

République du Mali

Un peuple - Un but - Une foi



UNIVERSITE DES SCIENCES, DES TECHNIQUES
ET DES TECHNOLOGIES DE BAMAKO
FACULTE DE PHARMACIE



Année universitaire 2017-2018

N° _____

THESE

EVALUATION DE LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES
SOUCHES BACTERIENNES ISOLEES DES URINES AU LABORATOIRE
DE BIOLOGIE MEDICALE DE L'HOPITAL DE SIKASSO

Présentée et soutenue publiquement le .../08/2018 devant la

Faculté de Pharmacie

Par M. Salifou OUATTARA

Pour obtenir le grade de Docteur en pharmacie

(DIPLOME D'ETAT)

JURY

Président du jury: Pr Flabou BOUGOUDOGO

Membres du jury : Dr Ibréhima GUINDO

Dr Mohamed Ag BARAIGA

Co-directeur de thèse: Dr Oumar KASSOGUE

Directeur de thèse : Pr Souleymane DIALLO

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DE PHARMACIE	I
DEDICACES	VI
REMERCIEMENTS.....	VIII
LISTE DES TABLEAUX	XXI
LISTE DES FIGURES.....	XXII
INTRODUCTION	4
OBJECTIFS.....	7
1. Objectif général	8
2. Objectifs spécifiques :	8
I. LES INFECTIONS URINAIRES.....	10
1. Définitions :	10
2. LES GERMES RESPONSABLES D'INFECTIONS URINAIRES.....	10
3. Porte d'entrée de l'infection urinaire.....	11
4. Mécanisme des infections urinaires (14, 15).....	12
5. SYMPTOMATOLOGIE DES INFECTIONS URINAIRES	14
II. LES ANTIBIOTIQUES.....	15
1. Définition :	15
2. Classification des antibiotiques	15
3. Mode d'action des antibiotiques.....	19
4. Résistance bactérienne aux antibiotiques	22
III. METHODE D'ETUDE DE LA SENSIBILITE :.....	29
1. Détermination des concentrations minimale inhibitrice (CMI).....	29
2. Antibiogramme.....	32
3. Techniques génotypiques de détection de la résistance.....	33
MATERIEL ET METHODES.....	35
1. Cadre de l'étude :	36
2. Type et période d'étude.....	39
3. Critères d'inclusion	39
4. Critères de non inclusion.....	39
5. Echantillonnage	40
6. Collecte des données	40
7. Matériel	40
8. Techniques de l'examen cyto bactériologique des urines (E.C.B.U).	41
RESULTATS	52
DISCUSSIONS	61
CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS.....	68

REFERENCESBIBLIOGRAPHIQUES	71
ANNEXES	80

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DE PHARMACIE 1'ANNEE UNIVERSITAIRE 2017-2018

ADMINISTRATION

DOYEN : M. Boubacar TRAORE, Professeur

VICE-DOYEN : M. Ababacar MAIGA, Professeur

SECRÉTAIRE PRINCIPAL : M. Seydou COULIBALY, Administrateur Civil

AGENT COMPTABLE : M. Famalé DIONSAN, Contrôleur des Finances

LES PROFESSEURS HONORAIRES

M. Boubacar Sidiki	CISSE	Toxicologie
M. Mahamadou	CISSE	Biologie
M. Kaourou	DOUCOURE	Physiologie
M. Daouda	DIALLO	Chimie Générale et Minérale
M. Boulkassoum	HAÏDARA	Législation
M. Gaoussou	KANOUTE	Chimie Analytique
M. Alou A.	KEÏTA	Galénique
M. Mamadou	KONE	Physiologie
M. Mamadou	KOUMARE	Pharmacognosie
M. Bréhima	KOUMARE	Bactériologie/Virologie
M. Abdourahamane S.	MAÏGA	Parasitologie
M. Elimane	MARIKO	Pharmacologie

DER : SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE

M. Mounirou	BABY	Hématologie
M. Bakary Mamadou	CISSE	Biochimie
M. Abdoulaye	DABO	Biologie/Parasitologie
M. Alassane	DICKO	Santé Publique
M. Amagana	DOLO	Parasitologie-Mycologie
M. Ousmane	KOITA	Biologie-Moléculaire
M. Boubacar	TRAORE	Parasitologie-Mycologie

1. MAITRES DE CONFÉRENCES/MAITRE DE RECHERCHE

M. Flabou	BOUGOUDOGO	Bactériologie-Virologie
M. Mahamadou	DIAKITE	Immunologie-Généraliste
M. Abdoulaye	DJIMDE	Parasitologie-Mycologie
M. Akory Ag	IKNANE	Santé Publique/Nutrition
M. Bourèma	KOURIBA	Immunologie, Chef de DER
M. Ousmane	TOURE	Santé Publique/ Santé environnement

2. MAITRES ASSISTANTS/CHARGE DE RECHERCHE

M. Mohamed	AG BARAIKA	Bactériologie-virologie
M. Charles	ARAMA	Immunologie
M. Boubacar Tiétiè	BISSAN	Biologie clinique
M. Seydina A. S.	DIAKITE	Immunologie
M. Djibril Mamadou	COULIBALY	Biochimie clinique
Mme Djénéba Koumba	DABITAO	Biologie moléculaire
M. Laurent	DEMBELE	Biotechnologie Microbiologie
M. Seydou Sassou	COULIBALY	Biochimie clinique
M. Aldjouma	GUINDO	Hématologie
M. Klétigui Casimir	DEMBELE	Biochimie clinique
M. Yaya	GOITA	Biochimie clinique
M. Ibrahéma	GUINDO	Bactériologie Virologie
Mme Aminatou	KONE	Biologie moléculaire
M. Birama Apho	LY	Santé publique
M. Dinkorma	OUOLOGUEM	Biologie cellulaire
M. Kassoum	KAYENTAO	Santé Publique/ Biostatistiques
M. Issaka	SAGARA	Santé Publique/ Biostatistiques
M. Simbo Adama	SANGARE	Bactériologie Virologie
Mme Fanta	SANGHO	Santé publique
M. Mahamadou S.	SISSOKO	Santé Publique/ Biostatistiques

3. ASSISTANTS/ATTACHES DE RECHERCHE

M Issa	DIARRA	Immunologie
M. Mamadou Lamine	DIARRA	Botanique-Biologie végétale
Mme Djénéba	COULIBALY	Nutrition/Diététique
Mme Fatou	DIAWARA	Épidémiologie
Mme Merepen dit Agnès	GUINDO	Immunologie
M. Oumar	GUINDO	Épidémiologie
M. Falaye	KEÏTA	Santé Public/Santé Environnement
Mme N'DeyeLallah Nina	KOÏTE	Nutrition
M. Yacouba	MAÏGA	Biostatistique
M. Amadou Birama	NIANGALY	Parasitologie-Mycologie
M. Oumar	SANGHO	Épidémiologie
M. Djakaridia	TRAORE	Hématologie

DER : SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEURS/DIRECTEUR DE RECHERCHE

M. Drissa	DIALLO	Pharmacognosie
M. Saïbou	MAÏGA	Législation
Mme Rokia	SANOGO	Pharmacognosie Chef de DER

2. MAITRES DE CONFÉRENCES/MAITRE DE RECHERCHE

Néant

3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGES DE RECHERCHE

M. Loséni	BENGALY	Pharmacie hospitalière
M. Moussa	SANOGO	Gestion
M. Yaya	COULIBALY	Législation
Mme Adiaratou	TOGOLA	Pharmacognosie
M. Issa	COULIBALY	Gestion
M. Balla Fatogoma	COULIBALY	Pharmacie Hospitalière
M. Souleymane	DAMA	Sciences Pharmaceutiques
M. Hama Boubacar	MAÏGA	Galénique
M. Moussa	SANOGO	Gestion

4. ASSISTANTS/ATTACHE DE RECHERCHE

M. Seydou Lahaye	COULIBALY	Gestion Pharmaceutique
M. Antoine	DARA	Sciences Pharmaceutiques
M. Daouda Lassine	DEMBELE	Pharmacognosie
M. Adama	DENOU	Pharmacognosie
M. Sékou	DOUMBIA	Pharmacognosie
M. Mahamane	HAÏDARA	Pharmacognosie
Mme Assitan	KALOGA	Législation
M. Ahmed	MAÏGA	Législation
Mme Aïchata Ben Adam	MARIKO	Galénique
M. Aboubacar	SANGHO	Législation
M. Bourama	TRAORE	Législation
M. Karim	TRAORE	Sciences Pharmaceutiques
M. Sylvestre	TRAORE	Gestion Pharmaceutique
Mme Aminata Tieba	TRAORE	Pharmacie Hospitalière
M. Mohamed dit Sarmoye	TRAORE	Pharmacie Hospitalière

DER : SCIENCES DU MÉDICAMENT

1. PROFESSEURS/DIRECTEUR DE RECHERCHE

M. Ousmane	DOUMBIA	Pharmacie Chimique
M. Benoit Yaranga	COUMARE	Chimie Analytique
M. Ababacar Ibrahim	MAÏGA	Toxicologie

2. MAITRES DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

M Sékou	BAH	Pharmacologie, Chef de DER
---------	-----	----------------------------

3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGE DE RECHERCHE

M. Dominique Patomo	ARAMA	Pharmacie Chimique
M. Mody	CISSE	Pharmacie Chimique
M. HamadounAbba	TOURE	Bromatologie

M. Tidiane DIALLO Toxicologie

4. ASSISTANTS/ATTACHE DE RECHERCHE

M. Mahamadou	BALLO	Pharmacologie
Mme Dalaye Bernadette	COULIBALY	Chimie Analytique
M. Blaise	DACKOOU	Chimie Analytique
Mme Fatoumata	DAOU	Pharmacologie
M. Ousmane	DEMBELE	Chimie Thérapeutique
M. Abdourahamane	DIARRA	Toxicologie Bromatologie
M. Aiguerou dit Abdoulaye	GUINDO	Pharmacologie
M. Madani	MARIKO	Chimie Analytique
M. Mohamed El béchir	NACO	Chimie Analytique
M. Mahamadou	TANDIA	Chimie Analytique
M. Dougoutigui	TANGARA	Chimie Analytique

DER : SCIENCES FONDAMENTALES

PROFESSEURS/DIRECTEUR DE RECHERCHE

M. Cheick F.	TRAORE	Biologie/Entomologie
M. Mouctar	DIALLO	Biologie Chef de DER
M. Mahamadou	TRAORE	Génétique

1. MAITRES DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

M. Lassana	DOUMBIA	Chimie Appliquée
------------	---------	------------------

2. MAITRES ASSISTANTS/CHARGE DE RECHERCHE

M. Abdoulaye	KANTE	Anatomie
M. Boureïma	KELLY	Physiologie Médicale

3. ASSISTANTS/ATTACHE DE RECHERCHE

M. Seydou Simba	DIAKITE	Chimie Organique
M. Modibo	DIALLO	Génétique
M. Moussa	KONE	Chimie Organique
M. Massiriba	KONE	Biologie Entomologie

CHARGES DE COURS (VACATAIRES)

M. Cheick Oumar	BAGAYOKO	Informatique
M. Babou	BA	Anatomie
M. Adourahamane	COULIBALY	Anthropologie Médicale
M. Souleymane	COULIBALY	Psychologie de la Santé
M. Bouba	DIARRA	Bactériologie
M. Modibo	DIARRA	Nutrition
M. Moussa I.	DIARRA	Biophysique
M. Babacar	DIOP	Chimie
M. Atimé	DIMDE	Bromatologie
M. Yaya	KANE	Galénique
M. Boubacar	KANTE	Galénique

M. Aboubakary	MAIGA	Chimie Organique
M. Almoustapha I	MAIGA	Virologie
M. Massambou	SACKO	SCMP/SIM
M. Modibo	SANGARE	Anglais
M. Sidi Boula	SISSOKO	Histologie-Embryologie
Mme Fatoumata	SOKONA	Hygiène du Milieu
M. Fana	TANGARA	Maths
M. Abdel Kader	TRAORE	Sémiologie/Pathologies Médicales
M. Boubacar	ZIBEÏROU	Physique

DEDICACES

Je dédie ce travail :

Au prophète Muhammad PSL

Notre prophète bien aimé ! Tu nous as apporté une lumière et une fierté d'être la meilleure des communautés de DIEU.

Tu as accompli ta mission, il reste la nôtre et j'espère qu'ALLAH nous facilitera et qu'il nous gardera sur le droit chemin.

Ce modeste travail est une manière de nous rapprocher de toi et d'ALLAH car la science est toujours une source de spiritualité.

A la mémoire de mon Père Moussa Ouattara

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour toi.

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

A ma mère Salimata Ouattara:

Aucune oeuvre humaine ne pourra te récompenser pour le sacrifice que tu as accompli pour nous. Mettre un enfant au monde assuré sa survie et son éducation en lui apprenant le chemin de DIEU, le sens de l'honneur et de la dignité humaine, qualité dont j'ai profité durant toutes ces années.

En réclamant ton pardon pour le mal que je t'ai fait pendant les moments de folie, je demande encore tes bénédictions qui d'ailleurs n'ont jamais manqué.

Chère mère que le bon DIEU te donne longue vie et bonne santé.

A ma très chère épouse : Djeneba Ouattara

Aucune dédicace, aucun mot, ne sauraient exprimés le profond amour et l'immense respect que je te porte. Je te remercie pour ta patience, ta compréhension et ton soutien. Qu'ALLAH Le Tout Puissant nous procure une vie heureuse pleine de bonheur. Du plus profond de mon cœur je te dis Merci.

A mes frères et sœurs

L'amour familial que vous avez entretenu à mon égard a été un atout favorable pour l'accomplissement de ce travail.

Soyez-en remercié infiniment.

Vous resterez toujours pour moi, l'image de cette entente, de l'amour de l'entraite et de la solidarité que nos parents nous ont inculqués.

Que DIEU veille sur notre famille. Amen!

A mon fils KARIM OUATTARA Qu'ALLAH t'accorde longue vie et
réussite.

REMERCIEMENTS

Au Tout Puissant **Allah** Soubanah wataallah, le Clément, le miséricordieux.

Ô ALLAH louange à Toi et toute ma reconnaissance pour la vie, la santé et tous les bienfaits que Tu nous as accordés en permanence.

Puisse **ALLAH** faire de moi un serviteur qui respecte ses recommandations et celles des hommes.

YA ALLAH ce travail me permettra auprès des hommes d'avoir l'accord de soigner mes prochains mais je ne peux rien traiter sans ton accord malgré toutes les éducations que les autres ont pu me donner.

YA ALLAH guide mes pas, encadre tous mes actes et fait de moi un pharmacien soucieux et conscient de son métier.

J'implore ton pardon et ta miséricorde mon Créateur.

Mes sincères remerciements

- Au Dr KASSOGUE, Dr GUINDO, MARIKO, et au Dr DIARRA

Apprendre à vos côtés m'inspirera dans ma vie professionnelle, vous êtes la preuve que le sérieux et le travail aboutissent au succès.

- ✓ Au personnel du Laboratoire et de la pharmacie de l'hôpital de Sikasso

Apprendre et travailler à vos côtés a été un immense plaisir. Merci pour votre bonne humeur et votre motivation au travail.

- ✓ Au personnel de la pharmacie hospitalière
- ✓ A tout le corps professoral de la FAPF et FMOS

Les professeurs pour leurs disponibilités, leur encadrement et les enseignements de qualité qu'ils m'ont donnés. Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance et mon profond respect à leur égard.

- ✓ A tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à l'élaboration de ce travail

Trouvez ici toute ma profonde gratitude.

- ✓ **Aux Familles** : Magassa à Bamako ; Ouattara à Sikasso; Daouda Dagnoko à Kadiolo.

Vous m'avez chaleureusement accueilli dans vos familles respectives. Vos conseils, vos encouragements, vos soutiens moraux et matériels ne m'ont jamais manqué. Que le seigneur soit toujours avec vous. Amen !

✓ A la promotion Pr N'golo Diarra

Merci pour la fraternité et le très long chemin parcouru ensemble. Bonne chance à toutes et à tous dans votre future vie professionnelle

✓ **A tous les médecins et pharmaciens de l'hôpital de Sikasso :**

Pour votre collaboration

✓ **A toutes mes connaissances :**

Mes chaleureux remerciements pour les encouragements reçus de votre part.

✓ **Aux Internes, Etudiants, du laboratoire d'analyse de Sikasso**

Fatoumata TRAORE, Cheina KONATE, Drissa DIALLO, MALLADO, merci pour les moments de joie et de peine que nous avons passés ensemble et pour vos conseils et apports à la réalisation de ce travail.

HOMMAGE AUX MEMBRES DU JURY

A notre maitre et président du jury

Professeur Flabou BOUGOUDOGO

- **Pharmacien biologiste**
- **Maitre de Conférences Agrégé en Bactériologie et Virologie à la Faculté de Pharmacie ;**
- **Directeur de l'Institut National de Recherche en Santé publique (2002-2012) ;**
- **Chevalier de l'Ordre du Mérite de la Santé.**

Cher maître, Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury malgré vos multiples occupations. Vos qualités pédagogiques, votre disponibilité, votre simplicité et votre grande humilité sont des qualités qui font de vous un maître envié de tous.

Nous vous prions de trouver ici cher maître le témoignage de nos sincères remerciements.

A notre Maître et juge

Dr Mohamed Ag BARAIKA

- **Pharmacien Microbiologiste**
- **Maître Assistant en bactériologie-virologie à la Faculté de Pharmacie**
- **Enseignant Chercheur au CRLD**

Cher maitre, vous avez été d'un apport indispensable à ce travail par non seulement vos qualités scientifiques mais aussi par votre soutien et encouragement infaillible. Recevez ici cher maitre notre sincère remerciement et profondes gratitudes envers votre personne.

A notre Maître et Juge

Docteur Ibréhima GUINDO

- **Pharmacien biologiste ;**
- **Chef de service du laboratoire de Bactériologie-Virologie à l'INRSP ;**
- **Maître-assistant de Bactériologie Virologie à la Faculté de Pharmacie**

Cher Maître

C'est un grand honneur et un réel plaisir de vous avoir parmi nos membres du jury

Votre bonne collaboration avec les étudiants, votre humilité et votre attention ne nous ont pas laissés indifférents et font de vous une référence scientifique.

Veillez agréer cher maître, l'expression de notre profonde gratitude et soyez assuré de nos sentiments de sincères remerciements.

A notre maître et co-directeur de thèse

Docteur Oumar KASSOGUE

- **Pharmacien biologiste ;**
- **Chef de service du Laboratoire – Bande de sang de l'hôpital de Sikasso.**
- **Attaché de recherche en biologie**

Cher Maître, Transmettre son savoir et sa connaissance aux autres est un acte de foi, un devoir sacré de valeur inestimable. En vous, nous avons trouvé la rigueur dans le travail et l'amour du travail bien fait. Pendant tout notre séjour dans le service, nous avons été émerveillé par votre façon de travailler, vous êtes sans doute un bon encadreur rigoureux et très méthodique. Nous garderons de vous l'image d'un homme, respectueux, courageux et modeste. Ce travail est le fruit de votre volonté de parfaire, de votre disponibilité et surtout de votre savoir-faire. Qu'Allah vous aide à aller jusqu'au bout de vos ambitions professionnelles.

Veillez trouver dans ce travail l'expression de nos sincères remerciements.

A notre Maître et Directeur de thèse,

Pr Souleymane DIALLO II

- **Pharmacien biologiste ;**
- **Colonel Major à la retraite (Service de Santé des Armées) ;**
- **Professeur de Bactériologie et Virologie ;**
- **Directeur Général du Centre d'Infectiologie Charles Mérieux, Mali (2011-2017).**

Cher Maître,

Nous ne cesserons jamais de vous remercier pour la confiance que vous aviez placée en nous, pour effectuer ce travail.

Votre rigueur scientifique, votre assiduité, votre ponctualité, votre amour du travail bienfait, votre courage et vivacité font de vous un grand homme de science dont la haute culture scientifique impose le respect et l'admiration de tous.

C'est un grand honneur et une grande fierté pour nous de compter parmi Vos élèves. Nous, vous prions cher maître, d'accepter nos sincères remerciements. Que le bon dieu vous gratifie d'une longue et heureuse vie.

.

SIGLES ET ABREVIATIONS

ATB : Antibiogramme

BGN : Bacille à Gram négatif

BGP : Bacille à Gram positif

BLSE : bêta-lactamase à Spectre Elargi

CBH : Céphalosporinase de Bas Niveau

CHN : Céphalosporinase de Haut Niveau

CLED: Cystine Lactose Electrolyte Déficient

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

ECBU : Examen Cytobactériologique des Urines

I: Intermédiaire

LDC : Lysine décarboxylase

LPS : Lipopolysaccharide

MH : Muëller Hinton

NA : Acide nalidixique

ODC : Ornithine décarboxylase

PBN : Pénicillinase de Bas niveau

PHN : Pénicillinase de Haut Niveau

PLP : Protéines de Liaison des Pénicillines

R: Résistant

S : Sensible

TDA: Tryptophane Désaminase

UFC : Unité Formant Colonie

VP : Voges Proskauer

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Principales familles d'antibiotiques.....	18
Tableau II :Récapitulatif du personnel laboratoire de l'hôpital de Sikasso.....	38
Tableau III: Interprétation de la sensibilité et de la résistance d'une souche à un antibiotique.....	50
Tableau IV : Répartition des germes en fonction de la coloration de Gram.	56
Tableau V : Répartition des bactéries isolées selon l'espèce.....	57
Tableau VI: Profil de résistance aux antibiotiques d' <i>E. coli</i> et <i>K. pneumoniae</i>	58
Tableau VII: Phénotypes de résistance des souches de <i>S. aureus</i> aux antibiotiques	59
Tableau VIII:Répartition des principales entérobactéries en fonction des phénotypes de résistance aux bêta-lactamines	60
Tableau IX: Lecture des résultats de la galerie api 20 E.....	85

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Sites d'action des antibiotiques sur la bactérie	21
Figure 2:Stratégies bactérienne de la résistance aux antibiotiques	24
Figure 3: Action des antibiotiques et résistances.	28
Figure 4:Détermination de la CMI par dilution en milieu liquide	30
Figure 5: Carte de la région de Sikasso.....	36
Figure 6: Test de la coagulase	48
Figure 7 : Répartition des patient en fonction du sexe.....	53
Figure 8: Répartition des patients selon la tranche d'âge.	54
Figure 9: Répartition selon le statut des patients.	55

INTRODUCTION

INTRODUCTION :

Les infections urinaires sont fréquentes aussi bien en milieu hospitalier qu'en communautaire (1). Elles constituent un véritable problème de santé publique (1). Elles représentent un motif fréquent de consultation (2).

Elles occupent une place importante parmi les motifs de consultation en médecine interne, soit 9,5 % (3).

HUMBER a trouvé en médecine interne qu'elle vient après les infections respiratoires, au second rang de motif de consultation (4).

Souvent considérées comme banales et bénignes, elles peuvent aussi avoir des conséquences Pathologiques sévères et entraîner des complications graves, notamment des atteintes de la fonction rénale. Ces IU doivent faire l'objet d'une antibiothérapie adaptée, afin d'éviter l'aggravation ou la rechute. Le diagnostic d'IU, évoqué sur l'examen clinique du malade, sera confirmé si possible par l'examen cyto bactériologique des urines (ECBU). Si l'ECBU n'a pas une grande importance pour une simple cystite (pas de fièvre), il est essentiel pour les infections hautes (pyélonéphrite avec fièvre, douleurs lombaires) (5).

Au cours de ces dernières années, on assiste à l'apparition de souches de plus en plus résistantes aux antibiotiques utilisés, aboutissant parfois à un échec thérapeutique Qui peut engendrer des conséquences tel que les complications médicales grave, une augmentation de la durée d'hospitalisation des malades et un traitement couteux que celui utilisé en première intention(5).

Les bactéries les plus fréquemment isolées appartiennent à la famille des entérobactéries principalement *Escherichia coli* secondairement d'autres bacilles à Gram négatif comme *Pseudomonas aeruginosa* et plus rarement des Cocci à Gram positif comme *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus spp* (6).

Au Mali comme ailleurs l'examen cyto bactériologique des urines est demandé en raison de la fréquence des infections urinaires en milieu hospitalier ainsi qu'en milieu communautaire.

L'étude de M'Bako en 2004 dans le service de néphrologie et hémodialyse de l'hôpital national du point-G a recensé 304/1435 malades qui ont bénéficié d'une étude cyto bactériologique des urines en cours d'hospitalisation, 93/ 304 avaient une infection urinaire soit une fréquence de 30,6% **(7)**.

Selon une étude réalisée par **TONY (8)** en 2014 à Bamako sur 1907 prélèvements d'urines 212 avaient une infection urinaire soit **11,1%**.

De plus **NIANGALY** a trouvé en 2008 à Ségou sur 437 patients 64 présentaient une infection urinaire soit **14,65% (9)**.

A une époque où nous sommes confrontés à une menace continue des agents infectieux, il est essentiel de connaître ces agents, et leur profil de résistance aux antibiotiques pour une meilleure prise en charge des patients infectés et afin de diminuer la pression de sélection des bactéries multi résistantes.

Ceci a motivé notre étude qui s'intitule :

« Evaluation de la résistance aux antibiotiques des souches bactériennes isolées des urines au laboratoire de biologie médicale de l'hôpital de Sikasso ».

OBJECTIFS

Objectifs :

1. Objectif général

Evaluer la résistance aux antibiotiques des souches bactériennes isolées des urines au laboratoire de biologie médicale de l'hôpital de Sikasso.

2. Objectifs spécifiques :

2.1. Déterminer la fréquence des souches bactériennes isolées des urines;

2.2. Décrire les profils de résistance des souches bactériennes majoritairement isolées aux antibiotiques testés ;

2.3. Déterminer les phénotypes de résistance des souches bactériennes aux antibiotiques.

GENERALITES

Généralités :

I. LES INFECTIONS URINAIRES

1. Définitions :

1.1. L'urine

Issue du latin *urina* et du grec *ouron*, l'urine est un liquide organique de couleur jaune ambrée, d'odeur safranée souvent acide. Elle est sécrétée par les reins puis emmagasinée dans la vessie entre les mictions. Les reins sont les organes qui permettent l'élaboration et l'excrétion de l'urine (7).

1.2. Infection urinaire (8).

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

2. LES GERMES RESPONSABLES D'INFECTIONS URINAIRES

Les micro-organismes retrouvés le plus fréquemment chez les patients présentant une infection urinaire sont décrits comme uropathogènes (10).

Ceci inclut :

➤ Les bacilles à Gram négatif

La plupart des infections du tractus urinaire sont dues à la propagation par voie ascendante des bactéries d'origine intestinale d'où la prédominance des entérobactéries parmi lesquels :

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

Par ailleurs, d'autres bacilles à Gram négatif, *Pseudomonas aeruginosa* sont responsables des infections urinaires iatrogènes, résultant d'une contamination par manœuvres instrumentales endo-urinaires (sonde à demeure, urétrocystoscopie ...)

➤ Les Cocci à Gram Positif

Les infections urinaires à Cocci à Gram Positif sont rares. Ce sont :

- ✓ Staphylocoques : aérobies –anaérobies facultatifs.

Ces Cocci possèdent une catalase, sont regroupés en amas, commensaux de la peau et des muqueuses :

- ✓ Staphylocoques à coagulase négative : *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus*

Haemolyticus, *Staphylococcus epidermidis* ;

- ✓ Staphylocoques à coagulase positive : *Staphylococcus aureus* ;
- ✓ Streptocoque des groupes D (Entérocoque), G et B sont surtout rencontrés lors d'infection urinaire iatrogène (11).

➤ Les bacilles à Gram positif

- ✓ *Listeria monocytogenes*;
- ✓ *Clostridium perfringens*

3. Porte d'entrée de l'infection urinaire

3.1. Les sources des bactéries des infections urinaires (12)

L'appareil urinaire lui-même qui peut s'ensemencer à partir d'un foyer infectieux :

- ✓ Rénal : Pyo néphrose-pyélonéphrite chronique ;
- ✓ Uretère : uretère restant après néphrectomie ;
- ✓ Urétral : urétrite.
- ✓ L'appareil génital :
- ✓ Vaginites, bartholinites, sont souvent évoquées à l'origine de récurrences ;
- ✓ Vestibule vulvaire et périnée peuvent constituer un réservoir de germes, sources de récurrences ;

- ✓ L'intestin est mis en cause étant donné la richesse bactérienne du colon.

Il est démontré que les colibacilles marqués peuvent aller du colon jusque dans la vessie, mais la voie empruntée reste toujours discutée.

3.2. Les voies de pénétration des bactéries des infections urinaires (13)

On en distingue quatre types :

- ✓ **La voie hématogène** : il s'agit des bactéries amenées au niveau des reins par le sang ;
- ✓ **La voie lymphatique** : il s'agit des bactéries apportées par la lymphe ;
- ✓ **La voie ascendante** : il s'agit des bactéries qui pénètrent dans l'appareil urinaire par l'urètre ;
- ✓ **La voie iatrogène** : elle est due au cathétérisme instrumental ou à la pose d'une sonde à demeure.

4. Mécanisme des infections urinaires (14, 15)

L'urine vésicale normale est stérile. Cependant on rencontre des bactéries de façon permanente surtout chez la femme.

La bactériurie dépend de 3 phénomènes :

- ✓ La vitesse de pénétration des bactéries dans la vessie ;
- ✓ La vitesse de croissance de ces bactéries ;
- ✓ La vitesse d'élimination ou de la destruction des bactéries.

4.1. Les infections ascendantes :

Elles constituent le cas le plus fréquent : le réservoir bactérien de l'infection est constitué par les intestins, en particulier leur flore aérobie (*Escherichia coli* chez la femme).

Les bactéries entériques colonisent le périnée, le méat urétral, l'urètre antérieur, la vulve et les vagins.

La proximité des orifices (urétral, vaginal et anal), de même que la brièveté de l'urètre, expliquent la prédominance marquée de l'infection urinaire chez la femme.

La pénétration des bactéries dans la vessie est favorisée chez la femme par une mauvaise hygiène et l'activité sexuelle.

Chez l'homme, la remontée des bactéries le long de l'urètre est plus difficile et entraîne des infections urinaires moins fréquentes, plutôt associées à des malformations des voies ou à des atteintes prostatiques.

Chez la femme comme chez l'homme, les infections urinaires sont favorisées par :

- ✓ Les sondes à demeure ;
- ✓ Tout obstacle à l'écoulement de l'urine (lithiase) ;
- ✓ L'état grabataire (pour les malades qui ne quittent pas le lit).

Une fois dans la vessie, les bactéries, si elles disposent d'un bagage suffisant de facteurs de

virulence (adhésion, propriétés anti phagocytaires, ...), colonisent la muqueuse, s'y multiplient et peuvent entraîner une réponse inflammatoire (cystite).

L'infection peut évoluer jusqu'à atteindre le parenchyme rénal entraînant une pyélonéphrite.

L'urine constitue donc un excellent milieu de culture des bactéries.

4.2. Les infections hématogènes (descendantes) :

Lors d'une septicémie, les reins ou la prostate peuvent être directement inoculés par voie hématogène.

4.3. Moyens de défense de l'organisme contre les infections urinaires (16)

- ✓ Le flux permanent de l'urine urétérale ;
- ✓ Un urètre long ;
- ✓ Des mictions fréquentes ;
- ✓ Une intégrité de la muqueuse vésicale avec une couche de mucopolysaccharides acides et la présence d'uromucoïde ou protéine de Tamm-Horsfall (sécrétée par le rein, elle améliore la clairance bactérienne lors des mictions) ;
- ✓ Les constantes biochimiques de l'urine (pH acide, osmolarité faible).

4.4. Facteurs favorisant la survenue des infections urinaires

Les infections urinaires touchent préférentiellement la femme jeune en période d'activité génitale. Elles sont plus rares chez l'homme, évoquant systématiquement une prostatite sous-jacente. Chez l'enfant, elles doivent faire évoquer une malformation congénitale. Une immunodépression ou un facteur favorisant la stase urinaire et la pullulation microbienne doivent toujours être recherchés en cas de récurrence ou de résistance thérapeutique (17).

➤ **Immunosuppression**

- ✓ Infection par le VIH ;
- ✓ Diabète ;
- ✓ Néoplasie des voies urinaires ;
- ✓ Malnutrition et hypo-protidémie.

➤ **Facteurs mécaniques**

- ✓ Grossesse ;
- ✓ Mutilation génitale féminine ;
- ✓ Lithiase urinaire ;
- ✓ Reflux vésicaux-urétéral ;
- ✓ Bilharziose uro-génitale ;
- ✓ Gestes invasifs du tractus urinaire.

➤ **Facteurs neurologiques**

Trouble de la commande neurologique

5. SYMPTOMATOLOGIE DES INFECTIONS URINAIRES

Cliniquement, l'IU peut apparaître sous trois formes dont deux sont symptomatiques:

La cystite aiguë qui associe à la bactériurie, une dysurie, des brûlures mictionnelles et des besoins impérieux et fréquents de miction (18).

La pyélonéphrite aiguë (PNA) qui associe aux symptômes de la cystite, une fièvre > 38 °C, des douleurs lombaires (souvent unilatérales) et des signes

généraux d'inflammation (vs accélérée, Proteine C Réactive élevée, ptéridine augmentés et hyperleucocytose sanguine) (18).

La forme asymptomatique qualifiée de « bactériurie asymptomatique » ne se manifeste que par des signes biologiques (bactériurie souvent faible, leucocyturie).

Cette forme est fréquente chez la femme, notamment au cours de la grossesse et fait alors courir le risque de pyélonéphrite ultérieure (18).

Les signes biologiques sont caractérisés par une bactériurie, une leucocyturie et des signes indirects d'infection (réponse immunitaire contre la souche infectante) ou des signes de lésions rénales (cylindruries objectivant une lésion tubulaire ou hématurie signant une lésion de l'appareil urinaire) (18).

II. LES ANTIBIOTIQUES

1. Définition :

Les antibiotiques sont des Substances chimiques produites par des micro-organismes ou synthétisées qui, à faible concentration, ont le pouvoir d'inhiber la croissance ou de détruire des bactéries ou d'autres microorganismes (19, 20)

2. Classification des antibiotiques

Actuellement, il existe un nombre très important d'antibiotiques. Il est plus facile pour le praticien, en vue d'une prescription, d'avoir un classement rigoureux des molécules existantes.

Une famille d'antibiotiques regroupe des composés dont les structures chimiques sont proches.

Les modes d'action, ainsi que les spectres d'action, sont aussi semblables. Cette famille pourra ensuite être subdivisée en groupes et en sous-groupes. Cependant, il faut noter qu'il existe des antibiotiques « orphelins », n'appartenant à aucune famille tels que l'acide fusidique, la fosfomycine (21).

2.1. Critères de classification

Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères:

- Leur origine (bio-synthétisés par des champignons, des bacilles ou des Streptomyces, artificiels)
- En fonction du spectre d'activité,
- Leur structure chimique **(21)**.

2.1.1. Classification selon l'origine

On distingue trois grands groupes d'antibiotiques:

- ✓ Les antibiotiques naturels, élaborés par les micro-organismes comme les champignons inférieurs (Penicillium, Cephalosporium)

Ou les bactéries (Bacillus et surtout Streptomyces)

- ✓ Les antibiotiques semi-synthétiques: ce sont des antibiotiques naturels ayant subi une modification par addition de groupes chimique supplémentaire dans le but d'améliorer l'activité et/ou modifier des paramètres pharmacocinétiques essentiels
- ✓ Les antibiotiques artificiels: obtenus par synthèse chimique **(21)**.

2.1.2. Classification des antibiotiques en fonction de leur spectre d'activité

Le spectre d'activité d'un anti-infectieux correspond à l'ensemble des espèces bactériennes qui lui sont sensibles. Lorsque le spectre d'activité est limité à un certain nombre d'espèces bactériennes, il est dit « étroit », tandis qu'un antibiotique actif sur de nombreuses bactéries est dit à spectre « large ».

Enfin, une bactérie insensible à un antibiotique est définie comme étant résistante.

Un antibiotique à spectre large agit sur un grand nombre de bactéries (sur les bacilles et coques à Gram + et Gram -). Un antibiotique à spectre étroit agit seulement sur les bacilles et coques à Gram + ou Gram - **(21)**.

2.1.3. Classification en fonction de la structure chimique

Cette classification est la plus utilisée. Elle regroupe « en familles » ou « classes » des produits ayant des caractéristiques communes: de structure, de spectre d'activité, de cible moléculaire bactérienne, de sensibilité à des mécanismes de résistance et d'indications cliniques **(21)**.

Tableau I: Principales familles d'antibiotiques (21).

Famille	Sous-famille	Origine	Molécule
Bêta-lactamines	Pénicilline	Naturelle	Pénicilline G
		Semi-synthétique	Oxacilline et Cloxacilline
	Céphalosporines	Naturelle ou Sémi-synthétique	Céfalotine, Cefalexine (1 ^{ère} génération)
			Céfoxitine (2 ^{ème} génération)
		Carbapénèmes	Céfopérazone, (3 ^{ème} génération)
			Cefquinome, (4 ^{ème} génération) Ceftaroline (5 ^{ème} génération)
	Polypeptides		Naturelle
Aminosides			
Macrolides		Naturelle ou Sémi-synthétique	Erythromycine, spiramycine, Tilmicosine
Apparentés aux Macrolides	Lincosamides	Naturelle ou Sémi-synthétique	Lincomycine, clindamycine
Tétracycline		Naturelle ou Sémi-synthétique	Tétracycline, Doxycycline
Phénicolés		Naturelle ou Sémisynthétique	Chloramphénicol, et Thiamphénicol
Sulfamides		Synthétique	Sulfaguanidine, sulfadimidine, sulfadiméthoxine...
Quinolones		Synthétique	Acide nalidixique (1 ^{ère} génération), Norfloxacin (2 ^{ème} génération)

3. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques bloquent de manière spécifique les processus métaboliques vitaux des bactéries sensibles. Ils 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 (22).

3.1. Antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane

Le peptidoglycane est un polymère réticulé fait de chaînes de glycanes reliés par des peptides. Cette molécule n'existe que chez les bactéries et assure la rigidité de la paroi.

Les précurseurs du peptidoglycane sont synthétisés dans le cytoplasme et assemblés à l'extérieur de la membrane cytoplasmique. Lorsque les bactéries sont en phase de croissance, il existe simultanément des phénomènes de synthèse et de destruction du peptidoglycane.

L'équilibre entre ces deux phénomènes est rompu par les antibiotiques inhibant la synthèse du peptidoglycane. Il en résulte une altération de la paroi ayant un effet létal pour la bactérie (23).

3.2. Antibiotiques inhibant la synthèse des protéines

Plusieurs familles d'antibiotiques peuvent inhiber par différents mécanismes, l'élongation de la chaîne polypeptidique chez les bactéries (21).

- Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome: Les cyclines se fixent de manière réversible et les aminoacides de manière irréversible sur la sous-unité 30S.

- Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 50S du ribosome: Les phénicolés, les macrolides, les lincosamides et les synergistines se fixent de manière réversible sur la sous-unité 50S.

- Antibiotique inhibant le facteur d'élongation G: C'est le mode d'action de l'acide fusidique.

3.3. Antibiotiques agissant sur les acides nucléiques

On distinguera les antibiotiques actifs d'une part sur la synthèse des ARN et d'autre part, sur la synthèse des ADN ou de leurs précurseurs.

- Les inhibiteurs de l'ARN polymérase sont représentés par la classe des ansamycines, tandis que les inhibiteurs des topoisomérases regroupent les quinolones. Ces 2 familles d'antibiotiques doivent leur spécificité d'action aux différences qui existent entre les enzymes procaryotes et eucaryotes et qui permettent la reconnaissance spécifique d'un type de cible exclusivement.

- Les sulfamides agissent sur la synthèse de l'acide folique, un cofacteur de la synthèse des bases puriques et pyrimidiques à incorporer dans les acides nucléiques. Leur spécificité d'action provient du fait que les eucaryotes ne synthétisent pas d'acide folique.

- Les diaminopyridines inhibent la réduction de l'acide folique en tirant parti de la différence de sensibilité de la dihydrofolate réductase bactérienne par comparaison avec l'enzyme des cellules eucaryotes (21).

3.4. Antibiotiques agissant sur les membranes

Les Polymyxines se fixent sur les membranes bactériennes (en particulier la membrane externe des bactéries à Gram négatif) et les désorganisent (23).

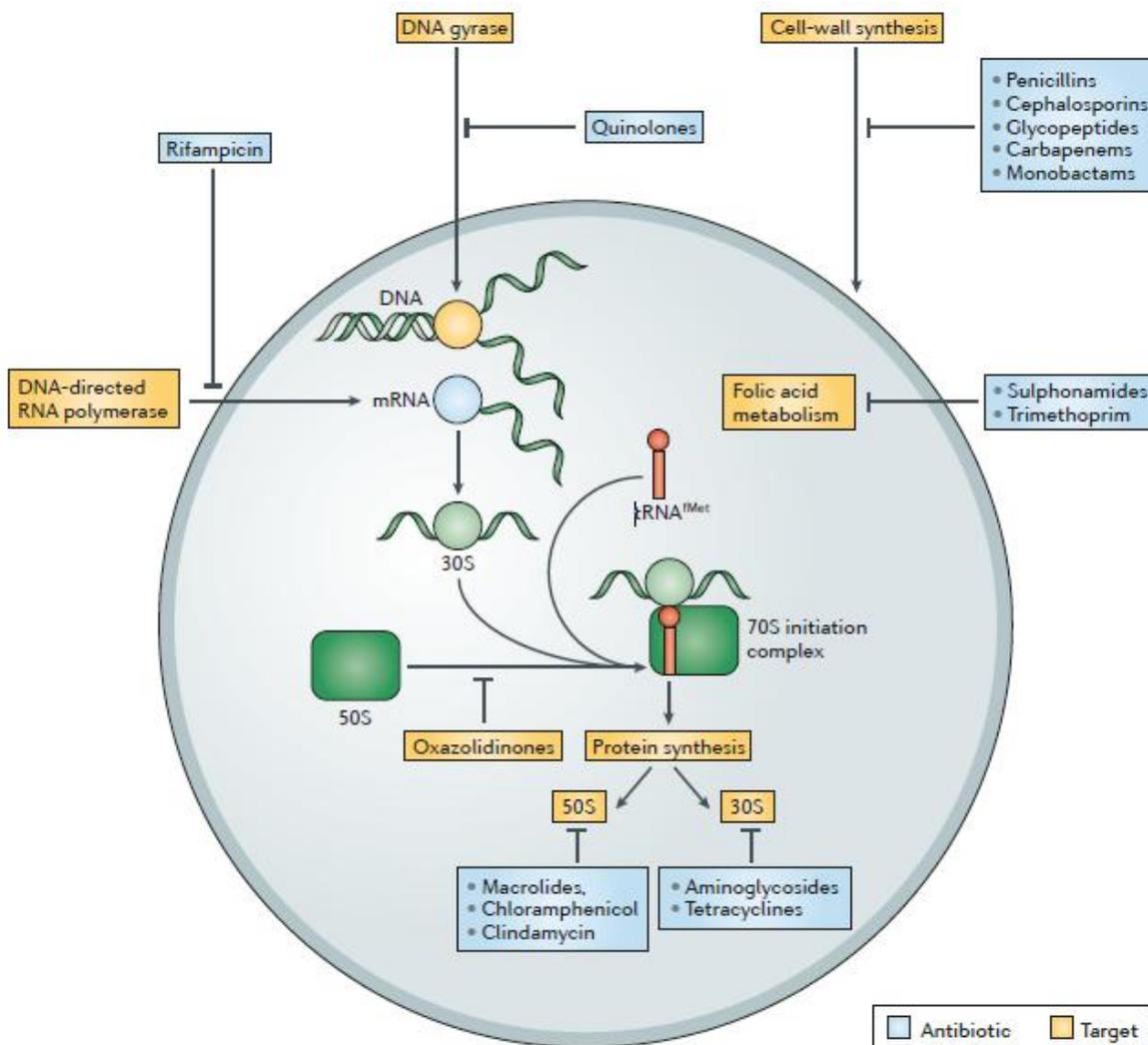


Figure 1: Sites d'action des antibiotiques sur la bactérie. Source : Lewis et al.

4. Résistance bactérienne aux antibiotiques

4.1. Définitions (24, 25, 26)

Une souche bactérienne est dite « résistante » quand elle supporte une concentration d'antibiotique notablement plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce.

La résistance aux antibiotiques est un phénomène général observé chez toutes les espèces bactériennes impliquées dans la pathologie humaine et animale.

Leur évolution est inéluctable (23).

Elle s'observe à divers degrés à l'égard de tous les membres d'une famille d'antibiotique donnée. On assiste de surcroît à des multi résistances c'est-à-dire au fait qu'une souche est résistante en même temps à plusieurs familles d'antibiotiques (21, 23, 27).

La résistance des bactéries aux antibiotiques est soit naturelle, soit acquise.

Pour beaucoup d'entre eux, il existe une enzyme de dégradation : β -lactamases, céphalosporinase...

On observe également les phénomènes de surexpression des cibles (les PLP) ou encore la présence de pompe d'efflux diminuant tous deux l'efficacité des antibiotiques. Les PLP peuvent également être modifiées tout comme les gyrases pour donner un exemple de résistance concernées par le mécanisme de modification de cible. Les pénicillines et les tétracyclines ne peuvent alors jouer leur rôle puisque incapables de reconnaître leur cible d'action.

4.2. Les Types de résistance

4.2.1. Résistance naturelle (27, 28),

La résistance dite naturelle est présente dans toutes les souches de l'espèce considérée et préexiste à l'usage des antibiotiques. Elle constitue une caractéristique propre à l'espèce et délimite le spectre d'activité d'antibiotiques.

*Exemple de résistances naturelles:

1/ *Klebsiella spp.* Produit naturellement des bêta-lactamases. Cette enzyme est alors présente dans l'espace périplasmique de la bactérie et conduit à la

destruction d'antibiotiques comme les pénicillines A, avant que ceux-ci ne puissent atteindre leur cible bactérienne.

2/ les bactéries anaérobies sont naturellement résistantes aux aminosides, car le passage des aminosides à travers la membrane cytoplasmique nécessite un système de transport actif absent chez les anaérobies (29).

4.2.2. Résistance acquise

Cette résistance n'est présente que chez quelques souches d'une espèce sensible et apparaît étroitement liée à l'utilisation des antibiotiques. Cette forme de résistance est portée le plus souvent par les éléments mobiles tels que les plasmides (mini-chromosomes circulaires présents dans les bactéries) ou transposons (morceau d'ADN qui présente la particularité de pouvoir se déplacer du chromosome bactérien vers un plasmide et d'un plasmide à un autre) (27, 28).

Porteurs de gènes résistants, les transposons jouent un rôle majeur dans la dissémination de résistance entre bactéries d'espèces éloignées (27).

Deux mécanismes génétiques ont été identifiés :

- une mutation spontanée peut survenir sur le chromosome bactérien. Dans ce cas la résistance est transmise uniquement à la descendance (transmission verticale).
- l'autre mécanisme est prépondérant dans l'émergence des résistances. Les bactéries acquièrent une information génétique (plasmide ou transposons) provenant d'une autre bactérie déjà résistante. Dans ce cas de figure, la résistance se transmet d'une bactérie à l'autre par simple contact (transmission longitudinale) mais aussi d'une espèce à l'autre (22,30).

4.3. Principaux mécanismes de résistance :

Nous savons que pour agir, un antibiotique devra dans un premier temps pénétrer la bactérie, il devra ensuite arriver à sa cible (via un transporteur ou par diffusion passive) puis se fixer à sa cible pour produire son effet : bactéricide ou bactériostatique (31).

Chacune de ces étapes est un point faible pour l'antibiotique, les mécanismes de résistance sont au nombre de 4 (Figure 2) et agissent au niveau de ces étapes :

- Diminution de la pénétration de l'antibiotique
- Inactivation ou excrétion de l'antibiotique par les systèmes enzymatiques bactériens
- Défaut d'affinité cible – antibiotique via une modification de la cible
- Protection de la cible par une protéine.

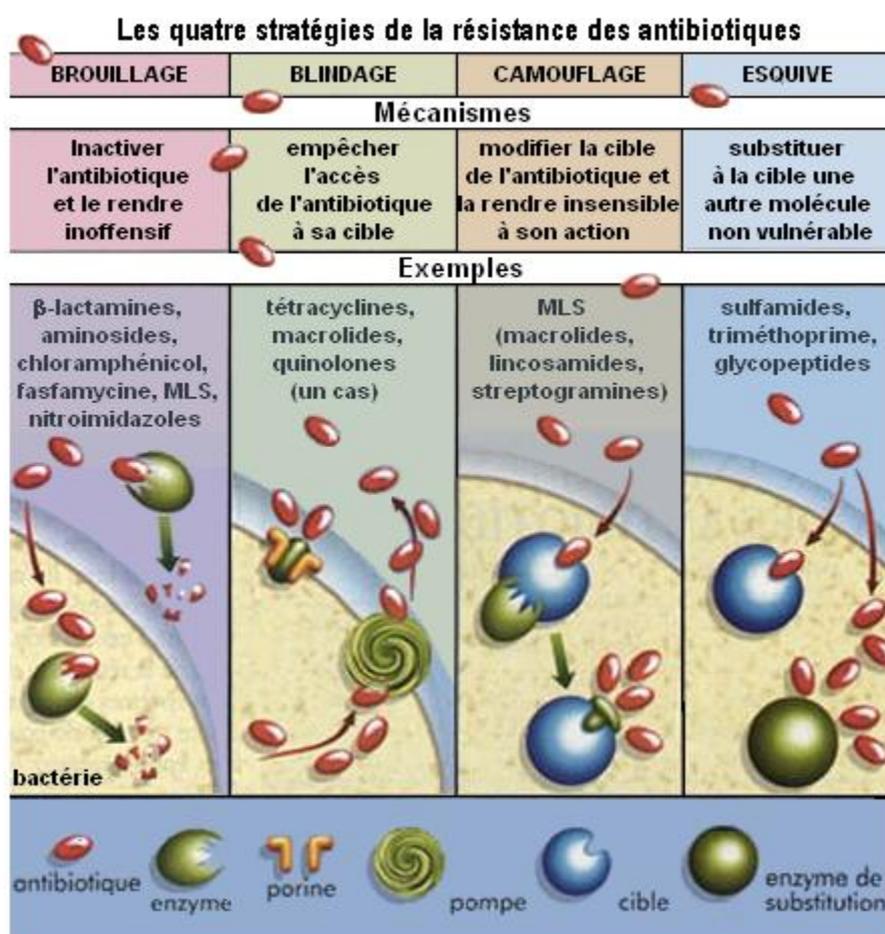


Figure 2:Stratégies bactériennes de la résistance aux antibiotiques

Source : La résistance aux antibiotiques, Véronique Fournier, Université de Laval, 2003.

4.3.1. Résistance par imperméabilité :

La perméabilité ou l'imperméabilité d'une bactérie est liée à la diffusion de l'antibiotique dont nous avons parlé précédemment en abordant les différences de structures des bactéries Gram + et Gram -. Il faut tenir compte de la structure bactérienne pour parler de résistance par imperméabilité (31).

4.3.1.1. Imperméabilité de la paroi :

Chez les bactéries Gram + : la paroi est constituée d'une couche épaisse de peptidoglycane entourant la membrane interne cytoplasmique. Généralement les antibiotiques diffusent assez facilement à travers.

En revanche chez les bactéries Gram -, la diffusion est bien plus compliquée : la membrane externe est composée de phospholipide et de LPS rendant impossible le passage des produits hydrophiles. A noter que souvent, il y a présence de porines, canaux permettant quand même le passage de certain produit y compris d'antibiotiques à travers la membrane externe. C'est le cas des bêta-lactamines et des aminosides par exemple. Le peptidoglycane confère sous la membrane externe une zone rigide et imperméable (31).

4.3.1.2. Imperméabilité de la membrane externe :

Chez les entérobactéries ou le *Pseudomonas*, il y a une résistance naturelle aux macrolides, pénicillines G et M, à l'acide fusidique et à la vancomycine. Ces antibiotiques n'arrivent simplement pas à traverser la membrane en raison de leur taille trop importante.

Pour ce qui est des antibiotiques hydrophiles, ces derniers traversent la paroi via les porines. Un autre phénomène peut néanmoins avoir lieu : la bactérie peut modifier qualitativement ou quantitativement une ou plusieurs de ses porines provoquant l'apparition d'une résistance (il s'agit là d'une résistance acquise apportée par un plasmide) (31).

4.3.1.3. Imperméabilité de la membrane cytoplasmique :

Pour pénétrer dans la bactérie, l'antibiotique va avoir deux possibilités, il utilisera soit un transport passif (diffusion ou transporteur ne nécessitant pas d'énergie) ou un transport actif. On sait par exemple que les aminosides sont couplés à un transporteur actif pour pénétrer dans la bactérie dépendant d'une phosphorylation oxydative de la bactérie. Pour que ce phénomène se déroule normalement, la bactérie a besoin d'oxygène donc on voit clairement que les bactéries anaérobies seront naturellement résistantes aux aminosides puisqu'elles n'utilisent pas d'oxygène pour leur fonctionnement.

La membrane interne cytoplasmique porte sur sa face externe les PLP (protéine liant les pénicillines) enzymes cible des β -lactamines (31).

4.3.1.4. Imperméabilité par formation d'un biofilm :

Nous en avons parlé précédemment, certaines bactéries sont capables de produire un film épais qui va ralentir la diffusion de l'antibiotique et l'exposer plus longtemps aux enzymes de dégradation (32).

4.4. Résistance par efflux actif :

Il s'agit d'un système d'exportation de l'antibiotique en dehors de la bactérie. Il s'agit d'un mécanisme actif, la bactérie synthétise des protéines d'export qui vont emporter l'antibiotique à l'extérieur de la bactérie. Ainsi il ne peut pas se fixer à sa cible et est inefficace.

On connaît ce mécanisme notamment pour les tétracyclines (32).

4.5. Résistance par modification de la cible :

Il existe différents mécanismes de modification de la cible de l'antibiotique. Tout d'abord, la modification structurelle de la cible entraînant une perte d'affinité dans le couple cible-antibiotique. L'antibiotique ne pouvant pas se fixer correctement à sa cible, son action sera limitée. L'exemple le plus important concerne la résistance à la pénicilline G de *Streptococcus pneumoniae* (33).

La bactérie peut synthétiser une cible modifiée additionnelle via l'apport d'un plasmide par exemple. C'est le cas de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline ou SARM qui peut exprimer une protéine liant les pénicillines (PLP) supplémentaire, la PLP2A identifiée dans les souches résistantes par la présence du gène *mecA* apporté dans une cassette chromosomique (34).

La bactérie peut également induire une hyperproduction de la cible : il s'agit d'un phénomène très fréquent qui touche les tétracyclines, les macrolides, les quinolones, les β -lactamines, les aminosides, rifampicine, notamment. L'antibiotique se retrouve dilué dans ses concentrations normales d'utilisation puisque les cibles sont augmentées quantitativement.

4.6. Résistance par dégradation antibiotique :

La bactérie va synthétiser une enzyme qui va modifier l'antibiotique le rendant inefficace. Souvent il s'agit de modification entraînant un changement de conformation du médicament qui ne reconnaît plus ou ne peut alors plus se fixer sur son site d'action.

On retrouve ce phénomène pour une autre famille, les céphalosporines (35).

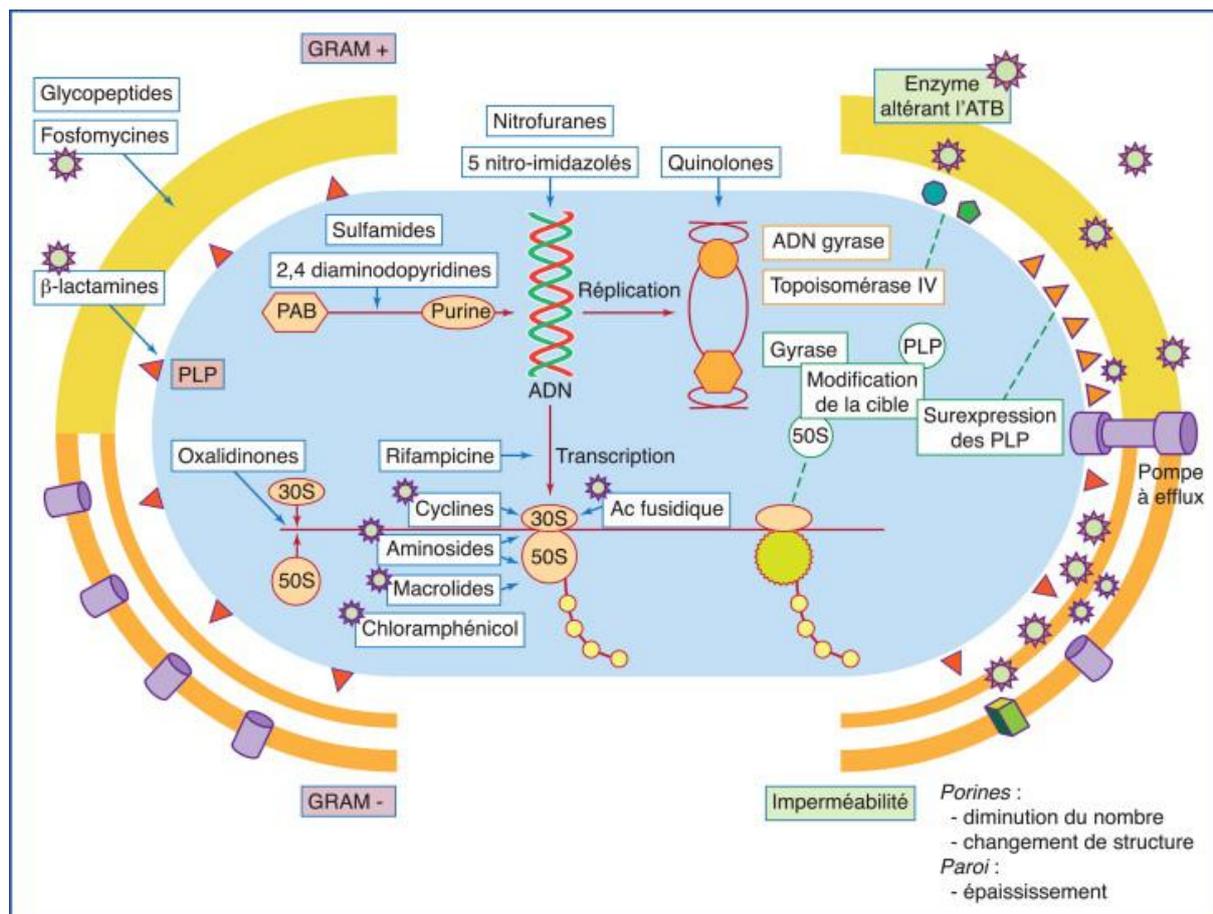


Figure 3: Principaux mécanismes d'action des antibiotiques et de résistance de bactéries.

Source : H. Chaussade et al

4.7. Facteurs favorisant la résistance aux antibiotiques

La prescription à grande échelle et parfois impropre d'antibiotiques fait que les bactéries évoluent constamment vers la résistance (13,36, 37).

Le recours intempestif à des antibiotiques dans l'élevage animal industriel (en particulier les volailles) contribue au phénomène de résistance. En milieu vétérinaire, les antibiotiques issus de la pharmacopée humaine sont utilisés sans règle stricte. Soit comme promoteur de la croissance, soit à des fins prophylactiques et thérapeutiques. Cette pratique très répandue de traitement antibiotique sur de longues durées conduit inévitablement à la sélection de bactéries multi résistantes, en particulier les entérobactéries et entérocoques.

Éliminées du tube digestif des animaux, les bactéries passent dans les affluents, l'eau et selon la chaîne alimentaire, finissent par coloniser le tube digestif de l'homme. Lors de l'abattage des animaux une contamination de la viande est quasi inéluctable. L'administration répétée d'antibiotique chez l'homme élimine les bactéries sensibles et sélectionne les bactéries résistantes lesquelles en profitent pour se développer et former des nouvelles colonies, elles aussi résistantes (38,39).

III. METHODE D'ETUDE DE LA SENSIBILITE :

L'étude de l'activité d'un antibiotique sur les bactéries rencontrées en pathologie constitue une étape nécessaire au choix d'une antibiothérapie. L'évaluation de cette activité nécessite une étude *in vitro* réalisée au laboratoire de bactériologie.

La fréquence des souches résistantes à un antibiotique donne au sein d'une espèce bactérienne, par acquisition de résistance, est parfois élevée. Il est donc nécessaire d'évaluer *in vitro* la sensibilité des bactéries aux antibiotiques afin d'aider le clinicien dans son choix thérapeutique.

1. Détermination des concentrations minimale inhibitrice (CMI)

1.1. Bactériostase et bactéricide (40).

➤ Définition

Les interactions bactérie-antibiotique dans le temps, en présence de concentrations croissantes d'antibiotique, peuvent se traduire soit par un ralentissement de la croissance bactérienne (bactériostase), soit par un effet létal de l'antibiotique (bactéricidie).

La bactériostase est quantifiée par la CMI (concentration minimale inhibitrice) et bactéricidie par la CMB (concentration minimale bactéricidie).

1.1.1. Etude de la bactériostase

La CMI est la plus faible concentration d'antibiotique pour laquelle il n'y a pas de croissance visible à œil nu de la souche bactérienne étudiée.

➤ Détermination de la CMI en milieu liquide

Une série de tubes est ensemencée avec 10^5 UFC/ml de la bactérie à étudier en Mueller-Hinton.

Ensuite, des quantités croissantes d'antibiotiques sont ajoutées de façon à réaliser une gamme de concentration en progression géométrique de raison 2. Un tube sans antibiotique servira de témoin.

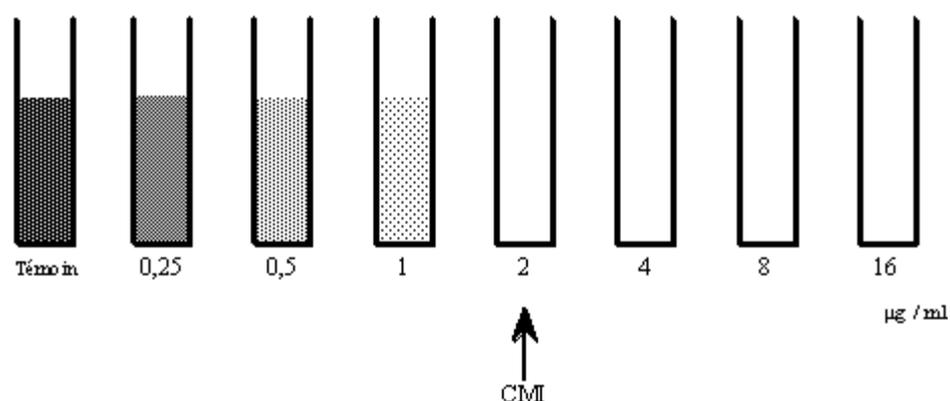


Figure 4: Détermination de la CMI par dilution en milieu liquide(40).

Après 18 heures à 37°C, la CMI correspond à la concentration présente dans le premier tube où il n'y a pas de culture visible.

➤ Détermination de la CMI en milieu solide par dilution en gélose.

Cette méthode est celle recommandée par CA-SFM (comité de l'Antibiogramme de la société Française de Microbiologie). Le principe est identique mais cette fois-ci l'antibiotique est incorporé dans la gélose Mueller-Hinton. Chaque boîte de pétri correspond à une concentration donnée d'antibiotiques. Il est possible de tester sur la série de boîtes contenant la gamme des concentrations d'antibiotiques plusieurs souches déposées sous forme de spots ou en stries avec un inoculum de 10^4 UFC/spot. La CMI correspond alors à la concentration d'antibiotique présente dans la première boîte où la bactérie ne pousse pas.

1.1.2. Etude de la bactéricidie (40).

La CMB est la plus faible concentration d'antibiotique laissant après 18 heures d'intubation un pourcentage de survivants $\leq 0,01\%$ de l'inoculum de départ. Un antibiotique est bactéricide si la CMI et la CMB sont proches. Si le rapport $CMB/CMI \geq 32$, l'antibiotique est bactériostatique ou s'il s'agit d'un antibiotique habituellement considéré comme bactéricide la souche est dite tolérante.

➤ Détermination de la CMB en milieu liquide

Dans un premier temps, une gamme de concentration d'antibiotique est réalisée comme pour la détermination de la CMI. Le même jour, une numération de l'inoculum de départ est effectuée en réalisant 4 dilutions successives de 10 en 10 qui seront chacune ensemencée en strie à l'aide d'une anse calibrée sur une gélose MH. Cette gélose sera incubée 18 heures à 37°C , puis les colonies seront énumérées et le nombre d'unités formant colonie à la dilution au 1/10000 correspond à 0.01% de l'inoculum de départ. Après 18 heures à 37°C , tous les tubes qui ont une concentration d'antibiotiques supérieur ou égale à la CMI seront repiqués sur MH en strie à l'aide d'une anse calibrée.

Après 18 heures à 37°C , les colonies présentes sur chaque strie sont comptées. Cette numération est comparée avec la numération de l'inoculum de départ.

La CMB est la plus faible concentration d'antibiotique pour laquelle le nombre de colonies bactériennes est inférieur ou égal au nombre de colonies présentes sur la dilution de l'inoculum de départ au 1/10000 (c'est-à-dire $\leq 0,01\%$ de l'inoculum de départ).

➤ Détermination de la CMB par dilution en milieu gélosé

La technique utilisée est pratiquement la même que celle décrite pour la détermination des CMI en milieu gélosé, mais pour la détermination des CMB, les ensemencements en strie ou en spot se font sur un filtre ou en spot se font sur un filtre en nitrate de cellulose déposé à la surface des géloses contenant les concentrations d'antibiotique. Une numération de l'inoculum de départ est aussi

réalisée avec 4 dilutions de 10 en 10 sur MH sans antibiotique sur laquelle un filtre aura préalablement été déposé.

Après 18 heures d'incubation à 37°C, les filtres sans croissance bactérienne sont transférés deux fois de suite à 15 minutes d'intervalle, afin de limiter le transport des antibiotiques, sur MH sans antibiotique.

Après 18 heures à 37°C, les colonies sont énumérées et comparées à la numération de l'inoculum de départ **(40)**.

2. Antibiogramme

La détermination des CMI, encore assez fastidieuse à réaliser, ne peut pas être envisagée en routine pour toutes les bactéries isolées et tous les antibiotiques testés et, reste réservée à quelques cas particuliers (pneumocoque de sensibilité diminuée aux pénicillines, staphylocoques et entérocoques résistants aux glycopeptides, germes à croissance lente, infections sévères, etc.).

En routine, l'étude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques est effectuée grâce à la technique de l'antibiogramme (40).

2.1. Antibiogramme par diffusion en milieu gélosé (40).

2.1.1. Technique

L'antibiogramme repose sur le principe de la compétition entre la croissance d'une bactérie et la diffusion d'un antibiotique dans un milieu gélosé à partir d'un support papier préimprégné d'antibiotique.

Des disques de papier pré imprégnés d'antibiotiques sont déposés à la surface d'une géloseensemencée avec la bactérie à étudier. L'antibiotique diffuse à partir du disque de papier selon un gradient de concentration.

Après 18 heures d'incubation à 37°C, une zone d'inhibition centrée sur le disque se forme, la concentration d'antibiotique en bordure de la zone d'inhibition correspond à la CMI de l'antibiogramme pour la souche étudiée.

Le diamètre de la zone **d'inhibition** est mesuré en millimètre et des courbes de concordance diamètre-CMI sont réalisées.

2.2. Interprétation en catégorisation clinique

La réponse au clinicien ne se fera pas simplement en termes de CMI en mg/ml ou en diamètre d'inhibition en millimètre mais en probabilités d'activité.

L'antibiogramme est donc un test de prédiction de succès ou d'échec clinique.

Les résultats seront rendus au clinicien en «S» (sensible), « I » (intermédiaire) ou « R » (résistant). Ces catégorisations cliniques sont définies en comparant les résultats obtenus en CMI avec les concentrations critiques définies par les sociétés savantes de microbiologie, le CA-SFM en France, en fonction des concentrations sériques obtenues après des posologies usuelles. La réponse interprétative est donc unique et ne tient pas compte du site de l'infection.

Grace aux courbes de concordance, aux concentrations critiques correspondent des diamètres critiques. Ces concentrations critiques sont définies à partir de critères bactériologiques, cliniques et pharmacologiques :

- Le résultat « R » (résistant) signifie que le risque d'échec thérapeutique est grand car la bactérie sait résister à cet antibiotique ;
- Le résultat «S» (sensible) signifie qu'il n'y a pas de mécanisme de résistance exprimé *in vitro* (ce qui ne veut pas dire qu'il n'en existe pas du tout). Cela signifie qu'il y a une grande chance de succès thérapeutique à condition qu'on tienne compte des autres paramètres pharmacologiques (diffusion au site d'infection), toxicologiques et cliniques ;
- Le résultat « I » (intermédiaire) correspond à une zone d'incertitude qui ne peut prédire du succès ou d'échec thérapeutique.

3. Techniques génotypiques de détection de la résistance

Les méthodes génotypiques ont été largement appliquées à la détection de la résistance aux antibiotiques. Cependant, peut d'entre elles sont utilisées à ce jour en routine dans les laboratoires de microbiologie, soit par ce qu'elles sont encore trop onéreuses, soit parcequ'elles sont encore trop complexes à mettre en œuvre. Ces méthodes viennent donc dans la majorité des cas compléter les méthodes phénotypiques et représentent un plus dans le déroulement du rendu des résultats

au clinicien. En effet les méthodes génotypiques présentent un intérêt par rapport aux méthodes phénotypiques pour les bactéries à croissance lente ou difficilement cultivables. Elles sont applicables directement sur les produits pathologiques et permettent d'obtenir une réponse rapide, notamment en cas d'infection sévère.

A l'heure actuelle, les méthodes les plus utilisées en routine sont la détection du gène chez les staphylocoques *mecA*, la recherche de la résistance aux glycopeptides chez les entérocoques et la détection de la résistance à la rifampicine chez *Mycobacterium tuberculosis*.

La détection d'un gène de résistance a une valeur universelle à la différence des concentrations critiques mais bien évidemment, seuls les gènes de résistance connus sont détectables et ces méthodes génotypiques ne permettent pas la détection de nouveau mécanisme de résistance à la différence de l'antibiogramme «classique » qui évalue la relation bactérie-antibiotique et qui permet de détecter un nouveau mode de résistance (40).

MATERIEL ET METHODES

1. Cadre de l'étude :

Le service de laboratoire de l'hôpital de Sikasso a constitué notre cadre d'étude

- **Présentation de la région de Sikasso :**

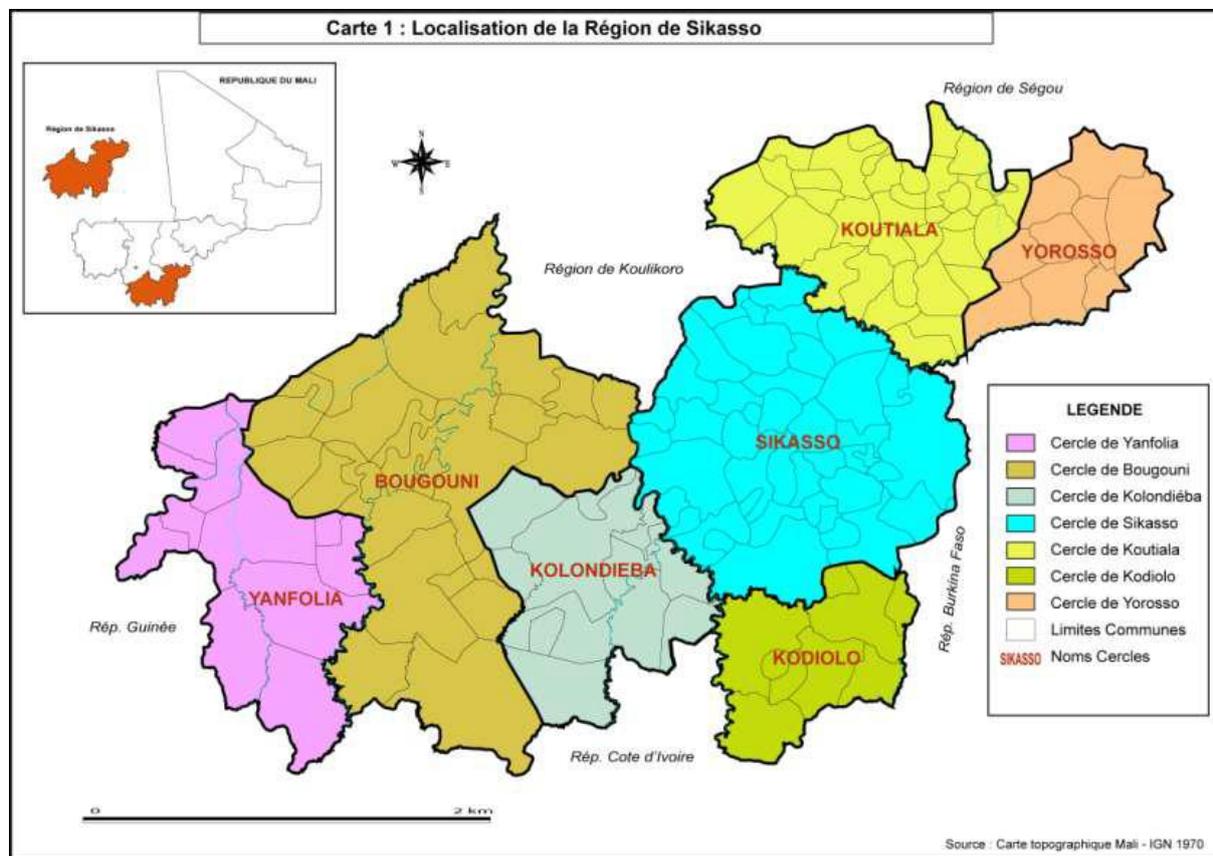


Figure 5: Carte de la région de Sikasso

La région de Sikasso est la troisième région administrative du Mali, elle occupe le sud du territoire national. Elle est limitée au nord par la région de Ségou, au sud par la république de Côte d'Ivoire, à l'est par le Burkina-Faso, au sud-ouest par la république de Guinée et au nord-ouest par la région de Koulikoro.

La superficie est de 71790km², soit 5,80% du territoire national avec une densité de 37 habitants par km².

- **Population :**

Estimée à 2625919 habitants soit 18,10% de la population malienne (INSTAT, 4^{ème} RGPH avril 2009).

○ **Organisation sanitaire :**

Elle comprend une direction régionale de la santé ; **10** CSRef ; un hôpital (deuxième référence) ; **220** CSCom fonctionnels ; **67** officines privées ; **4** cliniques privées, **27** cabinets médicaux, **9** centres paramédicaux (dont un centre de garnison). Il faut signaler l'existence d'au moins **7** CSCom et **145** dispensaires et maternités rurales hors carte sanitaire.

Le cercle de Sikasso couvre une superficie de **27500**km² et est composé de **15** quartiers administratifs et **5** quartiers spontanés.

➤ **Hôpital de Sikasso:**

L'hôpital de Sikasso est situé au quartier Lafiabougou non loin du commissariat de police du 2^{ème} Arrondissement sur la route de Missirikoro. Il renferme les services suivants :

- Service des entrées et de consultation externe
- Service de médecine générale
- Service de chirurgie générale
- Service d'oto-rhino-laryngologie
- Service de pédiatrie
- Service de gyneco-obstetrique
- Service d'anesthésie réanimation
- Service de cardiologie
- Service d'ophtalmologie
- Service de traumatologie
- Service de pharmacie
- Service des urgences
- Service laboratoire d'analyses médicales et le laboratoire banque de sang

Les activités couvertes sont :

- Les analyses et examens complémentaires ;
- Les activités transfusionnelles.

- Les supervisions des laboratoires des cercles.

Tableau II :Récapitulatif du personnel laboratoire-banque de sang de l'hôpital de Sikasso.

Qualifications	Fonction/responsabilité
Un Pharmacien Biologiste	Chef de service
Un Pharmacien Généraliste	Consultant banque de sang et RAQ
Deux Assistants Médicaux	Un Responsable du personnel
Quatre Ingénieurs Sanitaires	Agents techniques
Cinq Techniciens Supérieurs de Santé	Agents techniques
Deux Secrétaires	Accueil et orientation
Un manœuvre	Coursier

➤ **Service laboratoire d'analyses médicales et banque de sang**

- **Le Laboratoire d'analyses médicales comporte :**

- 1 salle accueil-orientation ;
- 1 salle d'attente.
- 1 Bureau pour pharmacien ;
- 1 Bureau pour le surveillant de service ;
- 1 salle de garde ;
- salles de prélèvement ;
- vestiaires ;
- 2 salles d'arrangements ;
- 4 salles de bactériologie ;
- 1 salle de sérologie ;

- 1 salle d'hématologie ;
- 1 salle de biochimie ;
- 1 salle de stérilisation ;
- 1 salle de stockage des produits ;
- **la Banque de sang comporte**
 - 1 salle d'accueil-orientation ;
 - 1 salle d'attente.
 - 1 salle de donneurs ;
- 1 salle de stérilisation ;
- 1 salle de stockage des consommables
- 1 salle d'analyse ;
- 1 chambre froide ;
- 1 bureau pour le biologiste ;
- 1 bureau pour le médecin ;
- 1 salle d'arrangement ;
- 1 aire de repos.

2. Type et période d'étude

C'est une étude, prospective, descriptive portant sur les souches bactériennes isolées des urines au laboratoire de biologie médicale de l'hôpital de Sikasso du 1^{er} février au 31 décembre 2017 (11 mois)

3. Critères d'inclusion

Ont été incluses dans notre étude les souches bactériennes isolées des urines au Laboratoire de biologie médicale de l'hôpital de Sikasso et ayant fait l'objet d'un antibiogramme.

4. Critères de non inclusion

N'ont pas été incluses dans notre étude, toutes les souches bactériennes n'étant pas isolées des urines ou n'ayant pas fait l'objet d'un antibiogramme.

5. Echantillonnage

Durant la période de notre étude, 740 prélèvements des urines de patients hospitalisés et externes ont été effectués, parmi ces prélèvements un total de 67 souches bactérienne sont été isolées.

6. Collecte des données

Les données ont été recueillies à partir des dossiers des patients. Dans ces dossiers, on pouvait trouver des informations telles que le numéro du patient, l'âge, le sexe, souche bactérienne responsable de l'infection urinaire et la résistance aux antibiotiques.

7. Matériel

7.1. Les souches bactériennes

Les souches bactériennes faisant partie de l'étude étaient constituées uniquement des souches bactériennes isolées des ECBU réalisés au Laboratoire d'analyses médicales de Sikasso du 1^{er} février au 31 Décembre 2017.

7.2. Consommables utilisés :

- Des pipettes Pasteur stériles
- Des boîtes de pétri
- Une huile à immersion
- Des gants d'examen
- Des seringues
- Des pots stériles
- Des tubes coniques à centrifuger, de 15 ml (ou autres tubes suivant le modèle de centrifugeuse,)
- Lames porte objet et lamelles
- Oese calibré stérile 10 µl
 - **Réactifs**
- Des colorants
- Des réactifs pour galerie d'identification rapide API 20 E entre autres
- Une suspension medium

- Des disques d'antibiotiques : (voir annexe)
- Milieux de culture (Gélose CLED, Gélose MH).
- De l'eau

- **Les autres matériels**

- Un bec Bunsen avec bouteille de gaz
- Une poire
- Un briquet
- Un marqueur à encre
- Une cellule de Malassez
- Un crayon diamant
- Anse de platine
- Bac à coloration
- Un densitomètre
- Une hotte
- Un glaceur contenant des accumulateurs

8. Techniques de l'examen cyto bactériologique des urines (E.C.B.U).

8.1. Les conditions de prélèvement

Les prélèvements ont été effectués en dehors de tout traitement d'antibiotiques, une fenêtre thérapeutique de 72h a été observée pour les patients sous traitement d'antibiotiques de préférence sur les premières urines du matin ou sur les urines de la journée (4 heures au moins après la miction précédente).

➤ Adulte coopératif et enfant avec miction volontaire

- Toilette intime au savon et de l'eau
- Eliminer le 1er jet d'urine dans les toilettes ;
- Recueillir dans le flacon stérile les urines au milieu du jet ;
- Eliminer dans les toilettes la fin du jet ;
- Puis déposer le flacon contenant les urines dans un glaceur contenant des accumulateurs.

➤ **Patient sondé:**

- Le prélèvement se fait sur une sonde nouvellement placée
- Clamper la tubulure avant le prélèvement ;
- Réaliser une hygiène des mains au savon mettre des gants à usage unique ;
- Vérifier la quantité d'urine présente dans la tubulure ;
- Désinfecter le site du prélèvement de la sonde à l'aide de coton stérile imbibé d'antiseptique alcoolique ;
- Aspirer à l'aide de la seringue jusqu'à remplissage et transvaser le contenu de la seringue dans le flacon stérile fourni par le laboratoire ;

➤ **Enfants de bas âge:**

Le milieu de jet est recueilli par les parents, après une toilette préalable du méat urinaire et des organes génitaux externes au savon et de l'eau ;

8.2. L'examen macroscopique

Ila consisté à noter l'aspect des urines.

Aspect : limpide, légèrement trouble, trouble, hémorragique,

Couleur : jaune, jaune pâle, jaune doré, jaune foncé, jaune clair, ambré.

8.3. Mise en culture

Ensemencer systématiquement pour éviter toute contamination des urines :

- ❖ Homogénéiser le prélèvement par agitation ;
- ❖ Porter le numéro d'identification du patient sur la gélose CLED devant recevoir l'ensemencement ;
- ❖ Diluer 10µl d'urines dans 1 ml d'eau stérile
- ❖ Etaler 10µl de la dilution sur la gélose CLED coulée en boîte de Pétri
- ❖ L'ensemencement proprement dit est réalisé à l'aide d'une oese stérile calibrée à 10µl :
 - Immerger l'oese dans l'urine en la tenant verticalement ;

- Décharger le contenu de cette oese en appuyant la boucle sur le haut de la gélose CLED;
- Tirer de ce point une verticale jusqu'au 1/3 de la boîte;
- Sans recharger l'oese, faire des stries perpendiculaires serrées en partant du point de dépôt, jusqu'à la fin ;
- Si la technique est correctement réalisée et si le dépôt n'est pas trop important, après incubation, la boîte doit présenter des colonies isolées.
 - ❖ Incuber à l'étuve à + 37°C, pendant 18 à 24H.

8.4. L'examen microscopique

➤ La cytologie quantitative

Après agitation délicate, mettre 1µl d'urine dans la cellule de Malassez, laisser reposer quelques minutes et lire au microscope à l'objectif x10 et x40 puis noter les différents éléments rencontrés dans les urines à savoir : les leucocytes et les hématies.

- Leucocytes par mm³ ou bien par ml

- Hématies

Seuil de décision: 10⁴Leucocytes/ml

➤ La cytologie qualitative

➤ Préparation du culot urinaire:

Centrifuger 5 minutes à 2500 tours/minute dans un tube conique.

Étaler une goutte du culot entre lame et lamelle et lire au microscope à l'objectif x40 puis noter les différents éléments rencontrés dans le culot à savoir : leucocytes , hématies, cellules épithéliales, cristaux, cylindres, les œufs de Schistosomes, les Trichomonas ...

✓ **Coloration de Gram**

C'est la coloration de base en bactériologie et elle permet une classification des bactéries selon leur structure.

Technique :

Fixer la préparation à la chaleur douce (ou à l'alcool à 95° à froid). Laisser refroidir. Recouvrir la lame avec le violet de gentiane phénique pendant 1 minute.

Rejeter le colorant et rincer à l'eau courante pour éliminer toute trace de violet de gentiane phénique en excès.

Rincer puis colorer avec le liquide de lugol stabilisé pendant 30 secondes à 1 minute. Rincer abondamment à l'eau courante.

Décolorer avec le différenciateur rapide. Rincer rapidement à l'eau courante. Colorer avec la fuchsine de ziehl 1/10 pendant une minute.

Rincer brièvement à l'eau courante et laisser sécher le frottis.

Lecture au microscopique, à objectif $\times 100$ à immersion.

➤ **Résultat :**

A la coloration de Gram :

- Bactéries Gram négatif : coloration rose
- Bactéries Gram positif : coloration violette
- Levures : forme ovale coloration violette

8.5. Lecture et interprétation

➤ **Numération**

Une numération $\leq 10^4$ germes/ml correspond le plus souvent à une contamination. Toutefois, un tel résultat doit être interprété en fonction de la leucocyturie et du contexte clinique.

Une numération $\geq 10^5$ germes/ml correspond probablement à une infection, à condition que le prélèvement ait été correctement réalisé.

Tableau II : Interprétation des résultats de l'E.C.B.U.(41).

Critères significatifs de Stamm			Eventualités Interprétation	Conduite
Leucocyturie	Bactériurie	Colonie		
Non	Non	0	E.C.B.U stérile	normal
Oui	Non	0	* infection traitée * bactérie exigeante (B.K.) * leucocytes Génitaux	E.C.B.U. à Refaire
Non	Oui	Une sorte	* infection débutante * infection aplasique *contamination	Identification et antibiogramme ou à contrôler
Oui	Oui	Une sorte	Infection typique	Identification et antibiogramme
Non	Non	> 1	Souillure	Aucune
Oui	Non	≥ 2	Infection sur sonde	A contrôler
Non	Oui	≥ 2	Souillure	Aucune
Oui	Oui	≥ 2	* infection poly microbienne	A refaire

8.6. Identification des bactéries

➤ Les bacilles à Gram négatif

- Recherche de l'oxydase:

Distribuer précisément 1 goutte de réactif sur un papier filtre, étaler la colonie sur le papier filtre

- Lecture interprétation

L'apparition en 10 à 30 secondes d'une coloration allant de violet à pourpre indique un test positif.

Des réactions tardives ou l'absence de couleur indiquent un test négatif

- Identification par la galerie API 20 E

La galerie API 20E est un système standardisé pour l'identification des entérobactéries et autres bacilles à Gram négatif. C'est une technique de routine très utilisée en milieu professionnel pour le diagnostic in vitro et le contrôle microbiologique.

Une galerie se compose de 20 micro-tubes contenant un substrat déshydraté pour réaliser 20 tests biochimiques miniaturisés.

On inocule chaque tube avec la suspension bactérienne à identifier, Certains des puits auront des changements de couleur résultants des différences de pH qui se traduisent par des virages colorés ; d'autres produisent des sous-produits qui doivent être identifiés avec des réactifs. Un numéro de profil est déterminé d'après la série de tests (+ et -), qui permet d'identifier l'espèce

• Préparation de la galerie

On répartissait un peu d'eau dans les alvéoles du fond pour créer une atmosphère humide puis on marquait la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte

- **Inoculation de la galerie**

La galerie a étéensemencé avec une **pipette Pasteur stérile ouverte** chargée en suspension, pointe posée sur un côté de la cupule, en laissant couler doucement la suspension dans la cupule. La boîte étant légèrement inclinée pour éviter la formation de bulles.

Pour les **caractères encadrés (CIT, VP, GEL)** : on remplissait entièrement la cupule (tube et orifice) → mise en aérobiose, pour les autres caractères, on ne remplissait que le tube.

Pour les caractères soulignés (**ADH, LDC, ODC, H₂S, URE**) : l'orifice de la cupule a été rempli avec de l'huile de vaseline stérile → mise en anaérobiose. Refermer la boîte et mettre à l'étuve à **37°C** pendant 18 à 24 heures.

- **Lecture**

Les réactifs appropriés ont été ajoutés aux compartiments :

-1 goutte de réactif de Kovac à l'IND (faire la lecture dans les minutes qui suivent).

-1 goutte de réactif de VP1 et VP2 (une réaction positive peut prendre jusqu'à 10minutes).

-1 goutte de réactif TDA.

Noter les résultats et comparer les réactions avec le tableau de différenciation (Annexe 4)

➤ **Les Cocci à Gram positif**

- **Recherche de la catalase**

La catalase est une enzyme ayant la propriété de décomposer le peroxyde d'hydrogène (**H₂O₂**) avec dégagement d'oxygène selon la réaction suivante:



- **Technique**

On déposait sur la lame 1 goutte peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), disperser 1 à 2 colonies dans la goutte.

- **Lecture et interprétation**

La présence d'une catalase se traduisait par le dégagement immédiat de bulles d'oxygène.

• **Recherche de la coagulase :**

On prélevait 2 – 4 colonies sur CLED ; Mélanger doucement dans 1 ml de plasma citraté.

Incuber à l'étuve à 37°C pendant 4heures.

✓ **Résultat :**

Si la coagulase est négative : absence de formation de coagulum,

Si la coagulase est positive : le coagulum ne se détache pas lorsque le tube est retourné.

Suspicion de *Staphylococcus aureus*.

Aspect avant

Aspect du test positif

Aspect du test négatif

Ensemencement



Figure 6: Test de la coagulase (42).

Nous avons utilisé les disques d'antibiotiques suivants (Pénicilline G ; Cefoxitine ; Gentamicine ; Tobramycine ; Kanamycine ; Erythromycine ; Norfloxacin) pour tester la sensibilité des souches *S. aureus*. Les souches *S.*

aureus ont été appelées méticillino-résistant lorsque le disque Cefoxitine inactif sur ces souches

8.7. L'antibiogramme

8.7.1. Principe:

L'antibiogramme par diffusion permet de déterminer la sensibilité des bactéries à croissance rapide vis-à-vis panel d'antibiotiques.

Des disques imprégnés d'antibiotiques sont déposés à la surface d'un milieu de culture standardisé (milieu de Mueller-Hinton) préalablement ensemencé avec une dilution calibré de la bactérie à tester.

L'arrêt de la croissance à distance du disque se produit en présence de la concentration minimale inhibitrice

8.7.2. Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture visible du prélèvement, on réalisait une suspension bactérienne en solution salée pour atteindre une turbidité équivalente à celle de l'étalon 0,5 de la gamme de McFarland à du densitomètre

Pour ce faire, on prélevait plusieurs colonies de même morphologie (si possible) afin d'éviter de sélectionner un variant atypique et on Mettait ces colonies en suspension en milieu salé avec une öse stérile, calibre à 0,5 Mac Ferland.

8.7.3. Ensemencement par écouvillonnage

Plonger un écouvillon en coton stérile dans la suspension bactérienne et éliminer l'excès de liquide en tournant l'écouvillon sur les parois du tube.

La totalité de la surface de la gélose a été écouvillonné dans trois directions.

8.7.4. Application des disques

Les disques choisis ont été posés à l'aide d'une pince flambée qui étaient parfaitement appliqués à plat sans glissement en appuyant légèrement sur la surface de la gélose.

Une distance minimale de 15 mm sépare un disque périphérique du bord de la boîte et deux disques ont été éloignés au minimum de 30mm de sorte que les zones d'inhibitions ne se chevauchent pas. Les boîtes sont ensuite portées à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures ; en position renversée.

8.7.5. Lecture et interprétation

Elle a consisté à déduire à partir de la mesure des diamètres d'inhibition, le caractère sensible, ou résistant de la bactérie en comparant les résultats aux valeurs critiques (Annexe 4).

Mesurer le diamètre de la zone d'inhibition (\emptyset mesuré) et le comparer aux diamètres des concentrations critiques inférieur et supérieur (DCCinf et dCCsup) afin de déterminer la sensibilité et la résistance comme indiqué dans le tableau ci-dessous.

Tableau III: Interprétation de la sensibilité et de la résistance d'une souche à un antibiotique

$\emptyset \text{ mesuré} \geq DCCinf$	Sensible
$\emptyset \text{ mesuré} < dCCsup$	Résistance
$dCCsup \leq \emptyset \text{ mesuré} < DCCinf$	Intermédiaire

9. Aspects d'éthique

L'autorisation des responsables de l'hôpital et du laboratoire ont été obtenue pour l'utilisation des dossiers.

L'anonymat et la confidentialité des patients ont été respectés.

10. Saisie et analyse des données

Les données ont été recueillies sur Microsoft Excel version 2010.

Les graphiques et tableaux ont été réalisés sur Microsoft Excel version 2010.

La saisie a été faite sur Microsoft Word version 2010.

Les données ont été traitées sur les logiciels Excel 2010 et épi-info avec différence significative si P inférieur ou égal 0,05.

RESULTATS

1. RESULTATS GLOBAUX

Parmi les **740 ECBU** collectés pendant la période d'étude, nous avons observé **67** cultures positives soit **9,05 %** des cas.

Parmi les **67** cultures positives, nous avons isolé **12** germes différents, dont **3** étaient majeurs à savoir : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*; *Staphylococcus aureus* qui représentaient **76,12%**.

2. RESULTATS DESCRIPTIFS

2.1. Répartition des patients en fonction du genre

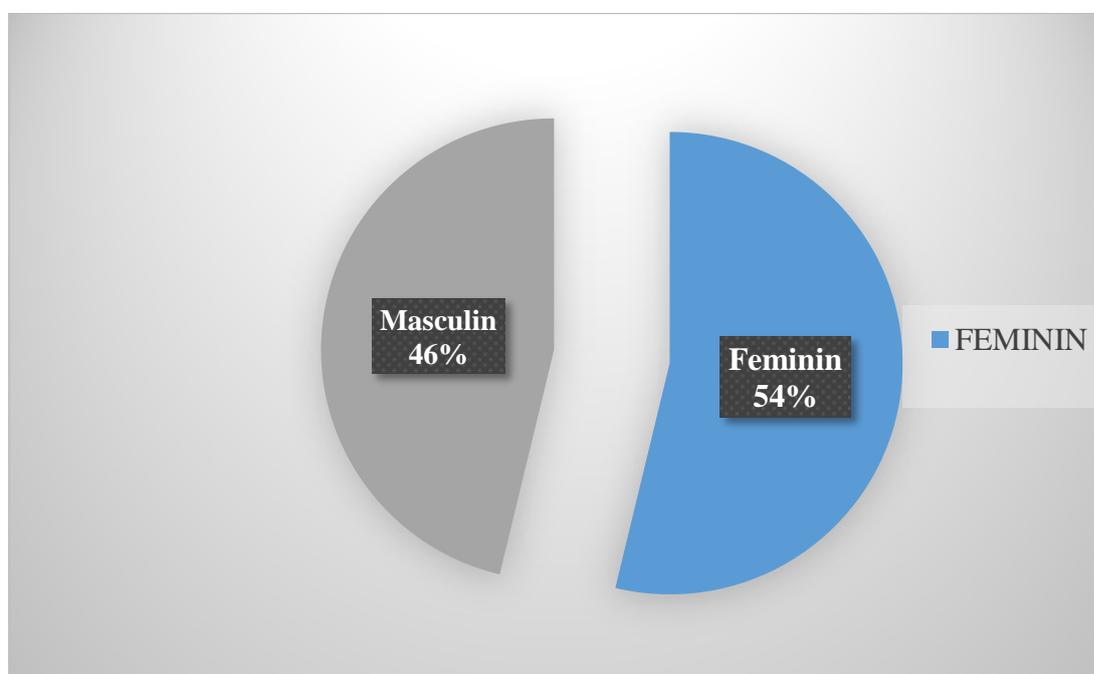


Figure 7 : Répartition des patient en fonction du sexe.

Les femmes étaient majoritaires avec un sex ratio de **0,85**.

2.2. Répartition des patients en fonction de la tranche d'âge

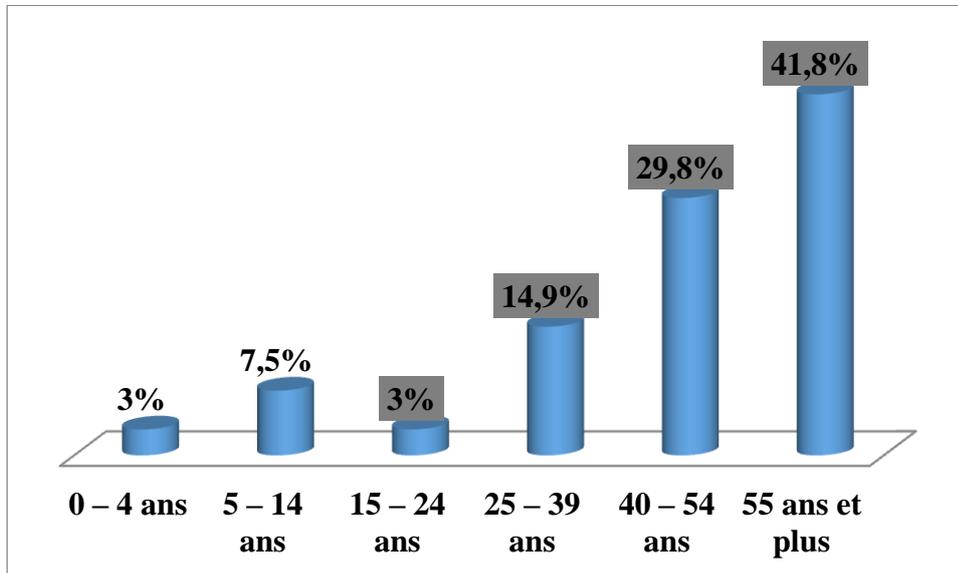


Figure 8: Répartition des patients en fonction de la tranche d'âge.

La tranche d'âge supérieur (**55 et plus**) était la plus représentée avec 41.8%.

2.3. Répartition des patients selon leur provenance

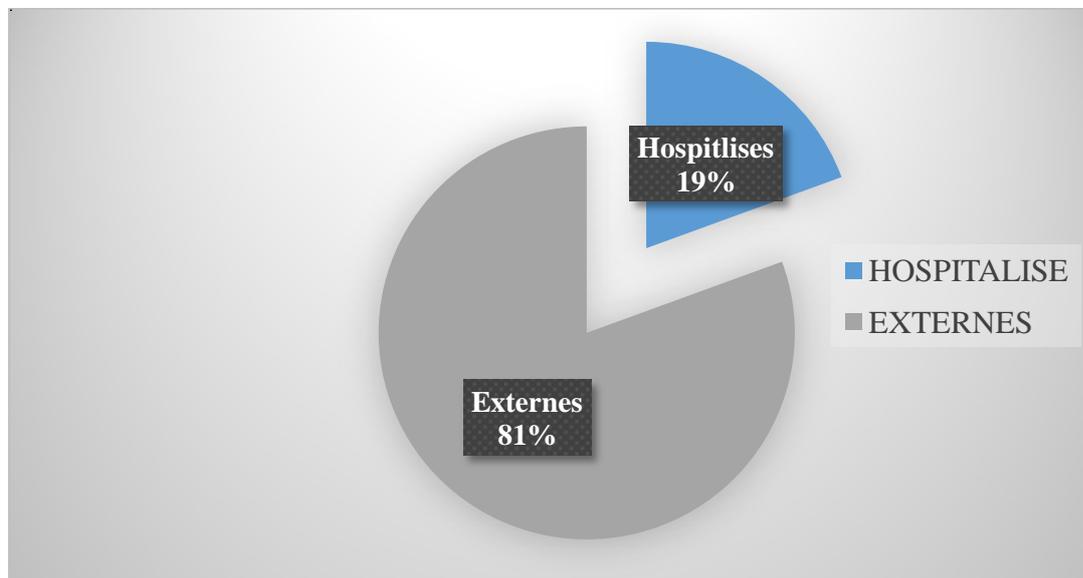


Figure 9: **Répartition des patients selon leur provenance.**

Les consultants externes représentaient **81%** des cas.

Tableau IV : Répartition des germes en fonction de la coloration de Gram.

Nature des germes	Nombre	Pourcentage
Cocci à Gram positif	7	10.45
Bacille à Gram négatif	60	89.55
Total	67	100

Les Bacilles à Gram négatif représentaient **89,55%**.

3. ISOLEMENT DES GERMES

3.1. Répartition des germes isolés

Tableau V : Répartition des bactéries isolées selon l'espèce.

GERMES	Effectifs	Pourcentage
<i>Escherichia coli</i>	35	52,23
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9	13,43
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	10,45
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	4,48
<i>Salmonella spp</i>	3	4,48
<i>Citrobacter koseri</i>	2	2,99
<i>Serratia odoriferra</i>	2	2,99
<i>Acinetobacter spp</i>	2	2,99
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	1,49
<i>Enterobacter spp</i>	1	1,49
<i>Proteus mirabilis</i>	1	1,49
<i>Providencia rettgeri</i>	1	1,49
Total	67	100

Les entérobactéries étaient les germes majoritairement isolés, suivi de *Staphylococcus aureus* et enfin *Pseudomonas aeruginosa*

4. Résistance aux antibiotiques des germes majoritairement isolés.

Tableau VI: Profil de résistance aux antibiotiques des germes majoritairement isolés

Antibiotique	<i>E. coli</i> (n=35)	<i>K.pneumoniae</i> (n=9)	<i>Salmonellaspp</i> (n=3)	<i>Ps. aeruginosa</i> (n=3)
Ampicilline	100%	NT	66.7%	NT
Amoxicilline/Acide clavulanique	94,3%	100%	66.7%	NT
Ticarcilline	100%	NT	66.7%	66.7%
Cefoxitine	11,4%	0,00%	66.7%	NT
Céfotaxime	48,6%	77,8%	33.3%	NT
Ceftazidime	48,6%	77,8%	33.3%	66.7%
Imipénème	0,00%	0,00%	0.00%	0.00%
Amikacine	29,9%	55,6%	0.00%	33.3%
Gentamicine	31,4%	55,6%	33.3%	33.3%
Tobramycine	45,7%	55,6%	33.3%	66.7%
Acide nalidixique	77,2%	89%	66.7%	NT
Norfloxacin	65,7%	44,5%	66.7%	33.3%

NT : non testé (résistance naturelle)

Les entérobactéries ont présentés des résistances très élevées aux pénicillines ; fluoroquilonones

Les souches *Ps. aeruginosa* ont exprimées une résistance de **66.7%** (ticarcilline ; ceftazidime et à la tobramycine)

Tableau VII : Phénotypes de résistance des souches de *S. aureus* aux antibiotiques

Antibiotiques	Betalactamines		Aminosides			Quinolone	Macrolides
Phénotypes	METI-R	K	T	G	KTG	Nor	Ery
%	71%	42.9%	28.6%	28.6%	28.6%	43%	71%

Les phénotypes de résistance les plus rencontrés par cette souche étaient les METI-R dans 71% des cas et 71% de résistance à l'érythromycine

5. PHENOTYPES DE RESISTANCE DES ENTEROBACTERIES

majoritairement isolés AUX BETALACTAMINES

Tableau VIII: Répartition des entérobactéries majoritairement isolés en fonction des phénotypes de résistance aux bêta-lactamines

Germes	Sauvage	PNB	CBN	PHN	CHN	BLSE
<i>E. coli</i>	-	5,7 %	-	45,7 %	11.4%	37,1 %
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	22,2 %	-	77,8 %
<i>Salmonella spp</i>	33, 3%	-	-	33, 3 %	-	33, 3 %

Légende: PBN: Pénicillinase bas niveau; PHN: Pénicillinase de haut niveau; CHN: Céphalosporinase haut niveau; BLSE: Bêtalactamase à spectre élargi ; CBN: Céphalosporinase bas niveau .

Les mécanismes de résistance les plus rencontrés par les entérobactéries étaient la production d'une Bêtalactamase à spectre élargi et la production d'une pénicillinase de haut niveau.

DISCUSSIONS

DISCUSSIONS :

1. Résultats globaux

1.1. Fréquence des infections urinaires

Au cours de notre étude nous avons réalisé **740** ECBU parmi lesquels **67** étaient positives.

La fréquence des infections urinaires est de **9,05 %**.

Ce taux est comparable à celui de **Tony** (42) en 2014 au Mali **11,1%** (P=0.12), mais inférieur à celui de **d'Illham** (43) à Rabat en 2010 **11,6%** (P= 0.03), et **Zomahoun** (44) qui a trouvé **12.97%** avec des différences statistiquement significatives (P=0.00). Cette différence pourrait s'expliquer par la taille de notre échantillon.

De même plusieurs malades sont soumis à une automédication avant la réalisation de l'analyse, Ce qui contribue à masquer la flore bactérienne pathogène et entrave sa multiplication sur les milieux de culture.

De plus les examens d'ECBU sont souvent prescrits systématiquement, par le clinicien, dans des bilans préopératoires ou à titre préventif comme dans le cas de la femme enceinte.

On a également noté au cours de notre étude que ces infections étaient plus fréquentes chez les malades consultants à titre externe **81%** que chez les malades hospitalisés **19%** car l'infection urinaire constitue une des infections bactériennes communautaires les plus fréquentes (45). La même remarque était observée lors de l'étude réalisée à Bamako par Tony en 2014 où les **60,8%** des ECBU étaient d'origine externe (42).

2. Données sociodémographiques

Dans notre étude, la tranche d'âge la plus touchée est celle de **55 ans et plus** avec **41,8%**. Les extrêmes étaient de **2 et 84 ans**, avec une moyenne de **49 ans**. Ces observations sont en accord avec **Tony** (42) en 2014 à Bamako qui a rapporté que les infections urinaires ont été plus fréquentes chez les malades

âgés de plus de **60 ans** avec **37,3%** avec des extrêmes de **2 et 94 ans**, avec une moyenne de **46,85 ans**.

Une prédominance du sexe féminin a été notée avec **54%** contre **46%** pour les hommes (**soit un sex-ratio H/F = 0,85**)

Ce résultat concorde parfaitement avec les données classiques de la littérature (46, 47,48) où les femmes sont toujours majoritaires.

La prédominance féminine serait liée à la configuration anatomique : brièveté de l'urètre, proximité des orifices génital et anal et grossesse.

3. ISOLEMENT DES GERMES

3.1. Répartition des germes isolés

Les bacilles à Gram négatif, représentaient **89,55%** de l'ensemble des bactéries isolées.

Ils sont représentés essentiellement par les entérobactéries **82,08 %** avec en tête de liste *E. coli* (**52,23 %**).

Quant aux Cocci, ils ont une fréquence de **10,45 %**.

Cette répartition est conforme aux données de la littérature (44, 45,46).

La physiopathologie ascendante de l'infection urinaire ainsi que la forte colonisation du périnée par les entérobactéries d'origine digestive, associées aux facteurs spécifiques d'uropathogénicité telles que les andésines bactériennes capables de se lier à l'épithélium urinaire expliquent cette prédominance (45).

3.2. Fréquence d'isolement des germes

Escherichia coli est la bactérie la plus isolée dans **52,23%** des cas. Elle est suivie de *Klebsiella pneumoniae* 13,43% ; *Staphylococcus aureus* **10,45%**; **4,48%** (*Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella spp*); **2,99%** (*Acinetobacter spp*, *Citrobacter koseri*, *Serratia odoriferra*), et enfin **1,49%** (*Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *Providencia rettgeri*, *Enterobacter spp*).

Comme pour la plus part des auteurs *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* restent les germes les plus fréquemment isolés (42, 44,45).

4. RESISTANCE DES BACTERIES AUX ANTIBIOTIQUES

Dans cette partie nous nous limiterons aux trois principales bactéries dont l'importance quantitative est significative. Ces trois bactéries les plus fréquemment isolées sont : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylocoque aureus*.

4.1. Profil de résistance des souches d'*E. coli*

Nos souches d'*Escherichia coli* avaient un taux de résistance de **100 %** (l'ampicilline, ticarcilline), **94,3%** à l'association amoxicilline/acide clavulanique.

Ces taux diffèrent statistiquement ceux de :

- **Tonyen** 2014(42) qui a rapporté une résistance de **91,6%** à l'amoxicilline, **92,4 %** à la ticarcilline, **66,3%** à l'association amoxicilline/ acide clavulanique (P=0,00),
- **Niangaly Nen** 2008 (49) a rapporté une résistance de **99,95%** à l'ampicilline, **57,9%** à l'association amoxicilline/ acide clavulanique(P=0,00).
- **Zomahoun** en 2004(44) a rapporté une résistance de **92,5%** à l'ampicilline, **57,10%** à l'association amoxicilline/ acide clavulanique (P=0,00).

Ces hautes prévalences pourraient trouver une justification dans l'automédication et les erreurs de prescription souvent rencontrées dans nos structures sanitaires.

De plus le commerce illicite et libre des médicaments dans nos marchés, qui sont les facteurs aggravant la multiplication des résistances aux antibiotiques.

Quant aux céphalosporines de 2^{ème} et 3^{ème} génération, nous avons enregistré : 11,4% pour la cefoxitine et 48,6 % pour les céphalosporines de 3^{ème} génération (la céfotaxime et la ceftazidime).

Les 48,6 % de résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération (céfotaxime et ceftazidime) ne diffèrent pas statistiquement des **57.3%** de Tony (42) en 2014 (P=0,35) et de **Samou** (51) en 2015 **71%** à la céfotaxime (P=0,07). Les **11,4%** de la cefoxitine diffèrent statistiquement à celui de Tony (42) en 2014 qui a trouvé **30%** (P=0,00) et de Samou (51) en 2015 qui a trouvé 30% à la cefoxitine (P=0,00).

Toutes les souches *E. coli* isolées étaient sensibles à l'imipenème.

Dans notre étude nous avons trouvé **45,7%** de souches d'*E. coli* productrices de PHN ; **37,1%** de BLSE ; **5,7%** de PBN ; **11,5%** de CHN.

Ces taux sont comparables aux ceux de :

- **Zafindrasoa en 2017** (50) **50%** PHN (P=0.66), **22,5%** de BLSE (P=0.09),
- Aussi au ceux retrouvé au niveau du centre Hospitalier Régional de Saint Louis (Sénégal) en 2012 qui étaient de 52% BLSE (P=0.12),
- **Ceux de N.S.M** et coll en 2016 [21] (30) **56,71%** BLSE (P=0.07).

Les souches présentaient également des résistances aux Quinolones avec **77,2%** à l'Acide Nalidixique, et **65,7 %** à la norfloxacine.

Les **77,2%** de l'Acide Nalidixique ne diffèrent pas statistiquement des **78%** de Samou (P=0.45) (**51**), des **74,8 %** de Tony en 2014 (P=0.77) (42).

Nos souches avaient une résistance de **65,7 %** à la norfloxacine contre **88%** de **Maryab B** en 2014 (P=0.00) (52)

Les Aminosides présentait des résistances de l'ordre **45%** à la tobramycine, **31,4%** à la gentamicine et **29,9%** à l'amikacine.

Ces taux de résistance d'*E. coli* aux aminosides sont similaires à ceux de :

- **Tony** (42) en 2014 à Bamako quia trouvé **20,6%** à l'amikacine (P=0.77), **42,0%** à la gentamicine (P=0.25), **45,0%** à la tobramycine (P=0.77),
- **Samou** (51) qui a observé en 2015 des résistances de l'ordre **57%** à la tobramycine (P=0.21), **49%** à la gentamicine (P=0.21).

L'efficacité apparemment conservée des aminosides pourrait s'expliquer par leur voie d'administration souvent parentérale qui limite leur utilisation.

3.2. Profil de résistance des souches de *K. pneumoniae* aux antibiotiques

Les souches de *Klebsiella pneumoniae* avaient un taux de résistance à l'association amoxicilline / acide clavulanique (**100%**), **77,78 %** à la (céfotaxime, céftazidime).

Les **100%** de résistance à l'association amoxicilline / acide clavulanique ne concordent pas à ceux de **Sekhri-A** (53), en 2009 à Constantine, qui avait trouvé **43,35%** des souches résistent à l'association amoxicilline-acide clavulanique.

Par contre d'après une étude réalisée à Casablanca, *klebsiella* a résisté à l'association amoxicilline/clavulanate dans **100%** des cas en 2005 (54).

Les fréquences de résistance **77, 8%** (céftazidime, céfotaxime) et 0,00% (Imipénème et céfoxitine) sont conformes avec celles observées par **Sekhri** (53), en 2009 à Constantine **61.76%** pour le céfotaxime (P= 0,12), 0,00% (imipénème ; cefoxitine).

La fréquence des souches possédant une bêtalactamase à spectre élargi (BLSE) était **77.8%**, et celles ayant une pénicillinase de haut niveau était **22.22%**, ces résultats ne diffèrent pas statistiquement aux ceux de **Souna** (55) en 2011 a

trouvé **80%** de BLSE ($P=0.74$) et ceux de **N.S.M** et coll (31) en 2016 ont observé **41.79%** de BLSE ($P=0.14$) mais différent statistiquement de ceux de **Sekhri** (53) en 2011 **62%** de BLSE ($P=0.00$) et **8% de PHN** ($P=0.00$) .

Concernant les aminosides nos souches *Klebsiella pneumoniae* avaient un taux de résistance de **55,6 %** (gentamicine, tobramycine, amikacine).

Cette fréquence **55,6 %** est statistiquement similaire à celle ceux de **Sekhri** (53), en 2009 à Constantine qui a trouvé **69,23 % à la gentamicine** ($P=0,71$), **48,07%** à l'amikacine ($P= 0,93$) et aux ceux de **Tony** en 2014 (42) **63,3 %** à la gentamicine ($P= 0,97$), **48,07%** à la tobramycine ($P= 0,83$) mais une différence statistiquement significative avec amikacine ($P= 0,00$).

Pour les Quinolones, nous avons observé une résistance assez significative avec **89%** à l'acide nalidixique et **44,5 %** à la Norfloxaciné,

Ces fréquences ne diffèrent pas statistiquement de ceux de **Tony** en 2014(42) **74,8%** à l'acide nalidixique ($P= 0,60$) et ceux de **Yabi** (46) en 2006 à Bamako **40%** (l'acide nalidixique, norfloxaciné) ($P= 0,08$), ($P= 0,78$).

3.3. Profil de résistance des souches de *S. aureus* aux antibiotiques

Parmi les **7** souches testées, nous avons noté **71% de Méti-R** et **29% Méti-S**.

Notre fréquence de SARM est similaire à celle de **Guirguitzova et coll** en 2002 (48) **33%** Méti-R ($P=0.14$) et de **Oumar A** (56) en 2009 qui a trouvé **54,7%** Méti-R ($P=0.61$).

Nous avons trouvé une bonne efficacité des aminosides sur *S. aureus* avec des taux de résistance de **42.9%** à la kanamycine et **28.6%** de résistance de la tobramycine et la gentamicine.

Les **28.6%** de résistance de la tobramycine et la gentamicine concordent statistiquement à ceux de **Oumar** **42,3%** à la gentamicine ($P=0.72$), **42.3%** à la tobramycine ($P=0.50$).

Nous avons observé une résistance de **43%** à la norfloxaciné et **71%** à l'érythromycine.

Dans une étude française réalisée par **Branger** en 2004 (57) cette bactérie a présenté une résistance de **44,9%** à l'érythromycine.

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

CONCLUSION

Nos résultats montrent que l'épidémiologie bactérienne des infections urinaires n'a pas beaucoup changé, elle reste dominée par les entérobactéries. Toutefois, le niveau de résistance aux antibiotiques devient de plus en plus élevé atteignant des taux inquiétants notamment vis-à-vis des bêta-lactamines et des quinolones. Les carbapénèmes, les céphamycines et les aminosides gardent cependant une bonne activité, d'où l'intérêt de ne pas abuser de ces molécules pour diminuer la pression de sélection. L'émergence rapide et préoccupante de souches uropathogènes productrices de PHN, BLSE et les SARM constitue un véritable problème de santé publique et doit motiver la pratique systématique d'un antibiogramme pour orienter le traitement.

Recommandations

Nous proposons, à la lumière des résultats obtenus, la mise en œuvre de quelques mesures devant déboucher sur un meilleur contrôle de ces phénomènes de résistance aux antibiotiques

Au Ministère de la santé :

- Sensibiliser la population à éviter l'automédication qui constitue un risque d'échecs thérapeutiques et facilite l'émergence des résistances bactériennes ;
- Mettre en place un mécanisme de surveillance de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques ;
- Mettre en œuvre des moyens suffisants permettant la surveillance épidémiologique de la résistance aux antibiotiques des souches bactériennes isolées au laboratoire.

Aux prescripteurs :

- Demander dans la mesure du possible un antibiogramme avant d'envisager une antibiothérapie.

A la population :

- fréquenter les centres de santé

REFERENC

ESBIBLIOGR

APHIQUES

1. *Pseudomonas aeruginosa* :

http://fr.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas_aeruginosa, consulté le 29/07/2017 à 16h

2. **Lewis K.** Platforms for antibiotic discovery. *Nat Rev Drug Discov.* 2013 Apr 30; 12(5):371–87.

3. **BECQ-GIRAUDON B.** Bactériurie asymptomatique du sujet âgé. *Med Mal Infect* 199 ; 21(2bis) ;,149-156.

4. **HUMBERT G.** L'antibiothérapie des infections urinaires. *Méd. Mal. Infect* 199 ; 21(2 bis) :49 50

5. **Ben Haj Khalifa A, Khedher M.** Fréquence et résistance aux antibiotiques des bactéries uropathogènes à l'hôpital universitaire TAHAR SFAR DEMAHEDIA. *Revue Tunisienne d'Infectiologie*, 2010 Avril ; Vol.4, N°2:57 61.

6. **Weber P, Dib C, Durand C, Moniot-Ville N.** Evaluation de la sensibilité à la lévofloxacine des souches isolées d'infections urinaires basses communautaires. *Pathol Biol.* 2005;53:125-8.

7. **M'BAKO B.** profil clinique et bactériologique des infections urinaires dans le service de néphrologie et hémodialyse de l'hôpital national du point « G ». Thèse, méd. N°48M, Bamako, 2002.

8. **Monsieur Tony Jonan Zardelon ZITTI.** Mise en place de la surveillance des résistances aux antibiotiques des germes responsables d'infection urinaires dans le laboratoire Rodolphe Mérieux de Bamako, 2014, N°05P11, thèse de pharmacie.

9. **Niangaly N.** Etude de l'examen cyto bactériologique des urines au laboratoire d'analyse médicale à l'hôpital Nianankoro Fomba de Ségou, Bamako, 2008, N°08p42, thèse pharmacie.
10. **Schorder et M., et coll.** Pharmacologie. Des concepts fondamentaux aux Applications thérapeutiques. 2ème édition. Genève: Slatkine; 1992. 671-757 p.
11. **Gaudy C.** (2005). Antibiotiques : pharmacologie et thérapeutiques. Elsevier. Amsterdam. 269 p.
12. **Le Chat.** Généralités sur les antibiotiques. Pharmacologie médicale Paris Masson, 1982, pp. 108-260.
13. **Lemeland JF.** Les bêtalactamines : mécanisme d'action et de résistance bactérienne. Rév. Méd., 1979, 20, pp.108-123.
14. **Courvalain P, Goldstein F, Philippon A, Sirot J.** L'antibiogramme. MPC / Vigot 1^{ère} édition 2^e tirage 1985.
15. **Jarlier V, Simegre M, Bismuth R, Nguyen J.** Relation entre la sensibilité des bacilles à gram négatif aux antibiotiques et à la consommation d'antibiotiques. New. Press. Med ; 1981, 10, pp. 35-45.
16. **Gabaston JM, Chouakt J, Mangeot J, Zemma et al.** Phénotype de résistance aux antibiotiques des germes les plus fréquemment isolés dans cinq centres hospitaliers spécialisés. Etude multicentrique Path. Biol., 1995, 43 pp. 320-321.
17. **Guillemot D.** Les liens entre la consommation des antibiotiques et résistance bactérienne ; conséquence propre. Med. Hys. , 2000, 58, pp. 1970-1974.
19. **Soussy C., Duval J., Courvalin P.** Résistance aux antibiotiques chez *Escherichia coli*: états actuel et nouvelles acquisitions. Médecine Mal Infect. 1988; 18(1):29–36.
20. Groupe des professeurs de Bactériologie des facultés et Ecoles de Médecine d'expression française. Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en

médecine. 12^{ème} édition, LaMadeleine : C et R, 1984 : 376p.

21. Agregé S., Belguith J., Hadiji R. (2015) .Généralités sur les Anti-infectieux, en médecine

22. Gaudy C. (2005). Antibiotiques : pharmacologie et thérapeutiques. Elsevier. Amsterdam. 269 p.

23. Perronne C. (1999). Maladies infectieuses. Wolters Kluwer France. 406p.

24. HOUNTONN arcisse W. Sensibilité des germes aux antibiotiques dans les infections urinaires de l'enfant à Cotonou (à propos de 213 souches bactériennes) Thèse de Med 2000 N° 30.

25. François D, Marie-Cécile P, Christian M, Edouard B, Roland Q. Bactériologie médicale Techniques usuelles, édition 565 pages.

26. podie magne N. Karelle. Evaluation de la sensibilité aux antibiotiques des germes les plus fréquemment isolés au laboratoire de bactériologie du CNHU de Cotonou (à propos de 896 souches bactériennes isolées du 1er Mars au 30 Juin 1999). Thèse de Med 1999. N°853, 145 pages.

27. Das RN, Chandrashekar JTS, Gurung M, Shrestha N et al. Frequency and Susceptibility profile of pathogens causing urinary tract infections at a tertiary care hospital in Western Nepal., 2006, Singapore Med J

28. Alexander S ECN., le tout-en-un 2010. Vol: 1248. 1: 1204-1210.

29. Fauchère JL. Bactériofiches : Techniques en Bactériologie clinique. Edition Marketing S.A; 1997.

30 . Sangaré A. Association infection urinaire et grossesse dans le service de gynéco-obstétrique du Centre Hospitalo-universitaire Gabriel Touré : Aspects cliniques, Bactériologiques et pronostiques. A propos de 106 cas, Bamako, 2010, N°10M80, thèse de Médecine.

31 Hervé JACQUIER. Mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques - Conférence internat - Paris Luxembourg. 2011.

32. **Briandet R, Fechner L, Naïtali M, Dreanno C.** **Biofilms** : quand les microbes s'organisent. Editions Quae; 2012. 180 p.
33. **Geslin P, Buu-Hoi A, Frémaux A, Acar JF.** Antimicrobial Resistance in *Streptococcus pneumoniae*: An Epidemiological Survey in France, 1970–1990. Clin Infect Dis. 1992 Jul 1;15(1):95–8.
34. **Courvalin P, Leclercq R, Bingen E.** Antibiogramme [Internet]. ÉditionsEska; 2006 [cited 2016 Nov 6]. Available from: <http://www.unitheque.com/Livre/eska/Antibiogramme-49602.html>
35. **RuppéE.** Épidémiologie des bêta-lactamases à spectre élargi : l'avènement des CTX-M. Antibiotiques. 2010 Mar; 12(1):3–16.
36. **Kahlmeter G.** An international survey of the antimicrobial susceptibility of pathogens from uncomplicated urinary tract infections: the ECO·SENS Project. J Antimicrob Chemother 2003; 51: 69-76.
37. **McNulty CAM, Richards J, Livermore DM et al.** Clinical relevance of laboratory reported antibiotic resistance in acute uncomplicated urinary tract infection in primary care. J Antimicrob Chemother 2006; 58: 1000-8.
38. **Hillier S, Roberts Z, Dunstan F et al.** Prior antibiotics and risk of antibiotic resistant community-acquired urinary tract infection: a case–control study. J Antimicrob Chemother 2007 ; 60 : 92-9.
39. **Dosso M et al.** *Escherichia coli* des infections urinaires communautaire : Bilan de 5 années de monitoring de la résistance aux antibiotiques, African Society For Laboratory Medicine, Abidjan 2013, livre des résumé, résumé de poster, p.81.
40. **François DENIS, Marie-Cécile POLY, Christian MARTIN, Edouard BINGEN, Roland QUENTIN.** Bactériologie médicale Techniques usuelles 2007 37 n°397P.
41. **Flandrois J.P., Chomar M. :** L'examen cyto-bactériologique des urines. In Bactériologie médicale pratique, MEDSI / Mc GRAW-HILL, Paris, 1988.
42. **Monsieur Tony Jonan Zardelon ZITTI.** Mise en place de la surveillance des résistances aux antibiotiques des germes responsables d'infection urinaires

dans le laboratoire Rodolphe Mérieux de Bamako, 2014, N°05P11, thèse de pharmacie.

43. Ilham HAOUAR. Les infections urinaires à l'hôpital militaire d'instruction de Rabat : fréquence, répartition et antibioresistance des bactéries isolées dans les urines. Thèse pharmacie 33 Rabat 2010.

44. Zomahoun C. Evaluation de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées des infections urinaires au laboratoire de bactériologie du Centre National Hospitalier Universitaire – HUBERT KOUTOUKOU MAGA (C.N.H.U.- H.K.M.) de COTONOU (A propos de 231 souches bactériennes isolées du 1er avril au 31 juillet 2004), Bamako, 2005, N°05P11, thèse de pharmacie.

45. N.S.M. Hailaji a, M.L. OuldSalema,*, b, S.M. Ghabera,c. La sensibilité aux antibiotiques des bactéries uropathogènes dans la ville de Nouakchott — Mauritanie Progrès en urologie (2016) 26, 346-352.

46. Ya bi fouaachilleROLAND. Profil antibiotypique des bactéries responsables d'infection urinaire communautaire. Bamako 2006, N°09P12Thèse Pharmacie.

47. M. Akram, M. Shahid, A.U. Khan. Etiology and antibiotic resistance patterns of community-acquired urinary tract infections in J N M C Hospital Aligarh, India. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2007; 6 : 4.

48. Guirguitzova B, Chankova D, Zozikov B. Les staphylocoques comme uropathogènes—fréquence d'isolement chez des malades hospitalisés et sensibilité envers les substances antibactériennes. Ann Urol. 2002; 36: 341-347.

49. Niangaly N. Etude de l'examen cyto bactériologique des urines au laboratoire d'analyse médicale à l'hôpital Nianankoro Fomba de Ségou, Bamako, 2008, N°08p42, thèse pharmacie.

50. Zafindrasoa Domoina Rakotovao-RAVAHATRA, Fidiniaina mamy

Randriatsarafara, Saïda Rasoanandrasana, Léa Raverohanta, et Andriamiana Luc Rakotovao. Phénotypes de résistance des souches d'*Escherichia coli* responsables d'infection urinaire au laboratoire du Centre Hospitalo-Universitaire de Befelatanana Antananarivo Pan Afr Med J. 2017; 26: 166.

51. Samou DIARRA. Evaluation de la résistance aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli* isolées au centre d'infectiologie Charles Mérieux Mali de 2012-2015, N° 34p Thèse pharmacie.

52. Maryam BAGUERI. Profil de l'antibio-résistance des germes uropathogènes au service d'urologie sur une durée de dix ans : 2004-2014, **MARRAKECH, 2015**, N° 65, thèse Médecine.

53. Sekhri Arafat N. 2011. Fréquence et marqueurs épidémiologiques de *Klebsiella pneumoniae* dans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Ben Badis de Constantine. Thèse Pour l'obtention du Grade de Docteur en Sciences. Année universitaire: 2010-2011.

54. Araba S, l'infection urinaire nosocomiale au service d'urologie du CHU Ibn Rochd (à propos de 698 cas), 2009, thèse de médecine n°169, faculté de médecine et de pharmacie de Rabat, université Mohamed V.

55. Souna D et all. 2011. Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries au niveau du C.H.U de Sidi Bel Abbes (Algérie) MHA 23 (67), 37-41

56. Oumar Agaly DICKO. Prévalence des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline au CHU du Point G de 2007 à 2009, Bamako, 2013, N° p42, thèse pharmacie.

57. Branger B, Ertzscheid MA, Sénéchal H. Hygiène en urologie. Centre de coordination et de la lutte contre les infections nosocomiales inter région Ouest (CCLIN-Ouest). 2004.

RESUME

Nous avons étudié 740 prélèvements d'urines dont 67 répondaient aux critères d'infection urinaire, soit 9,05 % de positivité. Ces infections ont concerné des patients hospitalisés (19 %) et surtout des consultants externes (81%). L'âge moyen dans notre série était de 49 ans avec des extrêmes de 2 et 94 ans. Le sexe féminin était prédominant avec une sex-ratio de 0,85. Les bacilles Gram négatif représentaient 89,55% des souches bactériennes isolées, dont 87,08 %, sont des entérobactéries et les cocci gram positif représentaient 10,45 %.

Douze (12) différents types de germes ont été identifiés ; représentés en majorité par *Escherichia coli* (52,23%), suivie de *Klebsiella pneumoniae* (13,43%) et de *Staphylococcus aureus* (10,45%).

Dans notre étude la production de pénicillinase de haut niveau a concerné 45,7% *Escherichia coli* 22,2% *Klebsiella pneumoniae*.

La production de BLSE a concerné 37,1% des souches d'*E. coli* et 77,8% des souches de *K. pneumoniae*. Les aminosides gardent par contre une bonne efficacité sur les entérobactéries. Les souches *staphylococcus aureus* ont présentée 71% résistance à l'ensemble des bêta- lactamines (71% SARM).

Les souches *staphylococcus aureus* ont présentée des résistances aux :

Aminosides avec 42,9% de résistance à la Kanamycine, 28,6% de résistance à la Tobramycine et à la Gentamicine,

A la norfloxacin 43% et 71% à l'érythromycine.

ABSTRACT

We studied 740 urine samples of which 67 met the criteria for urinary tract infection that is 9.05% positivity. These infections concerned hospitalized patients (19%) and especially external consultants (81%). The average age in our series was 49 years old with extremes of 2 and 94 years old. The female sex was predominant with 54% of women and 46% of men, which corresponds to a sex-ratio H / F of 0,85 Gram-negative bacilli accounted for 89.55% of isolated bacterial strains, 87 of which, 08% are enterobacteria and gram-positive cocci accounted for 10.45%.

Twelve (12) different types of germs have been identified; predominantly *Escherichia coli* (52.23%), followed by *Klebsiella pneumoniae* (13.43%) and *Staphylococcus aureus* (10.45%).

The study of antibiotic resistance has shown resistance to beta-lactams and quinolones.

Beta-lactam resistance identified high level penicillinases: 45.7% *Escherichia coli*, 22.2% *Klebsiella pneumoniae*.

ESBL production involved 37.1% of *E. coli* strains and 77.8% of *K. pneumoniae* strains. Aminoglycosides, on the other hand, retain good efficacy on *Enterobacteriaceae*.

The study of the resistance of *Staphylococcus aureus* to 71% to be presented to all beta-lactams (71% MRSA).

Staphylococcus aureus strains exhibited resistance to:

Aminoglycosides with 42.9% K phenotypes, 28.6% T and G phenotypes, Norfloxacin 43% and 71% to erythromycin.

ANNEXES

ANNEXE N°1

Fiche d'enquête n°

I- IDENTIFICATION DU PATIENT

Q1 : N°

Q2: Age (année)..... 0 -19ans, -----20 – 39ans, -----40 - 59ans, ----- ≥ 60ans

Q3 : Sexe: ----- Féminin, -----Masculin

Q4:Externe

Q5 : Hospitalisé.....

Q6 : Service demandeur

II-Bactéries isolées

Q7 : Coloration de Gram

Bacille à Gram négatif

Cocci à Gram positif

Q8 : Germe isolé

Escherichiacoli.....

Klebsiellapneumoniae.....

Pseudomonas aeruginosa.....

Autre à préciser.....

ANNEXE N°2

Fiche Antibiogramme N°

Legende : S = Sensible

I= intermédiaire

R= Résistant

Nature du prélèvement :			Date de prélèvement :		
Souche isolée :					
Antibiotiques	Diamètre d'inhibition (mm)	Interprétation	Antibiotiques	Diamètre d'inhibition (mm)	Interprétation
Betalactamines			MLS		
Pénicilline G		S I R	Erythromycine		S I R
Ampicilline		S I R	Spiramycine		S I R
Amoxicilline		S I R	Lincomycine		S I R
Amoxicilline+AcCla		S I R	Pristinamycine		S I R
Oxacilline		S I R	Quinolones		
Ticarcilline (TIC)		S I R	Acide Nalidixique		S I R
Pipéracilline (PIP)		S I R	Péfloxacin		S I R
Céfalotine		S I R	Norfloxacin		S I R
Céfamandole		S I R	Ciprofloxacine		S I R
Céfixime		S I R	Lévofloxacine		S I R
Céfotaxime		S I R	Autres		
Cefalexine		S I R	Chloramphenicol		S I R
Céfopérazone		S I R	Tétracycline		S I R
Céfopérazone + Sulbac		S I R	Tigecyclin		S I R
Ceftriaxone		S I R	Doxycycline		S I R
Cefotaxime		S I R	Colistine		S I R
Ceftazidime		S I R	Nitroxiline		S I R
Céfepime		S I R	Sulfa+Tnp (Cotri)		S I R
Céfoxitine		S I R	Acidefusidique		S I R
Aztréonam		S I R	Fosfomycine		S I R
TIC+ Acidecla		S I R	Vancomycine		S I R
PIP + Tazobactam		S I R			S I R
Ampi + Sulbactam		S I R			S I R
Imipenem		S I R			S I R
Ertapenem		S I R			S I R
Meropenem		S I R			S I R
Aminosides					S I R
Kanamycine		S I R			S I R
Tobramycine		S I R			S I R
Gentamycine 15 µg		S I R			S I R
Gentamycine 500 µg		S I R			S I R
Amikacine		S I R			S I R
Netilmicine		S I R			

ANNEXE N° 3 :

Tableau des Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour les entérobactéries (CA - SFM, 2016).

Antibiotiques testés	Charge des Disques (μg)	Diamètres critiques (mm)	
		S	R
Ampicilline	10	14	14
Amoxicilline +Ac.clavulanique	20-10	19	19
Ticarcilline	30	20	17
Cefotaxime	5	20	17
Ceftazidime	10	22	19
Cefoxitine	30	19	15
Imipénème	10	22	16
Amikacine	30	16	13
Gentamicine	10	17	14
Tobramycine	10	17	14
Acide nalidixique	30	19	14
Norfloxacin	5	22	19

Tableau des Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour les *S. aureus* (CA - SFM, 2016).

Antibiotiques testés	Charge des Disques (μg)	Diamètres critiques (mm)	
		S	R
Pénicilline G	1 UNITE	26	26
Cefoxitine	30	25	22
Gentamicine	10	18	18
Tobramycine	10	18	18
Kanamycine	30	18	14
Erythromycine	15	21	18
Norfloxacin	5	20	20

Tableau des Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour les *Pseudomonas* spp (CA - SFM, 2016).

Antibiotiques testés	Charge des Disques (μg)	Diamètres critiques (mm)	
Pipéracilline	30	18	18
Pipéracilline-tazobactam	30/6	18	18
Ticarcilline	75	18	18
Ceftazidime	10	16	16
Imipénème	10	20	17
Amikacine	30	18	15
Gentamicine	10	15	15
Tobramycine	10	16	16
Norfloxacin	5	25	22

Annexe 4:

Tableau IX: Lecture des résultats de la galerie api 20 E

Tests et réactifs	Réactions/enzymes	Résultat Positif	Résultat Négatif
ONPG	β -galactosidase		
ADH LDC ODC	Arginine dihydrolase Lysine décarboxylase Ornithine décarboxylase		
CIT	Utilisation du citrate		
H2S	Production d'H2S		
URE	Uréase		
TDA TDA/immédiat	Tryptophane désaminase		
IND Kovacs/immédiat	Production d'indole		
VP VP 1+ VP 2 / 10 min	Production d'acétoïne		
GEL	Gélatinase		
GLU à ARA	Utilisation de substrat  carboné		

ANNEXE N°5

GELOSE C.L.E.D.

La gélose CLED (Cystine Lactose Electrolyte Deficient) est utilisée pour les isolements, numération et différenciation des microorganismes urinaires.

Composition

Composition : pour 1 litre de milieu

- Peptone pancréatique de gélatine4,0 g
- Tryptone.....4,0 g
- L-cystine.....128,0 mg
- Lactose10,0 g
- Bleu de bromothymol20,0 mg
- Agar agar bactériologique.....15,0 g
- Extrait de viande3,0 g

PREPARATION

- Mettre en suspension 36,1 g de milieu déshydraté (BK020) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution. –
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 115°C pendant 20 minutes.

MILIEU MULLER HINTON (M.H.)

Ce milieu est utilisé pour la réalisation des antibiogrammes afin de rechercher la sensibilité des germes aux antibiotiques.

C'est un excellent milieu de base pour la préparation de la gélose au sang.

Composition : g/l d'eau distillée

- Infusion de viande de boeuf	300 ml
- Hydrolysate de caséine	17,5
- Amidon	1,5
- Agar	10
- Calcium	60
- Magnésium	20
- Chlorure de sodium	25%
- PH	7,4

PREPARATION

- Mettre en suspension 38,0 g de milieu déshydraté (BK048) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.

- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.

- Répartir en tubes ou en flacons.

- Stériliser à l'autoclave à 115°C pendant 15 minutes.

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des Pharmaciens, et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement;

D'exercer dans l'intérêt de la Santé Publique ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine;

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels;

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses;

Que je sois couvert d'opprobres et méprisé de mes confrères si j'y manque !

Je le jure!