

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA**

**RECHERCHE SCIENTIFIQUE.**

**UNIVERSITE SAAD DEHLEB-Blida**

**Faculté des sciences Agro-Vétérinaire et biologique**

**Département de Biologie**

## **Mémoire de Fin d'Etudes**

**En vue de l'Obtention du Diplôme de MASTER II en Biologie**

**Option : Microbiologie-Bactériologie.**

### **Thème**

**Evolution de la résistance aux antibiotiques des bactéries responsables d'infections urinaires au niveau de l'établissement public hospitalier de Boufarik.**

**Présentée par :**

**Mlle : Hind Amel LAZAR.**

**Soutenue le : 27 Juin 2013. Devant le jury composé de :**

**Promotrice : Mme AZROU S.**

**MAA**

**USDB**

**Co-Promotrice : Mme LASSAS K.**

**MAA**

**EPH BOUFARIK**

**Présidente : Mme KHALDOUN H.**

**MAA**

**USDB**

**Examinatrice : Mme RAHIM I.**

**MAA**

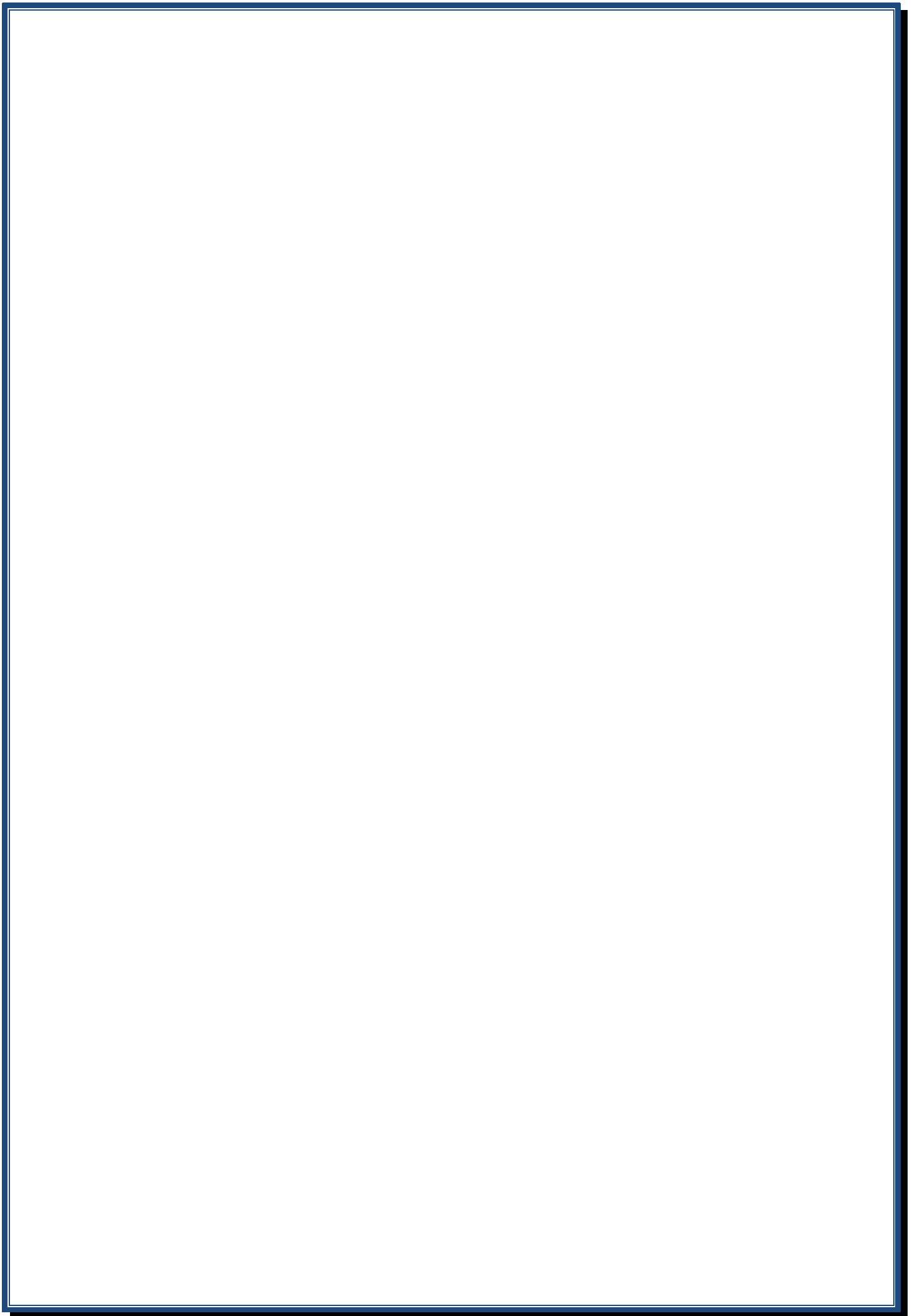
**USDB**

**Examinatrice : Mme MOHAMED MAHMOUD F.**

**MAA**

**USDB**

**Promotion 2011-2012.**



# Remerciements

Je commencerai d'abord par dire EL HAMDOULLAH.

Je tiens à remercier ma promotrice Dr AZROU de m'avoir beaucoup aidé et soutenue durant mon stage, Dr LASSAS qui m'a accepté et m'a bien accueilli au laboratoire.

Je remercie Mme KHALDOUN qui m'a enseigné le module de Biologie moléculaire et qui a accepté de présider le jury.

Je remercie Mme RAHIM et Mme MOHAMED MAHMOUD d'avoir bien accepté d'examiner mon travail.

Je remercie aussi tous les enseignants du département de biologie en particulier Mr et Me HAMAIDI, Me SAIDI, Mr MOHAMED-SAID, Mr BRAHIM RAHMANI, Mr GUITARNI.

Je remercie tous le personnel de l'administration du département en particulier Abderrahmane, Hassiba, Amina, Chafika, Akila, Mohamed, Salem, Yaich.

Je remercie le Professeur BELOUNI, chef du service du laboratoire central qui m'a beaucoup aidé qui m'a beaucoup aidé et qui est un père spirituel pour moi.

Je remercie Les docteurs ; AROUN, BENHELAL, MESSAOUDI, SLIMANI, ZALOUK.

Je remercie ma sœur et amie Dr AMMOUR Wissam.

Je remercie Mme IBALIDENE Fadhila.

Je remercie tous le personnel de l'établissement hospitalier de Boufarik, en particulier Me CHARFI.

## Résumé

La résistance aux antibiotiques des bactéries représente un véritable problème de santé publique. Afin d'évaluer l'augmentation de la résistance aux antibiotiques des bactéries responsables d'infections urinaires, nous avons effectué une étude au laboratoire de l'Etablissement Public hospitalier de Boufarik durant une période de six mois (Du mois de Janvier 2013 jusqu'au mois de Juin). Durant cette période nous avons reçu 720 prélèvements d'urines concernant des malades externes et des malades hospitalisés. Après avoir fait un examen cyto bactériologique pour chaque prélèvement ; 109 échantillons sont revenus positifs. L'espèce la plus fréquemment isolée est *Escherichia coli*. Ensuite nous avons comparé notre étude avec une étude rétrospective effectuée au sein du même laboratoire, nous avons constaté un léger accroissement de la résistance aux antibiotiques des bactéries isolées par rapport à l'année 2011.

**Mots clés :** Infections urinaires, résistance aux antibiotiques, *Escherichia coli*, Examen cyto bactériologique des urines, bactéries responsables d'infection urinaires.

## Liste des figures :

<b>Figure01</b> : Anatomie de l'appareil urinaire.....	02
<b>Figure 02</b> : Mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	17
<b>Figure 03</b> : Répartition des résultats selon le sexe.....	31
<b>Figure 04</b> : Pourcentage des germes isolés.....	31
<b>Figure 05</b> : Taux de résistance d' <i>Escherichia coli</i> aux antibiotiques testés.....	32
<b>Figure06</b> : Taux de résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aux antibiotiques testés.....	32
<b>Figure07</b> : Taux de résistance de <i>Klebsiella sp</i> aux antibiotiques testés.....	33
<b>Figure08</b> : Taux de résistance de <i>Proteus mirabilis</i> aux antibiotiques testés.....	34
<b>Figure09</b> : Taux de résistance de l' <i>Entérocooccus</i> aux antibiotiques testés.....	34
<b>Figure10</b> : Taux de résistance de <i>Pseudomonas</i> aux antibiotiques testés.....	35
<b>Figure 11</b> : Comparaison du taux de résistance d' <i>Escherichia coli</i> entre 2011 & 2013.....	35
<b>Figure 11</b> : Comparaison du taux de résistance de <i>Proteus mirabilis</i> entre 2011 & 2013.....	36
<b>Figure12</b> : Comparaison du taux de résistance de <i>Klebsiella pneumonie</i> entre 11 & 13.....	37
<b>Figure13</b> : Comparaison du taux de résistance de <i>Pseudomonas</i> entre 2011 & 2013.....	38
<b>Figure14</b> : Aspect des colonies d' <i>Escherichia coli</i> sur gélose nutritive	
<b>Figure15</b> : Disposition des disques d'antibiogrammes.	
<b>Figure16</b> : Cellule Malassez.	
<b>Figure17</b> : Galerie classique.	

## Liste des tableaux :

<b>Tableau 1 :</b> Taux de résistance d' <i>Escherichia coli</i> aux antibiotiques testés.....	34
<b>Tableau 2 :</b> Taux de résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aux antibiotiques testés....	34
<b>Tableau 3 :</b> Taux de résistance de <i>Klebsiella sp</i> aux antibiotiques testés.....	35
<b>Tableau 4 :</b> Taux de résistance aux antibiotiques de <i>Protéus mirabilis</i> .....	36
<b>Tableau 5 :</b> Taux de résistance du germe <i>Enterococcus sp</i> aux antibiotiques testés.....	36
<b>Tableau 6 :</b> Taux de résistance de <i>Pseudomonas aéroginosa</i> aux antibiotiques testés.....	37
<b>Tableau 7 :</b> Comparaison du taux de résistance d' <i>Escherichia coli</i> en 2011 et 2013...	38
<b>Tableau 8 :</b> Comparaison du taux de résistance de <i>Proteus mirabilis</i> entre 2011 et 2013....	38
<b>Tableau 9:</b> Comparaison du taux de résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> entre 2011 et 2013.....	39
<b>Tableau 10:</b> Comparaison du taux de résistance de <i>Pseudomonas</i> entre 2011 et 2013.....	40

## **II-Partie expérimentale**

### **II-1. Matériel**

#### **II-1-1. Matériel biologique :**

Notre étude a porté sur l'analyse cyto bactériologique des urines au niveau de l'établissement public hospitalier de Boufarik. Du mois de Janvier jusqu'au mois de Mai 2013. Durant cette période nous avons reçu 720 échantillons provenant de malades hospitalisés ainsi que de malades externes.

#### **II-1-2. Matériel non biologique**

Le matériel non biologique est représenté par : la verrerie (tubes stériles, lames, lamelles). Microscopes. Pipettes Pasteur. Boîte de pétri. Gélose. Galeries biochimiques (classiques ou galeries API). Distributeurs de disques d'antibiotique. Disques d'antibiotique. Pied coulissant. Bec bunsen.

### **II-2. Méthode:**

#### **II-2-1. Examen macroscopique**

##### **Aspect des urines :**

L'urine normale est claire. Un aspect trouble peut être du à l'infection urinaire mais aussi à la présence de cristaux, ou à la prise d'antibiotiques. On homogénéise l'urine par retournement ou par agitation mécanique puis, on note l'aspect limpide ou trouble et la présence d'une éventuelle hématurie.

##### **Détermination du pH urinaire :**

Le but de la détermination du pH urinaire est d'évaluer l'état d'acidité ou d'alcalinité des urines. Ceci est obtenu par la mesure la concentration en ions H<sup>+</sup>.

On recueille des urines fraîches à l'abri de l'air et on mesure le pH grâce à l'électrode d'un pH mètre. Une seconde méthode fait appel à des bandelettes revêtues de deux indicateurs colorés et dont le changement des couleurs allant de l'orange au bleu couvre une gamme de pH de 5,0 à 8,5. Le pH normal des urines varie de 4,5 à 7,8 en fonction de l'alimentation et des modifications du pH sanguin. En cas d'infection urinaire, en particulier à germes uréasique, il existe une alcalinisation intempestive.

Cet examen fiable et permettant l'interprétation des désordres acido-basiques, aide au diagnostic ou à la surveillance d'un certain nombre d'affections dans :

-Le diagnostic des acidoses tubulaires ;

-L'exploration des lithiases uriques ou cystiniques (on sait que la solubilité de ces cristaux est beaucoup plus grande en milieu alcalin) ;

-La surveillance des infections urinaires récidivantes ou à germes uréolytiques (il est alors important d'assurer un pH urinaire).

### **II-2-2. Examen microscopique**

Cet examen doit être effectué dans les deux heures qui suivent le prélèvement afin de limiter l'altération des éléments cellulaires et aussi la multiplication bactérienne.

#### **a)Examen à l'état frais:**

C'est un examen qui se fait entre lame et lamelle sur hématimérique ou cellule normale ; il présente de ce fait un double intérêt :

Quantitatif : Numération des éléments cellulaire.

Qualitatif : Description des différents éléments cellulaires.

#### **Numération de l'urine entière sur cellule à numération**

##### **- Cellule de Malassez**

Elle permet la numération des leucocytes par  $\text{mm}^3$ .

La cellule de Malassez (de profondeur 0.2 mm) est constituée de 10 bandes verticales de 0.25 mm de large et de 10 bandes horizontales de 0.20 mm de large formant 100 rectangles. Le volume de la cellule est de 1 mm. Chaque rectangle quadrillé représente 1/100 mm.

Selon que la leucocyturie est plus ou moins importante, les leucocytes sont comptés dans un volume différent : de un rectangle pour les fortes leucocyturie à la cellule entière pour les leucocyturies voisines des valeurs normales.

#### **Technique**

A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, on prend 02 gouttes d'urine. Ensuite on dépose ces 02 gouttes sur une cellule de Malessez. On recouvre avec une lamelle, puis on observe au microscope à l'objectif 40.



### **Culot de centrifugation (Entre lame et lamelle)**

L'expression quantitative de la leucocyturie s'opère par examen du culot urinaire entre lame et lamelle. Le culot peut être obtenu par centrifugation de l'urine à une vitesse moyenne de 1000 tours/min, ou en laissant l'urine décanter. (Voir annexe).

L'expression des hématies se fait par le même procédé. (Voir annexe).

### **Description des éléments de l'urine sur une préparation à l'état frais**

L'examen de l'urine totale entre lame et lamelle (à x 40) permet de distinguer les éléments suivants :

#### **Les leucocytes**

Lorsqu'ils sont intacts, ils se présentent comme des disques granuleux à l'intérieur desquels le noyau apparaît plus réfringent ; lorsqu'ils sont altérés, les leucocytes ont des contours irréguliers, fripés.

La présence de leucocytes dans les urines signe l'existence d'une réaction inflammatoire. Cependant de véritables réactions inflammatoires peuvent ne pas s'accompagner d'une leucocyturie élevée (foyer inflammatoire bien circonscrit, dilution des urines, lyses des leucocytes dans l'échantillon)

La présence de leucocytes en amas témoigne de l'ouverture d'un foyer inflammatoire (micro-abcès). L'altération des leucocytes peut être liée à de mauvaises conditions de conservation du prélèvement avant son examen.

#### **Les hématies :**

Intactes, elles se présentent comme de petits disques de sept  $\mu\text{m}$  de diamètre aux bords plus réfringents ; altérées, elles ont un aspect en oursin : petit, hérissées de spicules périphériques.

La présence d'hématies témoigne d'une lésion des muqueuses de l'appareil urinaire.

Au-delà de 5 hématies par champs, le passage des globules rouges dans les urines peut être considéré comme pathologique ; les hématies intactes ont une forte probabilité de provenir de la vessie ou de l'urètre. Les hématies altérées viennent du rein.

L'hématurie s'observe :

- dans les formes hémorragiques des néphrites : on pourra alors découvrir des cylindres hématiques à l'examen du sédiment.
- dans le cas d'une atteinte glomérulaire.
- dans les cystites hémorragiques tuberculeuses, gonococciques, à germes banaux.
- dans la tuberculose rénale.

- l'hématurie peut être associée à d'autres affections d'étiologie non infectieuse : cancer, lithiase rénale, tumeurs de la vessie.

### **- Les cellules épithéliales :**

Peuvent être observées dans les urines : des cellules rénales, urétérales vésicales et urétrales.

Les cylindres sont des éléments de grande taille épousant la forme d'une partie du tubule rénal. Ils sont repérés à partir d'un examen entre lame et lamelle de l'urine totale à l'objectif x 10.

Ils peuvent être exclusivement protéiques : Les cylindres hyalins. Ou alors plus rarement, ils peuvent provenir de la dégénérescence de cellules épithéliales : les cylindres granuleux.

Une cylindrurie n'a pas une grande signification. On peut l'observer chez des individus normaux lorsque l'urine est très concentrée ou très acide, ou encore après un effort musculaire très intense. L'excrétion de cylindres hyalins peut accompagner d'autre part n'importe quelle protéinurie quelle qu'en soit l'origine.

En règle générale la présence de cylindres signe une atteinte tubulaire.

L'observation de cylindres hyalins en nombre important indique, par contre, une affection sévère du parenchyme rénal.

La présence de cylindres granuleux est presque toujours pathologique et signe alors une néphrite grave.

### **Les cristaux urinaires**

L'urine contient des substances peu solubles qui s'y trouvent pratiquement à l'état de solution saturée. Dans le cas d'une excrétion accrue de ces substances, celles-ci peuvent précipiter sous forme cristalline et on les retrouve dans l'urine. Les cristaux observés peuvent correspondre à un constituant normal de l'urine ou bien à un métabolite anormal dont elle est physiologiquement dépourvue.

Certains cristaux sont retrouvés exclusivement dans une urine acide et d'autres dans une urine alcaline. Les cristaux amorphes sont souvent identifiés par le pH.

Ainsi, si l'urine est alcaline, on identifie des phosphates amorphes, tandis que si elle est acide, on identifie des urates amorphes. Cette pratique est un peu risquée, car les phosphates amorphes et les triples phosphates sont possibles à un pH légèrement acide (6,5). Certaines situations cliniques, qui peuvent expliquer la formation de calculs, sont aussi susceptibles de favoriser la formation de cristaux.

### **Cristaux de substances présents dans l'urine normale :**

Oxalate de calcium : en forme d'enveloppe de lettre ou en cacahuète.

- Acide urique : en losange, en carré, en fleur, en fins filaments rassemblés de couleur jaune ou brun rougeâtre.
- Urates ammoniacaux magnésiens : en glomérules hérissés de pointe ou en paquets d'aiguille, jaune.
- Phosphate triple : en couvercle de cercueil, en feuille de fougère, incolore réfringents.

Des cristaux moins fréquents:

- Carbonate de calcium : très petits cristaux groupés par deux, ovoïdes, solubles dans l'acide acétique, incolores.
- Sulfate de calcium : lames plates et longues isolées ou en paquets (urine acide).
- Phosphate bi calcique : amas de lames en étoiles, incolores (urine alcaline ou neutre).

L'observation en quantité importante de cristaux correspondant à une de ces substances doit être signalée. Elle peut être liée à une lithiase. Leur élimination en petite quantité n'a pas grande signification.

### **Les bactéries :**

L'examen à l'état frais, donne une identification présomptive des germes existant, telle que la morphologie : (bactéries en bacilles ou des cocci en amas, en chaînette ou isolées) et la mobilité.

### **Les parasites :**

- *Trichomonas vaginalis* : parasite protozoaire globuleux, d'un diamètre de 15 µm en moyenne, mobile dans les urines fraîches ou il se déplace en tourbillonnant grâce à une membrane ondulante et 4 flagelles.
- Œufs de *Schistosoma haematobium*.

### **Autres éléments :**

- Levures : Elles présentent à l'état frais une forme sphérique ou ovale, de taille variable (5 à 12 µm).

Certaines montrent un bourgeonnement à l'un de leur pôle.

- Spermatozoïdes : Peuvent être observés dans les urines fraîches. Mobiles, ils sont constitués d'une très petite tête (5 µm) prolongée d'un long flagelle souple de 50 µm.

## **b) Examen direct après coloration**

### **Le Bleu de méthylène(BM)**

Permet la différenciation des leucocytes (aspect morphologique), permet de visualiser la disposition des bactéries dans les cellules (intra ou extra cellulaire) et aussi d'apprécier le mode de groupement des bactéries.

C'est une technique semi quantitative des éléments cellulaires.

Les levures sont bien appréciées au BM.

Un frottis confectionné à partir de l'urine totale bien mélangée, est séché et fixé puis coloré au BM ; ce frottis permet l'examen des éléments cellulaires dans des conditions moins traumatisantes que le Gram.

### **Le GRAM**

Permet d'apprécier l'importance de la population bactérienne, son caractère monomorphe ou polymorphe et la morphologie des bactéries : cocci ou bacille à Gram positif ou à Gram négatif (aspect morpho-tinctorial) et le mode de groupement des cocci. (Orientation pour la culture).

Une goutte (10 ou 50 ul) d'urine non centrifugée est déposée sur une lame et séchée à l'air sans étalement, fixée puis colorée au Gram. (Une grande concentration de bactéries va migrer vers le sommet de la goutte).

## **II-3. Culture**

### **II-3-1.Méthode de référence : Méthode de KASS Modifiée**

#### **-Description de la technique**

0.1 ml d'urine bien mélangée est diluée dans 9.9 ml d'eau distillée stérile à l'aide d'une micro pipette calibrée à 0.1 ml ; puis 0.1 ml de cette dilution est ensuite aussitôt étalée sur une gélose nutritive avec un râteau préalablement stérilisé.

Une double dilution de l'urine est effectuée dans certaines situations : sondés et paraplégiques.

On ensemence parallèlement l'urine non diluée sur un milieu sélectif (Hektoene ou BCP ou Mac Conkey qui permet d'inhiber l'envahissement du *proteus*) ou enrichie (Gélose au sang) dans le cas où on suspecte à l'examen direct ou au Gram des germes exigeants ou déficients.

#### **- Lecture :**

La numération se fait selon la formule de Kass :

$$N=n.10^2 .10 \text{ bactérie / ml}$$

Ou; n: Nombre de colonie sur la boîte.

$10^2$  : Inverse de la dilution.

10 : Inverse de l'inoculum.

Nombre de colonie : 1-9 :  $10^3$

Bact/ml Numération négative 10-99 :  $10^4$

Bact/ml Numération douteuse+ 100:  $10^5$

Bact/ml Numération positive

**- Interprétation :**

Chaque colonie qui pousse à partir de l'urine diluée correspond à 1000UFC dans 01 ml d'échantillon.

Une bactériurie significative est considérée devant une numération  $> 100$  colonies sur gélose nutritive ce qui correspond à  $> 10^5$  UFC / ml.



**Figure 3 : Dilution des urines**

**Choix des milieux de culture**

**Milieux pour numération bactérienne**

Les milieux utilisés doivent permettre une numération des bactéries les plus fréquemment rencontrées, c'est à dire les entérobactéries, les *Pseudomonas*, les Staphylocoques et les entérocoques qui sont toutes des bactéries peu exigeantes et à cultures rapides.

En routine on utilise une gélose nutritive (GN), Un milieu Cysteine Lactose. Electrolytes Déficient (CLED).

**Milieux d'isolement**

On utilise pour l'isolement des bactéries peu exigeantes, des milieux sélectifs tels que : gélose lactosée au bromocrésol pourpre (BCP), milieu de Mac Conkey qui permet d'inhiber les bactéries à Gram+ et le développement en nappe du *Proteus* et le milieu Hektoène (milieu lactosé).

Si on suspecte des bactéries à croissance difficile, d'autres milieux de culture devront être utilisés. Une gélose au sang frais ou cuit peut permettre d'isoler des Streptocoques ou des

Haemophilus. Un milieu Loweinstein Jensen pour les Mycobactéries, Une gélose Columbia au sang pour une recherche exceptionnelle d'anaérobies strictes.

- Milieu adapté à la culture des bactéries à Gram positif notamment les streptocoques.

**Incubation :**

L'incubation des milieux se fait à 35°C pendant 18-24 h à l'étuve.

L'atmosphère d'incubation pour les milieux enrichis se fait sous CO<sub>2</sub> et en anaérobiose pour la recherche de germes anaérobies stricts.

La durée d'incubation peut être prolongée pour la recherche de germes à croissance difficile : anaérobies jusqu'à 72 h voir une semaine et mycobactéries une semaine jusqu'à 1 mois.

**Aspect des colonies**

**Milieux usuels**

Entérobactéries : Colonies de 1 à 3 mm de diamètre généralement bombées, lisses et brillantes, opaques et blanchâtres. (Voir annexe).

**Milieux spécifiques**

- **Gélose au sang frais :(GSF)**

- Les Staphylocoques et les Streptocoques : peuvent faire apparaître sur GSF une hémolyse bêta = halo clair autour de la colonie.

**II-4 Identification biochimique des colonies**

**Caractères biochimiques d'orientation rapide**

**Recherche de l'Oxydase**

L'oxydase cytochrome assure la fixation de l'oxygène moléculaire sur le cytochrome réduit.

On met une colonie en présence de la NN-dimethyl-paraphénylène-diamine réduite et incolore soit en solution, soit en imprégnant un disque de papier buvard et en le desséchant.

Cette enzyme possède la capacité d'oxyder la NN-dimethylparaphénylène-diamine réduit et incolore en dérivé semi quinonique rose violacé.

**Technique :**

- Sur une lame propre et dégraissée (se trouvant à l'intérieur d'une boîte de Petri vide), déposer dans un angle une goutte d'eau distillée à l'aide d'une pipette Pasteur.

- A l'aide d'une pince en plastique, saisir un disque pour la recherche d'oxydase, réhydrater avec de l'eau distillée et le déposer au milieu de la lame, veiller à ce que le liquide ne déborde pas du disque.

- Avec une pipette Pasteur boutonnée, prélever un peu de culture pure de 18h sur milieu d'isolement et déposer la colonie sur le disque, attendre quelques secondes.

**Lecture:**

Oxydase + : le disque devient rose foncé puis violet au niveau du dépôt.

Oxydase - : pas de changement de couleur.

**II-3-2. Recherche de la Catalase**

Cette enzyme catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  produit toxique du métabolisme aérobie de nombreuses bactéries, en  $H_2O$  et  $\frac{1}{2} O_2$ .

C'est l'action directe de cette enzyme qui est mise en évidence dans la masse microbienne, cette action est caractérisée par un dégagement gazeux résultant de la décomposition de l'eau oxygénée.

**Technique :**

- A l'aide d'une pipette Pasteur déposer au milieu d'une lame propre et dégraissée se trouvant à l'intérieur d'une boîte de Pétri vide une goutte d'eau oxygénée.

- Avec une pipette boutonnée, prélever un peu de culture pure de 18h sur milieu d'isolement et déposer les bactéries dans l'eau oxygénée.

**Lecture**

Catalase + : Bulles de gaz dans l'eau oxygénée.

Catalase - : Pas de dégagement gazeux.

**II-4-1. Identification par galerie classique**

A l'aide d'une suspension bactérienne, on ensemence des milieux de culture de compositions différentes en tubes permettant de mettre en évidence les principaux caractères biochimiques identifiant les entérobactéries.

L'incubation se fait à  $35^\circ C$  pendant 18-24h ; la lecture des caractères se fait selon un tableau (Voir annexe).

Suivant l'algorithme des principaux caractères biochimiques révélés les bactéries seront identifiées (voir annexe).

Chaque milieu utilisé doit au préalable être contrôlé pour éviter les diagnostics erronés.

Test ONPG: OrthoNitroPhényl – B-D – Galactopyranoside

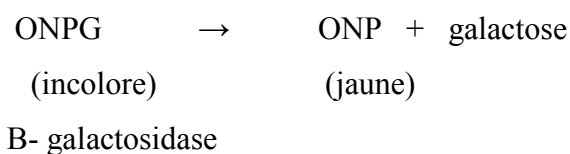
Le test ONPG ou test de l'ONPG – Hydrolase est un test complémentaire celui-ci permet, lorsque la bactérie est Lactose (-) de trouver s'il y a présence d'une B-galactosidase que l'on reconnaît grâce à la coloration en jaune du milieu. Pour que la bactérie hydrolyse le lactose, il faut qu'elle ait deux enzymes :

- La B-galactoside perméase membranaire qui permet la pénétration du lactose dans la

cellule.

- La B-galactosidase qui est une Hydrolase capable d'hydrolyser la liaison osidique en donnant le galactose et le glucose.

L'orthonitrophényl – B-D – galactopyranoside (ONPG) est un hétéroside dont l'aglycone est l'orthonitrophénol et l'ose est le galactose. L'hydrolyse de l'ONPG par une B-galactosidase libère du galactose et de l'orthonitrophénol (ONP) de couleur jaune selon cette équation :



Les bactéries Lactose (+) possèdent la B-galactosidase donc elles sont toujours ONPG +, Par contre les bactéries Lactose (-) peuvent être :

- ONPG (-) : elles ne possèdent pas d'ONPG-hydrolase (B-galactosidase).
- ONPG (+) : elles possèdent soit une B-galactosidase, mais pas de Bgalactosidase perméase et elles ne peuvent pas dégrader le Lactose soit une

ONPG-hydrolase autre qu'une B – galactosidase. Milieu TSI (Triple Sugar Iron) Ce milieu de culture, proposé par Hajna (1945), est principalement utilisé pour la caractérisation biochimique des entérobactéries. C'est un milieu différentiel par la capacité à mettre en évidence les fermentations du : glucose, lactose et/ou saccharose ainsi que la production d'hydrogène sulfuré (H<sub>2</sub>S) et de gaz. Le rouge de phénol est l'indicateur colorant virant du rouge au jaune pour un résultat positif. Le noircissement du culot indique la présence de H<sub>2</sub>S.

Milieu mannitol-mobilité

Ce milieu permet de rechercher simultanément la mobilité, et l'utilisation du mannitol.

- Le test mannitol :

Le mannitol est un dérivé de réduction du mannose. La réduction des oses simples peut se faire sur les fonctions aldéhyde ou cétone : on obtient alors des polyalcools que l'on désigne avec le suffixe –itol.

Ce polyalcool peut être fermenté par la bactérie avec libération de produits acides qui font virer l'indicateur de pH du rouge en milieu basique au jaune en milieu acide. Donc : bactérie mannitol (+). Le milieu RM-VP : (bouillon Clark et Lubs).



Ce milieu permet de rechercher les voies fermentaires des entérobactéries et de différencier la fermentation des acides mixtes et la fermentation butanediolique chez les entérobactéries.

- Test du rouge de méthyle (test RM) :

C'est une réaction utilisée pour mettre en évidence la voie fermentative des acides mixtes lors de l'identification des entérobactéries. La fermentation du glucose par les entérobactéries produit de l'acide pyruvique, puis des acides organiques. Ces acides font virer le RM au rouge et dans le cas contraire, il vire au jaune.

Réaction de Voges-Proskauer (test VP) :

C'est une réaction utilisée pour mettre en évidence la voie fermentaire du butane – 2, 3 – diol lors de l'identification biochimique des entérobactéries, cette réaction permet de mettre en évidence l'acétoïne ou (3 – hydroxybutanone), parce que Le butane – 2, 3 – diol ne peut pas être mis en évidence facilement.

#### II-4-2. Identification rapide (API system)



Figure 4 : Galerie API

L'API est un système standardisé pour l'identification des bactéries selon les caractères biochimiques.

##### Principe

La galerie API comporte 20 micros tubes contenant des substrats déshydratés. Les micro tubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux déshydratés, les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés lors de l'addition des réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification.

**Technique :** A l'aide d'une pipette, prélever 1 à 4 colonies morphologiquement identiques et réaliser une suspension avec le médium (2ml) "*solution saline*".

Remplir les tubes (et non les cupules) des tests avec la suspension précédente pour éviter la formation de bulles d'air au fond des tubes. Poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant.

Remplir les tubes et cupules des tests qui portent un cadre.

EX : GLU

Remplir d'huile de paraffine les cupules des tests soulignés

EX : ADH, urée

**La lecture:**

- Après incubation, la galerie sera lue et les résultats comparés au tableau de lecture.

Noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées ou révélées par l'addition des réactifs.

## **II-5 Antibiogramme**

### **L'antibiogramme standard en milieu gélosé : méthode des disques**

#### **Principe général**

Pour réaliser l'antibiogramme par la méthode des disques, la culture bactérienne est ensemencée à la surface de la gélose de Mueller-Hinton, éventuellement additionnée de sang. Des disques pré-imprégnés d'une dose connue d'antibiotique sont déposés à la surface de la gélose. L'antibiotique diffuse à partir du disque en créant un gradient de concentration. La détermination du diamètre de la zone d'inhibition permet une estimation de la concentration minimale inhibitrice. Les caractères de sensibilité ou de résistance de la souche bactérienne en seront déduits. (Voir annexe).

#### **Technique**

On réalise à partir de l'isolement (souche pure) un ensemencement en tapis sur le milieu. On dispose ensuite les disques d'antibiotiques et on place à l'incubateur. Au bout de 24 h, on lit les différents diamètres d'inhibition et on peut conclure en comparant ceux-ci aux abaques de lecture.

#### **Interprétation**

La CMI sera donnée par la première des concentrations d'antibiotique qui supprime sur la gélose toute culture apparente

La CMI est comparée aux concentrations critiques qui permettent de classer la souche, pour l'espèce bactérienne étudiée et l'ATB testé, dans la catégorie clinique : sensible, résistante ou intermédiaire.

Ces concentrations critiques résultent des nombreuses études pharmacologiques, statistiques et cliniques, reflètent pour chaque antibiotique, les concentrations sanguines obtenues in vivo par administration d'une dose utilisable en thérapeutique.

# SOMMAIRE

## Introduction

### I. Partie bibliographique.

I-1. Anatomie de l'appareil urinaire.....	2
I-2. Définition de l'infection urinaire.....	3
I-3. Types d'infections urinaires.....	4
I-4. Rappel sur la physiologie et sur la physiopathologie des IU.....	5
1-4-1. Les modes de contamination.....	5
I-5. Etiologie bactérienne.....	6
I-5-1. Famille des Enterbacteriaceae.....	6
I-5-2. Famille des pseudomonaceae.....	7
I-6. Traitement des infections urinaires.....	8
1-6-1. Les antibiotiques.....	8
1-6-2. Mécanismes d'action des antibiotiques.....	8
I-7. L'antibiogramme.....	12
I-8. Résistance aux antibiotiques.....	14
I-8-1. Mécanismes acquis de résistance aux antibiotiques.....	14
a) Diminution de la concentration en antibiotique	
b) Modification de la cible	
c) Inactivation enzymatique de l'antibiotique	
I-9. Evolution des Résistances.....	18

### II-Partie expérimentale

II-1. Matériel.....	19
II-1-1. Matériel biologique.....	19

II-1-2. Matériel non biologique.....	19
II-2. Méthode.....	19
II-2-1. Examen macroscopique.....	19
II-2-2. Examen microscopique.....	20
a) Examen à l'état frais:	
b) Examen direct après coloration	
II-3. Culture.....	24
II-3-1. Méthode de référence : Méthode de KASS Modifiée.....	24
II-3-2. Recherche de la Catalase.....	
II-4 Identification biochimique des colonies.....	26
II-4-1 Identification par galerie classique.....	
II-4-2. Identification rapide (API system).....	
II-5 Antibiogramme.....	30

### **III : Résultats et discussion.**

III-1 : Répartitions des résultats obtenus selon le sexe .....	31
III-1-2: Répartitions des souches isolées.....	31
III-2 : Taux de résistance d' <i>Escherichia coli</i> aux antibiotiques testés.....	32
III-3 : Taux de résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aux antibiotiques testés.....	32
III- 4 : Taux de résistance de <i>Klebsiella sp</i> aux antibiotiques testés.....	33
III-5 : Taux de résistance aux antibiotiques de <i>Proteus mirabilis</i> .....	34
III-7 : Taux de résistance du germe <i>Enterococcus sp</i> aux antibiotiques testés...34	
III-8 : Taux de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux antibiotiques testés...35	
III-9 Comparaison du taux de résistance d' <i>Escherichia coli</i> en 2011 et 2013.....	36

III-10. Comparaison du taux de résistance de <i>Proteus mirabilis</i> entre 2011 et 2013...	36
III-11 Comparaison du taux de résistance de <i>Klebsiella pneumonie</i> entre 2011 et 2013...	37
III-12. Comparaison du taux de résistance de <i>Pseudomonas</i> entre 2011 et 2013.....	38

<b>Discussion.....</b>	<b>41</b>
------------------------	-----------

<b>Conclusion.....</b>	<b>43</b>
------------------------	-----------

## **Références bibliographiques**

## **Annexes**



### **Discussion.**

Durant la durée de notre stage à l'hôpital de boufarik (du mois de Janvier 2013 jusqu'au mois de Mai de la même année. au service laboratoire. Nous avons reçu 720 échantillons d'urines provenant de divers services (malades hospitalisés), ainsi que des prélèvements externes.

Sur les 720 échantillons reçus, 109 se sont révélés positifs, 63 contaminés et 548 négatifs.

Le pourcentage des infections urinaires chez les femmes, est nettement supérieur au pourcentage des infections urinaires chez les hommes. Ceci a été prouvé dans plusieurs études réalisées auparavant. Citons à titre d'exemple les travaux de Ben Arab & al, 2007. L'infection urinaire touche beaucoup plus la femme. Cela s'explique par le fait qu'elle présente un urètre court, sujet à des polytraumatismes (coït) et que les glandes périurétrales n'ont pas d'activité antibactérienne (contrairement au liquide prostatique).

De plus, les urines de la femme présentent une osmolalité plus faible que chez l'homme, ainsi qu'un pH plus élevé, en particulier durant la grossesse. Chez l'homme, les infections urinaires sont rares. Quand elles surviennent, le risque d'invasion de la prostate et des reins est important. En cas d'infections répétées, la présence d'une prostatite bactérienne chronique doit toujours être suspectée.

Selon notre étude *Escherichia coli* reste l'espèce prédominante dans les infections urinaires comme l'ont démontré de nombreux auteurs (**Alaoui AS et al, 1998 ; Grunde N et al, 2001 ; Boutiba I et al, 2007**). Cela est en rapport avec la physiopathologie de l'infection urinaire qui est en général ascendante et il existe une forte colonisation du périnée par les entérobactéries d'origine digestive (**Larabi k et al, 2003**). A cela s'ajoute des facteurs spécifiques d'uropathogénéicité. Ainsi *Escherichia coli* possède des adhésines capables de lier la bactérie à l'épithélium urinaire

Cette espèce a acquis des résistances touchant plusieurs classes d'antibiotique, en particulier les B lactamines dont l'amoxicilline excluant l'utilisation de cette molécule dans le traitement probabiliste des infections à *E. coli*. *E. coli* ne présente aucune résistance à l'imipénème. Le taux de résistance de cette espèce à la cefixime est passé de 0% à 3% en 2013 mais reste faible. Ce résultat concorde avec des travaux fait en Tunisie et qui ne dépasse pas 6% (**Boutiba I et al, 2007**). La résistance à l'acide nalidixique a atteint 44% en 2013. Le taux de résistance d'*E.coli* aux aminosides a augmenté mais il reste comme même faible. Les



aminosides gardent une excellente activité. Les résistances acquises, bien que plasmidiques, concernent surtout les entérobactéries productrices de BLSE et les *Pseudomonas aeruginosa*. **(Gardien E et al, 1997)**.

La ciprofloxacine est une molécule très utilisée dans le traitement des infections urinaires à *Klebsilla*, d'ailleurs selon mon étude cette dernière présente une sensibilité totale à la CIP. Ceci corrèle avec les travaux de Sekhsokh Y et al, 2007. Ce qui n'est pas le cas pour d'autres travaux qui ont trouvés une faible sensibilité aux quinolones **(Das RN et al, 2006)**.

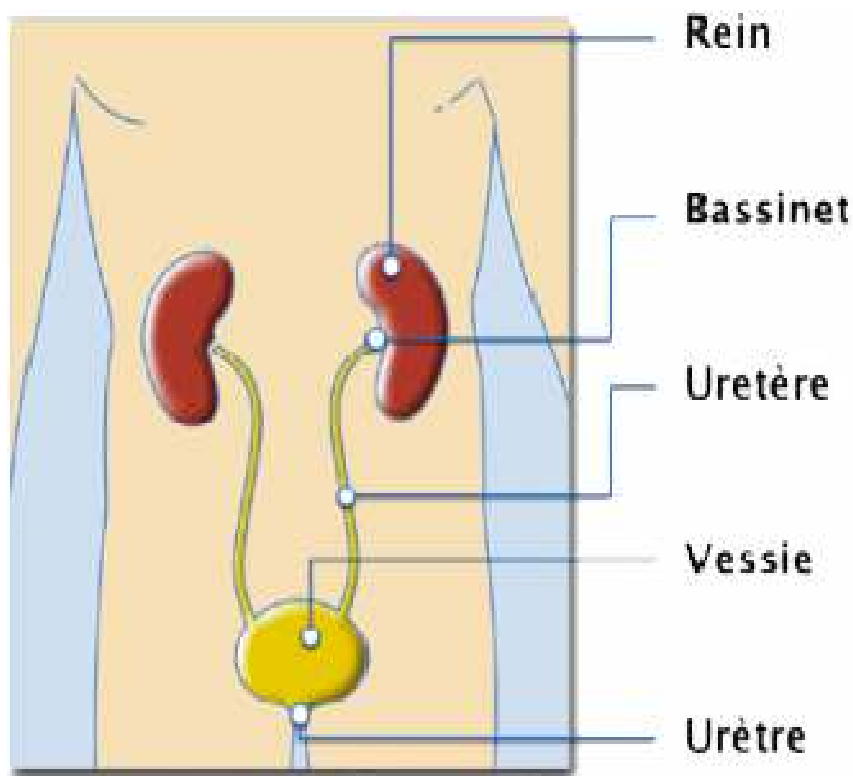
*Pseudomonas aeruginosa* à été moins sensible aux antibiotiques testés au cours de mon stage mais reste sensible à la ciprofloxacine , à la ceftazidime (100%). Des résultats similaires ont été rapportés dans d'autres pays. **(Jones RN, 1999)**.

## I. Partie bibliographique.

### I-1. Anatomie de l'appareil urinaire

L'appareil urinaire se compose des reins, des uretères, d'une vessie, d'un urètre et d'un méat urinaire. Il se forme et commence à fonctionner avant la naissance.

Le rôle de ce système est de former l'urine qui sera évacuée. L'urée est excrétée par les Reins qui fabriquent l'urine ; cette urine est acheminée par l'uretère jusqu'à la vessie, une poche retenant l'urine, ensuite rejetée à l'extérieur de l'organisme lors de la miction par l'urètre s'abouchant au méat urinaire (Figure 1).



**Figure 1** : Anatomie de l'appareil urinaire (Djennane et al, 2009)

### **Les reins**

Le corps humain possède deux reins. Toutefois, un seul rein peut suffire à l'accomplissement des fonctions d'épuration et d'élimination. Fixés sous les côtes, ils sont en liaison avec l'artère rénale, par laquelle arrive le sang à filtrer.

Le rein possède une fonction sécrétoire (filtration du sang au niveau des glomérules) puis excrétoire à partir du pyelon (triangle à base issue du hile rénal), origine de l'uretère. On parle de jonction pyelo-urétérale.

Le sang est épuré au niveau du néphron, dans lequel certains éléments sont réabsorbés (ions minéraux, glucose, eau, acides aminés) et retourneront à la circulation sanguine par la veine rénale.

Les déchets récupérés constituent une urine primitive qui sera déversée dans le bassinet, puis dans l'uretère attenant au rein. Les reins nettoient le sang.

### **Les uretères**

Ils sont le prolongement des reins. Leur rôle est de collecter l'urine au niveau du bassinet. Ils se présentent comme des tubes dont l'extrémité supérieure prend une forme d'entonnoir, composée de fibres musculaires lisses évitant les reflux d'urine. L'urètre se dirige vers le bas, en avant et en dedans pour rejoindre la partie postéro-supérieure de la vessie.

### **La vessie**

La vessie se présente sous la forme d'une poche dont les parois sont faites de muscles lisses (le detrusor) et de tissu épithélial et voit s'aboucher à sa partie inférieure l'urètre : on parle de col vesico-urétral.

Elle recueille l'urine qui lui parvient par les uretères. Sa capacité est d'environ 500 ml à 1L. L'urine est évacuée au niveau de l'urètre lors de la miction.

Le contrôle de la miction est réalisé par un sphincter lisse à commande involontaire et par un sphincter strié volontaire utilisé en cas de retenue forcée (ou en période postopératoire).

### **I-2. Définition de l'infection urinaire :**

Une infection urinaire correspond à l'agression d'un tissu par un (ou plusieurs) micro-organisme, générant une réponse inflammatoire et des signes et symptômes de nature et d'intensité variables selon le terrain. Le terme d'« infection de l'appareil urinaire » est donc plus approprié que le terme d'« infection urinaire » consacré par l'usage.

Elle associe :

Au moins un des signes ou symptômes suivants: fièvre (> 38 °C), impériosité mictionnelle, pollakiurie, brûlures mictionnelles ou douleur sus-pubienne, douleur lombaire, en l'absence d'autre cause infectieuse ou non. **(Bruyère et al; 2008)**.

### **I-3. Types d'infections urinaires :**

Il y a trois classifications.

-Hautes ou basses : Ces termes ne sont pas satisfaisants car ils opposent l'infection du haut Appareil à la simple cystite. Or chez l'homme, la prostate fait partie du bas appareil et pourtant elle représente une infection avec invasion tissulaire et non pas une atteinte de la muqueuse vésicale. Dans l'infection avec de l'appareil urinaire, il est important de déterminer S'il existe une atteinte du tissu rénal et/ou prostatique ou seulement une cystite.

-Primitive ou secondaire : On entend par primitive, l'infection survenant dans un appareil anatomiquement sain, sans obstacle, sans lithiase, et sans reflux. C'est le cas de la plupart des infections urinaire chez la femme. Dans le cas contraire elle est dite <<secondaire>>.

Chez l'homme jeune et chez l'enfant (surtout le garçon), les infections urinaires primitives sont l'exception. Dans la plupart des cas elles sont dues à une anomalie de l'arbre urinaire.

-Selon l'organe infecté : cette classification est la plus logique.

\*Vessie :

Cystite : C'est une infection, strictement vésicale, qui associe dysurie, pollakiurie, et brûlures mictionnelles, sans fièvre ou douleurs lombaires. Elle prédomine essentiellement chez la femme. Chez l'homme une cystite s'accompagne pratiquement toujours d'une prostatite.

On parle de cystite récidivante lorsqu'il y a au moins 4 épisodes par an ou un dernier épisode datant de moins de 03 mois. **(Pilly, 2004)**.

\*Rein :

Pyélonéphrite : C'est une inflammation microbienne du parenchyme rénal et/ou des cavités pyélocalicielle (Tubes collecteurs, calices, bassinet) précédé ou non de cystite.

Pyonéphrite : Une pyonéphrite est un abcès du rein. Il s'agit en fait le plus souvent d'un aspect évolutif de la pyélonéphrite dans lequel les lésions ont fini par s'excaver.

Pyonéphrose : C'est l'infection des cavités et du parenchyme rénal an amont d'un obstacle, avec destruction rapide du tissu rénal.

\*Urètre : Le syndrome urétral, se présente chez la femme par un tableau clinique de cystite avec dysurie et pollakiurie alors que l'EBCU ne révèle aucune bactériurie significative.

Dans certains cas il peut s'agir d'une infection urinaire débutante ou pauci-bactérienne ; ailleurs l'éventualité d'une urétrite à *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* ou à Mycoplasme doit être envisagée.

\*Prostate :

La prostatite se définit comme l'inflammation de la glande prostatique avec augmentation des cellules inflammatoires dans les sécrétions exocrines. Elle peut être aiguë et donc témoigner d'une infection bactérienne active, de survenue brutale, avec des signes urinaires francs associé à une hyperthermie nette ou bien chronique se caractérisant par la persistance d'agents pathogènes dans les voies séminales et urinaires difficilement accessibles au traitement antibiotique. Les signes cliniques sont alors sourds, et le patient souvent apyrétique.

Il faut enfin distinguer la prostatite de la prostatodynie, terme plus général qui regroupe des symptômes prostatiques non spécifiques. (**Botto, 2003**).

\*Les infections urinaires selon le lieu où l'infection a été contractée :

Infections urinaires nosocomiales :

Infection urinaire acquise dans une structure de soins 02 jours après l'hospitalisation jusqu'à un mois après la sortie. L'origine des bactéries nosocomiales est endogène (flore du patient) dans 2/3 des cas. C'est l'infection urinaire la plus fréquente. (**Abelmoumen et Benkadour, 2007**).

Infections urinaires communautaires :

A l'inverse l'infection urinaire communautaire appelée infection urinaire de ville est celle contractée en dehors de toute structure de soins.

### **I-4. Rappel sur la physiologie et sur la physiopathologie des IU**

L'appareil urinaire est un système clos et stérile. Seuls les derniers centimètres de l'urètre comportent une flore multiple, digestive, cutanée et génitale.

L'infection urinaire est le résultat d'une interaction entre la virulence des germes et les moyens de défense de la muqueuse de l'hôte.

#### **1-4-1 Les modes de contamination**

Il existe deux grandes voies de pénétration des germes que nous allons aborder en fonction de leur fréquence :

- Voie ascendante.
- Voie hématogène.

### **a- La voie ascendante**

La pénétration des germes se fait le plus souvent par voie ascendante canalaire (**Lobel, 2007**). L'urètre, bien que colonisée par une flore multiple, est le premier obstacle à l'inoculation des bactéries intra vésicale. (**Caron, 2003**). Les germes les plus souvent saprophytes vont donc remonter jusque dans la vessie puis dans le haut appareil du fait de la baisse des défenses de l'hôte et de la présence de facteurs favorisant (diabète, grossesse...). On distingue les infections urinaires spontanées à partir de la flore périnéale et les infections iatrogènes liées à la pose de sonde urinaire ou à un examen endovésicale.

### **b-La voie hématogène**

Les germes présents dans le sang lors d'état de septicémie ou de bactériémie colonisent le rein lors de la filtration glomérulaire. Les germes de la voie hématogènes sont donc le plus souvent spécifique tel que *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium tuberculosis*. (**Bruyère, 2008**).

## **I-5. Etiologie bactérienne.**

### **I-5-1. Famille des Enterbacteriaceae :**

Les entérobactéries sont une vaste famille des bactéries qui sont rencontrées en bactériologie médicale. Ce sont des bacilles à Gram négatifs, mobiles, par des ciliatures péritriches ou immobiles, non sporulés, aéro-anaérobies facultatifs, qui se cultivent sur les milieux ordinaires. Les colonies sont rondes, lisses, brillantes et à bord réguliers. Elles fermentent le glucose avec ou sans production de gaz, possédant une nitrate réductase, une catalase et elles n'ont pas d'oxydase. (**Faucher et Avril, 2002 ; Bernard et al, 2003**).

#### **Le genre *Escherichia* :**

Appelé communément colibacille, *E.coli* est une bactérie connue depuis longtemps comme commensale du tube digestif et pathogènes pour l'appareil urinaire. *E. coli* vient largement en tête, 60 à 90% des cas selon les séries (**Langue et al, 1999**). La part occupée par *E. coli* est d'autant plus importante qu'il s'agit de premier épisode et en l'absence d'uropathie malformative, jusqu'à 88% dans certaines séries. Néanmoins, *E. coli* est moins fréquente en cas d'infection survenant chez un enfant bénéficiant d'une antibioprophylaxie. (**Lutter et al, 2005**).

### **Le genre *klebsiella***

Les klebsiella sont des bacilles à gram (-), immobiles, entourés d'une capsule qui appartient à la famille des entérobactéries, fermentent de nombreux sucres avec production de gaz, ne produisent pas d'H<sub>2</sub>S. Elles sont ODC(-), ADH(-), TDA(-), Lipase(-), VP(+). (Avril et al, 2000).

Elles sont cultivées pendant 24h à 37°C sur milieux gélosé, elles donnent des colonies bombées, brillantes, et visqueuse à cause des capsules. *K pneumoniae* et *K exotyca* sont isolés principalement d'infections urinaires, de broncho-pneumopathies, de bactériémie et des infections neuroméningées (Faucher et Avril, 2002).

### **Le genre *Enterobacter***

Les *Enterobacter* sont des enterobactériaceae, voisin de *Klebsiella* par leur mobilité, par la présence d'un ODC, parfois d'une ADH, et par l'absence d'uréase, VP(+). La TDA, la DNase, la production d'indole et l'H<sub>2</sub>S est négative. Ils sont cultivés sur la gélose et donnent des colonies brillantes, opaques, et souvent d'aspects muqueux (Avril et al, 2000).

Ces bactéries pathogènes opportunistes peuvent être responsables d'infections urinaires néonatal et des suppurations diverses. (Loup et al, 2000).

### **Le genre *Proteus***

Les *Proteus* sont des bacilles à gram(-) très polymorphe, aéro-anaérobie facultatif, capsulés, sporulés, et très mobiles car elles possèdent de nombreux flagelles. Les *Proteus* sont responsables d'infections urinaires souvent récidivantes. Et sont également responsables de septicémie et de méningites chez les nourrissons. (Loup et al, 2000).

## **I-5-2. Famille des pseudomonaceae**

### **Le genre *Pseudomonas***

Ce genre n'appartient pas à la famille des entérobactéries. Ce sont des bacilles gram(-) mobiles par des ciliatures polaires, aérobies strictes, se cultivent facilement sur les milieux usuelles. Elles sont très répandues dans l'eau et dans les milieux humides, comme elles peuvent coloniser l'homme. (Nauciel, 2000). *Pseudomonas aeroginosa* ou bacille pyocyanique, constitue l'espèce type du genre, elle ne fermente pas l'hydrate de carbon, citrate de simmons (-), L-arginine -dé-(+). Les colonies ont un aspect muqueux, opaque et visqueux. Ces colonies sont rencontrées spécifiquement dans les infections chroniques urinaires provoquées par voie hématogènes

### **I-6. Traitement des infections urinaires**

#### **1-6-1. Les antibiotiques**

Définition : Un antibiotique est toute substance, naturelle ou synthétique capable d'inhiber in vivo le développement des bactéries. Les molécules d'antibiotiques doivent être idéalement les plus toxiques pour les bactéries et les moins toxiques pour les cellules de l'organisme qui les hébergent. On les divise en antibiotiques à large spectre ou à spectre étroit selon leur activité contre beaucoup ou peu de germes (**Gaudy, 2005**).

#### **1-6-2. Mécanismes d'action des antibiotiques**

Les antibiotiques bloquent de manière spécifique les processus métaboliques vitaux des bactéries sensibles et arrêtent ainsi leur développement, le plus souvent seulement temporairement (effet bactériostatique) mais parfois définitivement (effet bactéricide).

Il existe différents types d'antibiotiques capables d'agir sur les bactéries selon différents mécanismes (**Gaudy, 2005**) ;

- a- Antibiotiques qui inhibent la synthèse de la paroi bactérienne.
- b- Antibiotiques qui altèrent la perméabilité de la membrane plasmique.
- c- Antibiotiques qui inhibent la synthèse protéique.
- d- Antibiotiques actifs sur le métabolisme des acides nucléiques et de leurs précurseurs.

#### **1-6-3. Classification des antibiotiques utilisés dans le traitement des infections urinaire.**

##### **$\beta$ -lactamines**

Cette famille d'antibiotiques est importante par le nombre élevé de molécules et par leurs indications très larges, qui varient avec les pathologies à traiter, des plus bénignes (sinusites) aux plus sévères (méningites bactériennes). (**Recommandations et références médicales, 1996**) L'amoxicilline, puis l'amoxicilline + acide clavulanique (inhibiteurs de  $\beta$  lactamase) , ont été longtemps les antibiotiques de référence pour traiter les infections urinaires (**Caron, 1999**) ; après qu'elles aient été très largement utilisées dans cette indication, le suivi des résistances a montré une progression rapide et importante de la résistance d'E.coli et des autres entérobactéries (**De mouy et Cavallo, 1999**). Cependant, au sein des  $\beta$ -lactamines, les céphalosporines de 3eme génération (céfotaxime, ceftriaxone) ont conservé leurs place dans les indications d'infections urinaires hautes ou basse, compliquées et sévères.



### **Aminosides**

Cette classe d'antibiotiques très ancienne développée sur plus de 50ans depuis la streptomycine, possède de nombreuses indications sur les infections sévères : après avoir été une indication pour l'infection urinaire basse communautaire, la gentamicine est devenue marginale en médecine pratique (**Weber, 2002**). En effet, les mesures restrictives à l'égard des aminosides ont été liées aux effets indésirables de ces antibiotiques, lors de leur emploi à doses élevées et en traitement prolongé (toxicité cochléo-vestibulaire et rénale); ils demeurent des antibiotiques fortement bactéricides, utilisé brièvement et en association avec une  $\beta$ -lactamine (synergie bactéricide) ou avec une fluoro-quinolone, et conserve une place importante dans les infections urinaires compliquées et sévères telles que les pyélonéphrites aiguës compliquée (**Caron et Humbert, 1994**). Leur emploi en médecine de ville est en déclin alors que de nouveaux produits efficaces ayant l'indication «infection urinaire basse» sont disponibles.

### **Triméthoprime-sulfaméthoxale**

L'association triméthoprime-sulfaméthoxacole (Tmp/Smx : Bactrim) est un produit ancien (fin des années 1960) : constitué de deux produits synergiques par action séquentielle sur la voie de synthèse des folates , il a connu un succès planétaire très durable pour le traitement des infections urinaires, en raison de sa longue demi-vie de 11 heures et de concentrations urinaires très élevées, capables d'inhiber la plus part des bactéries impliquées dans l'infection (**Veyssier, 1994**). Le Tmp/Smx a aussi très longtemps bénéficié d'indications systémique (respiratoires, digestives). Il est administrable par voie orale ou intraveineuse, mais présente des effets indésirables attribués principalement aux sulfamides (troubles digestifs, allergiques, toxicité hématologique et cas de syndrome de Lyell). Mais il reste préconisé dans le traitement des infections urinaires (**Veyssier, 1994**) ou en prophylaxie dans les infections urinaires récidivantes. (**Pilly, 2000**).

### **Nitrofurantoïne**

Ce dérivé semi-synthétique des nitrofuranes, sur le marché a pour seule indication l'infection urinaire. La fréquence de nausée associée à la formulation cristalline (Furadantine) a conduit à proposer d'autres formulations (Microdoïne) pour une meilleure tolérance. Son mode d'action antibactérien est original : des réductases bactériennes réduisent la nitrofurantoïne en

métabolites réactifs qui inactivent chez la bactérie, l'ADN, l'ARN, les enzymes de synthèse protéique et des enzymes inductibles ( $\beta$ -galactosidase et galactokinase).

Le spectre du produit inclut les bacilles à Gram négatif de la famille des entéro-bactéries, et des Gram positifs tels que *Enterococcus faecalis* et *Staphylococcus saprophyticus*

*P. aeruginosa*, mais il est inactif sur sa pharmacodynamie est originale et sa pharmacocinétique intéressante: apparition rapide du Cmax 2 à 3heures après l'absorption et concentrations urinaires maximales de 50 à 150mg/l, capables d'éradiquer *Escherichia coli* ayant des CMI de 8 ou 16 mg/l.

Après des années d'utilisation, le produit reste de prescription limitée (**Stein et Havlichek, 2005**). Préconisé dans le traitement préventif des cystites récidivantes. Sa place a été réduite en raison de ses effets indésirables (digestifs, manifestations neurologiques, nombreuses interactions médicamenteuses) (**Caron et Humbert, 1994**). L'arrivée sur le marché de nouveaux produits ayant la même indication a contribué à son recul.

### **Fosfomycine et fosfomycine trométamol**

#### **Fosfomycine**

La fosfomycine est un produit « naturel » isolé de *Streptomyces fradiae* et *Streptomyces viridochromogenes*, connu depuis 1969 et identifié quant à sa nature et son mode d'action antibactérien dès 1974 (**Ferrari et al, 1981**).

Son spectre comprend de nombreuses bactéries à Gram positif et à Gram négatif.

Ses propriétés de structure (très petite molécule de PM 138,06 rapidement diffusible) et son mode d'action bactéricide par blocage d'un stade précoce de synthèse de la paroi bactérienne ont conduit à son développement et à son utilisation clinique. Le développement très rapide de mutations vers la résistance en cours de traitement lorsque la fosfomycine est utilisée seule en systémique, impose son emploi obligatoire en association avec un aminoside ou une  $\beta$ -lactamine ; sa présentation en sel de sodium ou de calcium limite son absorption et sa biodisponibilité en raison de sa relative insolubilité par voie orale, imposant son administration par voie parentérale.

#### **Fosfomycine trométamol**

Un sel de fosfomycine hautement soluble, la fosfomycine trométamol (Monuri, Uridoz® adulte 3g) permet son absorption orale rapide et une biodisponibilité améliorée : les études expérimentales ont été orientées dans les années 1977-80 vers les infections urinaires pour la formulation «trométa-mol ». En faveur de cette orientation, son élimination presque

exclusivement urinaire sous forme active, des taux d'élimination urinaire atteignant 85% de la dose administrée (1000 à 2 000mg/l) et persistant à des taux actifs pendant 36 à 48 heures.

Son spectre est adapté aux bactéries agents d'infections urinaires (entérobactéries dont *E. coli*, *Proteus spp*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia spp*), ainsi que entérocoques et staphylocoques) (Lerner SA, et al, 1988). Réservé strictement aux infections urinaires basses non compliquées, ce produit est utilisé en monodose (1/jour) dans le traitement des cystites aiguës non compliquées de la femme de moins de 65 ans.

Les niveaux d'éradication bactériologique observés avec la fosfomycine trométamol en traitement monodose sont parfois jugés insuffisants par rapport à d'autres molécules ou à des durées de traitements plus longues (**Hooton, 2003**).

### **Quinolones et fluoroquinolones**

Il s'agit de la famille d'antibiotiques qui a connu le plus fort développement depuis le début des années 1980.

#### **Quinolones**

Parmi ces agents antibactériens de synthèse des années 1960, le premier utilisé fut l'acide nalidixique (Negram): ses indications étaient strictement urinaires, ultérieurement systémiques, fondées sur l'excellente activité du produit sur les bactéries à Gram négatif (**Domart et Fantin, 1994**). Son spectre et son élimination urinaire à taux élevé sont longtemps désigné Negram® comme produit de référence dans l'infection urinaire. Quelques produits dérivés (acide oxolinique, acide pipémidique, fluméquine) ont bénéficié des mêmes indications.

#### **Fluoroquinolones**

Plus récentes, les fluoroquinolones sont toutes porteuses sur le noyau commun

D'un ou 2 atomes de fluor : la péfloxacin (Péflacine®) (1985), l'ofloxacin (Oflocet®) (1987), la ciprofloxacine (Ciflox®) (1988) se sont avérées utilisables et efficaces dans le traitement d'infections systémiques, orientées majoritairement vers les infections à bactéries à Gram négatif, et d'activité plus limitée *in vitro* sur les bactéries à Gram positif.

La norfloxacine (Noroxine®) (1985) restait strictement réservée aux infections urinaires et a conservé cette place précise, alors que de nouveaux dérivés se succédaient à partir de 1988-90 : enoxacin (Enoxor), loméfloxacin (Logiflox®, Decalogiflox®), qui allaient rejoindre les mêmes indications que celles de la norfloxacine (**Domart et Fantin, 1994**). Par la suite, sparfloxacin, grépafloracin, lévofloxacin, moxifloxacin étaient développées avec un

objectif de spectre clairement orienté vers les bactéries à Gram positif, en réponse aux résistances croissantes des bactéries à Gram positif aux pénicillines et aux macrolides, antibiotiques classiques dans le traitement des infections à pneumocoques ou à d'autres bactéries à Gram positif.

### **I-7. L'antibiogramme.**

L'antibiogramme est un test tout à fait particulier en biologie clinique, car il ne s'adresse pas au corps humain mais à ces êtres vivants, en permanente évolution, que sont les bactéries, qui infectent le malade. L'antibiogramme est en effet au cœur de la complexe pathologie infectieuse. Il aide la prescription individuelle d'antibiotiques et constitue l'outil de mesure de la résistance bactérienne. Sa pratique et son interprétation font appel à de nombreuses connaissances : cliniques (les différentes localisations des infections), pharmaceutiques (les familles d'antibiotiques, les classes, les mécanismes d'action...), bactériologiques (les résistances naturelles et acquises des espèces bactériennes), biochimiques (les mécanismes de résistance), génétiques (la source de la résistance et sa diffusion)...

Il faut pratiquer des antibiogrammes parce que la sensibilité des bactéries n'est pas prévisible dans de nombreux cas, ce dont tiennent compte les autorisations de mise sur le marché d'antibiotiques avec les classes "modérément sensibles", et "inconstamment sensibles".

#### **L'antibiogramme en dix qualificatifs :**

-L'antibiogramme est un test de résistance. Lorsqu'il répond « R » c'est que la bactérie possède un mécanisme pouvant s'exprimer *in vivo*. Lorsqu'il répond « S », il y a toujours le risque qu'il n'ait pas détecté un mécanisme faiblement exprimé.

-L'antibiogramme est un test de prédiction. Il doit prédire le succès/ l'échec clinique. Ce n'est pas la mesure d'une concentration comme beaucoup de tests biologiques. Il teste un germe vivant pour conseiller/déconseiller les antibiotiques, mais le résultat, la référence seront cliniques.

- L'antibiogramme est un test de croissance. Il repose sur l'inhibition d'une croissance optimale par les différents antibiotiques testés. C'est le seul test usuel qui montre l'action antibiotique.

- L'antibiogramme est un test totalement artificiel.

Les bactéries sont cultivées dans un milieu dont les composants ne sont pas tous chimiquement définis et dans des conditions de croissance— température, humidité, pH, concentration protéique — différentes de celles du lieu de l'infection. La concentration des

antibiotiques *in vitro* est constante, ce qui n'est évidemment pas le cas dans le corps humain. La qualité principale de l'antibiogramme est sa standardisation qui permet la comparaison des résultats.

- L'antibiogramme est un test complexe : il concerne plus de cent espèces bactériennes, environ 70 antibiotiques et recherche environ 80 mécanismes de résistance.

- L'antibiogramme est un test à interprétation obligatoire. Le résultat de l'inhibition de croissance est transformé pour la réponse au clinicien en catégories S-I-R par comparaison aux concentrations critiques des comités d'expert. L'accumulation remarquable des connaissances scientifiques a permis une amélioration considérable de l'interprétation.

- L'antibiogramme est un test évolutif. Test initialement simple, après l'introduction thérapeutique des antibiotiques, il s'est complexifié dans sa réalisation et surtout dans son interprétation. Chaque année les comités d'expert mettent à jour leurs recommandations pour de nouveaux antibiotiques,

De nouveaux mécanismes de résistance ou encore de nouvelles techniques de détection.

- L'antibiogramme est donc un test paradoxal en ce sens qu'il peut être envisagé et réalisé de façon très simple — quelques disques sur une boîte de gélose donnant une liste de « S » et de « R » — ou très évoluée, dans sa réalisation (automates) et surtout son interprétation recourant à l'expertise d'un spécialiste ou à l'aide d'un système expert.

- L'antibiogramme est un test à impact variable. Il peut confirmer le choix

Initial ou amener un changement thérapeutique: si l'antibiotique utilisé est répondeur inactif, ou si un autre antibiotique est plus facile à utiliser ou moins risqué.

La décision de changement est prise par le clinicien en accord avec d'autres «acteurs » (microbiologistes, pharmacologues) et se basant sur plusieurs autres données. Dans certains contextes — réanimation — l'antibiothérapie initiale est provisoire (empirique) et la décision thérapeutique prise au vu de l'antibiogramme.

- L'antibiogramme est un test à plusieurs destinataires. Le clinicien qui a demandé l'examen pour son malade. L'épidémiologiste qui décidera des mesures d'isolement du patient si la bactérie présente un mécanisme de résistance à diffusion épidémique tel que  $\beta$ lactamase à spectre étendu (BLSE) ou se révèle être une bactérie multirésistante.

(BMR). Le pharmacien qui assure la gestion des antibiotiques. L'institution (comité de lutte contre l'infection, comité d'antibiotiques, chefs de service..) qui reçoit des statistiques périodiques des résistances bactérienne. Les organismes qui recensent les statistiques et publient les résultats de cette surveillance.

### **I-8. Résistance aux antibiotiques.**

#### **I-8. Mécanismes acquis de résistance aux antibiotiques**

Il est nécessaire de différencier les résistances intrinsèques et les résistances acquises aux antibiotiques. Les résistances intrinsèques sont communes à toutes les bactéries d'une espèce. Ces résistances ne sont pas transférables puisqu'elles sont la plupart du temps liées au chromosome bactérien et impliquées dans des processus physiologiques de la bactérie. Les bactéries du genre *Mycoplasma*, dépourvues de paroi bactérienne, sont par exemple naturellement résistantes aux  $\beta$ -lactamines puisque ces antibiotiques inhibent la synthèse de la paroi bactérienne. Les bactéries à Gram négatif possèdent, quant à elles, une membrane externe qui protège la paroi bactérienne. Cette membrane étant peu perméable, les molécules de grosses tailles comme les glycopeptides ont des difficultés à la traverser et donc à atteindre leurs cible.

#### **a) Diminution de la concentration en antibiotique :**

Afin de diminuer l'effet toxique des antibiotiques, un des mécanismes de défense de la bactérie consiste à diminuer la concentration de la molécule dans la cellule à des niveaux subtoxiques. Pour cela, les bactéries sont capables de modifier la perméabilité de leur membrane externe pour limiter l'entrée des molécules toxiques et elles disposent également de pompes qui permettent d'expulser ces molécules en dehors de la cellule. La perméabilité de la membrane externe, formée par une bicouche lipidique, dépend principalement du lipopolysaccharide (LPS) principal constituant de la face externe de la bicouche, et des porines, qui sont des protéines formant des canaux à travers la membrane externe, permettent la diffusion des petites molécules hydrophiles comme les  $\beta$ -lactamines alors que les antibiotiques hydrophobes comme les aminosides ou les macrolides se servent du LPS pour entrer dans la cellule. D'autres comme les tétracyclines et les quinolones utilisent les deux systèmes  $\text{Na}^{2+}$  ou  $\text{Ca}^{2+}$  qui neutralisent partiellement les charges négatives portées par le LPS et stabilisent la membrane. Toutefois, les aminosides, comme d'autres molécules polycationiques, sont capables de prendre la place des cations pour favoriser leur propre diffusion à travers la membrane, ainsi que celle d'autres antibiotiques hydrophobes.

Les bactéries sont capables de modifier leur membrane externe pour limiter l'accès des antibiotiques aux autres compartiments cellulaires. Des modifications dans la nature du LPS peuvent entraîner une diminution de leur charge négative. Ainsi, les molécules de LPS se repoussent moins et constituent une couche plus compacte et donc plus imperméable aux antibiotiques hydrophobes 2<sup>ème</sup> génération. Les systèmes d'efflux peuvent être spécifiques à

certaines antibiotiques comme ceux du chloramphénicol ou des tétracyclines, mais ils peuvent aussi être multi-drogues lorsqu'ils sont capables de prendre en charge un large spectre de substrats tels que, différentes familles d'antibiotiques, mais aussi des détergents, des solvants et autres substances toxiques pour la cellule +ou d'ions sodium  $\text{Na}^+$  (**Kumar et Schweizer, 2005**). Les systèmes d'efflux sont retrouvés aussi bien chez les bactéries Gram positif que chez les bactéries Gram négatif, cependant, ils sont plus élaborés chez ces dernières du fait de la plus grande complexité de leur enveloppe cellulaire (**Poole, 2004**). Parmi les pompes de la famille RND, les systèmes AcrAB-TolC d'*E.coli* et MexABOprM de *P.aeruginosa* sont parmi les plus étudiés. Ils sont tout deux constitués de protéines enchâssées dans la membrane cytoplasmique les deux protéines membranaires (**Blair et Piddock, 2009**). Ces transporteurs multi-drogues sont responsables de résistances intrinsèques à diverses familles d'antibiotiques comme les tétracyclines, les phénicolés, les  $\beta$ -lactamines ou les fluoroquinolones. Toutefois, ces résistances atteignent rarement des niveaux cliniquement significatifs. Pour cela, la pompe doit être surexprimée, les niveaux de résistance peuvent être alors très élevés et aboutissent à des phénotypes de multi-résistance.

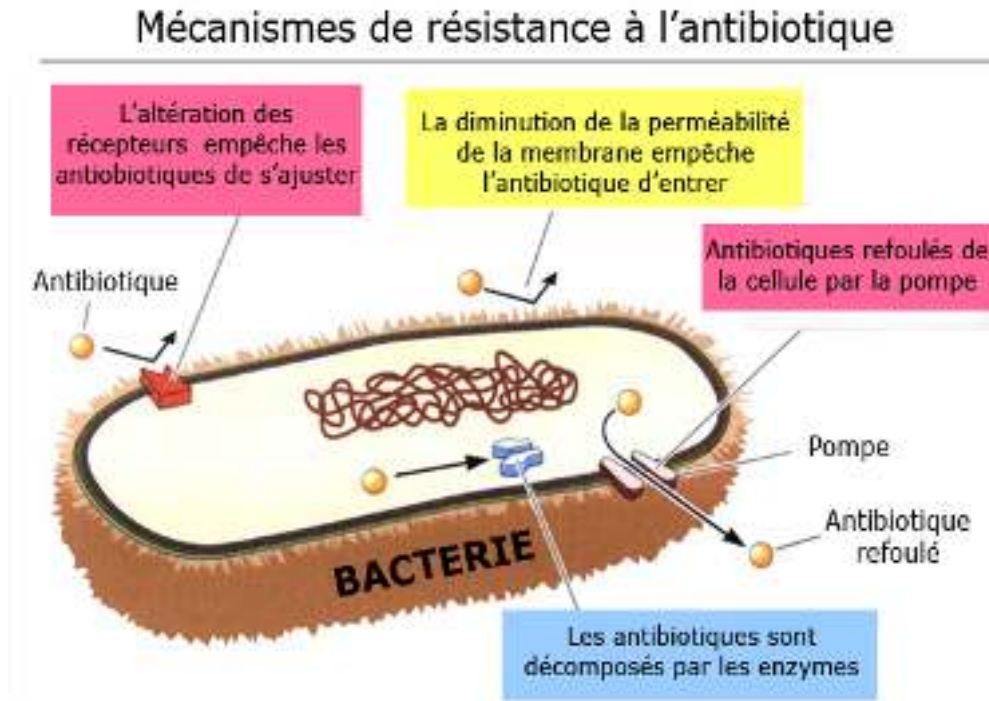
### **b) Modification de la cible :**

Outre la diminution de la concentration en antibiotique dans la cellule, une autre stratégie développée par les bactéries consiste à modifier ou protéger la cible des antibiotiques pour éviter leur action toxique. La modification de la cible est le mécanisme majeur de résistance aux quinolones. Ces antibiotiques ont pour cible l'ADN gyrase et la topoisomérase IV qui participent à la réplication de l'ADN. Ces deux enzymes sont composées de deux sous-unités, GyrA et GyrB pour l'ADN gyrase, et ParC et ParE pour la topoisomérase IV. Des mutations dans les régions appelées QRDR (Quinolone Resistance Determining Region) des sous-unités GyrA et ParC principalement, sont à l'origine de la résistance aux quinolones (**Piddock, 1999**). Ces mutations aboutissent à des changements d'acides aminés qui, lorsqu'ils s'accumulent au sein d'un même organisme, provoquent un fort niveau de résistance aux quinolones. Les fluoroquinolones peuvent également être touchées par ce mécanisme de résistance lorsque plusieurs mutations s'accumulent dans ces gènes. Cependant, les isolats les plus résistants associent accumulation des mutations et système d'efflux pour obtenir un haut niveau de résistance aux fluoroquinolones. Toutefois, ces résistances qui sont dues à des mutations de la cible de l'antibiotique sont rarement transférables et il est très improbable que plusieurs mutations surviennent simultanément dans la même cellule pour donner un phénotype de résistance. Un autre mécanisme de résistance aux quinolones, dû à un groupe de gènes appelé *qnr* qui permet d'obtenir une diminution de la sensibilité aux fluoroquinolones

(Martinez-Martinez et al, 1998). Cette baisse de sensibilité serait alors suffisante pour permettre à la bactérie de subir les différentes mutations dans les régions QRDR nécessaires pour résister à des concentrations thérapeutiques. Le mécanisme d'action du produit des gènes qnr est mal connu, mais ils permettraient de protéger l'ADN gyrase et la topoisomérase de l'action de ces molécules (Strahilevitz et al., 2009). Ces gènes sont la plupart du temps portés par des plasmides, offrant donc aux bactéries, un moyen de résistance aux quinolones transférable par conjugaison (Gunell et al., 2009). Plus récemment, un autre mécanisme transférable entre bactéries, basé sur l'inactivation enzymatique des fluoroquinolones, a également été mis en évidence. Il fait intervenir une enzyme, codée par le gène aac (6')-Ib, dont la fonction connue était l'inactivation des aminosides mais pour laquelle, le spectre de substrat semble s'être étendu aux fluoroquinolones (Robicsek et al., 2006).

La modification de la cible est à l'origine de résistances à d'autres familles d'antibiotiques, notamment les sulfamides, le triméthoprim et les glycopeptides. Pour les deux premiers, des mutations dans l'ADN codant les cibles de ces molécules, la dihydroptéroate synthétase pour les sulfamides et la dihydrofolate réductase pour le triméthoprim, ont permis l'apparition de variant de ces cibles insensibles à l'action de ces deux antibiotiques (Alekhun et Levy, 2007). En ce qui concerne la résistance aux glycopeptides comme la vancomycine, c'est une ligase qui intervient dans la formation du peptidoglycane, cible de ces antibiotiques, qui a une action un peu différente chez les bactéries résistantes. Le produit de sa réaction entraîne une modification du peptidoglycane qui a pour conséquence une diminution de l'affinité de la vancomycine pour sa cible. D'autres mécanismes de résistances font appel à des enzymes qui modifient la cible de l'antibiotique. C'est le cas de la résistance aux macrolides, lincosamides et streptogramines B qui agissent sur la sous-unité 23S du ribosome. Des ARN méthylases sont capables de modifier l'ARN ribosomal conférant ainsi une résistance croisée à ces antibiotiques (Alekhun & Levy, 2007). Ces résistances qui sont dues à l'activité d'une enzyme sur la cible de l'antibiotique sont potentiellement transférables comme cela a été montré pour la résistance à la vancomycine, dont le gène responsable peut être véhiculé par un plasmide conjugatif. (Weigel et al., 2003).





**Figure 2 :** Mécanismes de résistance aux antibiotiques. (Bush et Jacoby, 2010)

### c) Inactivation enzymatique de l'antibiotique

Le dernier mécanisme majeur de résistance utilisé par les bactéries est l'inactivation de l'antibiotique par des enzymes. Les familles d'antibiotiques touchées par ce mécanisme sont très variées : il concerne une dizaine de familles d'antibiotiques dont les  $\beta$ -lactamines, les aminosides et les phénicolés. Ces enzymes ont généralement des spectres limités à une famille d'antibiotique voir seulement à certaines molécules d'une famille. Elles agissent soit en détruisant la molécule, soit en la rendant non fonctionnelle par ajout de groupements chimiques (Wright, 2005). En ce qui concerne les aminosides, il existe de nombreuses enzymes qui modifient ces molécules pour les rendre inefficaces. Ces enzymes sont regroupées en trois classes selon le radical qu'elles ajoutent à l'antibiotique. Les N acétyltransférases, les O-nucléotidyltransférases. Les phénicolés, notamment le chloramphénicol, sont également inactivés par des enzymes. Les Chloramphénicol Acétyl Transférases sont les principales responsables de la résistance au chloramphénicol. Elles agissent en acétylant des groupements hydroxyl empêchant ainsi le chloramphénicol d'inhiber la synthèse protéique. Le florfenicol qui possède un atome de fluor sur un des carbones-cibles de la CAT est insensible à son action. Il existe deux types de CAT, qui diffèrent par leur séquence et par leur structure, et qui ne semblent donc pas reliées entre elles (Wright, 2005). Enfin le dernier exemple de résistance par inactivation enzymatique de la molécule concerne les  $\beta$ -lactamines. Il s'agit du principal mécanisme de résistance contre cette famille

d'antibiotiques. En effet, des centaines de  $\beta$ -lactamases ont été identifiées depuis la première, mise en évidence peu après l'introduction de la pénicilline (**Bush et Jacoby, 2010**). Leur spectre d'activité est variable, les  $\beta$ -lactamines étant une famille d'antibiotiques très diversifiée comprenant différentes classes de molécules. Certaines  $\beta$ -lactamases confèrent une résistance à seulement une classe d'antibiotiques (enzyme PC1 contre les pénicillines). Alors que d'autres comme les BLSE, permettent de résister à plusieurs classes de  $\beta$ -lactamines comme les céphalosporines et les pénicillines. Des inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases comme l'acide clavulanique ont été développés pour augmenter le spectre d'action d'un antibiotique en empêchant la dégradation de celui-ci par la  $\beta$ -lactamase. Cependant, il existe des enzymes insensibles à leur action comme CMY-2 (**Bush et Jacoby, 2010**). La dernière  $\beta$ -lactamase mise en évidence codée par le gène bla NDM-1, permet de résister à quasiment toutes les  $\beta$ -lactamines, excepté à l'aztréonam (monobactame). Cependant, il est souvent associé à d'autres gènes de résistance dont les produits permettent d'inhiber l'action de l'aztréonam, mais aussi de conférer une résistance à beaucoup d'autres familles d'antibiotiques (**Moellering, 2010**). A l'instar de ce gène, bla NDM-1, retrouvé sur un plasmide chez plusieurs genres d'entérobactéries (**Kumarasamy et al., 2010**), a plupart des résistances causées par une inactivation enzymatique sont portées sur des éléments génétiques mobiles, et donc potentiellement transférables entre bactéries (**Alekshun & Levy, 2007**).

### I-9. Evolution des Résistances

Il est admis par tous que l'utilisation des antibiotiques expose au risque collectif de sélection de souches bactériennes résistantes et de facilitation de leur diffusion dans la collectivité. De nombreux travaux ont étudié et quantifié le lien entre consommation d'antibiotiques et résistance, tant au niveau individuel que collectif. La relation est complexe, dépendant de nombreux facteurs liés à l'hôte et son environnement, au microorganisme, au médicament anti-infectieux. Cette corrélation dépendante également du couple bactérie-antibiotique étudié, et d'un ensemble d'autres facteurs : consommation d'autres familles d'ATB, influence du temps d'observation et de la répétition des mesures (méthode des séries temporelles), de la pression de colonisation et respect des règles d'hygiène (**Bonten et al, 2001; Madaras-Kelly, 2003; Muller et al, 2003 ; Monnet et al, 2004;**). Globalement, au niveau d'une collectivité, une consommation élevée d'antibiotiques est associée à une plus grande fréquence de résistance bactérienne. L'augmentation de la fréquence des résistances bactériennes serait d'autant plus importante que la pression écologique exercée par les ATB

est grande à l'échelle d'une population donnée (**Minooee, Rickman, 2000; Goossens, 2009**). La crainte de la diffusion des bactéries multirésistantes (BMR) aux ATB peut conduire au traitement inadéquat de patients porteurs, colonisés et non infectés, dont l'effet pervers est l'augmentation de la pression de sélection (**Mattner et al 2010**).

L'apparition de résistance oblige à recourir à des ATB autres que ceux qui sont utilisés habituellement. Il s'agit généralement d'antibiotiques de spectre plus large, exposant eux aussi à l'émergence de souches résistantes (**Cuzon et al, 2010**). Les infections à BMR sont, de plus, à l'origine d'une morbi-mortalité et d'un coût de prise en charge importants (**Cosgrove, 2006 ; Giske, & al, 2008; Roberts et al, 2009**).

Les effets indésirables collectifs sont plus complexes à prendre en compte par les médecins qui envisagent le rapport bénéfice/risque individuel pour le patient soigné.

Ce problème de santé publique a justifié la mobilisation internationale. Ainsi, les conséquences pour la collectivité d'un usage excessif et/ou inapproprié des ATB sont : la survenue d'effets indésirables qui aurait pu être évitée, un coût injustifié (**Montravers, 2000**) une modification de l'écologie laissant émerger des espèces bactériennes résistantes posant des difficultés thérapeutiques. Un autre risque, peu exploré à ce jour, est le risque écologique : de nombreux ATB sont éliminés sous une forme encore active, qui peut persister longtemps dans l'environnement après leur excrétion, contribuant au problème posé par le rejet de quantités importantes de substances médicamenteuses actives. Ces rejets pourraient jouer un rôle dans la résistance observée chez des bactéries isolées de l'environnement et ces bactéries résistantes pourraient contribuer à la diffusion des résistances aux antibiotiques en pathologie humaine,

L'ensemble de ces paramètres a engendré au cours des décennies l'apparition progressive de bactéries de plus en plus résistantes qui ont diffusé autour du globe. (**Montravers, 2000; Segura, et al, 2009; Xi et al, 2009 ; Simões et al, 2010**).

### INTRODUCTION

L'infection urinaire a fait l'objet de nombreuses études du fait de sa fréquence et sa gravité étiologique ou évolutive, motivant des prescriptions d'antibiotiques le plus souvent sans savoir le germe causal ni son profil vis-à-vis aux antibiotiques. **(Lobel, 1995)**.

Le terme infection urinaire regroupe un ensemble hétérogène d'infection de l'un des constituants de tractus urinaire ou de ses annexes.

Dès les années 1940, les chercheurs ont identifié des bactéries résistantes aux antibiotiques **(Randall et al, 2003)** mais comme il y'avait des découvertes régulières de nouveaux antibiotiques, l'antibiorésistance n'a pas, dans ce premier temps, attiré l'attention des praticiens ou de l'industrie pharmaceutique **(Stephen et Palumbi, 2001)**. C'est à la fin du XXe siècle, que le signal d'alarme se déclenchait par le fait que les impacts de l'usage excessif d'antibiotiques, aggravés par la rareté des nouveaux médicaments inventés, pouvaient induire un risque de crise sanitaire mondiale à moyen ou long terme pour certaines maladies infectieuses **(Randall et al, 2003)**. La tenue rigoureuse de statistiques locales constamment remises à jour est indispensable pour établir les protocoles de traitement probabiliste. Et estimer la prévalence de l'antibiorésistance des souches bactériennes responsables des infections urinaires dans cette ville.

Une meilleure connaissance de l'épidémiologie permettra d'améliorer la prise en charge thérapeutique des patients tout en réduisant la prescription d'antibiotiques à large spectre, cela ne pourra se faire qu'au prix d'une meilleure surveillance régulière **(Grunde et al, 2001)**

Notre étude faite au laboratoire de l'établissement public hospitalier de Boufarik consiste à faire l'examen cyto bactériologiques des urines de patients hospitalisés et non hospitalisés et comparer les résultats obtenus avec des résultats obtenus dans le même laboratoire sur une même durée (étude rétrospective) et d'en déduire l'évolution, dans le temps, de la résistance des bactéries responsables d'infections urinaires aux antibiotiques.

## Références bibliographiques

---

**Alekshun, M. N. & S. B. Levy**, Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. 2007. *Cell* 128: 1037-1050.

**Alvarez C., Pangon B., ALLOUCH P-Y & Ghnassia J-C.** « Infections urinaires: Principaux aspects épidémiologiques, bactériologiques et cliniques ». 1992 p15.

**Bernard J., Alain R** « Entérobactéries: systématique et méthode de diagnostic » 2003 p 9-31.

**Blair, J. M. & Piddock L. J.** Structure, function and inhibition of RND efflux pumps in Gram-negative bacteria: an update. *Current Opinion in Microbiology*, 2009. 12: 512-519.

**Bonten MJ, Austin DJ, Lipsitch M.** Understanding the spread of antibiotic resistant pathogens in hospitals: mathematical models as tools for control. *Clin Infect Dis* 2001 15; 33:1739-46.

**Boutiba L. Boubaker E.N. Ghozzi R. Jouahia W. Mahdjoubi F. Thabet L.** Résistances bactériennes aux antibiotiques en Tunisie : Données de 1999 à 2003. *Rev Tun Infectiol* 2007 ; 1(4) :5-11.

**Bush & D. C. Hooper**, Fluoroquinolone-modifying enzyme: a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase. 2006. *Nature Medicine* 12: 83-88.

**Bush, K. & G. A. Jacoby**, 2010 Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 54: 969-976.

**Bruyere F., Cariou G., Boiteux J.P, Hoznek A., Mignard J.P, Escaravage L., Bernard L., Sotto A., Soussy S.J., Coloby P.** et le CIAFU. Recommandation du comité d'infectiologie de l'AFU. Pyélonéphrites aiguës. *Prog Urol*, 2008, 18, suppl 1, p.14-18

**Caron F, Humbert G.** Aminoglycosides. In "Médicaments anti infectieux", Claude Carbon, Bernard Régnier, Gérard Saimot *et al*, Flammarion, *Médecine Sciences* 1994 : 103-21.

**Caron F.** Bases pharmacologiques de l'antibiothérapie d'une infection urinaire (1<sup>ère</sup> partie). *Antibiotiques* 1999; 1: 27-35.

**Caron F.**, Diagnostic bactériologique et antibiothérapie des infections urinaires. *Rev prat.* 2003; 53: 1760-9.

**Chaudhary U., M. Doumith, C. G. Giske, S. Irfan, P. Krishnan, A. V. Kumar, S. Maharjan, S. Mushtaq, T. Noorie, D. L. Paterson, A. Pearson, C. Perry, R. Pike, B. Rao, U. Ray, J. B. Sarma, M. Sharma, E. Sheridan, M. A. Thirunarayan, J. Turton, S. Upadhyay, M. Warner, W. Welfare, D. M. Livermore & N. Woodford.** Emergence of a

## Références bibliographiques

---

new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *The Lancet Infectious Diseases* 2010; 10(9) :597-602.

**Cosgrove SE.** The relationship between antimicrobial resistance and patient outcomes: mortality, length of hospital stay, and health care costs. *Clin Infect Dis* 2006 15; 42:S82-9.

**Cuzon G, Naas T, Guibert M, Nordmann P.** In vivo selection of imipenem resistant *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum beta-lactamase CTX-M-15 and plasmid-encoded DHA-1 cephalosporinase. *Int J Antimicrob Agents* 2010; 35:265-8.

**Das R.N., Chandrashekar T.S., Joshi H.S., Gurung M., Shrestha N., Shivananda P.G.** Frequency and susceptibility profile of pathogens causing urinary tract infections at a tertiary care hospital in Western Nepal. *Singapore Med J* 2006;47(4):281–5.

**De moüy D, Cavallo JD** et des Membres de l'AFORCOPI-BIO. Infections urinaires en pratique de ville : étiologies et sensibilité aux antibiotiques en fonction des antécédents. *Presse Med* 1999 ; **28** : 1624-8.

**Fantin B ; Domart Y.** Quinolones. In « Médicaments anti-infectieux » Claude Carbon, Bernard Régnier, Gérard Saimot, JeanLouis Vildé, Patrick Yeni, Médecine Sciences, Flammarion, 1994 : 123-45.

**Faucher J-L. et Avril J-L.,** Bactériologie générale et médicale, édition Ellipse, 2002 p 365.

**Ferrari V, Bonanomi L, Borgia M, et al.** A new fosfomycin derivative with much improved availability by oral route. *Chemio-ther Antimicrob* 1981; 4: 59-63.

**Gaudy C** Antibiotiques : pharmacologie et thérapeutiques. Elsevier.2005 Amesterdam. 269 p.

**Giske CG, Monnet DL, Cars O, Carmeli Y;** ReAct-Action on Antibiotic

Resistance. Clinical and economic impact of common multidrug-resistant gramnegative bacilli. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008; 52:813-21.

**Goossens H.** Antibiotic consumption and link to resistance. *Clin Microbiol Infect* 2009; 15 Suppl 3:12-5.

**Gunell, M., M. A. Webber, P. Kotilainen, A. J. Lilly, J. M. Caddick, J. Jalava, P. Huovinen, A. Siitonen, A. J. Hakanen & L. J. Piddock,** Mechanisms of resistance in nontyphoidal *Salmonella enterica* strains exhibiting a nonclassical quinolone resistance phenotype. 2009. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 53: 3832-3836.

**HANNEDOUCHE T** Infections urinaires généralités. [En ligne] in Nephrohus learning.

Disponible sur: <http://www.nephrohus.org/s/spip.php?article55>

## Références bibliographiques

---

**Havlichek DH. Tein GE** Nitrofurantoin in « Antimicrobial therapy and vaccines. Volume II, 2d Édition : Antimicrobial Agents.» Victor L. Yu, G Edwards, P. McKinnon, C.Peloquin, GD. Morse Editors, Esun Technologies LLC, Pittsburg 2005 : 305-8.

**Hooton TM.** The current management strategies for community acquired urinary tract infection. *Infect Dis Clin N Am* 2003 ; 17 : 303-32.

**Huovinen, A. Siitonen, A. J. Hakanen & L. J. Piddock,** 2009 Mechanisms of resistance in nontyphoidal *Salmonella enterica* strains exhibiting a nonclassical quinolone resistance phenotype. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 53: 3832-3836.

**F, Kolonay, J. Shetty, G. E. Killgore & F. C. Tenover:** Genetic analysis of a high-level vancomycin-resistant isolate of *Staphylococcus aureus*, 2003. *Science* 302: 1569-1571.

**Jones R.N., Kugler K.C., Pfaller M.A., Winokur P.L.** Characteristics of pathogens causing urinary tract infections in hospitals in North America: results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999;35:55–63.

**Kumar, A. & H. P. Schweizer****Bacterial:** Resistance to antibiotics: active efflux and reduced uptake, (2005). *Advanced Drug Delivery Review* 57: 1486-1513.*Advanced Drug Delivery Review* 57: 1486-1513.

**Kumarasamy, K. K., M. A. Toleman, T. R. Walsh, J. Bagaria, F. Butt, R. Balakrishnan,** **Recommandations et Références Médicales,** le Concours Médical, 30/11/1996, Supplément du n°40, pp 4-5.

**Larabi K., Mesmoudi A., Fendri C.** Médecine et maladies infectieuses édition : Elsevier

**Lobel B. :** Traitement de la cystite chez la femme., 1995; *Presse Med.* 24: 1527-9.  
(Tunis), 2003 : 348-354p

**Loup J., Denis F. Montail H.;** *Bactériologie Clinique*, 3eme édition Paris: Ellipses, 2000 : p532-3.

**Madaras-Kelly K.** Optimizing antibiotic use in hospitals: the role of populationbased antibiotic surveillance in limiting antibiotic resistance. *Insights from the society of infectious diseases pharmacists. Pharmacotherapy* 2003; 23:1627-33.

**Martinez-Martinez, L., A. Pascual & G. A. Jacoby:** Quinolone resistance from a transferable plasmid, 1998. *Lancet* 351: 797-799.

**Mattner F, Biertz F, Ziesing S, Gastmeier P, Chaberny IF.** Long-term persistence of MRSA in re-admitted patients. *Infection.* 2010 Oct;38(5):363-71.

## Références bibliographiques

---

- Minooee A, Rickman LS.** Expanding the role of the infection control professional in the cost-effective use of antibiotics. *Am J Infect Control* 2000; 28: 57-65.
- Monnet D.L., MacKenzie F.M., Lopez-Lozano J.M., Beyaert A., Camacho M., Wilson R., Stuart D., Gould I.M.** Antimicrobial drug use and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Aberdeen, 1996-2000. *Emerg Infect Dis* 2004; 10:143241.
- Moellering, R. C., Jr.,** 2010 NDM-1--a cause for worldwide concern. *New England Journal of Medicine* 363: 2377-2379.
- Montravers P.** Impact économique des « mauvaises prescriptions ». *Ann Fr Anesth Reanim* 2000; 19: 388-94.
- Muller A, Thouverez M, Talon D, Bertrand X.** Contribution de la pression de sélection antibiotique dans l'acquisition de *Staphylococcus aureus* résistant à la **Nauciel C.,** *Bactériologie médicale*, édition Masson (Paris) 2000 : 276p.
- Piddock, L. J:** Mechanisms of fluoroquinolone resistance: an update 1994-1998. *Drugs* 58 Suppl 2, 1999: 11-18.
- Pilly E.** *Maladies Infectieuses et Tropicales. Nouvelle Édition adaptée à la Réforme des Études Médicales* 2000. CMIT : infections urinaires, 287-91.
- Pilly E.,** *Maladies infectieuses et tropicale. 19eme édition : CMIT, 2004 ; 651p.*
- Poole, K.** Efflux-mediated multiresistance in Gram-negative bacteria. *Clinical Microbiology and Infection* 10. 2004 : 12-26.
- RANDALL S, FINCH R, WEGENER H, WALTERS J, LIPSITCH M;** Antibiotic resistance—the interplay between antibiotic use in animals and human beings ; *The Lancet Infectious Diseases.*, January 2003, Vol 3, Issue 1, Pages 47-51.
- Roberts R.R., Hota B., Ahmad I., Scott R.D. 2nd, Foster S.D., Abbasi F., Schabowski S, Kampe LM, Ciavarella GG, Supino M, Naples J, Cordell R, Levy SB, Weinstein RA.** Hospital and societal costs of antimicrobial-resistant infections in a Chicago teaching hospital: implications for antibiotic stewardship. *Clin Infect Dis* 2009 15; 49:1175-84
- Robicsek, A., J. Strahilevitz, G. A. Jacoby, M. Macielag, D. Abbanat, C. H. Park, K. Weigel, L. M., D. B. Clewell, S. R. Gill, N. C. Clark, L. K. McDougal, S. E. Flannagan, J. Wright, G. D.** Bacterial resistance to antibiotics: enzymatic degradation and modification. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2005. 57: 1451-1470.
- Strahilevitz, J., G. A. Jacoby, D. C. Hooper & A. Robicsek:** Plasmid-mediated quinolone resistance: a multifaceted threat, 2009. *Clinical Microbiology Reviews* 22: 664-689.



## Références bibliographiques

---

**Segura PA, François M, Gagnon C, Sauvé S.** Review of the occurrence of antiinfectives Incontaminated wastewaters and natural and drinking waters. *Environ Health Perspect* 2009; 117:675.

**Simões RR, Poirel L, Da Costa PM, Nordmann P.** Seagulls and beaches as reservoirs for multidrug resistant *Escherichia coli*. *Emerg Infect Dis* 2010; 16:110-2.

**STEPHEN R. PALUMBI**, « Humans as the world's greatest evolutionary force », dans *Science.*, 2001, vol. 293, p. 1786-1790.

**Veyssier P.** Sulfamides et associations incluant un sulfamide. In “Médicaments antiinfectieux”, Claude Carbon, Bernard Régnier, Gérard Saimot *et al.*, *Médecine Sciences, Flammarion* 1994 : 177-92.

**Weber P.** Épidémiologie bactérienne des infections urinaires basses communautaires: état de la sensibilité des bactéries des infections urinaires en ville. In « Les Infections urinaires : question d'actualité » *Phase 5 Éditeur*, Éditions Médicales, 2002, pp 65-78.

**Wright, G. D.** Bacterial resistance to antibiotics: enzymatic degradation and modification. 2005. *Advanced Drug Delivery Reviews* 57: 1451-1470.

**Xi C, Zhang Y, Marrs CF, Ye W, Simon C, Foxman B, Nriagu J.** Prevalence of antibiotic resistance in drinking water treatment and distribution systems. *Appl Environ Microbiol* 2009; 75: 5714-8.

## Références bibliographiques

---

## Summary

The resistance to antibiotics represents a very problem of public health. To show the degree of resistance of bacterias causing urinary infection, we've done a study in the laboratory of Bacteriology at the public hospital in Boufarik. During a period of six months. (From January to June 2013). We received 720 tests, we've done a cyto-bactriologic to each one and 109 were positives.

*Escherchia coli* is the main germ causing urinary infection.

After comparing our results with the results obtained in 2011, we notice that there's a small difference to the resistance to antibiotics

**Key words:** *Escherichia coli*, urinary infections, resistance to antibiotics, cyto-bactriologic exam, bacteria causing infection urinary