec une petite prédominance féminine, par contre dans la tranche d'âge allant de 20-30 ans, l'effectif est bien plus élevé chez le sexe féminin et quasiment nul chez le sexe masculin probablement car durant notre période de travail, il n'y a pas eu de patients dans cette classe. Zahir en 2019 a aussi trouvé une prédominance chez le sexe féminin dans la catégorie des enfants). Ceci doit être la conséquence d'une mauvaise hygiène et comme on l'a dit auparavant, l'appareil urinaire féminin est plus exposé aux infections.

Cependant, Thirion et Williamson montrent dans leur étude faite en 2003 que dans la population pédiatrique, les garçons de moins de 3 mois ont un risque plus élevé. À contrario, chez les enfants plus âgés, les filles ont un risque plus important et que la circoncision semble réduire le risque d'infection pour les garçons.

On note également un effectif assez important dans les deux sexes pour les tranches d'âge allant de 60 à 70 ans et 70 à 80 ans avec prédominance féminine. Ceci pourrait être dû à l'incontinence urinaire ou tout simplement car le laboratoire où on a recueilli nos résultats a reçu un nombre élevé de patients âgés durant notre période de travail. Cependant, Thirion et Williamson dans leur même étude citée précédemment, notent que chez les personnes âgées, de 5% à 10% des hommes et 10% à 20% des femmes souffrent d'infection urinaire asymptomatique, ce qui en quelque sortes concorde avec nos résultats où l'on a remarqué une hausse de l'effectif dans cette catégorie de la population.

III.1.1.2. Fréquence des germes retrouvés dans les infections urinaires selon le sexe

Tableau IV : La fréquence des germes responsables des infections urinaires selon le sexe

Summary Frequency Table Marked cells have counts > 4 (Marginal summaries are not marked)				
Espèce	Germe	Sexe Fém	Sexe Mas	Row Totals
Entérobactéries	E.coli	139	24	163
	Proteus mirabilis	5	3	8
	K.pneumoniae	20	10	30
Total		164	37	201
Staphylococcus spp	S. saprophyticus	5	3	8
	S. aureus	4	0	4
Total		9	3	12
Pseudomonias spp	P.aeruginosa	8	9	17
Total		8	9	17
Enterococcus spp	E. faecalis	13	4	17
Total		13	4	17
Streptococcus spp	S.agalactiae	2	1	3
Total		2	1	3
Column Total		196	54	250

Parmi les 250 patients, nous avons répertorié 201 (80,4%) patients (**Tableau IV**) ayants des entérobactéries comme germe causal de l'infection urinaire.

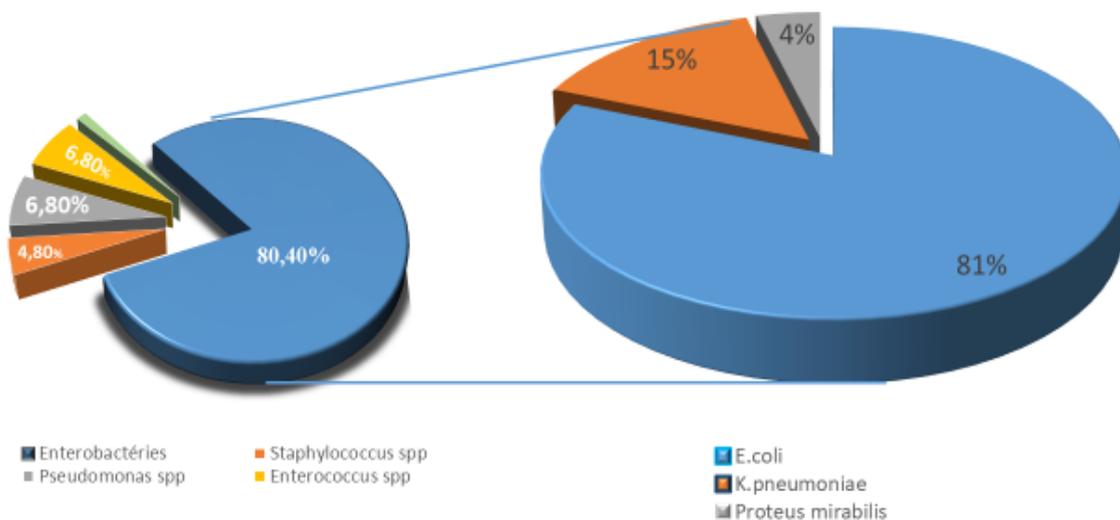


Figure 11 : Les différents germes retrouvés dans les infections urinaires ainsi que la répartition des entérobactéries

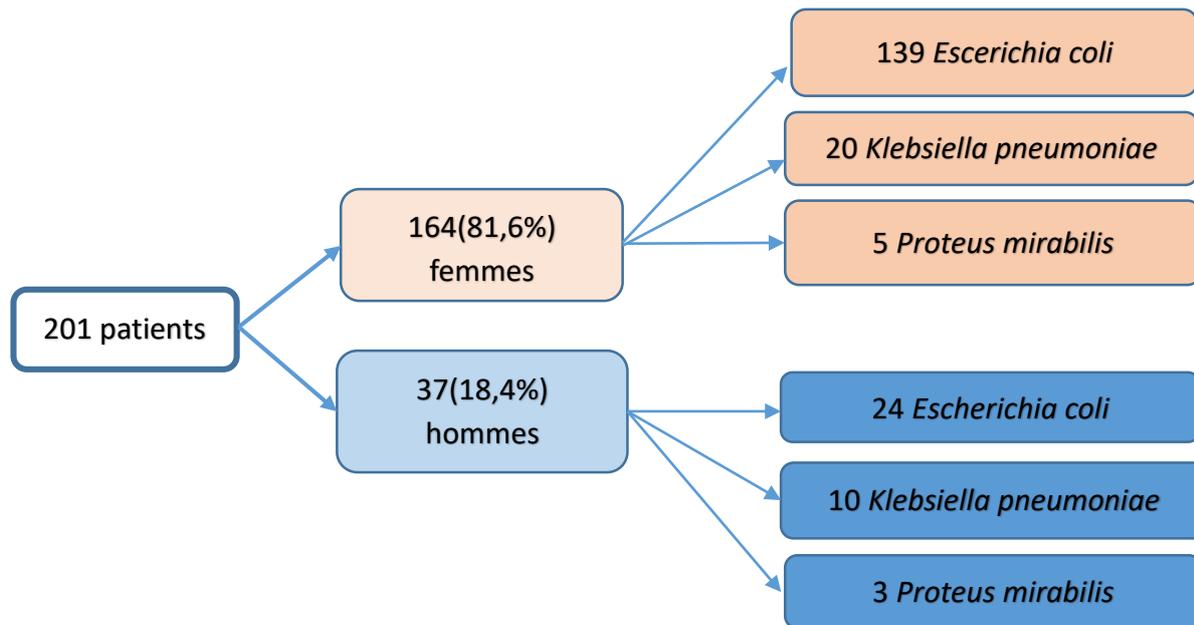


Figure 12: La répartition des entérobactéries selon le sexe

Le Groupe des entérobactéries se démarque de loin par rapport aux autres classes (80,4%) avec en tête de liste *Escherichia coli* (81,09% du total des entérobactéries et 65,2% du total de l'échantillon) suivie de *Klebsiella pneumoniae* (14,92% du total des entérobactéries et 14% du total de l'échantillon) et de *Proteus mirabilis* (3,98% du total des entérobactéries et 3,2% du total de l'échantillon) en 3^{ème} lieu (**Figure 11**)

Ce sont des résultats qui concordent avec les études qu'ont fait Larabi en 2003 et Benhiba en 2015 séparément, où on retrouve un pourcentage de 88% des entérobactéries chez les deux et aussi une concordance avec l'étude faite en 2016 par Hailaji qui classe *E.coli* en tête de liste des entérobactéries dans les infections urinaires avec un pourcentage de 64% du total de l'échantillon suivie de *K.pneumoniae* (24,1%) et de *P.mirabilis* (1,9%).

Ceci est probablement dû à la dominance des entérobactéries dans le tube digestif en particulier *E.coli* et c'est ce que Lahlou nous confirme en 2009 dans son étude sur les entérobactéries isolées d'infections urinaires.

III.1.1.3. Réponses des souches d'entérobactéries aux divers antibiotiques

Durant notre recueil, on a remarqué des résistances à certains antibiotiques (ex : l'ampicilline), et afin de savoir s'il y a d'éventuels liens entre le type de réponse (R/S) et le type d'antibiotique, nous avons effectué le test du χ^2 .

Le test du χ^2 s'est avéré très hautement significatif ($\chi^2=982,3$, $p<0.0001$).

Et c'est à partir de cela qu'on a effectué une distribution des réponses des entérobactéries aux divers antibiotiques. Celle-ci est montrée dans le tableau V qui suit :

Tableau V: Réponses des entérobactéries aux divers antibiotiques

Antibiotique	Résistant (n, %)	Sensible (n, %)
Ampiciline	154 (76,60)	47 (23,40)
Amoxicilline	154 (76,60)	47 (23,40)
Amox + ac. clavulanique	86 (42,80)	115 (57,20)
Céfazoline	76 (38,00)	124 (62,00)
Céfalexine	76 (38,00)	124 (62,00)
Céfuroxime	61 (30,35)	140 (69,65)
Céfixime	26 (13,00)	174 (87,00)
Céfotaxime	25 (12,50)	175 (87,50)
Ceftriaxone	23 (11,44)	178 (88,56)
Céfoperazone	24 (11,94)	177 (88,06)
Gentamicine	23 (11,44)	178 (88,56)
Amikacine	1 (0,50)	200 (99,50)
Colistine	7 (3,48)	194 (86,52)
Ac. nalidixique	85 (42,29)	116 (57,71)
Péfloxacine	62 (30,85)	139 (69,15)
Ciprofloxacine	29 (14,57)	170 (85,43)
Cotrimoxazole	88 (44,00)	112 (56,00)
Imipénem	0 (0,00)	201 (100,00)
Nitrofurantoïne	74 (37,00)	126 (63,00)
Fosfomycine	16 (8,00)	184 (92,00)

Les **résistances les plus fortes**, de façon hautement significative ont été rencontrées

- Avec l'ampicilline (154 R sur les 201 patients soit 76,6% de l'échantillon)
- Avec l'amoxicilline (154 R sur les 201 patients soit 76,6% de l'échantillon)

Sachant que *E.coli* seule présente une résistance à 73% aux deux antibiotiques . L'étude de Zahir faite en 2009 se rapproche de nos résultats où il a trouvé un pourcentage de 80% de résistance de *E.coli* à l'amoxicilline.

Ces résistances sont dues majoritairement à la prescription massive et abusive des antibiotiques à large spectre comme les β -lactamines qui sont toujours prescrites en première intention dans les infections urinaires à cause de leur bonne diffusion dans les voies urinaires (Benhiba *et al.*,2015).

Il faut noter aussi que ces antibiotiques cités précédemment sont aussi des antibiotiques qui sont très utilisés en automédication et circulent en vente libre (sans ordonnance) par les pharmacies ce qui favorise l'émergence des résistances et c'est aussi mentionné dans l'étude de Lahlou citée précédemment.

- Les **sensibilités les plus élevées**, de façon hautement significative ont été rencontrées
 - Avec l'imipénème (201 S soit 100.0% de l'échantillon)
 - Avec l'amikacine (200 S sur les 201 patients soit 99.5% de l'échantillon)
 - Avec la colistine (194 S sur les 201 patients soit 96.5% de l'échantillon).

On observe des sensibilités très significatives pour l'imipénème suivie de l'amikacine qui sont des antibiotiques à usage hospitalier puis on retrouve la colistine en 3^{ème} lieu.

En prenant l'exemple, de l'imipénème, il n'est prescrit qu'en dernière intention. C'est ce que Vardakas explique en 2012. L'imipénème fait partie des carbapénèmes qui sont des β -lactamines à large spectre, constituant la dernière ligne du traitement efficace des infections.

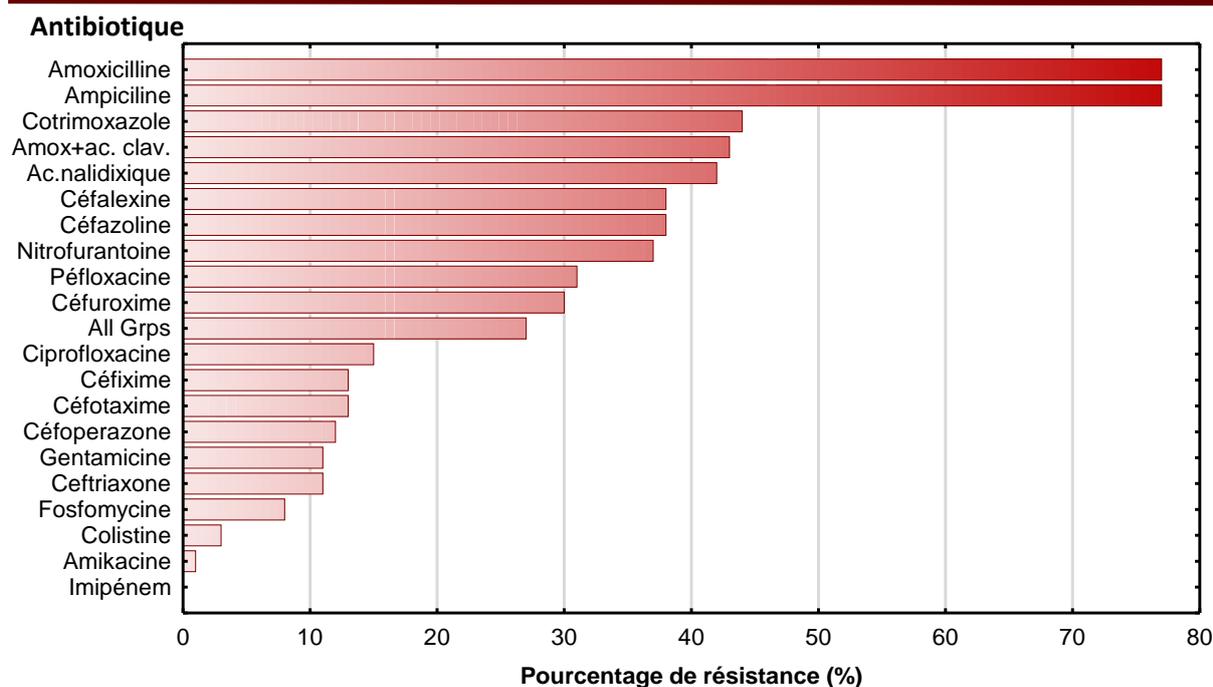


Figure 13 : Les résistances des entérobactéries aux divers antibiotiques

III.1.1.4. La sensibilité aux antibiotiques en fonction des différents germes des entérobactéries

Le germe *E.coli* présente, de façon hautement significative ($p < 0,001$), une sensibilité plus marquée aux divers antibiotiques figurants dans le **tableau V** (74,9% des réponses).

En contraste, *K.pneumoniae* se distingue par sa résistance très significativement plus forte que les 2 autres germes (37,4% contre 25,1% pour *E. coli* et 30,6% pour *P.mirabilis*). (Voir **tableau V**)

Tableau VI : Les réponses des entérobactéries aux antibiotiques

Germe	Sensibilité	Résistance	Total
<i>E. coli</i>	2435	817	3252
	74,9%	25,1%	
<i>Proteus mirabilis</i>	111	49	160
	69,4%	30,6%	
<i>K. pneumoniae</i>	375	224	599
	62,6%	37,4%	
Total	2921	1090	4011

En ayant terminé notre analyse sur les entérobactéries, en se tourne vers les autres espèces.

III.1.1.5. *Staphylococcus spp*

On n'a pas fait des tests car il y avait beaucoup de réponses à 100%

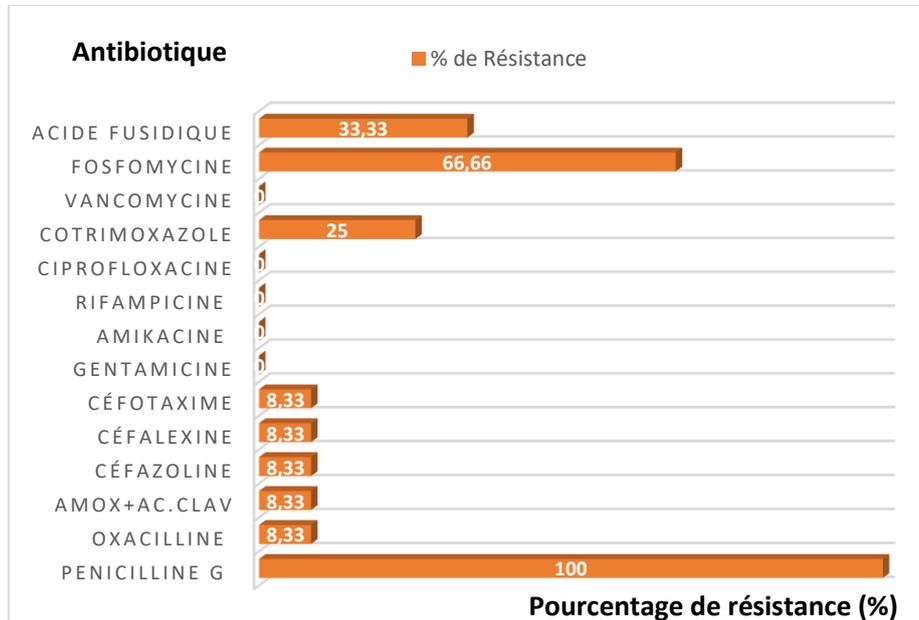


Figure 14 : Les résistances des *Staphylococcus spp* aux divers antibiotiques

Réponses à 100% Résistant pour la pénicilline G

Réponses à 100% Sensible pour la gentamicine, la rifampicine, la ciprofloxacine et la vancomycine.

Il faut noter que *S.saprophyticus* est naturellement résistante à la fosfomycine et à l'acide fusidique (IPA, 2020).

III.1.1.5.a. Réponse en fonction des différents Staphylocoques

Les résistances des germes *S.saprophyticus* et *S.aureus* aux divers antibiotiques sont comparables ((79,5% et 83,9%, $\chi^2=0,48$, $p=0,49 \gg 0,05$)). Toute fois *S.saprophyticus* est un peu plus sensible aux antibiotiques et c'est aussi le constat qu'a fait Vu-Thien en 1998.

Tableau VII : La réponse des *staphylococcus spp*

Germe	Sensibilité	Résistance	Total
<i>S.saprophyticus</i>	23 20,5%	89 79,5%	112
<i>S.aureus</i>	9 16,1%	47 83,9%	56
Total	32	136	168

III.1.1.6. *Pseudomonas spp*

Test du χ^2 hautement significatif ($\chi^2=235,6$, $p<<0,0001$)

La réponse aux différents antibiotiques présente donc des différences hautement significatives

Exemple :

Résistance à 100% à l'ampicilline, amoxicilline, amoxicilline + ac. Clavulanique, céfazoline et à 94,1% à la fosfomycine (sachant que *Pseudomonas aeruginosa* est naturellement résistante aux aminopénicilline, aux céphalosporines de 1ère et 2ème génération (céfazoline), tétracyclines, quinolones, céfotaxime. (IPA, 2020). Enfin une sensibilité à 100%) à la ticarcilline, tobramycine, et autres.

On retrouve aussi une sensibilité à 82,35% à la gentamicine, 94,12% à la tobramycine et 100% à l'amikacine ce qui montre que les aminosides gardent toujours plus ou moins une excellente activité. On a aussi une bonne activité de l'imipénème avec 94,12% de sensibilité, ce qui concorde avec l'étude de Sekhsokh en 2008.

III.1.1.7. *Enterococcus spp*

On n'a pas fait de tests statistiques car il y avait beaucoup de réponses à 100%

On retrouve des réponses à 100% résistants à : la céfzoline, céfotaxime, gentamicine et amikacine.

Il faut noter que : *Enterococcus faecalis* est naturellement résistante aux céphalosporines (céfazoline, céfotaxime) et présente une résistance naturelle à bas niveau aux aminosides (gentamicine et amikacine) (IPA, 2020), et c'est pour cela qu'on a obtenu ce pourcentage de résistances.

On trouve aussi une sensibilité à 100% pour la vancomycine.

On remarque cependant une certaine bonne activité des B-lactamines avec un pourcentage de 82,35% de sensibilité à l'ampicilline et à l'amoxicilline ce qui concorde avec les résultats retrouvés par Vu-Thien en 1998.

III.1.1.8. *Streptococcus spp*

On n'a obtenu que 3 germes sur les 250 patients et c'est pour cela qu'on n'a pas fait de tests statistiques mais il faut savoir que *Streptococcus spp* présente une résistance naturelle à bas niveau aux aminosides (IPA, 2020).

III.2. Conception d'un test mimant le E-Test commercialisé (CMI)

III.2.1. Approche d'une conception artisanale d'un kit commercialisé (disques d'antibiotiques)

On a testé les disques conçus avec les souches de référence *E.coli* ATCC25922 et *P.aeruginosa* ATCC 27853. Les diamètres obtenus ont été tous comparés avec le tableau tiré du livre de starisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle national, 8ème édition, Avril 2022 (Annexe II).

III.2.1.1. La gentamicine et la ciprofloxacine

II.2.1.1.a. La gentamicine et la ciprofloxacine testés sur *E.coli* ATCC25922

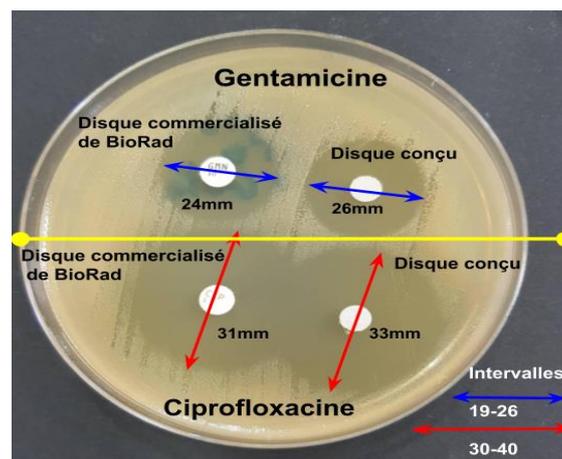


Figure 15 : Comparaison entre les disques d'antibiotiques conçus pour la gentamicine et la Ciprofloxacine avec leurs disques commercialisés sur la souche de référence *E.coli* ATCC 25922

En comparant nos résultats avec le tableau tiré du livre (**Annexe II**), on constate que les valeurs du diamètre du disque conçu pour la gentamicine et la ciprofloxacine (figure15) sont compris dans l'intervalle trouvé dans le livre.

Pour la ciprofloxacine le diamètre du disque conçu est de 33mm et celui de Bio-Rad est de 31mm. Ces deux valeurs sont comprises dans l'intervalle du tableau (30-40 mm).

Pour la Gentamicine le diamètre du disque conçu est de 26mm et celui de Bio-Rad est de 24mm ces deux valeurs sont comprise dans l'intervalle du tableau (19-24mm).

II.2.1.1.b. La Gentamicine et la Ciprofloxacine testées sur *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

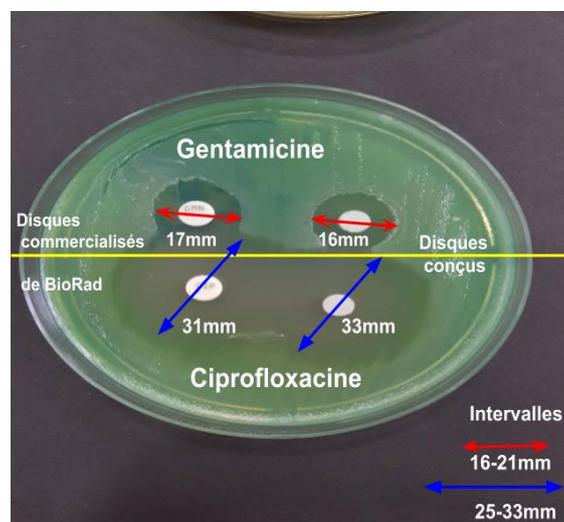


Figure 16 : Comparaison entre les disques d'antibiotiques conçus pour la gentamicine et la Ciprofloxacine avec leurs disques commercialisés sur la souche de référence *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Pour la ciprofloxacine le diamètre du disque conçu est de 33mm et celui de Bio-Rad est de 31 mm. Ces deux valeurs sont comprises dans l'intervalle 25-33 mm.

Pour la Gentamicine le diamètre du disque conçu est de 16mm et celui de bio-ras est de 17mm. Ces deux valeurs sont aussi comprises dans l'intervalle 16-21mm.

III.2.1.2. Imipénème

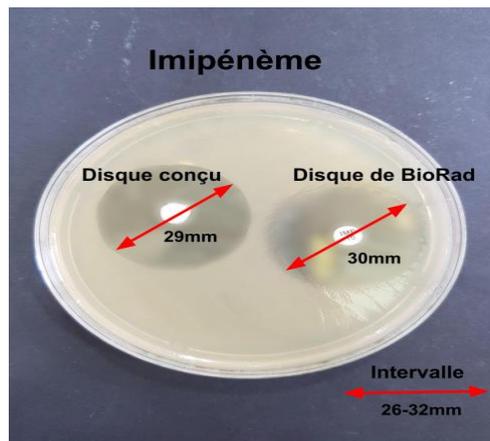


Figure 17: Résultat obtenu en testant les disques d'antibiotiques conçus pour l'imipénème sur la souche de référence *E.coli* ATCC 25922 en se référant au disque commercialisé

Pour le disque conçu, le diamètre trouvé est de 29 mm et pour le disque de Bio-Rad, la valeur est de 30 mm (figure 17). Ces deux valeurs sont comprises dans l'intervalle voulu (26-32mm).

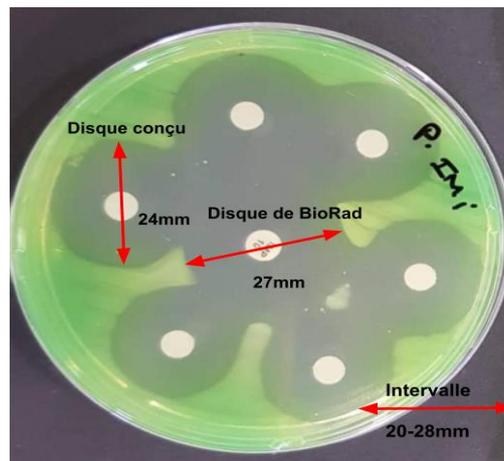


Figure 18: Résultat obtenu en testant les disques d'antibiotiques conçus pour l'imipénème sur la souche de référence *P.aeruginosa* 27853 en se référant au disque commercialisé

Pour le disque conçu le diamètre trouvé est de 24 mm et pour le disque de Bio-rad la valeur est de 27mm. Ces deux valeurs sont comprises dans l'intervalle souhaité (20-28mm).

II.2.1.3. L'amoxiciline + l'acide clavulanique (Augmentin)

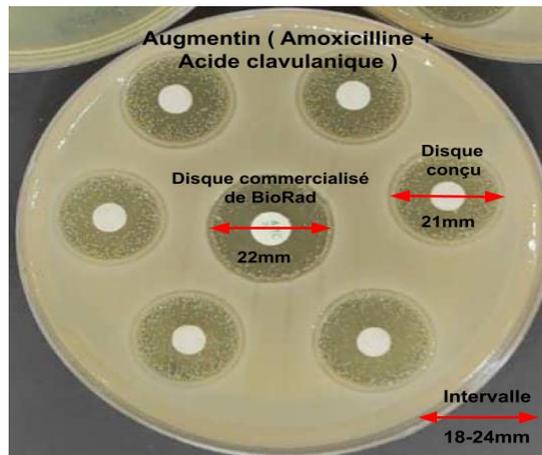


Figure 19: Comparaison entre les disques d'antibiotiques conçus pour l'Augmentin avec le disque commercialisé sur la souche de référence *E.coli* ATCC 25922

Pour le disque conçu, le diamètre trouvé est de 21 mm et pour le disque de Bio-Rad, la valeur est de 22mm (figure 19). Ces deux valeurs sont comprises dans l'intervalle du tableau (18-24mm).

Il faut noter que si l'on voit des colonies dans les zones d'inhibitions, ceci est dû à l'épuisement de l'antibiotique dû au fait d'avoir laissé les boîtes en incubation dans l'étuve tout le long d'un week-end.

II.2.1.4. La céfazoline

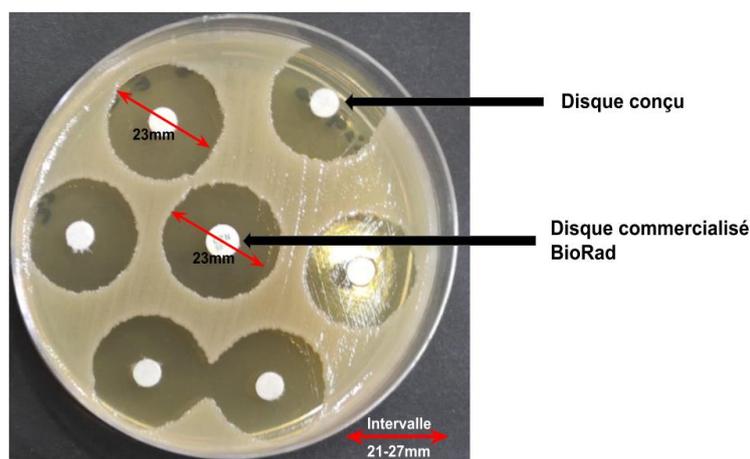


Figure 20: Résultat obtenu en testant les disques d'antibiotiques conçus pour la Céfazoline sur la souche de référence *E.coli*25 ATCC 25922 en se référant au disque commercialisé

Les diamètres de nos disques testés sont identiques avec le diamètre du disque Bio Rad qui est d'une valeur de 23mm (figure20). Ce diamètre est compris dans l'intervalle (21-27mm) du tableau figurant dans le livre de standardisation.

Le disque n'a pas été testé sur *P.aeruginosa* ATCC27853 suite à la résistance naturelle de celle-ci à la céfazoline (IPA, 2020)

Ayant obtenu des résultats satisfaisants pour les disques d'antibiotiques, on juge que ces disques peuvent être utilisés sans le moindre problème par les laboratoires, car on remarque ces derniers temps une pénurie assez prononcée pour les disques d'antibiotique alors qu'on peut les confectionner soi-même avec trois fois rien.

Le tableau ci-après résume nos résultats obtenus (Tableau VIII)

Tableau VIII: Les valeurs obtenues pour les disques d'antibiotiques

Antibiotiques	<i>E.coli</i> ATCC 25922			<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853		
	Disque conçu(mm)	Disque Bio-rad(mm)	Intervalle (mm)	Disque conçu(mm)	Disque Bio-rad(mm)	Intervalle(mm)
Gentamicine	25	24	(19-26)	16	17	(16-21)
Ciprofloxacine	33	31	(30-40)	28	33	(25-33)
Imipénème	29	30	(26-32)	24	27	(20-28)
Augmentin	21	22	(18-24)			
Céfazoline	23	23	(21-27)			

Cela nous pousse davantage à aller au cœur de notre étude qui est la confection d'une bandelette permettant la mesure de la CMI.

III.2.2. La conception de la bandelette

Nous présentons dans cette partie les résultats de validation des bandelettes par la vérification, concernant les souches de références, des valeurs de la CMI sur le tableau des valeurs limites des concentrations minimales inhibitrices pour les souches de références retirés du livre de Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale, 8ème édition, Avril 2020, et la validation par comparaison des résultats de la mesure de la CMI sur milieu gélosé concernant les deux souches de références et des patients.

III.2.2.1. La bandelette cloisonnée

III.2.2.1. a. Résultats de CMI obtenus pour les souches de control *E.coli* ATCC 25922 et *P.aeruginosa* ATCC 27853

Nos résultats ont été comparés avec les tableaux des valeurs limites des concentrations minimales inhibitrices pour les souches de références utilisées retirés du livre de Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle national, 8ème édition, Avril 2020 (**Annexe II**).

- **La céfazoline testée sur *E.coli* ATCC25922**

Avec le modèle de bandelette 0,5*0,5 et non cloisonnée, avec une dilution initiale partant de 0,016 μ g/5 μ l a 512 μ g/5 μ l on a obtenu le résultat suivant :

Une inhibition de la souche bactérienne dans la case 5 qui renvoie à une valeur de CMI de 0,25 μ g/5 μ l comme montré dans la figure (**figure21**). Cette valeur n'est pas comprise dans l'intervalle trouvé dans le livre qui est de (1-4) μ g/ml.

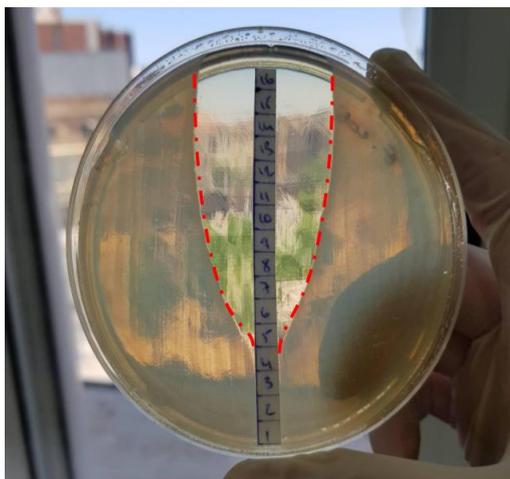


Figure 21 : Résultat obtenu en testant la Céfazoline avec une concentration initiale de 512 μ g/5 μ l sur une bandelette de 0,5x0,5 cm sur *E.coli* ATCC 25922

Cette différence est probablement due à l'absence de cloisons car on remarque qu'au moment du dépôt de l'antibiotique sur la case qui convient à chaque dilution, l'antibiotique diffuse au-delà de la case ciblée. Cela nous a poussé à faire d'autres tests pour élucider ce problème. Nous avons pensé en premier à changer les dimensions de la bandelette car la première était trop petite et à rajouter une cloison pour éviter la diffusion de l'antibiotique au-delà de la case où il a été appliqué.

- Tests de cloisons

Les résultats obtenus pour les différentes cloisons testées sont comme suite :

Pour la résine Elle se solidifie rapidement d'où l'impossibilité de son application, La colle d'écolier ne nous a pas permis de créer une cloison vu sa texture qui est un peu épaisse et donc sa malabsorption.

Le pistolet à colle était encore plus épais que la colle d'écolier d'où l'impossibilité de son absorption, par contre pour la colle rapide vu sa bonne absorption par le papier buvard et après avoir testé son effet antimicrobien qui d'ailleurs est négatif, on a décidé de cloisonner nos bandelettes de dimension 0,6*0,6 avec de la colle rapide.

On observe une inhibition bactérienne dans la case 6 comme montré sur la figure (**figure 22**). Cette case correspond à une valeur de CMI de 0,5 $\mu\text{g}/5\mu\text{l}$, cette valeur n'est pas comprise encore une fois dans l'intervalle trouvé dans le livre (1-4). On remarque également une dissymétrie lors de l'inhibition de la souche bactérienne.

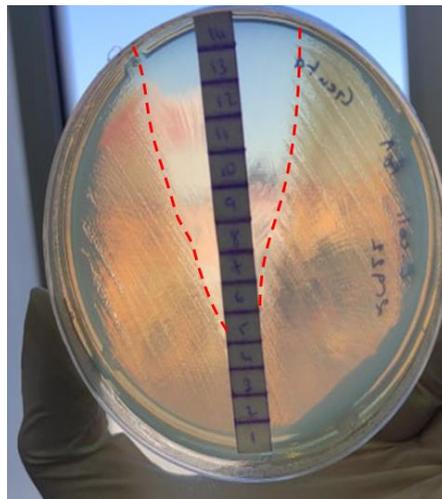


Figure 22: Résultat obtenu avec la nouvelle bandelette de 0.6x0.6cm cloisonnée avec la colle sur la souche de E.coli ATCC 25922

On remarque déjà une amélioration de la CMI obtenue sur la bandelette cloisonnée par rapport à la non cloisonnée (0,5 $\mu\text{g}/5\mu\text{l}$ et 0,25 $\mu\text{g}/5\mu\text{l}$ respectivement). Cela confirme qu'il fallait effectivement mettre une cloison entre les différentes cases.

Pour la dissymétrie survenue lors de l'inhibition de la souche bactérienne, cela revient au fait que l'antibiotique n'a pas dispersé uniformément sur la totalité de la case 5 probablement au fait qu'il y ait eu une mal application de la colle car elle est très difficile à manipuler.

Pour éviter tout problème, on propose une autre alternative pour les cloisons qui est le vernis.

Enfin après avoir testé l'absence d'effet antimicrobien du vernis à ongles et en remarquant sa bonne absorption par le papier buvard ainsi qu'une facilité lors de son application, on a testé cette cloison toujours sur la bandelette de dimension 0,6*0,6 pour la céfazoline et sur *E.coli* ATCC 25922 les résultats obtenus sont représenté sur la figure suivant (**figure 23**)

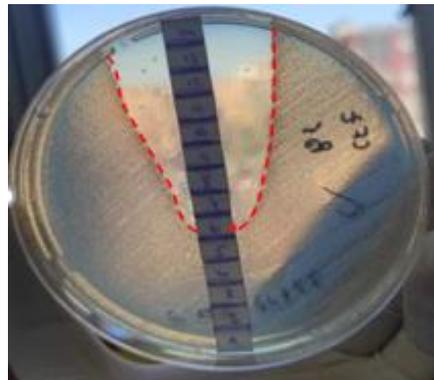


Figure 23 : Résultat obtenu avec les cloisons de vernis à ongle

Sur la figure on observe une inhibition de la souche bactérienne dans la case 6 qui renvoie à une valeur de CMI de 0,5 $\mu\text{g}/5\mu\text{l}$. Cette valeur représente une amélioration mais reste encore non-comprise dans l'intervalle du livre (1-4).

On remarque que la valeur de CMI obtenue pour la bandelette cloisonnée par la colle et celle cloisonnée par le vernis sont identiques (0,5 $\mu\text{g}/5\mu\text{l}$), mais on préfère choisir une bandelette cloisonnée en vernis vu la facilité lors de son application.

Après avoir réglé le problème des cloisons, nous nous sommes tournées vers les dilutions d'antibiotique en milieu gélosé sachant que celles-ci commencent par une concentration de 512 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (**Annexe II**). A défaut de pouvoir démarrer d'une solution mère de 1024mg car la céfazoline est vendu sous forme de poudre injectable à une dose de 1g.

Ainsi nous avons décidé de travailler dans un intervalle de dilution partant de 500 $\mu\text{g}/5\mu\text{l}$ pour être sûres de déposer la quantité adéquate de l'antibiotique sur la bandelette

Il faut noter que les dilutions sont extensibles selon la posologie de chaque antibiotique. Après avoir dilué 1g de poudre d'antibiotique dans 10 ml d'eau, les résultats obtenus sont représentés sur la figure suivante (**Figure 24**)

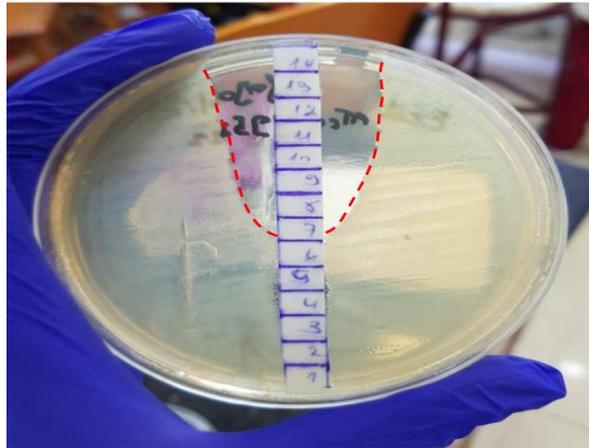


Figure 24 : Résultat obtenu avec une bandelette cloisonnée avec du vernis avec une dilution initiale de 500 μ g/5 μ l sur *E.coli* ATCC 25922

On observe sur la figure un début d'inhibition dans la case 7 qui correspond à une CMI de 0,97 μ g/5 μ l mais on observe aussi un contact minime avec cette dernière ce qui nous pousse à prendre la concentration de la case 8 comme CMI qui est d'une valeur de 1,95 μ g/5 μ l.

Après avoir fait tous ces tests, nous avons validé la bandelette de 0,6x0,6 cloisonnée en vernis avec les nouvelles dilutions commençant de 500 μ g/5 μ l pour le reste de nos tests sur la Céfazoline.

- **La ciprofloxacine testée sur *E.coli* ATCC 25922 et *P.aeruginosa* 27853**

En démarrant d'une concentration partant de 10 μ g/5 μ l on obtient les résultats suivants :

- ***E.coli* ATCC 25922 :**

Les résultats obtenus sont représentés sur la figure 25 suivante :

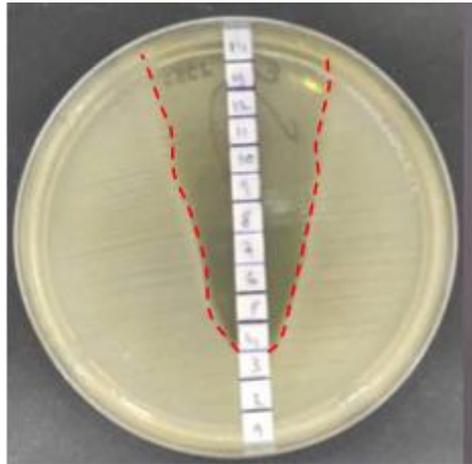


Figure 25 : Résultat obtenu avec une bandelette cloisonnée en vernis avec une dilution initiale de $10\mu\text{g}/5\mu\text{l}$ sur *E.coli* ATCC 25922

On observe une inhibition de la souche dans la case 4 qui correspond à une CMI de $0,0097\mu\text{g}/5\mu\text{l}$. cette valeur est comprise dans l'intervalle du tableau tiré du livre (0,004-0,016)

➤ *P.aeruginosa* ATCC27853

Le résultat obtenu est représenté sur la figure 26 suivante :

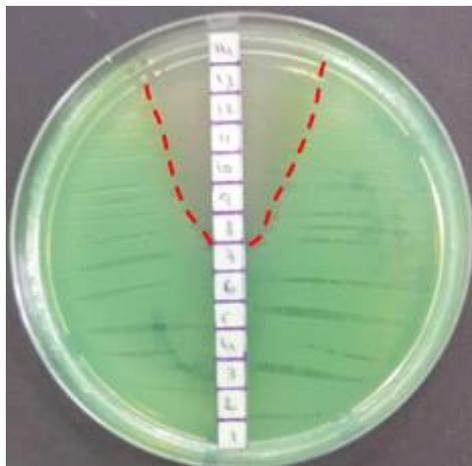


Figure 26 : Résultat obtenu avec une bandelette cloisonnée en vernis avec une dilution initiale de $10\mu\text{g}/5\mu\text{l}$ sur *P.aeruginosa* ATCC 27853

On observe dans la **figure 26** une totale inhibition dans la case 8 qui correspond à une concentration de $0,15\mu\text{g}/5\mu\text{l}$. Cette valeur est comprise dans notre intervalle (0,12-1).

III.2.2.1. b. Tests de répétabilité

Ce test consiste à répéter l'opération vue précédemment 30 fois sur les souches de control *E.coli* ATCC 25922 et *P.aeruginosa* ATCC 27853.

➤ Pour la céfazoline

Ce test sera réalisé uniquement sur *E.coli* ATCC 25922 car *P.aeruginosa* 27853 présente une résistance naturelle envers cet antibiotique.

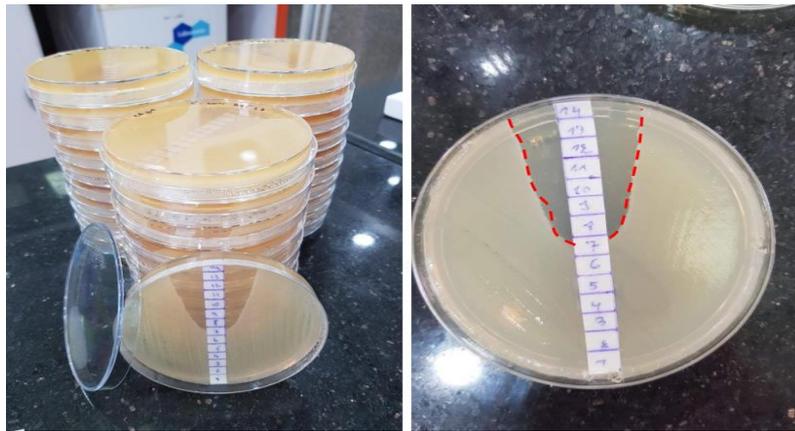


Figure 27 : Le résultat obtenu lors du test de répétabilité de la céfazoline réalisé sur la souche de control *E.coli* ATCC25922

Le même résultat a été observé pour les 30 boîtes (**figure 27**). Une inhibition totale de la souche est observée dans la case 8 qui correspond à une valeur de $1,95\mu\text{g}/5\mu\text{l}$. Tous ces tests ont été réalisés au même moment et dans les mêmes conditions de travail.

➤ La ciprofloxacine

Nous avons préféré partager les 30 tests de répétabilité entre les deux souches (15 essais sur *E.coli* ATCC 25922 et 15 essais sur *P.aeruginosa* ATCC 27853).

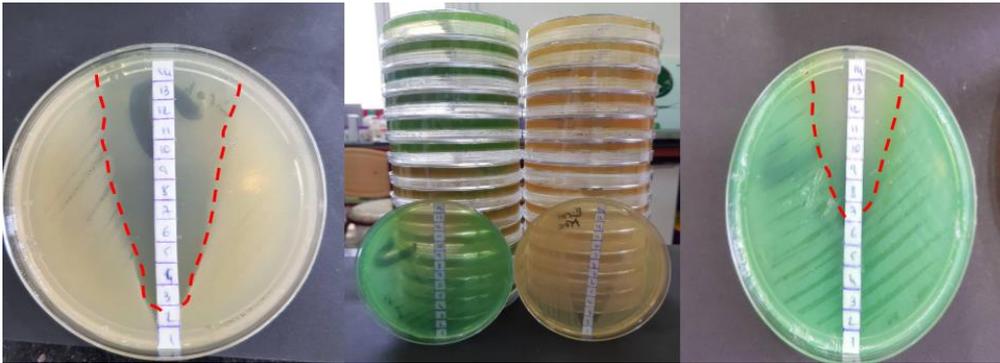


Figure 28 : Le résultat obtenu lors du test de répétabilité de la ciprofloxacine réalisé sur la souche de control *E.coli* ATCC25922 et la souche de control *P.aeruginosa* ATCC27853

Pour la souche de *E.coli* ATCC25922 ,on a obtenu des résultats identiques dans les 15 boîtes où on a observé une inhibition totale commençant de la case 3 correspondant à la valeur $0,004\mu\text{g}/5\mu\text{l}$ alors que précédemment lors de notre premier essai on a obtenu une total inhibition dans la case 4 équivaut à une valeur de $0,0097\mu\text{g}/5\mu\text{l}$ (**figure 28**). Les deux valeurs sont comprises dans l'intervalle recherché (0,004-0,016).

Pour la souche de *P.aeruginosa* ATCC27853, on a obtenu des résultats identiques dans les 15 boîtes où on a observé une inhibition totale commençant de la case 8 correspondant à la valeur de $0,15\mu\text{g}/5\mu\text{l}$ (**figure 28**). Cette valeur est comprise dans l'intervalle recherché (0,12-1).

III.2.2.1. c. Comparaison entre les valeurs obtenues sur milieu gélosé et notre bandelette pour les souches de control et pour les souches de patients

- Pour la céfazoline

Les résultats obtenus en testant la souche de control et les 18 souches de patients sur notre bandelette cloisonnée et sur milieu gélosé sont résumés dans le tableau IX ci-dessous :

Tableau IX : Les résultats obtenus sur milieu gélosé et la bandelette pour la céfazoline

Patients	Genres	Céfazoline		
		Interprétation Sur l'antibiogramme	CMI gélosé $\mu\text{g/ml}$	CMI bandelette $\mu\text{g/5ul}$
1	<i>E.coli</i>	S	1,95	0,97
2	<i>Klebsiella</i>	R	R	R
3	<i>Klebsiella</i>	S	R	R
4	<i>E.coli</i>	S	3,906	1,95
5	<i>E.coli</i>	S	1,95	0,48
6	<i>E.coli</i>	S	1,95	0,97
7	<i>E.coli</i>	S	7,81	1,95
8	<i>E.coli</i>	S	15,62	3,906
9	<i>Klebsiella</i>	R	R	R
10	<i>Klebsiella</i>	R	R	R
11	<i>E.coli</i>	S	1,95	0,97
12	<i>E.coli</i>	R	R	R
13	<i>E.coli</i>	S	1,95	0,48
14	<i>E.coli</i>	S	3,906	0,97
15	<i>E.coli</i>	R	R	R
Souche de control	<i>E.coli</i> ATCC 25922	S	1,95	0,48

S : Sensible

R : Résistant

La détermination des CMI sur milieu gélosé a été basée sur l'observation d'une inhibition totale (disparition du spot) ou partielle (par présence de 3 colonies maximum ou par la présence d'un léger film) comme observé sur les figures suivantes :

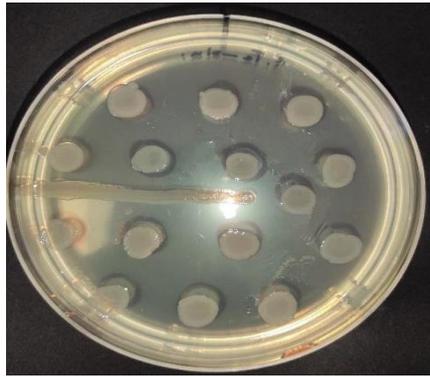


Figure 29 : Disposition des spots des différents patients sur milieu gélosé ainsi que la souche de control *E.coli* ATCC25922 sous forme de trait sur la boîte témoin

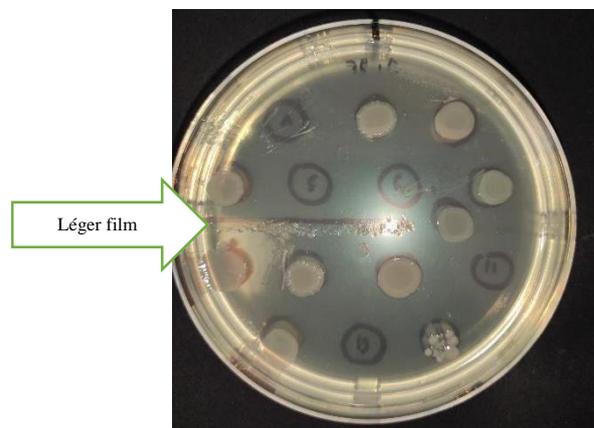


Figure 30 : Inhibition partielle (léger film) de la souche de contrôle *E.coli* ATCC 25922 ainsi que les souches de patients 1,5,11 et 13 Pour une valeur de CMI équivalent à 1,95 μ g/ml

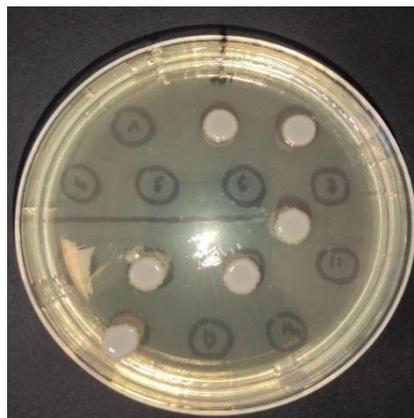


Figure 31 : Inhibition de tous les patients sauf ceux qui présentent une résistance envers la céfazoline (2,3,9,10,12,15) Pour une valeur de CMI équivalent à 500 μ g/ml

Pour la souche de référence *E.coli* ATCC 25922, la CMI mesurée sur milieu gélosé est de 1,95µg/ml tandis que sur la bandelette cette valeur est de 0,48µg/5µl. La valeur obtenue sur milieu gélosé est comprise dans notre intervalle (1-4) à contrario, celle obtenue sur notre bandelette est loin de l'intervalle recherché.

Pour les patients 2,3,9,10,12,15 on observe une résistance dans les deux méthodes. Par contre pour les patients 1,4,6,11 on note une marge d'erreur de quasiment une dilution en plus. Par exemple pour le patient 1, la valeur de CMI obtenue sur milieu gélosé est de 1,95 µg/5µl et sur notre bandelette elle est de 0,97 µg/5µl.

Pour les patients 5,7,8,13,14 il y'a une marge de différence assez importante entre les deux méthodes.

Ayant réalisé auparavant un test pour la dilution sur notre bandelette pour la souche de contrôle *E.coli* ATCC 25922, on a obtenu une valeur de CMI équivalent à 0,97µg/5µl. Donc ceci nous pousse à confirmer que ce n'est pas un problème de dilution.

Pour les patients où on constate une résistance dans les deux méthodes (bandelette et milieu gélosé), la prescription de la céfazoline est déconseillée.

Puisque ce n'est pas un problème de dilution, nous émettons l'hypothèse que notre antibiotique a mal diffusé sur notre bandelette suite à une mal application du vernis ou à une erreur de manipulation lors du dépôt des concentrations d'antibiotique sur notre bandelette.

- **Ciprofloxacine**

Pour le milieu gélosé au lieu de démarrer d'une concentration initiale de 10µg/ml, on est parties par erreur de 200µg/ml. Ayant réalisé des dilutions de demi en demi on obtient la gamme qui figure dans le tableau ci-dessous (**Tableau X**).

Nous avons fait correspondre la gamme de dilution du milieu gélosé partant de 12,5 μ g/ml à la gamme de dilution sur la bandelette partant de 10 μ g/5 μ l comme suite :

Tableau X : L'intervalle utilisé pour la comparaison des valeurs entre le milieu gélosé et la bandelette pour la ciprofloxacine

Milieu gélosé (μ g/ml)	valeur référée sur notre bandelette (μ g/5 μ l)
12,5	10
6,25	5
3,125	2,5
1,56	1,25
0,78	0,62
0,39	0,31
0,19	0,15
0,09	0,07
0,048	0,039
0,024	0,019
0,012	0,0097
0,006	0,0048

Les valeurs obtenues sur milieu gélosé et notre bandelette sont résumées dans le tableau ci-dessous :

Tableau XI : Résultats obtenus sur milieu gélosé et la bandelette pour la ciprofloxacine

Ciprofloxacine				
Les patients	Germes	Interprétation sur l'antibiogramme	CMI gélose ug/ml	CMI bandelette ug/5ul
1	<i>E.coli</i>	S	0,048	0,0048
2	<i>K.pneumoniae</i>	R	3,125	1,25
3	<i>K.pneumoniae</i>	S	0,78	0,31
4	<i>E.coli</i>	S	0,09	0,039
5	<i>E.coli</i>	S	0,024	0,0048
6	<i>E.coli</i>	S	0,048	0,0027
7	<i>E.coli</i>	S	0,024	0,0048
8	<i>E.coli</i>	S	0,048	0,0048
9	<i>K.pneumoniae</i>	R	3,125	1,25
10	<i>E.coli</i>	S	0,09	0,0097
11	<i>E.coli</i>	S	0,024	0,0024
12	<i>E.coli</i>	S	0,048	0,0048
13	<i>P.aeruginosa</i>	S	0,19	0,15
14	<i>P.aeruginosa</i>	S	0,09	0,078
15	<i>P.aeruginosa</i>	S	0,19	0,078
Souche de control 1	<i>E.coli</i> ATCC 25922	S	0,024	0,004
Souche de control2	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	S	0,19	0,15

Voici quelques photos illustrant les résultats obtenus en milieu gélosé :

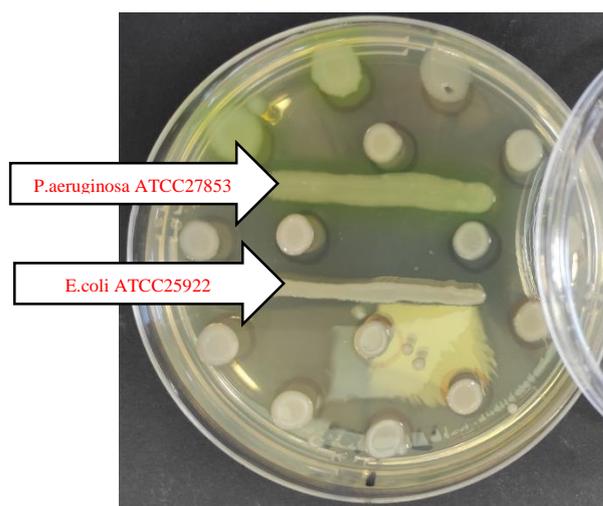


Figure 32 : Boite témoin illustrant les 15 spots de patients déposés ainsi que les 2 stries des souches de control (*E.coli* ATCC 25922 et *P.aeruginosa* ATCC 27853)

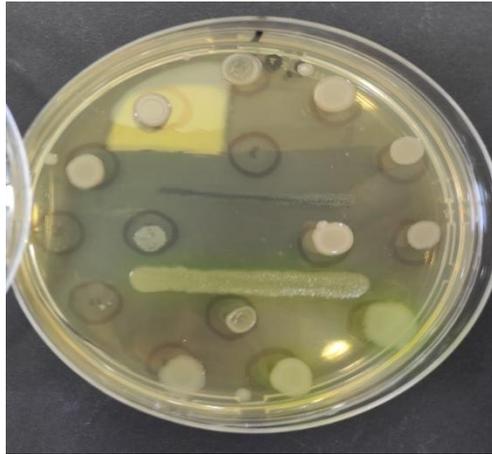


Figure 33 : Inhibition de la souche de control *E.coli* ATCC 25922 ainsi que les patients 4 , 6 et 11 à une valeur de CMI équivalente à 0,024µg/ml

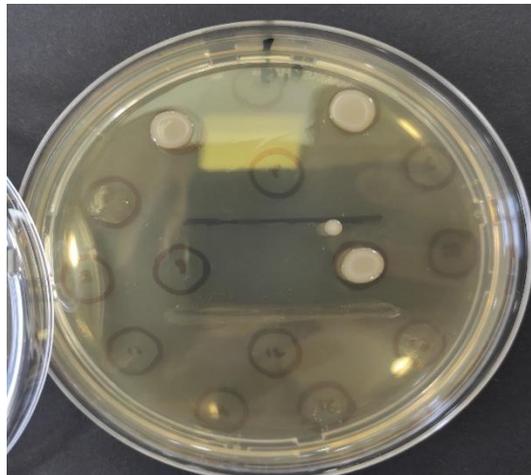


Figure 34 : Inhibition de la souche de control *P.aeruginosa* ATCC 27853 à une concentration de CMI équivalente à 0,19µg/ml

Pour la première souche de control (*E.coli* ATCC 25922), la valeur de CMI trouvée sur milieu gélosé est de 0,024µg/ml et sur notre bandelette elle est de 0,004µg/5µl. Ces deux valeurs sont admises dans notre intervalle (0,004-0,016)

Pour la deuxième souche de contrôle (*P.aeruginosa* ATCC 27853) la valeur de CMI trouvée sur milieu gélosé est de 0,19µg/ml et sur notre bandelette, elle est de 0,15µg/5µl. Ces deux valeurs sont admises dans notre intervalle (0,12-1) et sont identiques par rapport à notre tableau de lecture

Pour les patients 2 et 9 on observe des valeurs assez proches entre le milieu gélosé et notre bandelette. Par exemple, pour le patient 2, la valeur de CMI obtenue en milieu gélosé est de 3,125µg/ml. Suivant notre tableau de lecture cette concentration correspondant à la case 12 sur notre bandelette, tandis que la concentration est de 1,25µg/5µl (case 11) sur la bandelette utilisée. La différence d'une case est remarquée.

Pour les patients 13 et 14, suivant notre tableau de lecture, la CMI obtenue sur milieu gélosé est quasiment identique avec notre bandelette

0,19µg/ml et 0,15µg/5µl (patient 13)

0,09 µg/ml et 0,07 µg/5µl (patient 14)

Pour le patient 15, la CMI obtenue sur milieu gélosé est de 0.19µg/ml et sur notre bandelette elle est de 0.078 µg/5µl. Les deux valeurs sont assez proches (différence d'une case). Pour les autres patients les valeurs obtenues sont très éloignées

Ayant validé nos résultats pour les souches de référence sachant que pour *P.aeruginosa* ATCC 27853, les 2 valeurs de CMI obtenues en milieu gélosé et bandelette sont identiques suivant notre tableau de lecture. Par contre pour *E.coli* ATCC 25922 on a eu une inhibition à une concentration plus faible que celle retrouvée en milieux gélosé, mais les 2 valeurs trouvées sont comprises dans l'intervalle de validation établi par le comité de standardisation de l'antibiogramme à l'échelle national .

On remarque aussi pour les souches de patients 13,14,15 qui sont des souches de *Pseudomonas aeruginosa* que :

Pour les patients 13, 14 les valeurs de CMI trouvées en milieu gélosé et sur notre bandelette sont identiques d'après notre tableau de lecture

Pour le patient 15, les valeurs de CMI ne sont pas identiques mais proches.

Sur notre bandelette, malgré la validité des CMI pour les souches de référence, ainsi que les dilutions faites pour l'antibiotique, le problème, majeur éventuellement, est une erreur de manipulation lors de l'application du vernis car il suffit de ne pas appliquer bien les cloisons sur une seule case seulement de la bandelette et le résultat sera faussé, ce qui rend la bandelette

pas vraiment fiable. Et pour éviter le problème de cloisons, on propose une autre alternative à cette bandelette qui est la bandelette à spots.

III.2.2.2. La bandelette à spots

III.2.2.2.a. Test sur les souches de référence

On a tout d'abord testé la bandelette sur les souches de références avec la céfazoline et la ciprofloxacine.

➤ La céfazoline

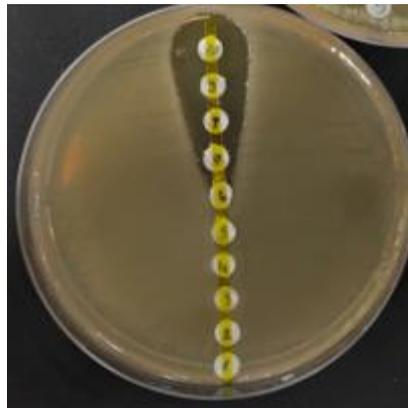


Figure 35: Résultat obtenu lors du test de la céfazoline avec la nouvelle bandelette sur *E.coli* ATCC25922

Le résultat obtenu est de 0,97 $\mu\text{g}/5\mu\text{l}$ qu'on peut considérer comme admis dans notre intervalle de 1 à 4

• La ciprofloxacine

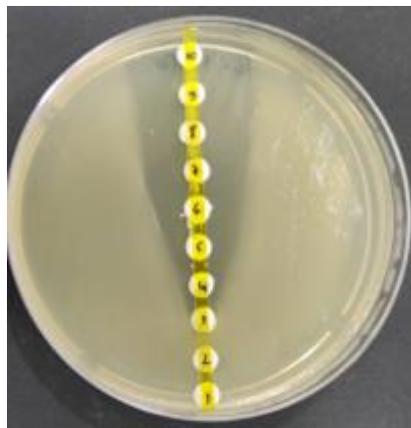


Figure 36: Résultat obtenu lors du test de la ciprofloxacine avec la nouvelle bandelette sur *E.coli* ATCC25922

Le résultat obtenu est de 0,009 $\mu\text{g}/5\mu\text{l}$ qui est admis dans l'intervalle souhaité.

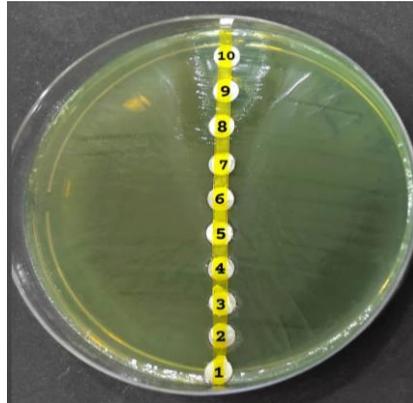


Figure 37: Résultat obtenu lors du test de la ciprofloxacine avec la nouvelle bandelette sur *P.aeruginosa* ATCC27853

Le résultat est de 0,15 $\mu\text{g}/5\mu\text{l}$ qui est aussi inclus dans l'intervalle voulu

Après avoir eu des résultats prometteurs sur les souches de références, et ayant constaté plus de facilité en réalisant ces bandelettes à spots sachant que le risque d'erreur lors de la réalisation des cloisons a été écarté, nous avons testé cette bandelette à spots à nouveau sur les 6 souches de patients restants (vu que 12/18 souches ont été contaminées) dont on dispose des valeurs de CMI préalablement. Les 6 souches des patients sont : pour la céfazoline (1,4,5,6,11,14) et pour la ciprofloxacine (1,6,10,13,14,15).

Toute fois l'idéal aurait été de refaire à nouveau le test sur milieu gélosé mais le temps nous a pressé, et nous avons opté pour l'utilisation des CMI sur milieu gélosé fait au départ. Ce test de mesure de CMI sur milieu gélosé a été réalisé aussi sur les souches de référence.

III.2.2.2.b. Test sur les souches de patients

- **La céfazoline**

Pour les bandelettes réalisées sur cet essai, on a débuté par le spot 4 (élimination des spots 1 à 3). Le spot 4 correspond à la concentration de 0,121 $\mu\text{g}/5\mu\text{l}$. Cette démarche revient au fait que toutes les valeurs recherchées sont au-delà de cette dilution, le résultat des CMI obtenues est représenté dans les figures suivantes :

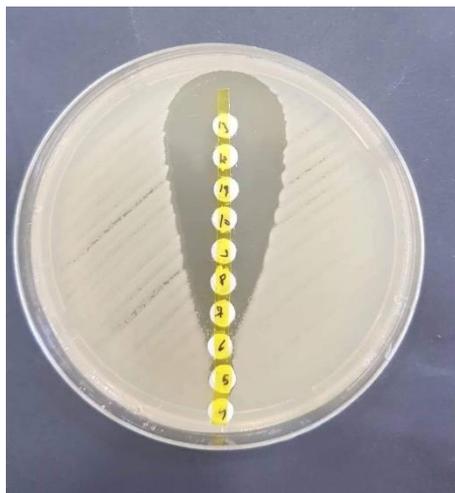
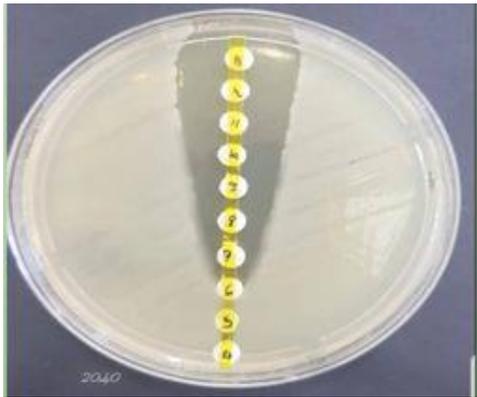
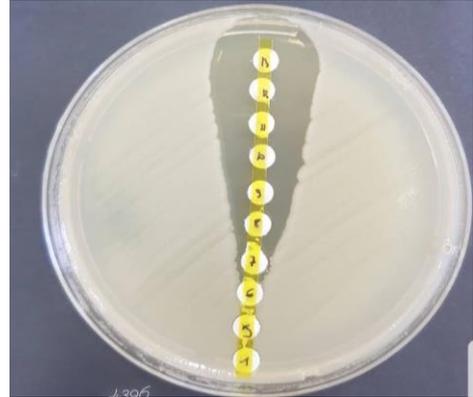


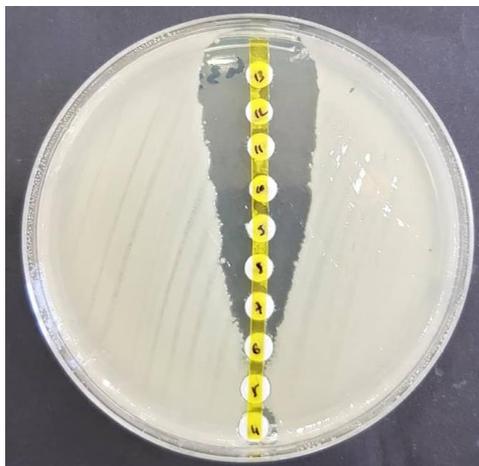
Figure 38: Résultat obtenu avec la nouvelle bandelette de céfazoline sur *E.coli* ATCC25922
(CMI obtenue = 0,97 $\mu\text{g}/5\mu\text{l}$)



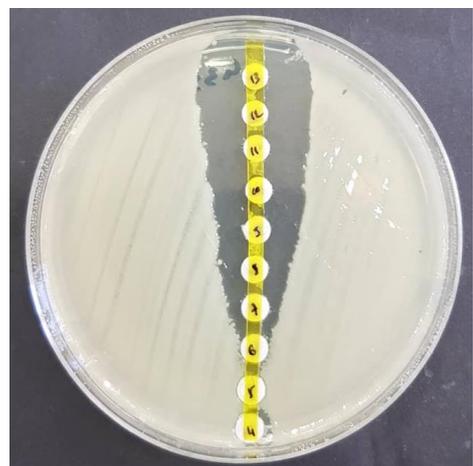
Patient 1 (CMI obtenue= 0.97 $\mu\text{g}/5\mu\text{l}$)



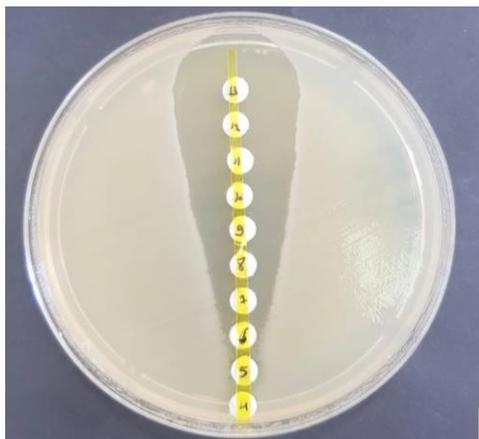
le patient 4 (CMI obtenue=1.95 $\mu\text{g}/5\mu\text{l}$)



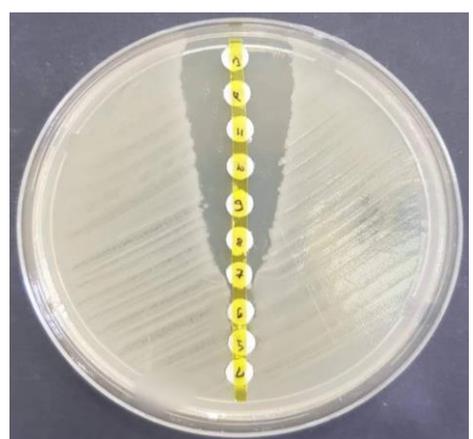
Patient 5 (CMI obtenue= 0.97 $\mu\text{g}/5\mu\text{l}$)



patient 6 (CMI obtenue =1.95 $\mu\text{g}/5\mu\text{l}$)



Patient 11 (CMI obtenue=0.97 $\mu\text{g}/5\mu\text{l}$)



Patient 14 (CMI obtenue=1.95 $\mu\text{g}/5\mu\text{l}$)

Figure 39: Les différents résultats des CMI des souches de patients obtenues avec la bandelette à spots pour la céfazoline

Tableau XII : Les valeurs de CMI retrouvées pour la céfazoline avec la bandelette à spots ainsi que les valeurs de CMI sur milieu gélosé

Patients	Céfazoline	
	Milieu gélosé	Bandelette à spots
1	1,95	0,97
4	3,906	1,95
5	1,95	0,97
6	1,95	1,95
11	1,95	0,97
14	3,906	1,95
<i>E.coli</i> ATCC 25922	1,95	0,97

- La ciprofloxacine

Les résultats obtenus sur les patients sont illustrés dans les figures suivantes :

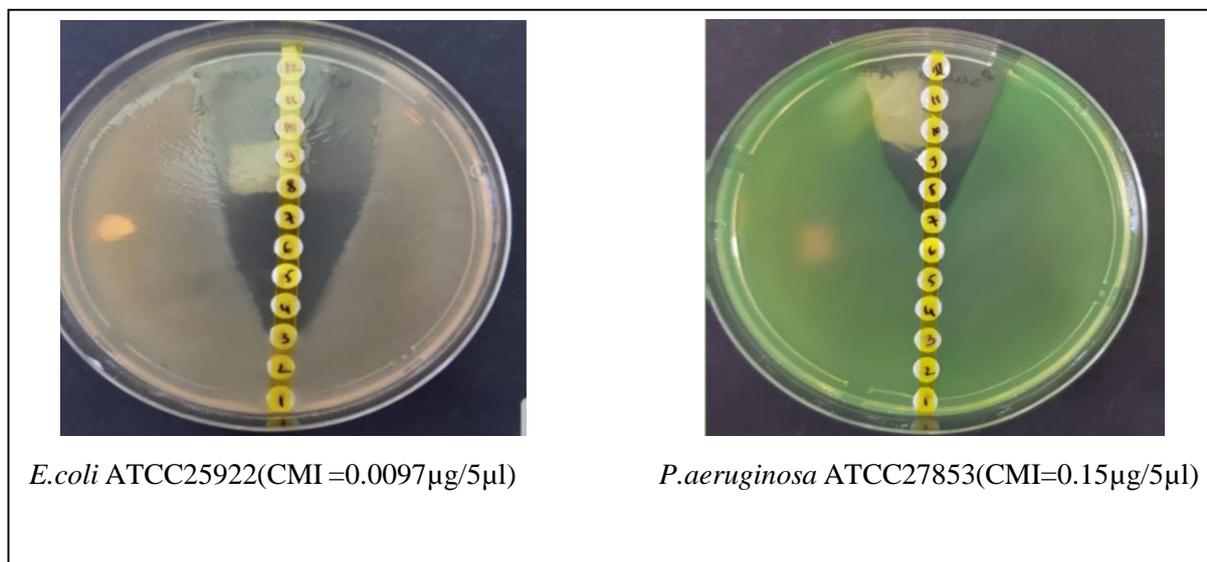


Figure 40: Les résultats de CMI obtenus lors du test des souches de référence avec la bandelette à spots pour la ciprofloxacine

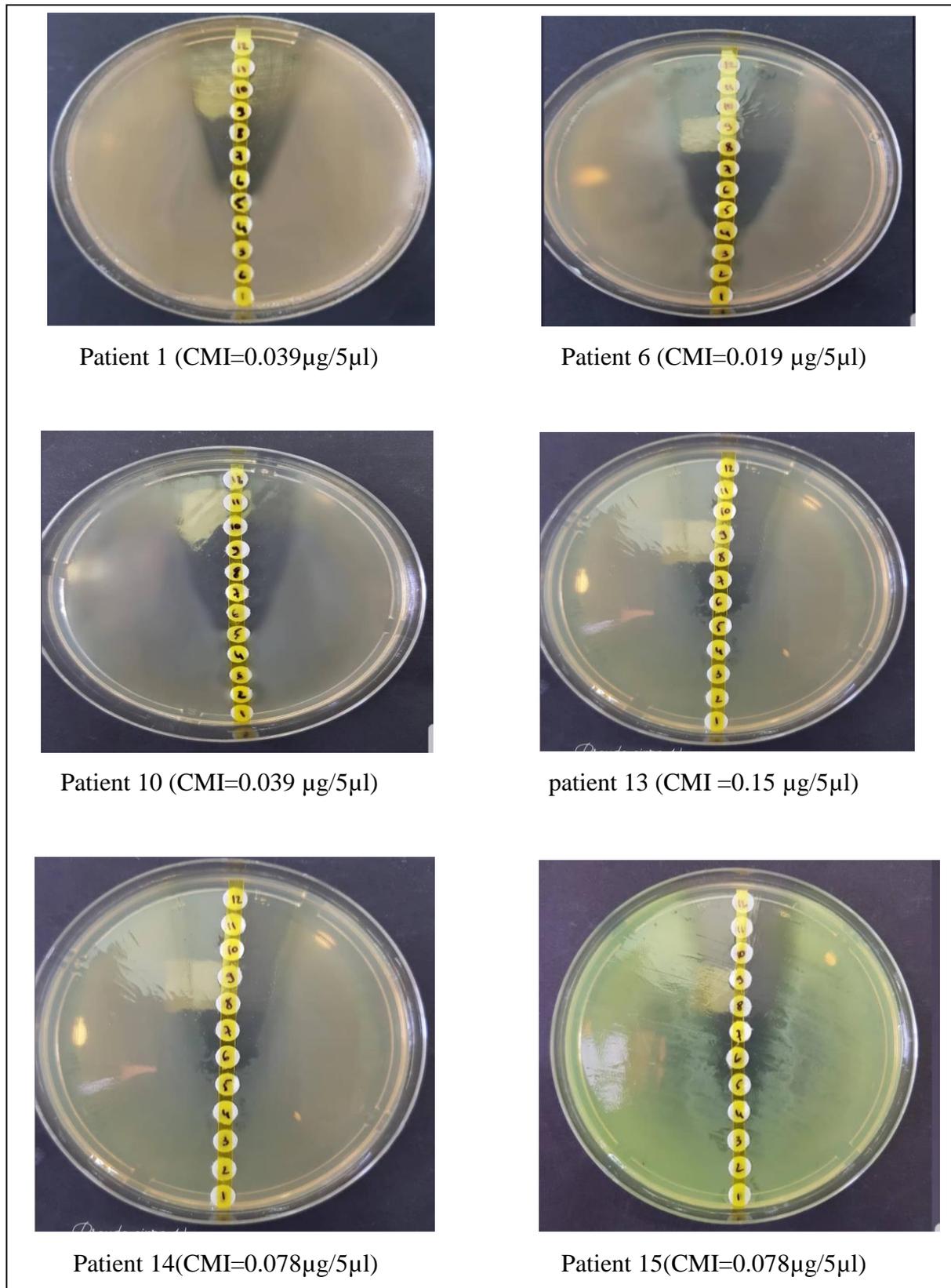


Figure 41: Les différents résultats des CMI des souches de patients obtenues avec la bandelette à spots pour la ciprofloxacine

Tableau XIII: Valeurs de CMI retrouvées pour la céfazoline avec la bandelette à spots ainsi que les valeurs de CMI sur milieu gélosé

Patients	Ciprfloxacin	
	Milieu gélosé µg/ml	Bandelette a spot µg/5µl
1	0,048	0,039
6	0,048	0,019
10	0,09	0,039
13	0,19	0,15
14	0,09	0,078
15	0,19	0,078
<i>E.coli</i> ATCC 25922	0,024	0,0097
<i>P.aeruginosa</i> ATCC27853	0,19	0,15

Pour la céfazoline et la ciprofloxacine, les souches de référence ont été validées pour cette bandelette à spots.

Pour les patients, on a eu des résultats satisfaisants qui sont d'ailleurs proches de ceux trouvés sur le milieu gélosé comparé à l'ancienne bandelette (cloisonnée).

III.2.2.3. Comparaison entre les résultats obtenus sur l'ancienne et la nouvelle bandelette avec le milieu gélosé

III.2.2.3.a La céfazoline

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau XIV: Résultats obtenus sur le milieu gélosé, l'ancienne bandelette et la nouvelle bandelette pour la céfazoline

Patients	Céfazoline		
	Milieu gélosé	Ancienne bandelette (cloisonnée)	Nouvelle bandelette (à spots)
1	1,95	0,97	0,97
4	3,906	1,95	1,95
5	1,95	0,48	0,97
6	1,95	0,97	1,95
11	1,95	0,97	0,97
14	3,906	0,97	1,95
<i>E .coli</i> ATCC 25922	1,95	0,48	0,97

D'après le tableau, on remarque une nette amélioration des résultats obtenus sur notre nouvelle bandelette. Les valeurs de CMI sont vraiment très proches de ceux obtenues sur le milieu gélosé.

On vient confirmer cela avec le test de Student qui fournit les résultats suivants :
Différence entre milieu gélosé et l'ancienne bandelette est significative ($p=0,023 < 0,05$).
Différence entre milieu gélosé et nouvelle bandelette est non significative ($p=0,063 > 0,05$).

III.2.2.3.b. La ciprofloxacine

Tableau XV: Résultats obtenus sur le milieu gélosé , l'ancienne bandelette et la nouvelle bandelette pour la ciprofloxacine

Patients	Ciprofloxacine		
	Milieu gélosé	Ancienne bandelette (cloisonnée)	Nouvelle bandelette (à spots)
1	0,048	0,0048	0,039
6	0,048	0,0027	0,019
10	0,09	0,0097	0,039
13	0,19	0,15	0,15
14	0,09	0,078	0,078
15	0,19	0,078	0,078
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,024	0,004	0,0097
<i>P.aeruginosa</i> ATCC27853	0,19	0,15	0,15

Comme constaté préalablement pour la céfazoline, la bandelette en spots donne des résultats relativement plus précis que la bandelette cloisonnée. Le test de student donne les résultats suivant :

Différence entre milieu gélosé et bandelette cloisonnée est significative ($p=0,012 < 0,05$)
Différence entre milieu gélosé et bandelette à spots est légèrement significative ($p=0,041 < 0,05$).

On remarque que pour la Céfazoline, la différence entre le milieu gélosé et la bandelette à spots n'est pas significative, par contre, pour la ciprofloxacine elle est légèrement significative.

Ceci est dû à l'erreur commise lors de la réalisation des dilutions pour le milieu gélosé pour la ciprofloxacine, sachant que $12\mu\text{g/ml}$ (milieu gélosé) correspondait à $10\mu\text{g}/5\mu\text{l}$ sur la bandelette à spots.

En appliquant le test de student pour comparer entre le milieu gélosé, ancienne et nouvelle bandelette on constate que pour les 2 antibiotiques, la valeur des CMI entre le milieu gélosé et notre bandelette à spots est plus significative

En ajoutant à cela que le risque d'erreur lors de l'application du vernis pour faire des cloisons est éliminé.

L'hypothèse émise précédemment est considérée comme validée et c'est pour cela qu'on pense que la nouvelle bandelette nous permet d'apporter des résultats plus précis pour la mesure de la CMI.

Ayant considéré que la bandelette à spots est plus ou moins fiable, nous avons décidé de faire une sorte de comparaison des moyennes des CMI retrouvées avec d'autres études.

Pour la céfazoline, avec les entérobactéries, la moyenne est égale à $1,39\mu\text{g/ml}$ ce qui concorde avec l'étude de Chuang en 2016 où il a trouvé la moyenne inférieure à $2\mu\text{g/ml}$.

Pour ce qui est de la ciprofloxacine vis-à-vis de *P.aeruginosa*, la CMI est de $0,15\mu\text{g/ml}$. Grillon et son équipe en 2017 ont trouvé dans leur étude une CMI = $0,19\mu\text{g/ml}$, ce qui concorde aussi avec notre étude.

Conclusion

Conclusion

Au Bout de ce travail nous avons réalisé que la résistance est en montée fulgurante particulièrement pour ce qui est des entérobactéries face à l'ampicilline et l'amoxicilline. Le fait d'avoir mis en évidence la résistance des bactéries envers les antibiotiques et surtout qu'il reste une gamme restreinte de ceux-là encore efficace, devrait inciter le personnel de santé à ne pas prescrire un antibiotique sans connaître la dose exacte efficace pour le patient.

La CMI intervient en donnant une information sur la concentration minimale inhibitrice d'un antibiotique envers la bactérie. Chaque laboratoire devrait fournir cette information. Mais vu que la méthode de dilution sur milieu gélosé est fastidieuse et longue, ainsi que la cherté et l'innascibilité de l'E-test, ceux-ci ne sont pas pratiqués en routine pour la mesure de la CMI.

C'est à ce niveau que nous pouvons introduire notre bandelette à potentiel de remplacement de l'E-test, qui pourrait être d'une aide considérable pour les laboratoires.

La conception des bandelettes nous a permis de réaliser que le deuxième modèle (bandelette à spots) était plus performant et fiable pour la mesure de la CMI.

Il faut noter que cela nécessite encore plus de test pour vraiment valider cette bandelette. Mais les résultats obtenus jusque-là semblent être prometteurs.

Ayant été testée et validée sur deux antibiotiques qui sont la Céfazoline et la ciprofloxacine, il est nécessaire d'une part de reprendre ce travail pour valider d'avantage l'utilisation de la bandelette à spots et d'autre part de retester celle-ci sur d'autres antibiotiques particulièrement ceux à réponse intermédiaire.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Aubert G., Carricajo A. 2004. Place du laboratoire dans le choix et le suivi pharmacodynamique de l'antibiothérapie des infections sévères. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*. 23 (7) : 704-13.
- Barry A. 2021. Prostatite chronique : Aspects cliniques, paracliniques et thérapeutiques chez les sujets au service d'urologie du CHU Gabriel Touré. 108.
- Benhiba I., Bouzekraoui T., Zahidi J., Noureddine E., Ait Said L., Warda K., Zahlane K. 2015. INFECTIONS IN MARRAKECH CHU AND COMMITMENT THERAPY. 1:6.
- Benouda A., Tagajdid M.R. 2008. ANTIBIOGRAMME : CHOIX, INTERPRÉTATION ET LIMITES. *Les technologies de laboratoire*. 3 (10).
- Botto H. 2003. Infections urinaires nosocomiales de l'adulte : conférence de consensus 2002. *Médecine et maladies infectieuses*. 33 (7) : 370-75.
- Boutal H. 2018. Développement et validation de tests de détection rapide de la résistance aux antibiotiques. 245.
- Brown., Derek F. J., Brown L. 1991. Evaluation of the E Test, a Novel Method of Quantifying Antimicrobial Activity. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 27 (2) : 185-90.
- Bush, K., & Bradford, P. A. (2016). β -Lactams and β -lactamase inhibitors: an overview. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 6(8)
- Canu, A., Malbruny, B., Coquemont, M., Davies, T. A., Appelbaum, P. C., & Leclercq, R. (2002). Diversity of ribosomal mutations conferring resistance to macrolides, clindamycin, streptogramin, and telithromycin in *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46(1), 125-131.
- Cattoir V. 2004. Pompes d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries. *Pathologie Biologie*. 52 (10) : 607-16.
- Chaussade H., Sunder S., Bernard L., Coloby P., Guy L., Karsenty G., Bastide C., Bruyère F. 2013. Les médicaments antibiotiques en urologie. *Progrès en Urologie*. 23 (15) : 1327-41.

Références bibliographiques

- Chopra, I., & Roberts, M. (2001). Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiology and molecular biology reviews*, 65(2), 232-260.
- Chuang, C.-H., Liu, M.-F., Lin, C.-F., & Shi, Z.-Y. (2016). Impact of revised susceptibility breakpoints on bacteremia of *Klebsiella pneumoniae*: Minimum inhibitory concentration of cefazolin and clinical outcomes. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 49(5), 679–684.
- Cockenpot L. 2014. Mécanismes de résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* en motilité de type swarming et sa fonction écologique. 130.
- Djennane F., Mohammedi D., Tiouit D., Touati D., Rahal K. 2009. Institut Pasteur d'Algérie. Techniques Microbiologiques. Examen Cytobactériologique des Urines (E.C.B.U.)
- Dortet L., Bonnin R., Jousset A., Gauthier L., Naas T. 2016. Émergence de la résistance à la colistine chez les entérobactéries : une brèche dans le dernier rempart contre la pan-résistance ! *Journal des Anti-infectieux*. 18 (4) : 139-59.
- Emonet S., Harbarth S., Delden C.V. 2011. Infection urinaire de l'adulte. 5.
- Etebu, E., & Ariekpar, I. (2016). Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives. *Int J Appl Microbiol Biotechnol Res*, 4(2016): 90-101.
- Grillon, A., Schramm, F., Kleinberg, M., & Jehl, F. (2016). Comparative Activity of Ciprofloxacin, Levofloxacin and Moxifloxacin against *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Stenotrophomonas maltophilia* Assessed by Minimum Inhibitory Concentrations and Time-Kill Studies. *PLOS ONE*, 11(6)
- Guardabassi, L., & Courvalin, P. (2005). Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. *Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin*, 1-18.
- Hailaji N.S.M., Ould Salem M.L., Ghaber S.M. 2016. La sensibilité aux antibiotiques des bactéries uropathogènes dans la ville de Nouakchott – Mauritanie. *Progrès en Urologie*. 26 (6) : 346-52.
- Hakkache R. 2015. Les infections urinaires chez le nourrisson et l'enfant, thèse doctorale, Université Mohamed V –Rabat–. Faculté de médecine et de pharmacie. 5-40.
- IPA. 2020. Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle national, 8ème édition, avril 2020. 19-139.

Références bibliographiques

- Jauffret-Roustide M., Nicolay N. 2008. Perceptions et attitudes de la population à l'égard des maladies infectieuses. Enquête Nicolle 2006. Connaissances, attitudes et comportements face au risque infectieux, janvier. 39-66.
- Jehl F., Chabaud A., Grillon A. 2015. L'antibiogramme : diamètres ou CMI ? Journal des Anti-infectieux. 17 (4) : 125-39.
- Jolyguillou M. 2006. Intérêt Du E-Test Dans Le Suivi de l'antibiothérapie. Réanimation. 15 (3) : 237-40.
- Laforet J. 2009. Le système urinaire inférieur : modélisation et validation expérimentale. Étude de son activation sélective. 195.
- Lahlou A.I., Chegri M., L'Kassmi H. 2009. Épidémiologie et résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées d'infections urinaires à l'hôpital militaire Moulay-Ismaïl de Meknès. Antibiotiques. 11 (2) : 90-96.
- Larabi K., Masmoudi A., Fendri C. 2003. Étude bactériologique et phénotypes de résistance des germes responsables d'infections urinaires dans un CHU de Tunis : à propos de 1930 cas. Médecine et Maladies Infectieuses. 33 (7) : 348-52.
- Lesseur P. 2014. Développement et Santé | Antibiotiques : modes d'action, mécanismes de la résistance.
- Lobel B., Soussy C.J. 2007. Les infections urinaires. Springer Science & Business Media. 28-29.
- MacGowan, A., & Macnaughton, E. (2017). Antibiotic resistance. *Medicine*, 45(10) : 622-628.
- Mangin L. 2016. Antibiotiques et résistances : enquête sur les connaissances et les comportements du grand public. Doctoral dissertation, Université de Lorraine .1-2
- Marcel J.P. 2005. L'antibiogramme et son impact médical. Antibiotiques. 7 (1) : 53-58.
- Martin Cardot E., Dumitrescu O., Lesprit P., Combemorel P. 2019. La résistance aux antibiotiques. Planet-Vie.
- Mensah S.E.P., Koudande D., Sanders P., Laurentie M., Mensah G., Abiola F. 2014. Antibiotic and foods of animal origin in Africa: public health risks. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*. 33: 975-86.
- Mérens, A., & Servonnet, A. (2010). Mécanismes et épidémiologie de la résistance aux fluoroquinolones en 2010. *Revue francophone des laboratoires*, 2010(422), 33-41.
- Mingeot-Leclercq, M. P., & Tulkens, P. M. (1999). Aminoglycosides: nephrotoxicity. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 43(5), 1003-1012.

Références bibliographiques

- Pajot, O, et B Regnier. 2007. « Échec de l'antibiothérapie En Réanimation ». *Réanimation* 16 (3): 179-92. <https://doi.org/10.1016/j.reaurg.2007.03.003>. 16 (3) : 179-192
- Perry J.D., Jones L.A., Gould F.k. 1999. Glycopeptide Tolerance in Bacteria Causing Endocarditis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 44 (1): 121-24.
- Pilly E. 2019. *Maladies infectieuses et tropicales : prépa ECN, tous les items d'infectiologie*. 6e éd. Paris : Alinéa plus.
- Pourbaix A., Guérin F. 2016. Fosfomycine, place et intérêt dans un contexte de multirésistance. *Journal des Anti-infectieux*. 18 (3) : 85-97.
- Santé publique. 2022. Résistance aux antibiotiques.
- Sekhsokh Y., Chadli M., El Hamzaoui S.A. 2008. Fréquence et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées dans les urines. *Médecine et Maladies Infectieuses*. 38 (6): 324-27.
- Sophie, Dupont. 2015. *L'anatomie et la physiologie pour les infirmier(e)s*. 2em edition. elsevier masson. 286.
- Stark H. 1997. Urinary tract infections in girls: the cost-effectiveness of currently recommended investigative routines. *Pediatric Nephrology*. 11 (2) : 174-77.
- Talha H.I. 2021. *Introduction aux infections des voies urinaires - Troubles génito-urinaires* ». Édition professionnelle du Manuel MSD. 2021.
- Thirion D., Williamson D. 2003. *Les infections urinaires : une approche clinique*, janvier.
- Traore H. 2006. *Les infections urinaires dans le service de néphrologie et d'hémodialyse de l'hôpital du point <<G>>*, Thèse de doctorat, Université de Bamako. Faculté de médecine, de Pharmacie et d'odontostomatologie du Mali. 26.
- Vardakas K. Z., Tansarli G.S., Rafailidis P.I., Falagas M.E. 2012. Carbapenems versus Alternative Antibiotics for the Treatment of Bacteraemia Due to Enterobacteriaceae Producing Extended-Spectrum -Lactamases: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 67 (12) : 2793-2803.
- Veysiére A. 2020. *La résistance aux antibiotiques des bactéries les plus communément rencontrées dans les infections communautaires état des lieux en 2019*. 107.
- Vorkauffer S 2018. *Les infections urinaires communautaires bactériennes de l'adulte : prise en charge diagnostique et thérapeutique. Résultats de deux tours d'un audit clinique réalisé par 66 médecins généralistes lorrains*. 105.
- Vu-Thien H. 1998. Sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées dans les infections urinaires en pédiatrie. *Archives de Pédiatrie* 5 (janvier).266S-268S.

Références bibliographiques

Zahir H., Draiss G., Rada N., Abourrahouat A., Ait sab I., Sbihi M., Bouskraoui M., Soraa N. 2019. Écologie microbienne et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées d'infections urinaires chez l'enfant au Maroc. *Revue Francophone des Laboratoires*. 511 : 65-70.

Annexes

Annexes

Annexe I : Matériel non biologique

1. Appareils



Figure 1 : Autoclave (Originale)



Figure 2 : Étuve d'incubation (Originale)



Figure 3 : Spectrophotomètre
(Originale)



Figure 4. Etuve pour sécher les géloses
(Originale)

2. Matériel utilisé pour la conception de la bandelette

Tableau 1 : Tableau résumant le matériel utilisé pour la conception des disques d'antibiotiques et de la bandelette

Outils de laboratoire	Outils utilisé	Milieux de culture	Autres produits
- Micropipette de 1000ul	- Papier buvard	- Gélose Muller-Hinton (MH)	- Eau physiologique stérile
- Micropipette de 10ul	- Ciseaux		- Antibiotiques (céfazoline,
- Micropipette de 5ul	- Règle	- Gélose nutritive	ciprofloxacine,
- Seringues	- Vernis	- Gélose Uriselect	imipenème,
- Tube en verre	- Machine à œillets		gentamicine, augmentin)
- Tubes en verre de 20ml			
- Tubes secs			
- Pipette graduée de 5ml			
- Pied à coulisse			
- Pince métallique			
- Bec de Benzen			

Annexes



Figure 5 : Les antibiotiques utilisés



Figure 6 : Appareil à œillets

Annexe II : Tableaux tirés du livre de standardisation des tests de sensibilité des antibiotiques à l'échelle nationale, 8ème édition, Avril 2022

Tableau II : Tableau scanné montrant les charges des disques d'antibiotiques les valeurs limites des diamètres des zones d'inhibition pour les souches de référence utilisées pour le contrôle de qualité

Antibiotiques testés	Charge des diaques	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619	<i>H. influenzae</i> ATCC 49247	<i>N. gonorrhoeae</i> ATCC 49226
Amikacine	30µg	19-26	20-26	18-26	—	—	—
Amoxicilline + Ac clavulanique	20/10µg	18-24	28-36	—	—	15-23	—
Ampicilline	10µg	16-22	27-35	—	30-36	13-21	—
Azithromycine	15µg	—	21-26	—	19-25	13-21	—
Ac nalidixique	30µg	22-28	—	—	—	—	—
Aztréonam	30µg	28-36	—	23-29	—	30-38	—
C2fazole	30µg	21-27	29-35	—	—	—	—
Céfalotine	30µg	15-21	29-37	—	26-32	—	—
Céfoxitine	30µg	23-29	23-29	—	33-41	—	—
Céfotaxime	30µg	29-35	25-31	18-22	31-39	31-39	38-48
Céftriaxone	30µg	29-35	22-28	17-23	—	—	39-51
Ceftazidime	30µg	—	—	22-29	—	27-35	35-43
Ciprofloxacine	5µg	30-40	22-30	25-33	—	34-42	48-58
Colistine	10µg	11-17	—	11-17	—	—	—
Chloramphénicol	30µg	21-27	19-26	—	23-27	31-40	—
Clindamycine	2µg	—	24-30	—	19-25	—	—
Doxycycline	30µg	18-24	23-29	—	25-34	—	—
Ertapénème	10µg	29-26	24-31	13-21	28-35	20-28	—
Erythromycine	15µg	—	22-30	—	25-30	—	—
Fosfomycine	200µg	22-30	25-33	—	—	—	—
Furanes	300µg	20-25	18-22	—	23-29	—	—

Annexes

Tableau III : Tableau scanné des valeurs limites des concentrations minimales inhibitrices (CMI en ug/ml) pour les souches de référence utilisées pour le contrôle de qualité

Antibiotiques	<i>S.aureus</i> ATCC 29213	<i>E.faecalis</i> ATCC 29212	<i>E.coli</i> ATCC 25922	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>S.pneumoniae</i> ATCC 49619	<i>H.influenzae</i> ATCC 49247
Netilmicine	≤0,25	4-16	≤0,5-1	0,5-8	—	—
Chloramphenicol	2-16	4-16	2-8	—	2-8	0,25-1
Ofloxacin	0,12-1	1-4	0,016-0,12	1-8	1-4	0,016-0,06
Ciprofloxacine	0,12-0,5	0,25-2	0,004-0,016	0,12-1	—	0,004-0,03
Levofloxacine	0,06-0,5	0,25-2	0,008-0,06	0,5-4	0,5-2	0,008-0,03
Doxycycline	0,12-0,5	2-8	0,5-2	—	0,016-0,12	—
Tetracycline	0,12-1	8-32	0,5-2	8-32	0,06-0,5	4-32
Minocycline	0,06-0,5	1-4	0,25-1	—	—	—
Tigecycline	0,03-0,25	0,03-0,12	0,03-0,25	—	0,016-0,12	0,06-0,5
Cotrimoxazole	≤0,5/9,5	≤0,5/9,5	≤0,5/9,5	8/152-32/608	0,12/2,4-1/19	0,03/0,59-0,25/4,75
Erythromycine	0,25-1	1-4	—	—	0,03-0,12	—
Clindamycine	0,06-0,25	4-16	—	—	0,03-0,12	—
Azithromycine	0,5-2	—	—	—	0,06-0,25	1-4
Quinupristine/dalfopristine	0,25-1	2-8	—	—	0,25-1	2-8
Clarithromycine	0,12-0,5	—	—	—	0,03-0,12	4-16
Fosfomycine	0,5-4	32-128	0,5-2	2-8	—	—
Colistine	—	—	0,25-2	0,5-4	—	—

Tableau IV : Tableau scanné des valeurs limites des concentrations minimales inhibitrices (CMI en ug/ml) pour les souches de référence utilisées pour le contrôle de qualité

Antibiotiques	<i>S.aureus</i> ATCC 29213	<i>E.faecalis</i> ATCC 29212	<i>E.coli</i> ATCC 25922	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>S.pneumoniae</i> ATCC 49619	<i>H.influenzae</i> ATCC 49247
Pénicilline	0,25-2	1-4	—	—	0,25-1	—
Ampicilline	0,5-2	0,5-2	2-8	—	0,06-0,25	2-8
Amoxicilline	—	—	—	—	0,03-0,12	—
Amox/acclav	0,12/0,06-0,5/0,25	0,25/0,12-1/0,5	2/1-8/4	—	0,03/0,016-0,12/0,06	2/1-16/8
Tic/ acclav	0,5/2-2/2	16/2-64/2	4/2-16/2	8/2-32/2	—	—
Cefoxitine	1-4	—	2-8	—	—	—
Aztreonam	—	—	0,06-0,25	2-8	—	0,12-0,5
Cefotaxime	1-4	—	0,03-0,12	8-32	0,03-0,12	0,12-0,5
Ceftriaxone	1-8	—	0,03-0,12	8-64	0,03-0,12	0,06-0,25
Cefazoline	0,25-1	—	1-4	—	—	—
Ceftazidime	4-16	—	0,06-0,5	1-4	—	0,12-1
Cefepime	1-4	—	0,016-0,12	0,5-4	0,03-0,25	0,5-2
Ertapénème	0,06-0,25	4-16	0,004-0,016	2-8	0,03-0,25	—
Imipénème	0,016-0,06	0,5-2	0,06-0,25	1-4	0,03-0,12	—
Meropénème	0,03-0,12	2-8	0,008-0,06	0,12-1	0,03-0,25	—
Doripénème	0,016-0,06	1-4	0,016-0,06	0,12-0,5	0,03-0,12	—
Oxacilline	0,12-0,5	8-32	—	—	—	—
Vancomycine	0,5-2	1-4	—	—	0,12-0,5	—
Teicoplanine	0,25-1	0,25-1	—	—	—	—
Amikacine	1-4	64-256	0,5-4	1-4	—	—
Gentamicine	0,12-1	4-16	0,25-1	0,5-2	—	—
Tobramycine	0,12-1	8-32	0,25-1	0,25-1	—	—

Annexes

Tableau V : Tableau scanné montrant le schéma pour la préparation des dilutions d'antibiotiques

Etape	Concentration (µg/ml)	ATB (ml)	Diluant (ml)	Concentration intermédiaire	Concentration finale dans la gélose (µg/ml)
Solution mère	5120			5120	512
1	5120	2	2	2560	256
2	5120	1	3	1280	128
3	5120	1	7	640	64
4	640	2	2	320	32
5	640	1	3	160	16
6	640	1	7	80	8
7	80	2	2	40	4
8	80	1	3	20	2
9	80	1	7	10	1
10	10	2	2	5	0,5
11	10	1	3	2,5	0,25
12	10	1	7	1,25	0,125

Annexe III : Analyse et résultats statistiques

Tableau VI : Effectif de l'infection urinaire selon l'âge et le sexe

Breakdown Table of Descriptive Statistics N=250 (No missing data in dep. var. list)						
Sexe	Age N	Age Means	Age Std.Err.	Age Median	Age Minimum	Age Maximum
Fém	196	42,9	1,8	40,5	0,17	91,0
Mas	54	46,5	4,4	62,0	0,08	86,0
All Grps	250	43,7	1,7	44,5	0,08	91,0

Tableau VII : Réponses des souches d'entérobactéries aux divers antibiotiques

Summary Frequency Table Entérobactéries Marked cells have counts > 4 (Marginal summaries are not marked)				
	Entéro	S	R	Row Totals
Count	Ampiciline	47	154	201
Row Percent		23,38%	76,62%	
Count	Amoxicilline	47	154	201
Row Percent		23,38%	76,62%	
Count	Amox+ac.clavulanique	115	86	201
Row Percent		57,21%	42,79%	
Count	céfazoline	124	76	200
Row Percent		62,00%	38,00%	
Count	Céfalexine	124	76	200
Row Percent		62,00%	38,00%	
Count	Cefuroxime	140	61	201
Row Percent		69,65%	30,35%	
Count	Cefixime	174	26	200
Row Percent		87,00%	13,00%	
Count	Cefotaxime	175	25	200
Row Percent		87,50%	12,50%	
Count	Ceftriaxone	178	23	201
Row Percent		88,56%	11,44%	
Count	Cefoperazone	177	24	201
Row Percent		88,06%	11,94%	
Count	Gentamicine	178	23	201
Row Percent		88,56%	11,44%	
Count	Amikacine	200	1	201
Row Percent		99,50%	0,50%	
Count	Colistine	194	7	201
Row Percent		96,52%	3,48%	

Tableau VIII : 2^{ème} partie du tableau de Réponses des souches d'entérobactéries aux divers antibiotiques

Summary Frequency Table Marked cells have counts > 4 (Marginal summaries are not marked)				
	Entéro	S	R	Row Totals
Count	Ac.nalidixique	116	85	201
Row Percent		57,71%	42,29%	
Count	Pefloxacine	139	62	201
Row Percent		69,15%	30,85%	
Count	Ciprofloxacine	170	29	199
Row Percent		85,43%	14,57%	
Count	Cotrimoxazole	112	88	200
Row Percent		56,00%	44,00%	
Count	Imipenem	201	0	201
Row Percent		100,00%	0,00%	
Count	nitrofurantoine	126	74	200
Row Percent		63,00%	37,00%	
Count	Fosfomycine	184	16	200
Row Percent		92,00%	8,00%	
Count	All Grps	2921	1090	4011

Tableau VI : La sensibilité aux antibiotiques en fonction des différents germes des entérobactéries

Summary Frequency Table Marked cells have counts > 4 (Marginal summaries are not marked)				
	Germe	Rép S	Rép R	Row Totals
Count	<i>E. coli</i>	2435	817	3252
Row Percent		74,88%	25,12%	
Count	<i>Proteus mirabilis</i>	111	49	160
Row Percent		69,38%	30,63%	
Count	<i>K. pneumoniae</i>	375	224	599
Row Percent		62,60%	37,40%	
Count	All Grps	2921	1090	4011

Tableau IX : Réponse des *Staphylococcus spp* en fonction des différents germes

Summary Frequency Table Marked cells have counts > 4 (Marginal summaries are not marked)				
	Germe	Rép R	Rép S	Row Totals
Count	<i>S. saprophyticus</i>	23	89	112
Row Percent		20,54%	79,46%	
Count	<i>S. aureus</i>	9	47	56
Row Percent		16,07%	83,93%	
Count	All Grps	32	136	168