

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

RÉPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple -Un But -Une Foi

UNIVERSITE DES SCIENCES, DES TECHNIQUES
ET DES TECHNOLOGIES DE BAMAKO

FACULTE DE PHARMACIE

Année Universitaire 2013/2014

N°...../2014



**MISE EN PLACE DE LA SURVEILLANCE DES
RESISTANCES AUX ANTIBIOTIQUES DES GERMES
RESPONSABLES D'INFECTIONS URINAIRES DANS LE
LABORATOIRE RODOLPHE MERIEUX
DE BAMAKO**

Thèse présentée et soutenue publiquement le 30/05/2014.

à la Faculté de Pharmacie

par : Monsieur Tony Jonan Zardelon ZITTI

pour obtenir le grade de DOCTEUR en Pharmacie

(DIPLÔME D'ETAT)

JURY

Président : M. Flabou BOUGOUDOGO Professeur

Membres : M. Zanafon OUATTARA Maître de Conférences

M. Bourèma KOURIBA Maître de Conférences Agrégé

Directeur : M. Souleymane DIALLO II Maître de Conférences

FACULTE DE PHARMACIE
ANNEE UNIVERSITAIRE 2013-2014

ADMINISTRATION

DOYEN : M. Boubacar TRAORE – MAITRE DE CONFERENCES

VICE-DOYEN : M. Ababacar I. MAIGA-MAITRE DE CONFERENCES

SECRETAIRE PRINCIPAL : M. Seydou COULIBALY– ADMINISTRATEUR CIVIL

AGENT COMPTABLE : M. Famalé DIONSO – CONTROLEUR DES FINANCES

LES PROFESSEURS HONORAIRES

M. Mamadou	KOUMARE	Pharmacognosie
M. Boulkassoum	H Aidara	Législation
M. Boubacar Sidiki	CISSE	Toxicologie
M. Daouda	DIALLO	Chimie générale & minérale
M. Massa	SANOGO	Chimie Analytique
M. Moussa	HARAMA	Chimie organique
M. Abdourahamane S.	MAIGA	Parasitologie
M. Brahima	KOUMARE	Bactériologie-Virologie

DER DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES

1. Professeur/Directeur de recherche

M. Bakary M.	CISSE	Biochimie
M. Abdoulaye	DABO	Biologie/parasitologie Chef de DER
M. Alassane	DICKO	Santé publique

2. Maître de conférences

M. Flabou	BOUGOUDOGO	Bactériologie-Virologie
M. Boubacar	TRAORE	Parasitologie-Mycologie
M. Mounirou	BABY	Hématologie
M. Bourèma	KOURIBA	Immunologie
M. Mahamadou	DIAKITE	Immunologie
M. Souleymane	DIALLO	Bactériologie-Virologie
M. Ousmane	KOITA	Parasitologie-Moléculaire
M. Abdoulaye	DJIMDE	Microbiologie-Immunologie
M. Abdoulaye	TOURE	Entomologie Moléculaire-Médicale
M. Akory AG	IKNANE	Santé publique/Nutrition

3. Maître assistant/Chargé de recherche

Mme Fanta	SANGHO	Santé Communautaire
M. Aldjouma	GUINDO	Hématologie

4. Assistant/Attaché de recherche

M. Seidina Aboubacar Samba	DIAKITE	Immunologie
M. Charles	ARAMA	Immunologie
M. Modibo	DAOU	Immunologie
M. Issa	DIARRA	Immunologie
M. Klétigui Casmir	DEMBELE	Biochimie clinique
M. Yaya	GOITA	Biochimie clinique
M. Samba Adama	SANGARE	Bactériologie-Virologie
M. Modibo	DIARRA	Nutrition

DER DES SCIENCES DU MEDICAMENT

1. Professeur/Directeur de recherche

M. Ousmane	DOUMBIA	Pharmacie chimique
M. Elimane	MARIKO	Pharmacologie Chef de DER

2. Maître de conférences

M. Benoît Yaranga	KOUMARE	Chimie analytique
M. Ababacar I.	MAIGA	Toxicologie

3. Maître assistant/Chargé de recherche

M. Sékou	BAH	Pharmacologie
----------	-----	---------------

4. Assistant/Attaché de recherche

M. Mody	CISSE	Chimie thérapeutique
M. Ousmane	DEMBELE	Chimie thérapeutique
M. Mahamadou	TANDIA	Chimie analytique
M. Madani	MARIKO	Chimie analytique
M. Tidiane	DIALLO	Toxicologie
M. Blaise	DACKOUO	Chimie analytique

DER DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. Professeur/Directeur de recherche

M. Drissa	DIALLO	Pharmacognosie
-----------	--------	----------------

2. Maître de conférences

M. Saibou	MAIGA	Législation Chef de DER
Mme Rokia	SANOGO	Pharmacognosie
M. Alou Amadou	KEITA	Galénique

3. Maître assistant/Chargé de recherche

M. Yaya	COULIBALY	Législation
M. Loséni	BENGALY	Pharmacie Hospitalière

4. Assistant/Attaché de recherche

M. Bacary Moussa	CISSE	Galénique
M. Bourama	TRAORE	Législation
M. Hamma Boubacar	MAIGA	Galénique
M. Hammadou Abba	TOURE	Bromatologie
M. Adama	DENOU	Pharmacognosie
M. Mahamane	H Aidara	Pharmacognosie
M. Issa	COULIBALY	Gestion
M. Souleymane	DAMA	Sciences Pharmaceutiques
M. Antoine	DARA	Sciences Pharmaceutiques
M. Balla Fatogoma	COULIBALY	Pharmacie Hospitalière
M. Karim	TRAORE	Sciences pharmaceutiques

DER DES SCIENCES FONDAMENTALES

1. Professeur/Directeur de recherche

M. Mahamadou	TRAORE	Génétique
M. Mamadou	KONE	Physiologie
M. Sékou Fantamady	TRAORE	Biologie-Génétique-Zoologie

2. Maître de conférences

M. Mouctar	DIALLO	Biologie/Parasitologie
M. Kaourou	DOUCOURE	Physiologie
M. Lassana	DOUMBIA	Chimie minérale
M. Mamadou	CISSE	Biologie Végétale

3. Assistant/Attaché de recherche

M. Moussa	KONE	Chimie organique
M. Amidou	DOUCOURE	Chimie organique
M. Seydou Sassou	COULIBALY	Biochimie
M. Oumar	GUINDO	Biochimie
M. Mamadou Lamine	DIARRA	Botanique

CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES

M. Bouba	DIARRA	Bactériologie
M. Boubacar	KANTE	Galénique
M. Yaya	KANE	Galénique
M. Moussa	SACKO	Biologie
M. Atimé	DJIMDE	Bromatologie
M. Boubacar	ZIBEIROU	Physique

ENSEIGNANTS EN MISSION

Pr Babacar	FAYE	Pharmacodynamie
Pr Amadou	DIOP	Biochimie
Pr Pascal	BONNABRY	Pharmacie Hospitalière
Pr Gaoussou	KANOUTE	Chimie analytique (en disponibilité)

DEDICACES ET REMERCIEMENTS

DEDICACES

“ Par la grâce de Dieu je suis ce que je suis, et sa grâce envers moi n’a pas été vaine ; loin de là, j’ai travaillé plus qu’eux tous, non pas moi toutefois, mais la grâce de Dieu qui est avec moi. ”

1 CORINTHIENS 15 :10

Je dédie ce travail :

-A Dieu le tout puissant, de m’avoir assisté à chaque instant de ma vie, dans mes études, pour la chance qu’il m’a donnée d’être là aujourd’hui, et pour le courage qu’il m’a donné d’achever ce travail. Que son nom soit glorifié !

-A Mon père Adrien ZITTI,

Merci pour ton soutien durant ces longues années d’études. Merci pour la vie et l’éducation que tu m’as données par la grâce de Dieu. Que ce travail soit le témoignage de ma reconnaissance pour tous les efforts consentis. Que Dieu t’accorde une longue vie, une bonne santé afin que tu puisses goûter au fruit de ton labeur.

-A Ma Mère Pélagie ZITTI,

Tu as toujours eu une grande admiration pour le corps médical. Tu as toujours donné le meilleur de toi-même pour la réussite de tes enfants. Tu es une femme courageuse, infatigable et vaillante qui donne tout ce qu’elle a de plus cher pour l’avenir de ses enfants. Que ce modeste travail soit le témoignage de ma profonde gratitude pour tous les sacrifices consentis, il est pour toi. J’espère ne pas te décevoir et faire partie de tes plus grandes fiertés.

-A Mon frère aîné Zarnick ZITTI,

Ensemble nous avons parcouru un long chemin. Cette fois tu me devances en ayant ton diplôme d’ingénieur avant moi. Loin de nos parents tu as toujours été présent pour moi. Ces derniers mois passés loin de toi ; m’ont montré combien de fois tu as toujours été là pour me protéger contre tous les dangers de ce monde.

- *Au trésor de mon cœur (Ornella Tchanque),*

Ce n'est pas la durée d'une relation amoureuse qui fait sa grandeur, mais plutôt l'intensité de l'affection réciproque. Cette année m'aurait paru sans doute plus difficile si tu n'avais pas été là. Merci pour les kilomètres parcourus, les lueurs d'espoir que tu m'as insufflées dans les moments de doute. Ton amour, ton courage et ton soutien ne m'ont jamais fait défaut et me rendent chaque jour plus confiant. Tu as su supporter tous mes caprices, tu m'as soufflé une âme nouvelle, celle de travailler et de gagner. Le trésor de mon cœur, le chemin est encore long. Puisse cette thèse être pour nous, le point de départ d'un avenir sans faille !

-*A Mes petits frères et petites sœurs,*

Emmanuel, Zarmelle, Zariane, Jérémie, Pecresse ZITTI, je vous porte tous très fort dans mon cœur.

-*A mes mentors,*

Dr Fyrol AWORET ADJATIN, Dr MWESTE et Dr Brice EYENI, vous m'avez toujours aidé à réussir dans mes études universitaires, en mettant à ma disposition tout votre savoir et savoir faire, votre temps et votre amitié. Vous êtes pour moi un véritable modèle à suivre.

-*A tous mes oncles et tantes,*

Recevez mes sincères remerciements pour tout ce que vous m'avez fait durant toute ma vie.

-*A tous mes cousins et cousines,*

Je vous embrasse.

-*A la famille ZOMAHOUN,*

Merci pour tout.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier :

- Mes Amis et Amies de Bamako,

*Jeffrey MASSALAT ; Nasch ADANGBLENOU; Théophile HINAMA; Darel MAPALI ;
Cédric MBIRA ; DIPENGA MATEYA, Chermine MBOUMBA, Thuriaf MPAMI, Steveen
RAMAMO, Axel ONDO MEBALEH DONG, Leckson LEKOUVOUKA, Vanessa
MEMIAGHE, Dr Rolyf AWORET ADJATIN, Stéphanie OKOME NGUEMA, Noé Patrick
M'BONDOUKWE, Paul Jessie OBAME, Lassine BAGAYOKO, Marcellin KOUMANGOYE,*
les moments passés à vos côtés à Bamako resteront gravés à jamais dans mon cœur et ma
mémoire.

-A Jessica MADOULA,

MERCI pour tous ce que tu m'as apporté dans ma vie... Encore une fois merci et que Dieu
t'accompagne dans tout ce que tu fais et fera.

-A mes grandes sœurs de Bamako,

*Dr Linda Charlène NGONDE MBAGOU, Dr Grace AKOFFON, Dr Paule BIBALOU, Dr
Frangé NYOMBA, Dr Loïca MOUSSAVOU, Dr Sandrine BIYOGO,* vous m'avez pris
comme votre jeune frère, en me donnant des bons conseils qui m'ont permis d'être toujours
meilleur.

Je souhaite enfin adresser mes remerciements :

-Au personnel du Laboratoire Rodolphe Mérieux,

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 du CHU du Point G,

Grand merci pour tous les moments de dure labeur passé ensemble et pour toute votre
courtoisie.

Les bactéries multirésistantes isolées des ECBU au Laboratoire Rodolphe Mérieux

-Au Directeur de la pharmacie hospitalière du CHU- CNOS,

Dr Seydou M. COULIBALY qui m'a permis de faire mes premiers pas en tant que stagiaire, cela a été pour moi un moment inoubliable.

-Au personnel de la pharmacie "Sainte Marie" de Libreville (Gabon),

Merci pour l'opportunité que vous m'avez donnée, pour apprendre auprès de vous les réalités du métier de pharmacien. Votre accueil et votre sympathie m'ont marqué à jamais.

- Au personnel de la pharmacie "Amie DIADIE" de Bamako (Mali),

Notamment au Dr Diamouténé merci pour vos conseils, votre enseignement, votre confiance et votre amitié.

-A la promotion "Pr Ousmane DOUMBIA",

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

-A la Jeunesse émergente du POINT G,

Moussa Ghislain TCHOUKOUA, Arsène EKABANE OBEYE, Armanda KOUAMBA, Josias Jheson MOMATH MOMBOMATOUBA, Terrence NDONG ATHOMO NKOGHE, Micheline MEDZA M'ALLOGHO, Thaïs ABEGHE ANGOUE, Ted Richard EYENE ANGOUE, Roxanne RETENO ILOMBET, Rodrigue BANGTE, Marie Casimire MINDZIE MINTSA, Ingrid KOUMBA, Murielle OGALAT, Kassim SAMASSI, Kalifa DIARRA, Loïc Hermes NZUE NGOUME, Youssouf OUOLOGUEM, Judigaelle OLLOMO, vous êtes pour moi une famille à Bamako, je n'oublierai jamais les bons moments passés ensemble. Que cette fraternité dure pour toute la vie !

-A tous les frangins et frangines du Lycée national "Léon Mba" (Gabon),

Marina NSOLE BITHEGE, Josette TESSA, Armel NDONG MBOUNA, Léandre OYENI AMONI, Olive KOUNDI MAMBO, Léonie OYENI AMONI, Alexie NGUEMA NGOUA, Michelle MOURAMBA, Fredy MOURAMBA, Fred WANDJA, Pamela ONANGA, Gabin NZENG, Ibrahim BODOUNGO SY, Hytouni NZIENGUI BOUASSA, Prudence Jolyna OBONE, vous m'avez toujours soutenu dans tous mes projets, soyez remerciés pour votre amitié qui ne m'a jamais fait défaut.

-A mes frangins et frangines de Koulikoro,

Armel Ghislain TCHOMTCHOUA, Laymond Lawsen NWEHLA, Frantz TIEKI, Cédric Pougá MBOG, Kevin KAMSU TCHUENSU, Yvette NGUEAGNI, Perrian MONTCHO, Tatiana THOUMI MBIAPA, Cédric LIDOUMA, Grégory, merci beaucoup pour les week-ends agréables et moments de joie que j'ai eu la chance de partager avec vous.

REMERCIEMENTS SPECIAUX

-Au Pr Souleymane DIALLO,

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

-Aux Internes, Etudiants, du laboratoire Rodolphe Mérieux,

Serges Lem AHANOGBE, Fatoumata MAIGA, Sandrine OMOCK, Elisabeth SOGODOGO, Lassina DOUMBIA, Adama CISSE, Doussou COULIBALY, Sonia, 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.

-A tous les membres de la commission scientifique de l'Association des Etudiants en Pharmacie (AEP),

Serges Lem AHANOGBE, Fatoumata MAIGA, Josué TOGO, Emmanuel GUETABA, Fatoumata TRAORE, Sory Ibrahim FOMBA, Hawa SANOGO, Marcel DALMEIDA, Marie SOGOBA, merci pour les moments passés ensemble, dans le respect, la tolérance et la solidarité.

-A tout le corps professoral de la FMPOS,

Les professeurs pour leur disponibilité, leur encadrement et les enseignements de qualité qu'ils m'ont donnés.

Je tiens à exprimer maintenant toute ma reconnaissance et mon profond respect à leurs égards.

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

Trouvez ici toute ma profonde gratitude.

-A tous ceux dont les noms ne figurent pas sur ce document,

Mais que je porte dans mon cœur. Merci pour tout ce que vous m'avez apporté.

**HOMMAGES AUX MEMBRES
DU JURY**

A notre Maître et Président du jury,

Professeur agrégé Flabou BOUGOUDOGO

- ✚ Pharmacien Microbiologiste,**
- ✚ Maître de Conférences Agrégé en Bactériologie, Virologie,**
- ✚ Responsable de l'enseignement de Bactériologie - Virologie à la Faculté de Pharmacie,**
- ✚ Ancien Directeur de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP),**
- ✚ Chevalier de l'ordre du Mérite de la Santé.**

Cher Maître,

Vous nous avez fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury. Merci de l'intérêt que vous portez à la science et particulièrement aux sciences pharmaceutiques, et du temps que vous nous avez consacré. Veuillez trouver ici notre reconnaissance et notre profond respect.

A notre Maître et Juge,

Professeur Zanafon OUATTARA

- ✚ Maître de Conférences d’Urologie à la Faculté de Médecine et d’Odontostomatologie,**
- ✚ Chef de service d’Urologie au CHU Gabriel Touré,**
- ✚ Chirurgien Urologue Andrologue au CHU Gabriel Touré.**

Cher Maître,

Vous nous faites l'honneur de bien vouloir juger ce travail, nous vous remercions vivement et vous prions d'accepter notre respectueuse gratitude. Votre présence comme membre de notre jury nous honore.

A notre Maître et Juge,

Professeur agrégé Bouréma KOURIBA

- ✚ Maître de Conférences Agrégé d'immunologie,**
- ✚ Responsable de l'enseignement d'immunologie à la Faculté de Pharmacie,**
- ✚ Chef de l'Unité d'Immunologie Cellulaire et Moléculaire du MRTC/DEAP,**
- ✚ Directeur Scientifique du Centre d'Infectiologie Charles Mérieux (CICM) de Bamako,**
- ✚ Président de la Société Malienne d'Immunologie.**

Cher Maître,

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de siéger à ce Jury malgré vos multiples occupations.

Nous avons beaucoup admiré vos qualités scientifiques et nous sommes fiers de l'enseignement de qualité que vous nous avez donné.

Veillez cher maître recevoir l'expression de notre sincère admiration et de notre profond respect.

A notre Maître et Directeur de thèse,

Professeur Souleymane DIALLO II

- ✚ Pharmacien biologiste,**
- ✚ Maître de Conférences de Bactériologie-Virologie à la Faculté de Pharmacie,**
- ✚ Colonel Major des services de santé des armées,**
- ✚ Directeur Général du Centre d'Infectiologie Charles Mérieux (CICM) de Bamako.**

Cher Maître,

Vous nous avez fait honneur en nous acceptant dans votre service.

Au delà de vos qualités de pédagogue reconnues par tous, nous avons découvert en vous un homme plein de générosité, de simplicité et rigoureux dans le travail.

Nous avons été séduits par la qualité de votre savoir scientifique et de votre ouverture envers les étudiants. Merci d'avoir accepté de diriger notre travail. Merci pour le temps que vous nous avez consacré, et pour votre soutien tout au long de la réalisation de notre thèse.

SOMMAIRE

SOMMAIRE

DEDICACES ET REMERCIEMENTS.....	vii
HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY.....	xiii
ABREVIATIONS.....	xxi
LISTE DES TABLEAUX.....	xxiii
LISTE DES FIGURES.....	xxiv
1. INTRODUCTION.....	1
2. OBJECTIFS.....	3
2.1.Objectif général.....	4
2.2.Objectifs spécifiques.....	4
3. GENERALITES SUR LES INFECTIONS URINAIRES.....	5
3.1. Définitions.....	6
3.2. Les germes responsables d'infections urinaires.....	7
3.3. Les antibiotiques.....	8
3.4. Résistance bactérienne aux antibiotiques.....	11
3.5. Sensibilité et résistance aux antibiotiques des principaux germes responsables d'infections urinaires.....	14
3.6. Physiopathologie des infections urinaires.....	18
3.7. Symptomatologie des infections urinaires.....	21
4. METHODOLOGIE.....	22
4.1. Cadre et lieu de l'étude	23
4.2. Type et période d'étude	25
4.3. Population d'étude.....	25
4.4. Echantillonnage.....	25
4.5. Collecte des données.....	25
4.6. Matériels et réactifs	25
4.7. Méthodes de laboratoire : conduite de l'examen Cytobactériologique des urines.....	30
4.8. Saisie et Analyse des données	37

4.9. Aspects bioéthiques	37
5. RESULTATS.....	38
5.1. Résultats globaux.....	39
5.2. Résultats descriptifs	39
5.3. Isolement des germes	43
5.4. Résistance aux antibiotiques des principaux germes	44
5.5. Les bactéries multirésistantes	47
6. COMMENTAIRES ET DISCUSSION	49
6.1. Données épidémiologiques	50
6.2. Isolement des germes	51
6.3. Résistance des souches bactériennes aux antibiotiques.....	52
7. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS.....	54
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	xxvi
ANNEXES	xxxii

ABREVIATIONS

ADN :	Acide désoxyribonucléique.
ATB :	Antibiotique.
BGN:	Bacille Gram Négatif.
BLSE :	Bêta-Lactamase à Spectre Elargi ou Etendu.
BMR :	Bactérie multirésistante.
C1G :	Céphalosporine de première génération.
C2G :	Céphalosporine de deuxième génération.
C3G :	Céphalosporine de troisième génération.
CICM :	Centre d'Infectiologie Charles Mérieux.
CMI :	Concentration Minimale Inhibitrice.
DCI :	Dénomination Commune Internationale.
ECBU :	Examen cyto bactériologique des urines.
F.M.P.O.S. :	Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie.
FQ :	Fluoroquinolone.
GN :	Gram négatif.
GP :	Gram positif.
LPS :	Lipopolysaccharide.
LRM :	Laboratoire Rodolphe Mérieux.
MLS :	Macrolides, Lincosamides et Streptogramines.
I:	Intermédiaire.
IV:	Intraveineuse.
IU:	Infection Urinaire.
ITU:	Infection du Tractus Urinaire.
pH :	Potentiel d'Hydrogène.
PLP :	Protéine liant les pénicillines.

PNA:	Pyélonéphrite Aiguë.
R:	Résistant.
S :	Sensible.
UFC :	Unité Formant Colonie.
VIH :	Virus de l'Immunodéficience Humaine.
VS :	Vitesse de Sédimentation.
OMS :	Organisation mondiale de la Santé.
TEM :	D'après Temoniera : nom du patient chez qui la première souche a été isolée.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Classification des antibiotiques et leurs mécanismes d'action.....	8
Tableau II : Interpretation des colonies sur la gélose UriSelect 4	34
Tableau III : Fréquence des ECBU positifs au LRM selon le mois en 2013.....	39
Tableau IV : Fréquence d'isolement des germes responsables d'infections urinaires selon les ECBU positifs.....	43
Tableau V : Niveau de résistance aux antibiotiques d' <i>Escherichia coli</i> isolé des urines reçue au LRM en 2013	44
Tableau VI : Niveau de résistance aux antibiotiques de <i>Klebsiella pneumoniae</i> isolé des urines reçue au LRM en 2013	45
Tableau VII : Niveau de résistance aux antibiotiques de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isolé des urines reçue au LRM en 2013	46
Tableau VIII : Fréquence des Bactéries Multirésistantes en fonction des germes.....	48

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Instrument Vitek ® 2 Compact	26
Figure 2 : Automate Mini Api	28
Figure 3 : Numération des colonies sur gélose Uriselect 4	33
Figure 4 : Répartition de 212 souches bactériennes selon la tranche d'âge des patients.....	40
Figure 5 : Répartition de 212 souches bactériennes selon le sexe	41
Figure 6: Répartition de 212 souches bactériennes en fonction de l'origine du prélèvement.....	42
Figure 7 : Fréquence des Bactéries Multirésistantes.....	47

1. INTRODUCTION

L'infection des voies urinaires (IU) est l'une des plus fréquentes. Elle peut intéresser toutes les parties du tractus urinaire bas (urètre, vessie) ou haut (reins) ou les organes annexes de l'appareil uro-génital (prostate) [1].

La pathologie infectieuse urinaire est fréquente en ville, particulièrement chez les femmes et les personnes âgées. L'épidémiologie bactérienne des infections urinaires a beaucoup changé ces 20 dernières années, les bactéries en cause étant de plus en plus variées et surtout présentant une résistance accrue aux antibiotiques [2 ; 3]

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 cytbactériologique 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) [4].

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 [4].

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* [5;6].

Au Mali comme ailleurs l'examen cytbactériologique des urines est demandé en raison de la fréquence des infections urinaires en milieu hospitalier ainsi qu'en milieu communautaire. La surveillance de l'évolution de la résistance de ces pathogènes aux antibiotiques est nécessaire pour assurer l'efficacité des protocoles de traitement de première intention et de proposer des traitements alternatifs en cas d'échec thérapeutique.

Le Laboratoire Rodolphe Mérieux s'est engagé à contribuer à la surveillance de la résistance des pathogènes aux antibiotiques au Mali, et de suivre les directives du Bureau régional de l'OMS pour l'Afrique. Notre étude qui s'inscrit dans ce cadre a pour but de faciliter l'instauration de la surveillance des germes responsables d'infections urinaires au Laboratoire Rodolphe Mérieux du Centre d'Infectiologie Charles Mérieux.

2. OBJECTIFS

2.1. Objectif général

Mettre en place un système de surveillance des résistances aux antibiotiques des germes responsables d'infections urinaires au Mali, grâce à l'examen cyto bactériologique des urines au Laboratoire Rodolphe Mérieux de Bamako.

2.2. Objectifs spécifiques

- Décrire la procédure de l'examen cyto bactériologique des urines au Laboratoire Rodolphe Mérieux;
- Identifier les germes associés aux infections urinaires chez les patients reçus au Laboratoire Rodolphe Mérieux de Bamako;
- Déterminer la fréquence des différents germes associés aux infections urinaires chez les patients reçus au Laboratoire Rodolphe Mérieux de Bamako;
- Déterminer le niveau de résistance aux antibiotiques des souches bactériennes isolées des urines des patients reçus au Laboratoire Rodolphe Mérieux;
- Identifier les bactéries multirésistantes aux antibiotiques isolées des urines des patients reçus au Laboratoire Rodolphe Mérieux.

3. GENERALITES SUR LES INFECTIONS URINAIRES

3.1. DEFINITIONS

3.1.1. 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 secrétée par les reins puis emmagasinée dans la vessie entre les mictions enfin évacuée à travers l'urètre [7].

3.1.2. L'infection urinaire bactérienne

L'infection urinaire est un sujet complexe et le premier problème auquel on se heurte en commençant son étude est celui de sa définition. Au point de vue clinique dans les articles qui lui sont consacrés, l'on emploie à peu près différemment les expressions suivantes :

- bactériurie ;
- infection du tractus urinaire (ITU) ;
- infection urinaire. [8]

Mais il est plus rigoureux de considérer selon BRISSET J.M [9]

- la "bactériurie" comme étant la présence de germes dans les urines vésicales et sus-vésicales, c'est-à-dire l'infection du "contenu" ;
- l'infection du "tractus urinaire" comme étant l'infection de l'appareil urinaire, des muqueuses et parenchyme du rein et des voies excrétrices sous-jacentes (uretère exclu) c'est-à-dire du contenant ;
- L'infection urinaire comme étant un terme global recouvrant les deux précédents, c'est à dire l'infection du contenu et/ou du contenant.

Les critères de l'infection urinaire sont l'existence d'une bactériurie significative (supérieure à 10^5 UFC/ml) et la présence de polynucléaires en grand nombre supérieur à 10^4 leucocytes/ml dans les urines du matin quelque soit la symptomatologie clinique et parfois en son absence.

En fait, il est plus juste de parler d'infection des voies urinaires ou de l'appareil urinaire.

3.2. LES GERMES RESPONSABLES D'INFECTIONS URINAIRES

Les micro-organismes retrouvés le plus fréquemment chez les patients présentant une infection urinaire sont décrits comme uropathogènes. [8]

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. [10]

➤ **Les bacilles à Gram positif**

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

En cas d'infection urinaire, la bactériurie est supérieure à 10⁵ /ml.

3.3. LES ANTIBIOTIQUES

3.3.1. Définition d'un antibiotique [7,11, 12]

En 1942, Waksman a défini l'antibiotique comme étant toute substance produite par des micro-organismes et capable, à faible concentration, d'empêcher la croissance d'autres micro-organismes ou de les détruire.

D'après les bactériologistes, les antibiotiques sont des composés naturels ou chimiques qui agissent à faibles doses sur les micro-organismes et qui n'ont pas de toxicité sur l'hôte.

3.3.2. Classification des antibiotiques et leurs mécanismes d'action [13 ,14] :

Tableau I : Classification des antibiotiques et leurs mécanismes d'action.

ANTIBIOTIQUES	DCI	MECANISMES D'ACTION	SPECTRE ANTIBACTERIEN
Bêtalactamines			
Pénicilline G	Biclinocilline	- Agissent sur la paroi des bactéries en phase de croissance par inhibition des transpeptidases, en empêchant les liaisons interpeptidiques - Cible : protéines liant les pénicillines (PLP) - Effet bactéricide	-Cocci à Gram positif (Staphylocoques et Streptocoques) -Cocci à Gram négatif (Méningocoques) -Bacille à Gram négatif (entérobactéries) Remarques : - Spectre de plus en plus large de pénicilline A -Activité plus franche sur le pyocyanique
Pénicilline A	ampicilline amoxicilline ticarcilline (en IV)		
Pénicilline M	meticilline oxacilline cloxacilline flucloxacilline		

Carbapénème	imipénème		
Céphalosporines	Céfalotine cefapirine cefadroxil cefuroxime ceftriaxone		
Oxacepème	Lactamoxef		
Monobactames	Aztréonam		
Association	amoxicilline + acide clavulanique		
Aminosides Aminocyclitol	streptomycine kanamycine tobramycine néomycine gentamycine nétilmicine	-inhibition de la synthèse protéique de la cellule bactérienne en se fixant à la sous unité 30s des ribosomes -effet bactéricide	-Cocci à Gram positif (Staphylocoques) -Bactéries à Gram négatif (Entérobactéries) -Bacille de Koch
Phenicols	chloramphénicol thiamphénicol	-inhibition des synthèses protéiques en se liant à la sous unité 50s des ribosomes (réversible)	-Bactéries à Gram positif (Staphylocoques) -Bactéries à Gram négatif (Entérobactéries) -Rickettsies -Vibron cholérique

<p>Cyclines</p>	<p>tétracycline doxycycline minocycline</p>	<p>-inhibition de la synthèse protéique au niveau des ribosomes en se liant à la sous unité 30s -effet bactéricide</p>	<p>-Cocci à Gram positif (staphylocoques) -Bacille à Gram négatif (entérobactéries) -Rickettsies -Mycoplasmes -<i>Chlamydiae</i> <u>Remarque L'activité augmente en pH acide.</u></p>
<p>Macrolides et Apparentés</p>	<p>erythromycine spiramycine roxithromycine lincomycine</p>	<p>-inhibition des synthèses protéiques au niveau des ribosomes en se liant à la sous unité 50s</p>	<p>-Cocci à Gram positif -Cocci à Gram négatif - Bacille à Gram positif - Mycoplasmes, Rickettsies <u>Remarque L'activité augmente en pH alcalin</u></p>
<p>Sulfamides antibactériens et associations</p>	<p>triméthoprim sulfamide triméthoprim + sulfamide</p>	<p>-inhibition compétitive de la dihydropteroate synthétase, bloquant ainsi la synthèse de l'acide dehydrolique ; -effet bactériostatique (sulfamide) -inhibition des dihydrofolates réductases bactériennes - effet bactériostatique (Triméthoprim) -association synergique et bactéricide.</p>	<p>-association avec la Triméthoprim -Bactérie à Gram positif -Bactérie à Gram négatif (sauf <i>Pseudomonas</i> et bactéries anaérobies) -<i>Chlamydia trachomatis</i> (nombreux cas de résistance avec les sulfamides seuls)</p>

<p>Quinolones</p>	<p>acide nalidixique acide pipemidique norfloxacin ofloxacin ciprofloxacine péfloxacin</p>	<p>- agissent à différentes étapes de la synthèse de l'ADN par inhibition de sa réplication - effet bactéricide</p>	<p>- Bactérie à Gram négatif (entérobactérie) - Quelques bactéries à Gram positif ou pour les Quinolones de troisième génération - Mycoplasme - <i>Chlamydiae</i></p>
<p>DIVERS</p>	<p>Rifampicine vancomycine fosfomycine teicoplanine acide fusidique</p>	<p>- agissent sur la synthèse du peptidoglycane - effet bactéricide - inhibition de la phase d'élongation de synthèse</p>	<p>- Cocci à Gram positif (Staphylocoques et Streptocoques) - Cocci à Gram négatif</p>

3.4. RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUES

3.4.1. Résistance aux antibiotiques

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 [15].

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 multirésistances c'est-à-dire au fait qu'une souche est résistante en même temps à plusieurs familles d'antibiotiques [15, 16,17].

3.4.2. Mécanismes de résistances

3.4.2.1. Résistance naturelle [18 ,19]

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.

3.4.2.2. 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) [13,20]. Porteurs de gènes résistants, les transposons jouent un rôle majeur dans la dissémination de résistance entre bactéries d'espèces éloignées [13].

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 [21-23].

3.4.3. 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 [21, 24, 25]. 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 multirésistantes, 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 [26-28].

3.4.4. Épidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques

La dissémination de résistance liée à la circulation des gènes entre bactéries est plus importante que l'on ne l'imaginait. Elle rend compte de la rapidité avec laquelle évolue le phénomène de résistance au sein du monde bactérien [29].

Il y a quelques années la multirésistance était rencontrée principalement à l'hôpital où les infections acquises sont un problème de santé préoccupant par leur fréquence et par leur conséquence en termes de morbidité et de mortalité [30].

Les infections en milieu hospitalier, dites infections nosocomiales sont particulièrement graves, car elles touchent des personnes dont les défenses immunitaires sont diminuées à la suite d'une maladie (cancer, Sida) ou d'un traitement (greffe-chirurgie). La contamination se fait lors d'une opération, d'une pose de cathéter, de sonde ou par simple contact interhumain [15,31]. Désormais, la résistance est observée hors des enceintes hospitalières, en milieu communautaire [32] (crèche, maison de retraite et de plus en plus en ville).

3.5. SENSIBILITE ET RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES PRINCIPAUX GERMES RESPONSABLES D'INFECTIONS URINAIRES

3.5.1. Sensibilité et résistance aux antibiotiques d'*Escherichia coli*

3.5.1.1. Taxonomie et nomenclature [33]

Règne : *Bactéria* ;

Embranchement : *Proteobacteria* ;

Classe : *Gamma Proteobacteria* ;

Ordre : *Enterobacteriales* ;

Famille : *Enterobacteriaceae* ;

Genre : *Escherichia* ;

Espèces : *Escherichia coli*, *Escherichia fergusonii*, *Escherichia hermannii*, *Escherichia vulneris* et *Escherichia blattae*.

3.5.1.2. Sensibilité et résistance aux antibiotiques

Escherichia coli a acquis de nombreuses résistances aux antibiotiques ; il est indispensable de faire un antibiogramme pour évaluer sa sensibilité à ces derniers.

Les souches sauvages ont des sensibilités naturelles aux familles d'antibiotiques suivants [34] :

➤ LES BETA-LACTAMINES

Exceptées les pénicillines G et M (antistaphylococciques), ce sont :

-les pénicillines (amoxicilline, carboxy, uréido, ticarcilline, pipéracilline), C1G, C2G ou C3G (ceftazidime, ceftriaxone, céfotaxime), imipénème, aztréonam ;

➤ les aminosides (gentamicine, tobramycine, nétilmicine, amikacine) ;

➤ les quinolones (acide nalidixique) ;

➤ les fluoroquinolones (ofloxacin) ;

Les bactéries multirésistantes isolées des ECBU au Laboratoire Rodolphe Mérieux

- les sulfamides, fosfomycine.

Des résistances naturelles ont été observées contre :

- les aminopénicillines, C1G, C2G, MLS et les glycopeptides.

Des résistances acquises aux antibiotiques suivants ont été décrites :

- Résistances aux β lactamines par production de β lactamases (TEM, BLSE) ;
- Résistance aux FQ ;
- Résistance aux sulfamides.

3.5.2. Sensibilité et résistance aux antibiotiques de *Klebsiella pneumoniae* :

3.5.2.1. Taxonomie et nomenclature [35]

Règne : *Bactéria* ;

Embranchement : *Proteobacteria* ;

Classe : *Gamma Proteobacteria* ;

Ordre : *Enterobacteriales* ;

Famille : *Enterobacteriaceae* ;

Genre : *Klebsiella* ;

Espèces : *pneumoniae* ;

Sous espèce : *pneumoniae*.

3.5.2.2. Sensibilité et résistance aux antibiotiques

La présence de bêtalactamases est notée chez les *Klebsiella pneumoniae* et l'association amoxicilline/acide clavulanique donne une bonne activité. Elles sont sensibles aux inhibiteurs de bêtalactamases. *Klebsiella pneumoniae* a acquis de nombreuses résistances aux antibiotiques, il est indispensable de faire un antibiogramme.

Les souches sauvages ont des sensibilités naturelles aux familles d'antibiotiques suivants :

- Les aminosides (gentamicine, tobramycine, nétilmicine, amikacine) ;
- Les quinolones (acide nalidixique) ;
- Les fluoroquinolones (ciprofloxacine, ofloxacine, péfloxacin) ;
- Les sulfamides,
- la fosfomycine ;
- la colistine ;
- les furanes ;
- les céphalosporines (cephamycines ; céfotaxime, céfoxitine) ;
- le moxalactame ;
- Les carbapénèmes.

Des résistances naturelles [36] ont été observées contre :

- Les aminopénicillines et la ticarcilline.

Des résistances acquises aux antibiotiques suivants ont été décrites :

- Résistances aux β lactamines par production de β lactamases (TEM, BLSE) ;
- Résistance aux FQ ;
- Résistance aux sulfamides.

3.5.3. Sensibilité et résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa*

3.5.3.1. Taxonomie et nomenclature [37]

Règne : *Bactéria* ;

Embranchement : *Proteobacteria* ;

Classe : *Gamma Proteobacteria* ;

Ordre : *Pseudomonales* ;

Famille : *Pseudomonadaceae* ;

Genre : *Pseudomonas* ;

Espèces : *aeruginosa*.

3.5.3.2. Sensibilité et résistance aux antibiotiques

Pseudomonas aeruginosa est connue pour de nombreuses résistances aux antibiotiques en cours de traitement, donc il est indispensable de faire un antibiogramme pour évaluer sa sensibilité à ces derniers.

Les souches sauvages ont des sensibilités naturelles aux familles d'antibiotiques suivants [34]:

➤ LES BETA-LACTAMINES

-les pénicillines (amoxicilline, uréido, ticarcilline, pipéracilline) ;

-les céphalosporines de 3^{ème} génération (ceftazidime, cefsalodine, céfipime) ;

-l'imipénème.

➤ Les aminosides (gentamicine, tobramycine, nétilmicine, amikacine) ;

➤ Les fluoroquinolones (ofloxacine).

Des résistances naturelles [38] ont été observées contre :

- Les aminopénicillines ;
- C1G, C2G ;
- certaines C3G (céfotaxime, ceftriaxone) ;
- Les carbapénèmes (ertapénème) ;
- Le cotrimoxazole ;
- Les cyclines ;
- Le chloramphénicol ;
- Les quinolones de 1^{ère} génération ;
- La kanamycine.

3.6. PHYSIOPATHOLOGIE DES INFECTIONS URINAIRES

3.6.1. Porte d'entrée de l'infection urinaire

3.6.1.1. Les sources des bactéries des infections urinaires [39]

- L'appareil urinaire lui-même qui peut s'ensemencer à partir d'un foyer infectieux :
 - ✓ Rénal : pyonéphrose-pyélonéphrite chronique ;
 - ✓ Urètre : urètre 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.

3.6.1.2. Les voies de pénétration des bactéries des infections urinaires [7]

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.

3.6.2. Mécanisme des infections urinaires [1, 11,40]

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.
- **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 le vagin.

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 urinaires 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 antiphagocytaires, ...), 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.

➤ **Les infections hématogènes (descendantes) :**

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

3.6.3. Moyens de défense de l'organisme contre les infections urinaires [41]

- 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).

3.6.4. Facteurs favorisant la survenue des infections urinaires [42]

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.

➤ **Immunosuppression**

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

➤ **Facteurs mécaniques**

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

➤ **Facteurs neurologiques**

Trouble de la commande neurologique

3.7. SYMPTOMATOLOGIE DES INFECTIONS URINAIRES [1]

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.
- **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, Protéine C Réactive élevée, ptéridine augmentés et hyperleucocytose sanguine).
- **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.
- **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).

4. METHODOLOGIE

4.1. CADRE ET LIEU DE L'ETUDE

Le Centre d'Infectiologie Charles Mérieux (C.I.C.M) a constitué notre cadre d'étude. Le CICM est situé dans le quartier de l'ex- base aérienne de Bamako, rue du Docteur Charles Mérieux.

Fruit de la collaboration entre le Gouvernement de la République du Mali et la Fondation Mérieux, le CICM a été mis en place suite à la signature de l'Accord- cadre N° 0956/1899 du 18 février 2004 entre le Gouvernement de la République du Mali et la Fondation Mérieux ainsi que la Convention du 16 janvier 2005 et son Protocole annexe du 11 mai 2011 entre le Ministère de la Santé et la Fondation Mérieux.

- 8 décembre 2003 : Création de la Fondation Mérieux Mali
- 15 janvier 2004 : Pose de la première pierre du CICM
- 17 janvier 2005 : Inauguration du CICM
- 2 mai 2005 : Démarrage des activités

Le CICM comprend :

- une administration générale.
- un centre de formation avec une formation diplômante le BAMS (Bachelor de Biologie Médicale Appliquée), des formations qualifiantes et des formations par compagnonnage
- un laboratoire d'analyses médicales dénommé Laboratoire Rodolphe Mérieux (LRM) avec des activités de recherche et des activités de routine.

La présente étude s'est déroulée dans le Laboratoire Rodolphe Mérieux (LRM).

Le CICM a pour mission de participer tout comme les autres structures du Ministère de la Santé au développement sanitaire du Mali par le service rendu aux malades, la formation, la recherche et le renforcement des capacités dans le domaine du diagnostic biologique dans des conditions désintéressées au bénéfice de la population.

Les ressources humaines du CICM sont composées de 29 agents, répartis entre les services techniques du LRM (17 agents) et les fonctions de support administratif, financier et logistique (12 agents).

Les bactéries multirésistantes isolées des ECBU au Laboratoire Rodolphe Mérieux

L'organigramme du Centre d'infectiologie Charles Mérieux de Bamako est en annexe n° I.

Le LRM se compose des Laboratoires 1 et 2 au sein desquels les activités de recherche et de diagnostic de routine sont effectuées. Le Laboratoire 1 offre le cadre et le matériel pour la réalisation des examens d'hématologie, de biochimie et d'immunologie et le Laboratoire 2 prend en charge les examens de microbiologie (bactériologie, mycologie et parasitologie).

Le niveau d'équipements du Laboratoire Rodolphe Mérieux pour la microbiologie au Laboratoire 2 où s'est déroulée notre étude est comme suit :

- (2) étuve, de marque JOUAN ;
- (1) plaque chauffante de marque STUART ;
- (1) centrifugeuse de marque JOUAN ;
- (1) réfrigérateur de marque LIEBHERR pour la conservation des milieux de culture préparés (+ 5 degrés Celsius) ;
- (1) réfrigérateur de marque LIEBHERR pour la conservation des réactifs (+ 5 degrés Celsius) ;
- (1) congélateur de marque SANYO pour la conservation souche de BMR isolée (-85 degrés Celsius) ;
- (3) microscope optique dont 2 de marque Leica et 1 de marque OLYMPUS ;
- (1) hotte de bactériologie à flux laminaire de marque JOUAN ;
- (1) autoclave pour la stérilisation de la verrerie, et pour la préparation des milieux de culture ;
- (1) Automate Vitek ® 2 Compact de marque bio Mérieux (pour la réalisation des identifications et de l'antibiogramme) ;
- (1) Automate mini API ® de marque bio Mérieux (pour la réalisation des identifications et de l'antibiogramme).

4.2. TYPE ET PERIODE D'ETUDE

C'est une étude, transversale, prospective, descriptive portant sur les ECBU réalisés au Laboratoire Rodolphe Mérieux de Bamako, de janvier à décembre 2013.

4.3. POPULATION D'ETUDE

Notre étude a portée uniquement sur les souches bactériennes isolées des ECBU réalisés pendant la période d'étude.

4.3.1. Critères d'inclusion

Ont été incluses dans notre étude les souches bactériennes isolées des ECBU réalisés au Laboratoire Rodolphe Mérieux (LRM) et ayant fait l'objet d'un antibiogramme quelque soit leur provenance.

4.3.2. Critères de non inclusion

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

4.4. ECHANTILLONNAGE

L'étude a porté sur **1907** ECBU avec un échantillonnage exhaustif pendant la période d'étude, et **212** cultures positives.

4.5. COLLECTE DES DONNEES

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, l'espèce bactérienne responsable de l'infection urinaire et la résistance aux antibiotiques.

4.6. MATERIELS ET REACTIFS

4.6.1. Les souches bactériennes

Les souches bactériennes faisant partie de l'étude étaient constituées uniquement des souches bactériennes isolées des ECBU réalisés au Laboratoire Rodolphe Mérieux(LRM) de janvier à décembre 2013.

4.6.2. Les Automates

4.6.2.1. Vitek ® 2 Compact



Figure 1: Instrument Vitek ® 2 Compact.

L'automate Vitek ® 2 Compact de bioMérieux est utilisé pour l'identification des bactéries et la détermination de leur sensibilité aux antibiotiques.

Dans le cadre de notre travail, nous avons utilisé les cartes d'identification GN (Gram négatif) et GP (Gram positif) ainsi que les cartes d'antibiogrammes AST.

Cartes GN et GP :

Elles servent à l'identification des germes à Gram négatif et Gram positif fréquemment rencontrés en microbiologie clinique.

Comme expliqué dans le manuel Vitek®2, information produit de bioMérieux (2006), les cartes GN et GP font appel à des tests biochimiques conventionnels et des substrats mesurant l'utilisation des sources de carbone, l'activité enzymatique et la résistance.

Les cartes GN et GP comptent chacune plus de 40 tests biochimiques.

Les résultats définitifs sont obtenus en 10 heures maximums environ pour les Gram négatifs.

L'identification avec le système Vitek ® 2 Compact est réalisée selon les données et les connaissances sur le germe et les réactions en cours d'analyse. En effet, une quantité suffisante de données concernant des souches connues ont été recueillies pour estimer les réactions typiques d'espèces pour un ensemble de tests biochimiques discriminant.

Cartes AST :

Les cartes AST sont utilisées pour déterminer la sensibilité aux antibiotiques des germes fréquemment rencontrés en microbiologie clinique.

Différentes cartes existent en fonction du type de germe :

AST-N222 pour les bacilles à Gram négatif non-fermentatifs

AST-N233 pour les entérobactéries

AST-P580 pour les staphylocoques

Voici les informations qui figurent dans le manuel Vitek®2, Information produit de bioMérieux (2006) :

Le principe de l'antibiogramme de Vitek ® 2 Compact fait appel à la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).

Chaque carte AST de Vitek ® 2 Compact contient 64 micropuits. Un puits de contrôle contenant uniquement un milieu de culture est présent sur toutes les cartes ; les autres puits contiennent des concentrations préétablies d'un antibiotique donné et un milieu de culture.

4.6.2.2. mini API ®



Figure 2: Automate mini API ®.

L'automate mini API ® de bio Mérieux est utilisé pour l'identification des bactéries et la détermination de leur sensibilité aux antibiotiques.

4.6.2.2.1. Principe de fonctionnement

Le Mini API ® permet deux types de lecture.

4.6.2.2.2. La lecture turbidimétrique et néphélométrique

Elle est destinée aux galeries turbinéphélométriques.

Exemple : ID 32 GN ; ID 32 C ; ATB UR

Turbidimétrie : mesure de l'intensité de la lumière transmise (T) inversement proportionnelle à la croissance bactérienne.

Néphélométrie : mesure de l'intensité de la lumière diffusée (D) à 30°C directement proportionnelle à la croissance bactérienne.

Ces deux mesures permettent d'évaluer la densité bactérienne dans chaque cupule.

Le cycle d'une lecture turbidimétrique se fait en deux étapes :

1^{ère} étape :

Entrée du chariot porte galerie et détection du code de la galerie.

2^{ème} étape :

Mesure sous pression sans filtre puis sortie du chariot porte galerie. Lorsque le cycle de lecture est terminé, le logiciel traite les mesures effectuées.

4.6.2.2.3. La lecture colorimétrique

Elle est destinée aux galeries colorimétriques.

Exemple : ID 32 STAPH; ID 32 E; Rapid ID 32 A; Rapid ID 32 STREP

Le Mini API effectue pour chaque cupule une mesure de transmission de la lumière dans 4 régions du spectre visible.

Le cycle d'une lecture colorimétrique se fait en 4 étapes :

1^{ère} étape :

-1^{ère} entrée du chariot porte galerie

-Détection du code de la galerie

-Mesure sous filtre K60

2^{ème} étape :

-1^{ère} sortie du chariot porte galerie

-Mesure sous filtre K40

3^{ème} étape :

-2^{ème} entrée du chariot porte galerie

-Mesure sous filtre DT bleu

4^{ème} étape :

-2^{ère} sortie du chariot porte galerie

-Mesure sous filtre DT vert

Lorsque le cycle de lecture est terminé, le logiciel traite les mesures effectuées.

4.6.3. Les milieux de culture

Confère annexe n° IV

4.6.4. Les tests d'identification des bactéries et réactifs utilisés

Confère annexe n° (V, VI, VII)

4.6.5. Les antibiotiques testés

Confère annexe n° VIII.

4.7. METHODES DE LABORATOIRE : CONDUITE DE L'EXAMEN

CYTOBACTERIOLOGIQUE DES URINES

4.7.1. Pré analytique

4.7.1.1. Nature du prélèvement (Mode opératoire du prélèvement des urines cf. annexe n° II)

Le prélèvement urinaire doit être collecté dans un flacon stérile, et acheminé immédiatement au laboratoire pour traitement. Le recueil des urines est une étape essentielle qui conditionne pour une grande part la qualité et l'interprétation de l'examen.

4.7.2. Analytique

Récupérer la fiche de paillasse destinée à L'ECBU contenant, toutes les informations concernant le patient (en faisant le numéro 66 sur le CODAT informatique) puis procéder aux différentes étapes qui suivent :

4.7.2.1. L'examen macroscopique

Consiste à noter l'aspect et la couleur des urines.

Aspect : limpide, légèrement trouble, trouble, hémorragique,

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

4.7.2.2. 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 Uriselect 4 avant de recevoir l'ensemencement ;
- ❖ Ensemencer sur une gélose Uriselect 4 qui permet la numération et l'identification des principaux germes urinaires ;
- ❖ 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 UriSelect4 ;
 - 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.
- ❖ Mettre la gélose UriSelect 4 dans un bocal (aérobie) et laisser incuber à 37°C pendant 24h.

4.7.2.3. L'examen microscopique

4.7.2.3.1. Comptages des éléments

Après agitation délicate (pour avoir des urines homogènes), mettre 10 μ l d'urine dans la cellule de Kova, 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 : leucocytes, hématies, cellules épithéliales, cristaux, cylindres, les œufs de Schistosomes, les Trichomonas ...

4.7.2.3.2. Préparation du culot urinaire

- Homogénéiser l'urine ;
- Remplir les 3/4 d'un tube conique à centrifuger ;
- Centrifuger 5 minutes à 35 00 tours/minute ;
- Rejeter le surnageant dans le lavabo, en retournant le tube conique ;
- Remettre en suspension le culot en aspirant et refoulant doucement trois fois avec une pipette ;
- Etaler le culot sur une lame portant le numéro d'identification du patient pour la coloration de Gram (Mode opératoire coloration de Gram cf. annexe n° VI) ;
- En suivant les règles d'utilisation du microscope, observer le frottis à l'immersion (objectif \times 100).

4.7.2.3.3. Dosages de protéines et du glucose

Le dosage de protéines et du glucose consiste à la recherche de la présence de protéine et de glucose dans les urines à l'aide d'une bandelette adaptée.

- ✓ Ne pas toucher les zones réactives de la bandelette ;
- ✓ La plonger dans l'urine et la retirer immédiatement en éliminant l'excès d'urine en tapotant légèrement la tranche de la bandelette sur le bord du récipient ;
- ✓ La tenir horizontale pour éviter toute interférence avec les réactifs des plages voisines ;

- ✓ Lire à l'œil par comparaison à l'échelle colorimétrique ;
- ✓ Si la lecture de la bandelette se révèle positive pour la recherche de protéine ou/et de glucose, prendre un tube conique et transvaser une partie des urines du flacon à centrifuger à 3500 tours pendant 5 minutes ;
- ✓ Prendre un tube sec (tube à hémolyse) sur lequel on inscrira le numéro d'identification du patient, et y recueillir le surnageant qu'on enverra sur la paillasse de biochimie pour le dosage des protéines et/ou du glucose.

N.B : Si l'urine est hémorragique il n'est pas nécessaire de faire l'étude chimique. Faire une recherche des cristaux et des parasites (schistosome) à partir du culot urinaire entre lame et lamelle.

4.7.2.4. Lecture et interprétation

4.7.2.4.1. Numération

Après 24 heures d'incubation à 37°C, la densité des colonies présentes sur la moitié supérieure de la gélose Uriselect 4 sera comparée à celle du schéma suivant :

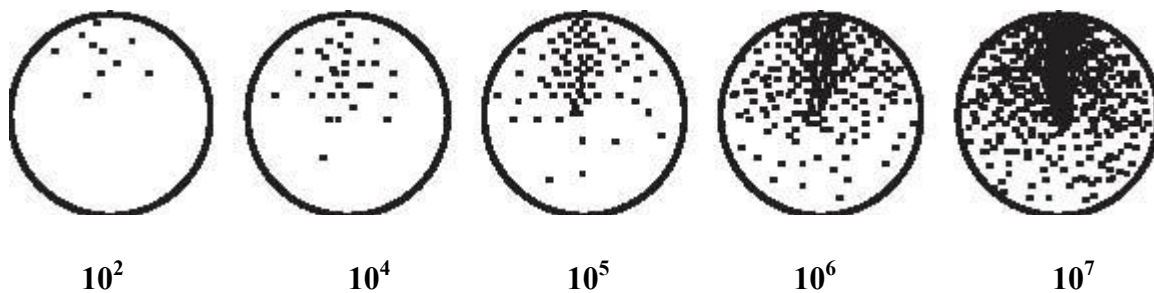


Figure 3 : Numération des colonies sur la gélose Uriselect 4.

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 colonies sur la gélose Uriselect 4.

Leucocyturie (leuco/ml)	Bactériurie (bact/ml)	Interprétation
<10/mm ³	<10 ²	Urine normale, non infectée
>10/mm ³	>10 ²	Infection urinaire, habituellement mono microbienne, et poly microbienne chez un porteur d'une sonde à demeure
< 10/mm ³	>10 ²	Discordance entre absence de réaction cellulaire et bactériurie: infection débutante, contamination, infection sur terrain particulier
< 10/mm ³	10 ² à 10 ⁵	Contamination, prélèvement incorrect. Un nouveau prélèvement est nécessaire
>10/mm ³	< 10 ²	Leucocyturie sans germe. Infection à BK, infection traitée par antibiotique, ou cause non bactérienne

4.7.2.4.2. Identification

Etablir le diagnostic en fonction de la couleur des colonies :

❖ COLORATION ROSE :

Il y a présomption de *Escherichia coli* à confirmer par le test urée / indole car toutes les colonies de coloration rose ne sont pas forcément des *Escherichia coli*. On effectuera l'identification par le Vitek ® 2 Compact si Indole négative car *Escherichia coli* est Indole positive.

Les bactéries multirésistantes isolées des ECBU au Laboratoire Rodolphe Mérieux

Un faible pourcentage de souches d'autres bactéries possèdent une activité β galactosidase et peuvent apparaître de couleur rose sur ce milieu : il s'agit de souches rarement isolées au cours des infections urinaires (*Salmonella*, *Shigella*, *Streptocoques A*) ou de souches pouvant être rencontrées dans ce type d'infections mais étant indole négative (*Citrobacter*, *Hafnia*, staphylocoques, *Streptocoque B*).

Un très faible pourcentage des souches d'*Escherichia coli* présente un profil indole négative.

❖ **COLORATION INCOLORE :**

➤ **BACILLE Gram négative :** faire une oxydase :

✓ **Si l'oxydase est positive**, il y a forte présomption de bactéries non fermentaires (genre *Pseudomonas*, genre *Bulkholderia...*) ;

✓ **Si l'oxydase est négative**, cas des bactéries fermentaires(Entérobactéries).

Dans les deux cas faire une identification et l'antibiogramme par Vitek ® 2 Compact.

➤ **Cocci Gram positive :** faire la catalase et la coagulase (cf. Mode opératoire coagulase annexe n° V)

❖ **COLORATION BLEU :** réaliser un examen microscopique.

➤ **BACILLE Gram négative :** il y a forte présomption de bactérie appartenant au groupe K.E.S.C (*Klebsiella –Enterobacter – Serratia-citrobacter*) ; faire une identification par le Vitek ® 2 Compact ou le mini API ®.

➤ **Cocci Gram positive:** forte présomption d'Entérocoque.

❖ **COLORATION BRUNE :**

Forte présomption d'une bactérie appartenant au groupe *Proteus-Providencia-Morganella*.

Dans tous les cas de colorations, on procèdera à une identification avec le Vitek ® 2 Compact, suivi d'un antibiogramme.

Les procédures d'identifications et d'antibiogrammes sont systématiquement accompagnées d'une nouvelle culture sur gélose en fonction du germe suspecté. L'intérêt de cette nouvelle culture est d'avoir à disposition une pureté de souche bactérienne avec des souches

Les bactéries multirésistantes isolées des ECBU au Laboratoire Rodolphe Mérieux

bactériennes jeunes dans le cas où la bactérie serait multirésistante ou lorsqu'il serait nécessaire de reprendre la procédure d'identification et d'antibiogramme en cas d'erreur.

Un antibiogramme est obligatoirement réalisé si le dénombrement signe une infection urinaire et lorsqu'on possède des colonies isolées des bactéries responsables (Bactéries obtenues en 24h)

4.7.2.5. Antibiogramme

4.7.2.5.1. **Automate Vitek® 2 Compact** (Mode Opérateur de l'utilisation du Vitek 2 cf. annexe VII)

4.7.2.5.2. **Automate mini API®**

Le mini API® nous sert à l'antibiogramme des bactéries à oxydase positive telles que *Pseudomonas aeruginosa* et les *Streptocoques Béta hémolytiques du groupe B*.

- ✓ Pour *Pseudomonas aeruginosa* ou les *Streptocoques du groupe B*, prendre une carte de lecture de *Pseudomonas aeruginosa* ou Streptocoque sur laquelle on notera le numéro d'identification du patient ;
- ✓ Prendre un flacon de solution de Na Cl à 0,85% ;
- ✓ Casser le bout du flacon ;
- ✓ Prendre avec une oese 2 à 3 colonies isolées sur la gélose ;
- ✓ Introduire l'oese dans le flacon contenant la solution de Na Cl à 0,85% ;
- ✓ Frotter la partie de l'oese sur laquelle on a prélevé nos colonies dans le flacon jusqu'à obtenir une suspension homogène ;
- ✓ Prendre 10 µl de cette suspension qu'on introduira dans une solution ATB Médium pour *Pseudomonas aeruginosa* ou 200 µl de cette suspension dans une solution ATB S Médium pour les *Streptocoques du groupe B* ;
- ✓ Distribuer successivement 135 µl de cette solution qu'on va introduire dans chaque puits de la galerie ;
- ✓ Fermer ensuite la carte et la mettre dans un bocal qu'on laissera à incubation à 37° pendant 24h dans l'étuve ;

Les bactéries multirésistantes isolées des ECBU au Laboratoire Rodolphe Mérieux

- ✓ Le lendemain matin prendre la carte et l'introduire dans l'automate Mini Api pour l'antibiogramme en suivant les différentes instructions de l'automate.

4.7.2.6. Souchage des bactéries multirésistantes (BMR)

A la fin de l'identification et l'établissement de l'antibiogramme, on procède dans le cas où on observe des germes multi résistants au souchage des bactéries concernées :

- ✓ *Salmonella* spp ;
- ✓ *Staphylococcus aureus* (Methiciline, Vancomycine Résistantes) ;
- ✓ *Klebsiella pneumoniae* ;
- ✓ *Escherichia coli* ;
- ✓ *Pseudomonas aeruginosa*...

Le souchage se fera comme défini dans le mode opératoire des souchothèques cf. annexe III.

4.8. ASPECTS BIOETHIQUES

L'autorisation des responsables du laboratoire a été obtenue pour l'utilisation des échantillons.

L'anonymat et la confidentialité des patients ont été respectés conformément aux règles d'éthique médicale et à la législation sur la recherche biomédicale et scientifique.

4.9. SAISIE ET ANALYSE DES DONNEES

Les données ont été saisies et analysées avec le logiciel SPSS version 19.0., les graphiques et les tableaux ont été réalisés sur Microsoft Excel version 2007.

5. RESULTATS

5.1. RESULTATS GLOBAUX

Parmi les **1907** ECBU collectés pendant la période d'étude, nous avons observé **212** cultures positives soit une fréquence de **11,1 %**.

Parmi les **212** cultures positives, nous avons isolé **20** germes différents, dont 3 étaient majeurs à savoir *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*; *Pseudomonas aeruginosa* qui représentaient **83,1%** du total des germes isolés.

5.2. RESULTATS DESCRIPTIFS

5.2.1. Epidémiologie des ECBU

5.2.1. Fréquence d'isolement des germes par mois

Tableau III : Fréquence des ECBU positifs au LRM selon le mois en 2013.

MOIS	Effectifs	Pourcentage %
Janvier	21	10,0
Février	23	10,8
Mars	12	5,7
Avril	17	8,0
Mai	33	15,6
Juin	18	8,5
Juillet	20	9,4
Août	7	3,3
Septembre	10	4,7
Octobre	22	10,4
Novembre	16	7,5
Décembre	13	6,1
Total	212	100,0

La fréquence d'ECBU positifs la plus élevée et la plus faible étaient respectivement observée en mai avec **15,6 %**, et en août avec **3,3 %**.

5.2.1.2. Répartition des souches bactériennes et la tranche d'âge

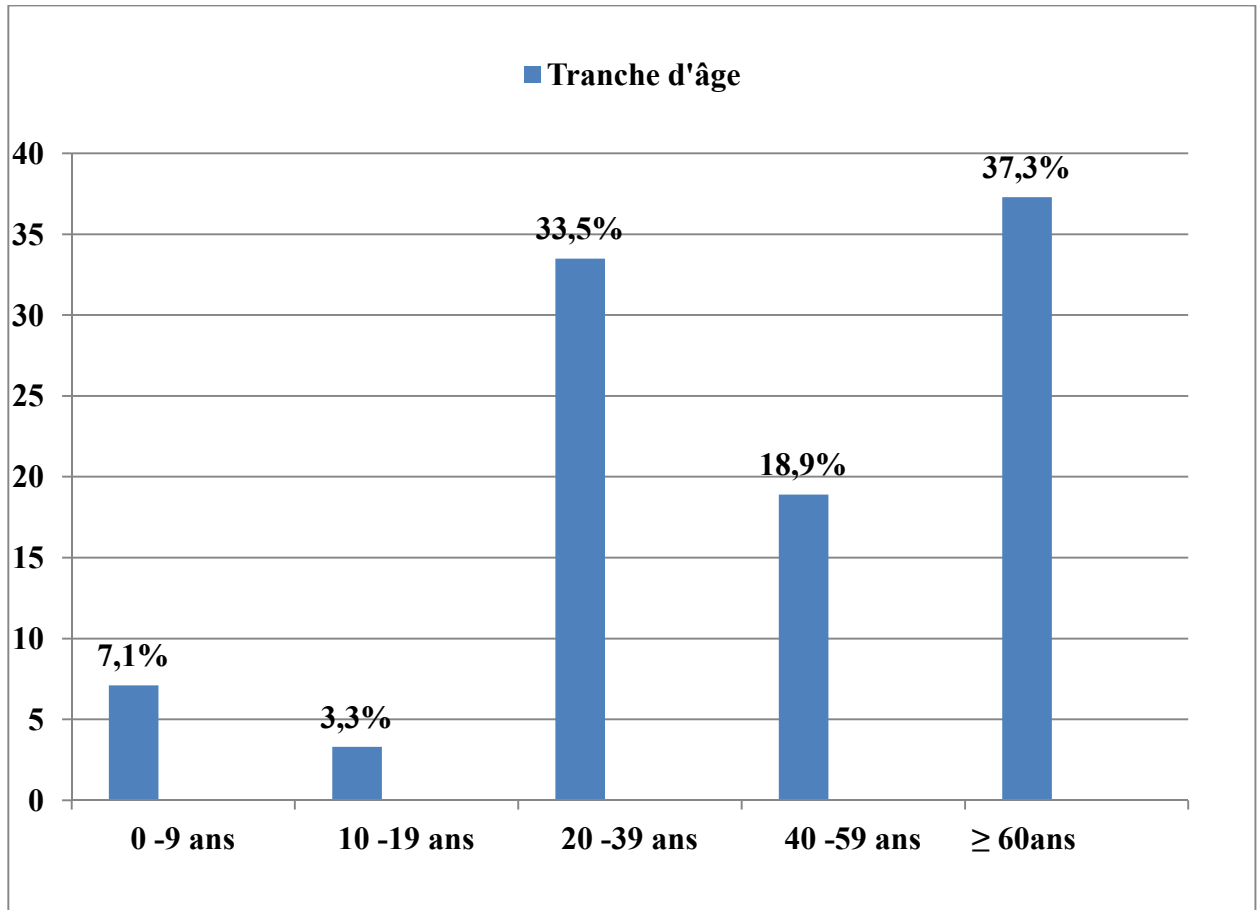


Figure 4 : Répartition de 212 souches bactériennes selon la tranche d'âge des patients.

Les souches bactériennes étaient plus fréquemment retrouvées dans les urines des patients âgés de 0-59ans (18%), 20-39ans (33,5%) et ceux de plus de 60ans (37,3%). Par contre les fréquences plus faibles des germes étaient observés chez les patients les plus jeunes 0-9ans (7%) et 10-19ans (3%). La fréquence globale chez les moins de **20 ans** était de **10,4%**.

5.2.1.3. Répartition des souches bactériennes et le sexe

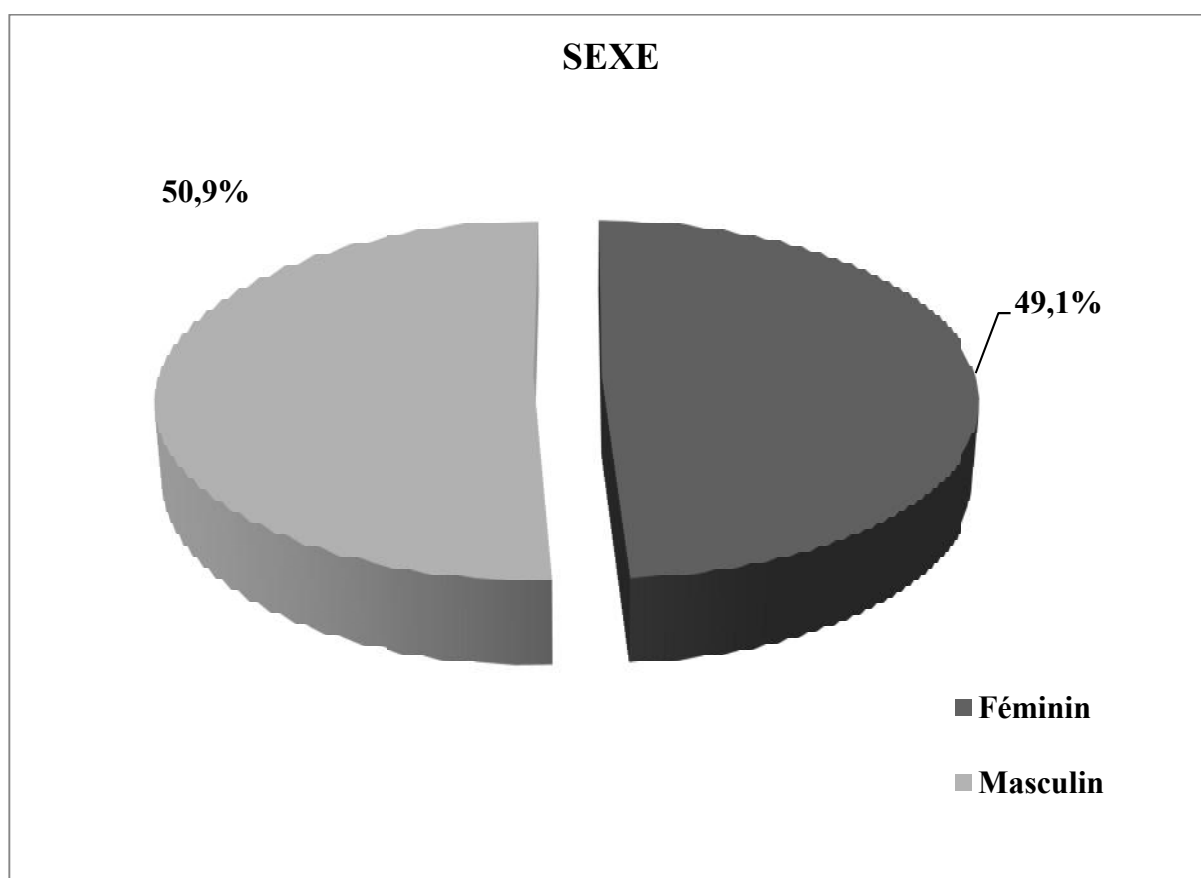


Figure 5 : Répartition de 212 souches bactériennes selon le sexe.

Les hommes étaient les plus représentés parmi la population des personnes infectées avec **50,9%**. Le sexe ratio (H/F = **1,04**).

5.2.1.4. Répartition des souches bactériennes selon l'origine du prélèvement

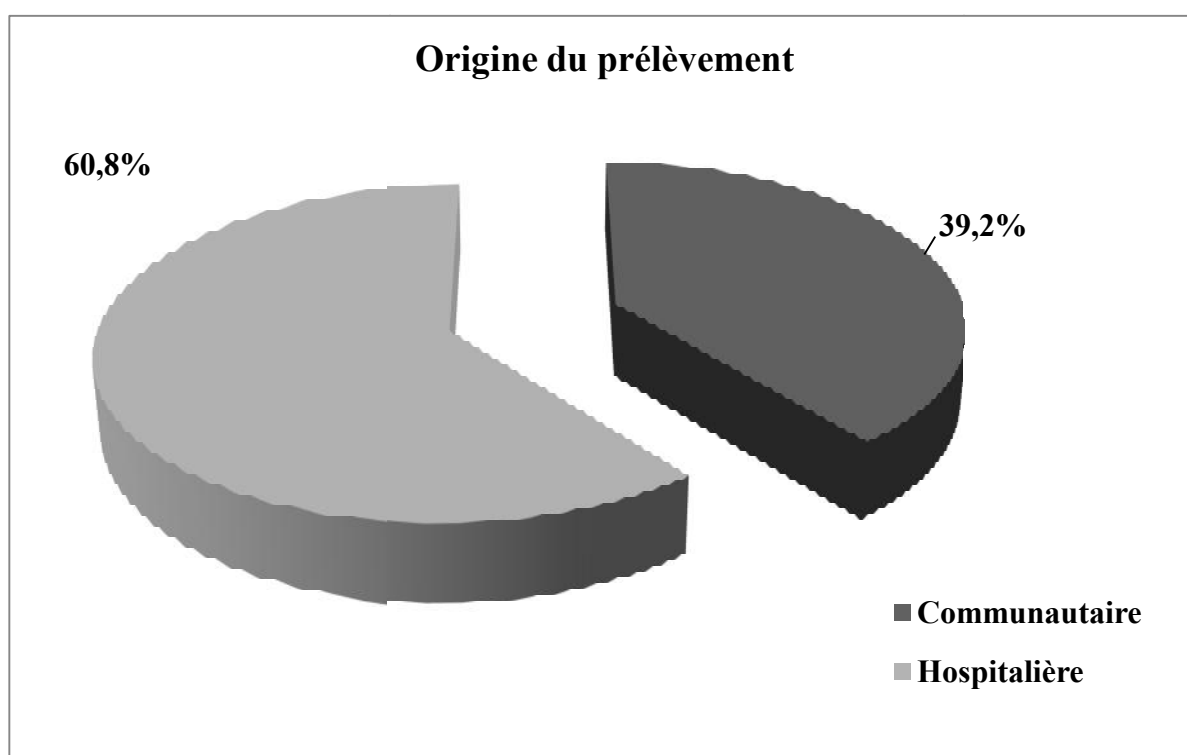


Figure 6 : Répartition de 212 souches bactériennes en fonction de l'origine du prélèvement.

La plus grande part à savoir **60,8%** des souches bactériennes provenaient des patients consultants dans les hôpitaux.

5.3. ISOLEMENT DES GERMES

5.3.1. Répartition d'isolement des germes

Tableau IV : Fréquence d'isolement des germes responsables d'infections urinaires selon les ECBU positifs.

GERMES	Effectifs	Pourcentage%
<i>Escherichia coli</i>	131	61,8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	30	14,2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15	7,1
<i>Acinetobacter baumannii complex</i>	8	3,8
<i>Enterobacter cloacae complex</i>	8	3,8
<i>Enterobacter aerogenes</i>	3	1,4
<i>Proteus mirabilis</i>	3	1,4
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	2	0,9
<i>Enterococcus faecalis</i>	1	0,5
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	0,5
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	1	0,5
Salmonella Paratyphi A	1	0,5
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	1	0,5
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	1	0,5
<i>Morganella morganii</i>	1	0,5
<i>Sphingobacterium thalophilum</i>	1	0,5
<i>Ralstonia pickettii</i>	1	0,5
<i>Cronobacter sakazakii</i>	1	0,5
<i>Proteus vulgaris/Proteus penneri</i>	1	0,5
<i>Chryseobacterium indologenes</i>	1	0,5
Total	212	100,0

Escherichia coli, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* représentaient **83,1 %** des germes isolés dans les ECBU réalisés au LRM.

5.4. RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES PRINCIPAUX GERMES

Les taux des souches résistantes correspondent à la somme des souches intermédiaires et résistantes à un antibiotique.

5.4.1. Résistance des souches d'*Escherichia coli*

Tableau V: Niveau de résistance aux antibiotiques d'*Escherichia coli* isolé des urines reçue au LRM en 2013.

Antibiotique	Sensible%	Résistant %	Pourcentage testé %
Amoxicilline	8,4	91,6	100
Amoxicilline / acide clavulanique	36,6	63,4	100
Ticarcilline	7,6	92,4	100
Piperacilline/tazobactam	45,0	55,0	100
Céfalotine	10,7	89,3	100
Céfoxitine	59,5	40,5	100
Céfotaxime	42,7	57,3	100
Ceftazidime	42,7	57,3	100
Ertapénème	96,2	3,0	99,2
Imipénème	98,5	0,8	99,2
Amikacine	79,4	20,6	100
Gentamicine	58,0	42,0	100
Tobramycine	55,0	45,0	100
Acide nalidixique	25,2	74,8	100
Ciprofloxacine	36,6	63,4	100
Ofloxacine	29,0	71,0	100
Nitrofurantoïne	90,8	9,2	100
Cotrimoxazole	16,0	83,2	99,2

Les résistances les plus élevées étaient observées contre l'amoxicilline (91,6%), cotrimoxazole (83,2 %), et l'acide nalidixique (74,8%).

Les résistances les plus faibles étaient observées contre l'imipénème (0,8 %), et la nitrofurantoïne (9,2 %).

5.4.2. Résistance de *Klebsiella pneumoniae*

Tableau VI : Niveau de résistance aux antibiotiques de *Klebsiella pneumoniae* isolé des urines reçue au LRM en 2013.

Antibiotique	Sensible%	Résistant %	Pourcentage testé %
Amoxicilline*	00,0	100	100
Amoxicilline / acide clavulanique	33,3	66,7	100
Ticarcilline*	00,0	100	100
Piperacilline/tazobactam	30,0	70,0	100
Céfalotine	23,3	76,7	100
Céfoxitine	80,0	20,0	100
Céfotaxime	30,0	70,0	100
Ceftazidime	30,0	70,0	100
Ertapénème	90,0	10,0	100
Imipénème	96,7	3,3	100
Amikacine	83,3	16,7	100
Gentamicine	36,7	63,3	100
Tobramycine	33,3	66,7	100
Acide nalidixique	13,3	86,7	100
Ciprofloxacine	30,0	70,0	100
Ofloxacine	23,3	76,7	100
Nitrofurantoiné	NT	NT	NT
Cotrimoxazole	20,0	80,0	100

* Résistance naturelle,

NT : Non testé

Les résistances les plus élevées étaient observées contre l'association amoxicilline/ acide clavulanique (66,7%), la ceftazidime (70,0 %), et la ciprofloxacine (70,0 %).

Les résistances les plus faibles étaient observées contre l'imipénème (3,3 %).

5.4.3. Résistance de *Pseudomonas aeruginosa* :

Tableau VII : Niveau de résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* isolé des urines reçue au LRM en 2013.

Antibiotique	Sensible%	Résistant %	Pourcentage testé %
Ticarcilline	33,3	33,3	66,7
Ticarcilline/Acide clavulanique	46,7	53,3	100
Piperacilline	46,7	53,3	100
Piperacilline/tazobactam	53,3	46,7	100
Ceftazidime	53,3	46,7	100
Céfipime	46,7	53,3	100
Imipénème	80,0	20,0	100
Meropénème	73,3	26,7	100
Gentamicine	40,0	60,0	100
Tobramycine	33,3	66,7	100
Amikacine	46,7	53,3	100
Levofloxacine	26,7	40,0	66,7
Ciprofloxacine	20,0	80,0	100
Colistine	86,7	13,3	100
Fosfomycine	33,3	33,3	66,7
Rifampicine	00,0	66,7	66,7
Cotrimoxazole	00,0	66,7	66,7

Les résistances les plus élevées étaient observées contre la ciprofloxacine (80,0%), la gentamicine (60,0 %), et la fosfomycine (33,3 %).

Les résistances les plus faibles étaient observées contre l'imipénème (20,0 %).

5.5. LES BACTERIES MULTIRESISTANTES

5.5.1. Fréquence des bactéries Multirésistantes en fonction des germes isolés

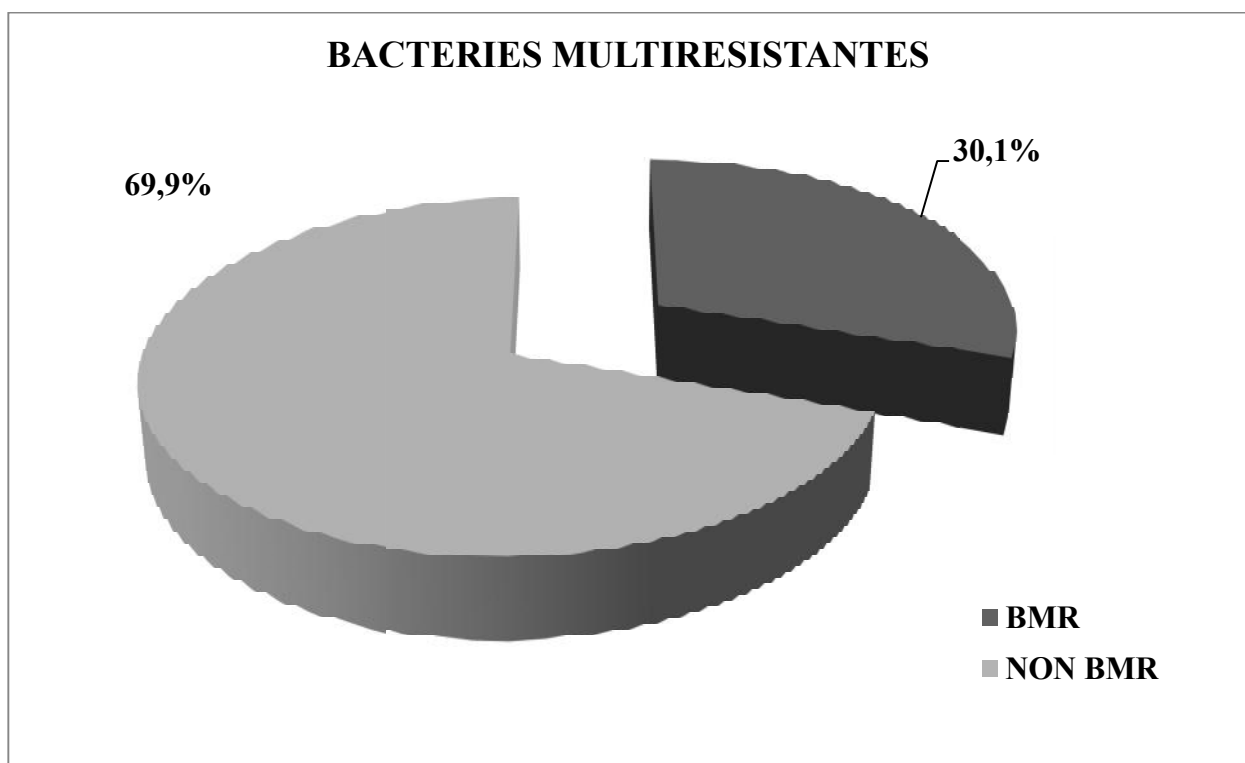


Figure 7 : Fréquence des bactéries multirésistantes.

Les bactéries multirésistantes (**BMR**) représentaient **30,1%** des germes isolés.

5.5.2. Fréquence des bactéries multirésistantes parmi les principaux germes isolés

Tableau VIII : Fréquence des Bactéries Multirésistantes en fonction des germes.

Germes	Effectifs BMR	%BMR
<i>Escherichia coli</i>	31	58,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	18	34,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	7,5
Total	53	100

Nous avons observé **58,5%** d'*Escherichia coli*, **34,0%** *Klebsiella pneumoniae*, **7,5%** *Pseudomonas aeruginosa* parmi les bactéries multirésistantes.

6. Commentaires et Discussion

Notre étude s'est déroulée du **1^{er} janvier au 31 décembre 2013** ; période au cours de laquelle nous avons analysé **1907 ECBU** de patients venus au **LRM** parmi lesquels **212 résultats ECBU positifs**. Cet effectif nous a permis d'avoir 212 souches bactériennes.

6.1. DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES

6.1.1. Nature des résultats selon les ECBU réalisés

Dans notre étude nous avons observé un pourcentage d'ECBU positifs de **11,1 %** et un taux des ECBU négatifs qui représente **88,9%** de la totalité des examens réalisés.

Ce qui provient du fait que 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 au laboratoire [43].

De même, 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, dans certaines maladies neurologiques et chez le malade diabétique [44].

Il ne faut pas négliger aussi le fait que les infections urinaires peuvent être causées par des germes non cultivables dans les milieux ordinaires du laboratoire [45].

6.1.2. Fréquence des infections urinaires

La fréquence des infections urinaires est de **11,1 %**, avec **60,8 %** des souches hospitalières et **39,2 %** de souches communautaires.

Ce taux est inférieur à celui de **EPOK [40]** en 1999 à l'hôpital national du Point G à Bamako au Mali : **15,75 %** avec **11,08 %** chez les consultants externes et **24,74 %** chez les hospitalisés.

6.1.3. Infections urinaires et âge

Dans notre étude, la tranche d'âge la plus touchée est celle de **60 ans et plus** avec **37,3%**. Les extrêmes étaient de **2 et 94 ans**, avec une moyenne de **46,85 ans**.

EPOK [40] en 1999 à Bamako a rapporté que les infections urinaires ont été plus fréquentes chez les malades âgés de plus de **65 ans** avec **35,48%**.

6.1.4. Infections urinaires et sexe

Dans cette population, nous notons une légère prédominance du sexe masculin avec **50,9%** contre **49,1%** pour les femmes (**soit un sex-ratio H/F : 1,04**). Ce pourcentage élevé chez les hommes peut être dû à notre échantillonnage.

Ce résultat n'est pas conforme aux données classiques de la littérature qui trouve une prédominance féminine [7,8].

Par contre d'autres auteurs tels que **EPOK [40]** en 1999 à Bamako ont trouvé une prédominance masculine et **NIANGALY [39]**.

6.2. ISOLEMENT DES GERMES

6.2.1. Fréquence d'isolement des germes

Escherichia coli, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* représentent **83,1 %** des germes isolés dans les infections urinaires au LRM. *Escherichia coli* est la bactérie la plus isolée dans **61,8%** des souches bactériennes. Elle est suivie de *Klebsiella pneumoniae* avec **14,2%**, de *Pseudomonas aeruginosa* avec **10,8%**, avec **3,8%** (*Acinetobacter baumannii* complex, *Enterobacter cloacae* complex), avec **1,4%** (*Enterobacter aerogenes*, *Proteus mirabilis*), *Staphylococcus haemolyticus* avec **0,9%**.

Nous avons noté la présence d'espèces rares comme (*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas stutzeri*, *Salmonella Paratyphi A*, *Achromobacter xylosoxidans*, *Burkholderia pseudomallei*, *Morganella morganii* *Sphingobacterium thalpophilum*, *Ralstonia pickettii*, *Cronobacter sakazakii*, *Proteus vulgaris/Proteus penneri*, *Chryseobacterium indologenes*) avec **0,5 %**.

La prédominance d'*Escherichia coli* a été mentionnée dans plusieurs études africaines :

- **ZOMAHOUN [7]** en 2005 à Cotonou a rapporté une prépondérance d'*Escherichia coli* (**27,7%**) suivi de *Klebsiella pneumoniae* (**13,6%**),
- **SISSOKO [46]** en 2006 à Bamako a retrouvé une prédominance d'*Escherichia coli* (**40,23%**) et *Klebsiella pneumoniae* vient en 2ème place avec **14,24%** ;
- **SANGARE [47]** en 2010 à Bamako a rapporté **34,9%** d'*Escherichia coli* suivi de *Klebsiella pneumoniae* avec **24,5%**.

6.3. RESISTANCE DES SOUCHES BACTERIENNES AUX ANTIBIOTIQUES

6.3.1. Fréquence de la résistance

Nous avons additionné les souches de sensibilité intermédiaire et les souches résistantes.

6.3.1.1. *Escherichia coli*

Nos souches d'*Escherichia coli* avaient un taux de résistance très élevé pour l'amoxicilline (**91,6 %**), la ticarcilline (**92,4 %**), la céfalotine (**89,3 %**), l'acide nalidixique (**74,8%**), et le cotrimoxazole (**83,2 %**).

Les taux de résistance relativement élevés au cotrimoxazole et surtout aux aminopénicillines comparables à ceux trouvés dans d'autres études [**48-50**].

DOSSO M et al [51] ont obtenu une résistance de **91,1%** à l'amoxicilline, de **88,8%** au cotrimoxazole, ce qui est comparable à celle obtenue dans notre étude, et **55,1%** à la céfalotine ce qui s'avère inférieur à la nôtre.

Nous avons obtenu une activité limitée pour la ciprofloxacine (**63,4 %**), à l'ofloxacine (**71,0%**) et à l'association amoxicilline + acide clavulanique (**63,4 %**).

Ce constat rejoint celui de **DOSSO M et al** qui ont observé **59,2 %** de résistance à la ciprofloxacine [**51**] en 2010 à Abidjan.

L'ertapénème, la nitrofurantoïne, l'imipénème étaient les antibiotiques les plus actifs avec respectivement **3,0%**, **9,2%**, **0,8%** de souche d'*Escherichia coli* résistantes.

6.3.1.2. *Klebsiella pneumoniae*

Toutes les souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées ont été résistantes à l'amoxicilline et à la ticarcilline : ce qui n'est pas surprenant puisque les *Klebsiella pneumoniae* ont une résistance naturelle aux aminopénicillines et les carboxypénicillines [**52**].

Outre la résistance naturelle de *Klebsiella pneumoniae* aux amino et carboxypénicillines nos souches de *Klebsiella pneumoniae* n'ont pas été testées à la nitrofurantoïne.

Nos souches de *Klebsiella pneumoniae* avaient un taux de résistance plus élevé à l'association amoxicilline / acide clavulanique (**66,7%**), à la céfalotine (**76,7 %**),

70,0 % à la (céfotaxime, céftazidime, ciprofloxacine), à l'acide nalidixique (**86,7%**), et le cotrimoxazole (**80,0 %**).

Ce qui ne concorde pas avec les résultats de **SEKHRI-ARAFI [53]**, en 2009 à Constantine qui avait trouvé 43,35% des souches résistant à l'association amoxicilline-acide clavulanique, de 61,76% pour le céfotaxime. Pour les sulfamides et triméthoprime 65,38% de souches résistantes à l'association triméthoprime + sulfaméthaxazole.

Nos souches de *Klebsiella pneumoniae* étaient sensibles à l'ertapénème (**90,0%**), à l'imipénème (**97,7%**) et à céfoxitine (**80,0 %**).

En revanche **SEKHRI-ARAFI [53]**, en 2009 à Constantine, avait observé des souches sensibles à 100% à l'imipénème ce qui est presque similaire à nos résultats.

6.3.2. Pseudomonas aeruginosa

Toutes les souches de *Pseudomonas aeruginosa* étaient résistantes à la rifampicine (**66,7%**) et au cotrimoxazole (**66,7%**).

Ce constat est le même chez **YA BI [8]**, en 2006 à Bamako qui trouvait une résistance à la rifampicine de toutes les souches de *Pseudomonas aeruginosa*.

Nos souches étaient résistantes à la gentamycine (**60 %**); tobramycine (**66,7%**), et à la ciprofloxacine (**80%**) confirmant en un moindre degré les résultats de **BOUGOUDOGO F. et al [54]** en 2007 qui rapportait **71 %** de souche sensible à la ciprofloxacine.

Elles étaient sensibles à la colistine (**86,7%**), à l'imipénème (**80%**) et à la méropénème (**73,3%**).

6.3.3. Fréquence d'isolement des bactéries multirésistantes (BMR)

On n'a pu observer un pourcentage de **30,1 %** de souche bactérienne multirésistantes, des trois principales bactéries isolées à savoir **58,5%** de *Escherichia coli*, **34,0%** de *Klebsiella pneumoniae*, **7,5%** de *Pseudomonas aeruginosa*.

SOW I. et al [55] en 2012 ont observé que **38,35%** de *Klebsiella pneumoniae* et **9,33%** de *Pseudomonas aeruginosa* étaient des bactéries multirésistantes, ce qui est inférieur à nos résultats trouvés.

La multirésistance chez *Escherichia coli* est associée à une utilisation globale élevée d'antibiotiques dans la communauté et à l'hôpital **[56]**. Cette constatation doit nous inciter à diminuer la surconsommation d'antibiotiques et à instaurer une prescription adéquate d'antibiotiques dans notre pays.

7. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

CONCLUSION

La détection et la surveillance de la résistance des germes responsables d'infections urinaires par l'ECBU avec des modes opératoires normalisés est mise en place au LRM du CICIM de Bamako.

Le Phénomène de multirésistance bactérienne a été observé essentiellement, pour *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Les nouveaux mécanismes de résistance bactérienne se développant plus rapidement que les nouveaux antibiotiques.

RECOMMANDATIONS

❖ **A u Ministère de la santé :**

- Sensibiliser la population à éviter l'automédication qui constitue un risque des 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.

❖ **A la direction du Laboratoire Rodolphe Mérieux :**

- Faire la mise à jour du logiciel CODAT en mettant dans le dossier du patient d'avantage de renseignements cliniques (leur service si ces derniers sont hospitalisés, le signe clinique, l'ethnie);
- Constituer une base de données électronique au CICM et instituer un système performant de management

❖ **Aux prescripteurs :**

- Eviter la prescription systématique des céphalosporines de troisième génération qui favorise la sélection de mutants résistants
- Demander dans la mesure du possible un antibiogramme avant d'envisager une antibiothérapie ;

❖ **A la population :**

- Suivre scrupuleusement les prescriptions médicales surtout s'il s'agit des agents antibiotiques ;
- Eviter l'automédication.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

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

2. **Fin kelstein R, Kassis E, Rein hertz G, Gorenstein S et al.** Community-acquired urinary tract infection in adults.a hospital view-point. J. Hosp. Infect.1998, 38, 193-202
3. **ONERBA.** Facteurs influant sur la fréquence et sur le niveau de sensibilité aux antibiotiques des souches *d'Escherichia coli* et *Proteus mirabilis* isolées au cours des infections urinaires chez les patients ambulatoires. Méd. Mal. Infect.2000, 30, 714-720.
4. **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.
5. **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.
6. **Mahamat A, Lavigne JP, Bouziges N, Daurès JP et al.** Profils de résistance des souches urinaires de *Proteus mirabilis* de 1999 à 2005 au CHU de Nîmes. Pathol Biol.2006;54 : 456-61.
7. **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.
8. **Ya Bi Foua A.** Profil antibiotypique des bacteries responsables d'infection urinaire communautaire, Bamako, 2006, N°06P33, thèse de pharmacie.
9. **Brisset JM et al.** L'infection urinaire : de la théorie à la pratique. Rev Prat.1974, 24 (19) :1709-1714.
10. **Colasson F., Darracq Paries JC et al.** Les risques foetaux et maternels dans l'infection urinaire gravidique. Rev Fr. Gynécol. Obstétr., 1981 ; 76 :269-78.
11. **Kodio A.** Etude des infections urinaires au laboratoire de l'Hôpital National du Point G (à propos de 2000 examens bactériologiques), Bamako, 1988, thèse de Pharmacie.

- 12. Groupe des professeurs de Bactériologie des Facultés et Ecoles de Médecine d'expression française.** 1984. Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine. 12ème édition, La Madeleine : C et R : 376p.
- 13. Cohen ML.** Epidemiology of drugs resistance implications for a post antimicrobial Era. Science, 1992, 257, p.1055.
- 14. Koutny E, Langouet A, Lelievre I, Roncalez D et al.** Prescription des antibiotiques à l'hôpital : « de la consommation à la raison » Expérience des hôpitaux civils de Colmar. Med. Mal. Infect. 2001, vol. 31, n°11, pp 656-669.
- 15. Delaere B.** La résistance aux antibiotiques en médecine générale. Louvain Med., 2001, n°2, pp.101-120.
- 16. Bertrand X, Costa Y, Pina P.** Surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques dans les bactériémies : données de l'observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques (ONERBA) 1998 –2003. Med. Mal. Infect. , 2005, vol.35, n°6, pp. 329-334.
- 17. Ehouman S.** Les infections à entérobactéries aux CHU de Treichville : épidémiologie et phénotype de résistance de 269 souches aux bêtalactamines et aux aminosides, Abidjan, 2001, thèse de médecine, p.92.
- 18. Le Chat.** Généralités sur les antibiotiques. Pharmacologie médicale Paris Masson, 1982, pp. 108-260.
- 19. Lemeland JF.** Les bêtalactamines : mécanisme d'action et de résistance bactérienne. Rév. Méd., 1979, 20, pp.108-123.
- 20. Courvalain P, Goldstein F, Philippon A, Sirot J.** L'antibiogramme. MPC / Vigot 1^{ère} édition 2^e tirage 1985.
- 21. 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.
- 22. Gut Mann L.** Mécanisme de résistance non enzymatique aux bêtalactamines et épidémiologie de la résistance. Press. Méd., 1986, 11, pp. 655- 660.

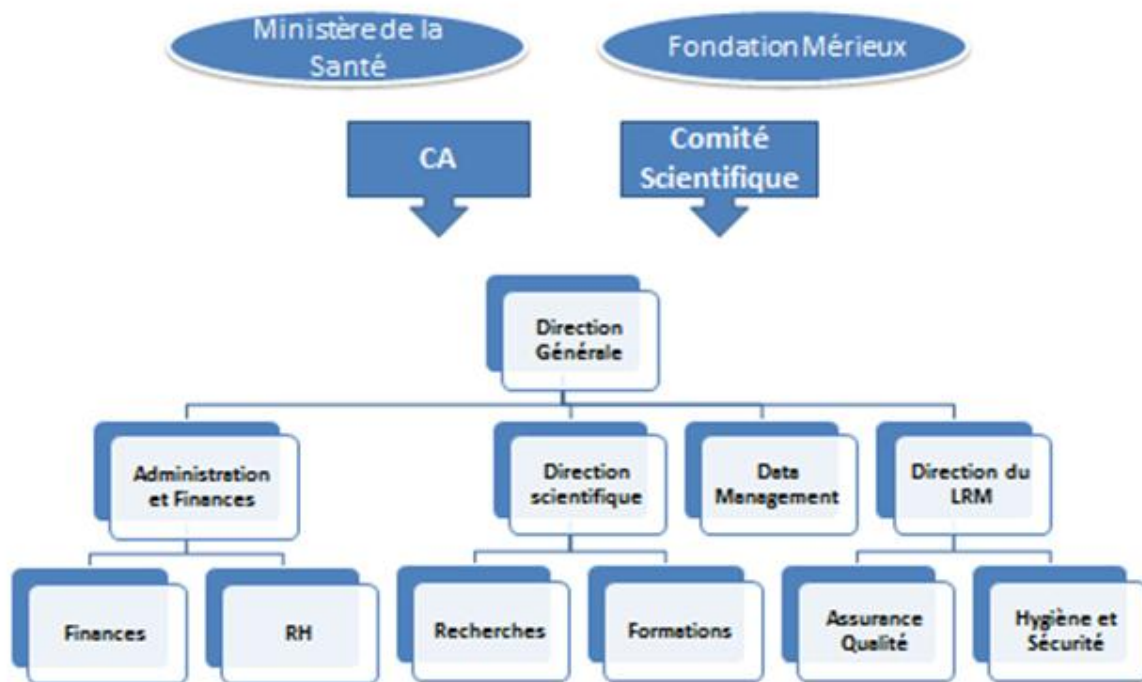
- 23. Gabaston JM, Chouakt J, Mangeot J, Zemza et al.** Phénotype de résistance aux antibiotiques des germes les plus fréquemment isolés dans cinq centres hospitaliers spécialisés. *Etude multicentrique Path. Biol.*, 1995, 43 pp. 320-321.
- 24. Guillemot D.** Les liens entre la consommation des antibiotiques et résistance bactérienne ; conséquence propre. *Med. Hys.* , 2000, 58, pp. 1970-1974.
- 25. Jacobson KL, Cohen SH, Inclardi JF.** The relationship between antecedent antibiotic use and resistance *Clin.Infect. Dis.*, 1995, 21, pp. 107-113.
- 26. Kallel H, Hedi C, Maaloul I, Bahloul et al.** Evaluation de la consommation des antibiotiques dans un Hôpital Universitaire Tunisien. *Tunis. Méd*, 2005, vol. 83, n°2, pp. 110-113.
- 27. Mainardi JL, Gut Mann L, Brucker G.** Mécanisme de résistance des bactéries responsables d'infections nosocomiales *Path. Biol. (Paris)*, 1998, 46, pp 253-260.
- 28. Mathon L, Decaillet F, Allaouchi Cheb.** Impact de l'antibiothérapie initiale sur l'évolution des résistances aux fluoroquinolones et aux aminosides des bacilles à gram négatif chez les patients en réanimation. *Ann. Fr. Art. Reanimation*, 1999, 18, pp. 1054-1060.
- 29. Dosso M.** Les bactéries entéropathogènes isolées à Abidjan de 1981 à 1986. Conférence présentée dans le cadre de la cérémonie du centenaire de l'Institut Pasteur de Paris 1986.
- 30. Bergogne Berezin E.** Diffusion des bactéries multirésistantes. *L'Euro. Biologiste (Paris)*, 2000, 34, n°246, pp. 97-103.
- 31. Garrabe E, Cavallo JD, Brissou P, Chapalan JC et al.** Sensibilité aux antibiotiques des bactéries d'infections nosocomiales. *Press. Méd.*, 2000, 29, 1997- 2003.
- 32. Diaha K.** Epidémiologie-surveillance de la résistance aux antibiotiques de l'écosystème bactérien, Abidjan, 1997, thèse de médecine, p.80.
- 33.** <http://www.123bio.net/cours/bacterio/taxonomie.html>, [Consulté le 29/01/2014, à 10h 30 mn].
- 34.** andre.ar.free.fr/entero.pdf, [Consulté le 29/01/2014 à 10h].

35. microbia.free.fr/TS2ABM/Fiches - EOT-TS1/EOT-**Klebsiella**.pdf, [Consulté le 24/01/2014 à 15h 55 mn].
36. www.ctcb.com/Fiche technique - Bactériologie 83, [Consulté le 28/01/2014 à 17h 15].
37. *Pseudomonas aeruginosa* : http://fr.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas_aeruginosa, [Consulté le 29/01/2014 à 15h 20 mn].
38. w.w.w.sfm-microbiologie.org/file/CASFM/CASFM-2012.pdf, [Consulté le 15/02/2014 à 08h 30 mn].
39. **Niangaly N.** Etude de l'examen cytobactériologique des urines au laboratoire d'analyse médicale à l'hôpital nianankoro fomba de Ségou, Bamako, 2008, N°08p42, thèse pharmacie.
40. **Epok C.** Les infections urinaires à Bamako, aspects épidémiologiques et étiologiques, Bamako, 1999, thèse de Pharmacie.
41. **COLLEGE DES UNIVERSITAIRES DE MALADIES INFECTIEUSES ET TROPICALES (CMIT)**, Infections urinaires : in CMIT. E Pilly 2004 19ème éd. Montmorency : 2M2 Ed ; 2003 :196-201
42. **CMIT. Le e-Pilly TROP**, ouvrage français de référence en infectiologie tropicale élaboré sous l'égide du Collège Des Universitaires De Maladies Infectieuses Et Tropicales et édité par Alinéa Plus, est accessible via le site internet Infectiologie.com, rubrique formation, sous rubrique « livres » (<http://www.infectiologie.com/site/livres.php>).
- [Consulté le 28/01/2014 à 16h 00].
43. **Didier R.** Dictionnaire de maladies infectieuses: diagnostic, épidémiologie, répartition géographique, taxonomie, symptomatologie. 1998, Vol:1162 : 399-401.
44. **Das RN, Chandrashekhar 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 47 (4): 281–285.
45. **Alexander S ECN.**, le tout-en-un 2010. Vol: 1248. 1: 1204-1210.
46. **Sissoko T.** Infections urinaires à Bamako : aspects épidémiologiques, bactériologiques et cliniques, Bamako, 2006, N°06p49, thèse de pharmacie.

- 47. Sangaré A.** Association infection urinaire et grossesse dans le service de gynécobstétrique du Centre Hospitalo-universitaire Gabriel Touré : Aspects cliniques, bactériologiques et pronostiques. A propos de 106 cas, Bamako, 2010, N°10M80, thèse de Médecine.
- 48. 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.
- 49. 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.
- 50. 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.
- 51. 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 Medecine, Abidjan 2013, livre des résumé, résumé de poster, p.81.
- 52. Jarlier V.** Entérobactéries et bêta-lactamines. In: Courvalin P, Goldstein F, Phillipon A, Sirot J. EDS. L'antibiogramme. Paris, m, p, c. Videom, 1985; 87-101.
- 53. Sekhri-Arafa N.** Fréquence et marqueurs épidémiologiques de *Klebsiella pneumoniae* dans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Benbadis de Constantine, Constantine, 2009, thèse de doctorat en microbiologie.
- 54. Bougoudogo F et al.** Etude de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées en routine dans divers prélèvements à l'institut National de Recherche en Santé Publique, African Society For Laboratory Medecine, Abidjan 2013, livre des résumé, résumé de poster p.82.
- 55. Sow I et al.** Surveillance des BMR à partir du laboratoire étude pilote sur six mois au CHNU de Fann (Sénégal), African Society For Laboratory Medecine, Abidjan 2013, livre des résumé, résumé de poster, p.81.
- 56. Arnaud I, Elkouri D, N'Guyen JM et al.** Bonnes pratiques de prescription des antibiotiques pour la prise en charge des infections urinaires en milieu hospitalier : identification des écarts aux recommandations et actions correctrices. *Med Mal Infect* 2005 ; 35 : 141-8.

ANNEXES

ANNEXE N°I : Organigramme du Centre d'Infectiologie Charles Mérieux de Bamako.



ORGANIGRAMME DU C.I.CM

ANNEXE N°II : MODE OPERATOIRE DU PRELEVEMENT DES URINES POUR ECBU.



Titre: MODE OPERATOIRE DU PRELEVEMENT CYTOBACTERIOLOGIQUE DES URINES

-Version N° 1

Rédigé le:	21/02/2013	Par : Tony ZITTI	TZ	
Vérifié le:	25/03/2013	Par : Nana Kadidia KEITA	NK	Visa :
Approuvé le:	16/08/2013	Par : Dr Daniel YALCOUYE	DY	Visa :
Modifié le:		Par :		
Vérifié le :		Par :		Visa :
Approuvé le:		Par :		Visa :
Diffusé le :	21/08/2013	Par : Abderrhamane MAIGA	AMA	
Objet de la modification:				
Archivé le :				

Document provisoire

Document opérationnel

Destinataires

D. YALCOUYE	N. KEITA	A. MAIGA	A. CISSE	A. TOURE
O. HAIDARA	L. SIDIBE	K. DIARRA	J.OUEDRAOGO	B. KANOUTE

1. Principe :

C'est une étape essentielle qui conditionne pour une grande part la qualité de l'examen et l'interprétation des résultats. Le recueil et le transport des urines doivent être effectués dans des conditions rigoureuses qui ont pour but d'éviter les contaminations d'origine urétrale, périnéale ou vaginale.

2. Matériel :

- Pot stérile ;
- Poche stérile ou urinocol ;

- Gants ;
- Seringue ;
- Aiguille ;
- Alcool ;
- Savon ;
- Essuie-tout.

3. Conditions du prélèvement :

- Ne pas être sous traitement d'antibiotiques ;
- Le recueil et le transport doivent être effectués selon des règles bien précises pour éviter d'une part les contaminations périnéales et vaginales ; et d'autre part la multiplication très rapide à température ambiante des germes pouvant s'y trouver.

4. Protocole :

➤ Prélèvement effectué chez le patient normal

- Une information détaillée orale et écrite sera donnée au patient à l'accueil du laboratoire lors de chaque prélèvement ;
- Les urines doivent toujours être recueillies dans un flacon stérile portant une étiquette sur laquelle figure le numéro d'identification du patient, flacon fourni par le laboratoire ;
- Effectuer le recueil de préférence au laboratoire, si ce n'est pas le cas, amener les urines au laboratoire dans les 30 minutes qui suivent le recueil ou, à défaut conserver les urines au réfrigérateur pendant 4 heures au maximum ;
- Le prélèvement doit être fait avant toute antibiothérapie et antifongogramme de préférence sur les premières urines du matin ou sur les urines de la journée 4 heures au moins après la miction précédente ;
- Le prélèvement doit être validé après lavage des mains avec une solution hydro-alcoolique et, une toilette locale à l'aide d'un antiseptique (type Dakin) ou savon doux. La toilette locale doit être effectuée au niveau de la région : Vulvaire chez la femme et du méat chez l'homme, suivi d'un rinçage à 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 charriot se situant devant la toilette.

CAS PARTICULIER

➤ Chez le nourrisson

- Il s'effectue dans la mesure du possible sur les urines du matin ;
- Le recueil des urines dans la journée doit s'effectuer si possible loin d'une miction ;
- Se laver soigneusement les mains ;
- Allonger l'enfant sur le dos ;
- Faire une toilette préalable du méat urinaire et des organes génitaux externes à l'eau et au savon ;
- Rincer et bien sécher ;
- Retirer le revêtement adhésif de la poche collecteur d'urines pédiatrique ;
- Bien appliquer la poche pendant 30 minutes en veillant à ce que l'extrémité soit obturée ;
- Ne pas laisser la poche plus d'une heure (sinon en mettre une autre) ;
- Oter la poche délicatement en soulevant un coin dès que l'enfant a uriné ;
- Tenir la poche verticalement, enrrouler l'extrémité et coller avec de l'adhésif ;
- Poser la poche dans le flacon, acheminer rapidement au laboratoire.

➤ Patient sondé

- Clamper la tubulure avant le prélèvement ;
- Réaliser une hygiène des mains avec un produit hydro-alcoolique ;
- 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 ;
- Percuter le site avec l'aiguille et insérer la seringue (selon la nature du site) ;
- 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 ;
- Identifier le prélèvement à l'aide de l'étiquette patient.

5. Transport et conservation des échantillons :

Les urines sont préférentiellement recueillies au laboratoire. Si le prélèvement est fait en dehors du laboratoire, ils doivent être acheminés dans les plus brefs délais (au maximum 30 mn), ou à défaut conservées à +4°C pendant 4 heures au maximum, afin d'éviter la multiplication bactérienne.

ANNEXE N°III : MODE OPERATOIRE DE LA TECHNIQUE DE SOUCHOTHEQUE.

Titre: **MODE OPERATOIRE DE LA TECHNIQUE DE SOUCHOTHEQUE**

-Version N° 1



Rédigé le:	22/02/2013	Par : Fatoumata Maïga	FM	
Vérifié le:	25/03/2013	Par : Judicaël OUEDRAOGO	JO	Visa :
Approuvé le:		Par : Dr Daniel YACOUYE	DY	Visa :
Modifié le:		Par :		
Vérifié le :		Par :		Visa :
Approuvé le:		Par :		Visa :
Diffusé le :				
Objet de la modification:				
Archivé le :				

Document provisoire

Document opérationnel

Destinataires

D. YALCOUE	N. KEITA	A. MAIGA	A. CISSE	A. TOURE
O. HAIDARA	L. SIDIBE	K. DIARRA	J.OUEDRAOGO	B. KANOUTE

1. Principe :

Il permet de conserver les bactéries multi-résistantes à -80°C en présence de glycérol à savoir :

- *Staphylococcus aureus* (Met-R et Vanco-R) ;
- *Pseudomonas aeruginosa* ;

- *Salmonelles* ;
- *Escherichia coli* ;
- *Klebsiella pneumoniae* ;
- *Streptococcus pneumoniae*.

2. Matériel :

- Tube à hémolyse ;
- Portoir tube ;
- Micropipettes ;
- Embouts ;
- Cryotubes ;
- Tubes à vis ;
- Marqueur ;
- Congélateur (-80°C).

3. Réactif :

- Glycérol ;
- ATB Médium.

4. Nature du prélèvement :

Souche pure des bactéries multi-résistantes.

5. Enregistrement :

Dans le cahier de souchothèque et sur le fichier Word disponible dans l'ordinateur à cet effet.

6. Technique :

A partir d'une souche pure de BMR :

- Prendre un tube à hémolyse sur lequel on portera le numéro d'identification du patient et le nom de la bactérie à soucher ;
- Prendre de l'ATB médium et remplir le tube à hémolyse jusqu'à moitié ;
- Prélever à l'aide d'une oese quelques colonies isolées à partir de la purification qu'on introduira dans l'ATB médium, bien mélanger

Les bactéries multirésistantes isolées des ECBU au Laboratoire Rodolphe Mérieux

- Mettre cette suspension à 37° C pendant 24h à l'étuve ;
- Prendre deux tubes de souchage (cryotubes) ;
- Mettre une étiquette portant le numéro de la souche correspondant aux trois premières lettres et chiffres du CODAT plus deux lettres de la souche plus le numéro d'ordre ;
- Ex : W04ECO001 (premier *E. coli* souche en Avril 2012)
- Prendre soin de porter l'enregistrement dans un classeur prévu à cet effet ;
- Ensuite mesurer 800 µl de la suspension déjà préparée, mélanger avec 200 µl de glycérol puis vortexer et conserver le tout à -80° C ;
- Faire le même pour les deux cryotubes.

7. Conservation des échantillons :

Les souchothèques sont conservées au congélateur à – 80°C.

ANNEXE N°IV : MODE OPERATOIRE DE LA PREPARATION DU MILIEU DE CULTURE UriSelect 4.



Titre: MODE OPERATOIRE DU PREPARATION DU MILIEU DE CULTURE UriSelect 4

-Version N° 1

Rédigé le:	21/02/2013	Par : Tony ZITTI	TZ	
Vérifié le:	25/03/2013	Par : Boula KANOUTE	BK	Visa :
Approuvé le:	16/08/2013	Par : Dr Daniel YALCOUYE	DY	Visa :
Modifié le:		Par :		
Vérifié le :		Par :		Visa :
Approuvé le:		Par :		Visa :
Diffusé le :	21/08/2013	Par : Abderrhamane MAIGA	AMA	
Objet de la modification:				
Archivé le :				

Document provisoire

Document opérationnel

Destinataires

D. YALCOUYE	N. KEITA	A. MAIGA	A. CISSE	A. TOURE
O. HAIDARA	L. SIDIBE	K. DIARRA	J.OUEDRAOGO	B. KANOUTE

1. Principe :

Le principe consiste à dissoudre une quantité de milieu de culture déshydraté dans un volume d'eau distillée (ex : 20g de milieu de culture pour 500ml d'eau distillée). Pour la

préparation du milieu, il faut toujours utiliser de l'eau fraîchement distillée et à pH neutre. Les récipients doivent être soigneusement rincés, ils doivent être volumineux pour permettre une agitation du milieu.

2. Matériel :

- Herlenmeyer ;
- une éprouvette ;
- l'autoclave ;
- le bécher ;
- une balance de précision Sartorius pour mesurer la poudre à utiliser ;
- la plaque chauffante ;
- barreau aimanté ;
- spatule a pesé ;
- hotte ;
- le bain marie ;
- Microscope ;
- Nacelle.

3. Consommable :

- Gants ;
- Boite de pétri (de 60mm ou 90mm) de diamètre.

4. Réactif :

- Milieux de culture déshydratée (**UriSelect 4**) ;
- Eau distillée stérile.

5. Contrôle de qualité :

- Vérifier la date de péremption et que les matériels sont en bon état ;
- Eviter toutes les sources de contaminations possibles ;
- S'assurer que la zone de travail est stérile.

6. Composants essentiels du milieu de culture UriSelect 4 :

UriSelect4 est un milieu gélosé non sélectif, composé :

- D'une base nutritive riche, contenant 4 peptones, assurant la culture de tous les germes urinaires ;
- De 2 substrats chromogènes pour la détection des enzymes bactériennes : β galactosidase et β glucosidase ;
- De tryptophane pour la mise en évidence de l'activité de la tryptophanase (production d'indole) et du tryptophane désaminase (TDA).

7. Préparation du milieu de culture UriSelect 4 :

Pour la préparation des milieux de cultures **UriSelect4** il faut :

- Agiter le flacon avant usage ;
- Peser **56,8 g** de poudre à l'aide de la balance ;
- Mélanger **56,8 g** de milieu déshydraté dans un litre d'eau distillée, et ajouter le barreau aimanté, en agitant continuellement, jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène (environ 10 mn);
- Agiter de temps en temps, maintenir à ébullition 1 à 2 mn puis faire bouillir ;
- Si nécessaire, ajuster le pH à 7,3 ;
- Répartir les milieux préparés en tubes ou en flacons de 100 à 250 ml ;
- La stérilisation est réalisée à l'autoclave à 120°C pendant 15 mn.

Répartition de milieux de culture

Les milieux de culture sont répartis, soit dans des tubes ou dans des flacons avant leur stérilisation. Après stérilisation couler dans les boîtes de pétri, les tubes sont conservés comme tels.

Pour la gélose

La plus part des milieux de culture pour leur utilisation doivent être coulés au fond de boîte de pétri pour 25ml, la mesure d'épaisseur doit être à 4mm, leur délai de conservation dépend de la notification du fournisseur, leur stockage se fera à +4°C, les boîtes sont retournées sur leur couvercle pour empêcher l'eau de la condensation de retomber sur le milieu.

8. Conservation de milieux de culture :

Les bactéries multirésistantes isolées des ECBU au Laboratoire Rodolphe Mérieux

- Milieu prêt à l'emploi : **Conservation à +2 - 8°C, à l'abri de la lumière.**
- Milieu déshydraté : flacon soigneusement fermé dans un endroit sec et frais.
- La date de péremption et le numéro de lot sont indiqués sur les conditionnements.
- La stabilité des milieux de culture préparés est limitée, la meilleure conservation des milieux de culture reconstituée est à température de 12 à 15°C ;
- Une conservation de routine d'une à deux semaines, est possible à la température d'un réfrigérateur et à l'abri de la lumière, en cas de stockage prolongé en boîtes de Pétri, on doit prévenir l'évaporation de l'eau, en scellant les boîtes avec une bande adhésive et placer les boîtes de Pétri dans un sac de plastique étanche, les milieux stockés au froid doivent être réchauffés à l'étuve avant emploi.

9. Contrôle de stérilité :

Déposer une boîte de pétri contenant le milieu de culture à l'étuve pendant 24 heures.

- S'il y a des colonies les milieux sont contaminés et doivent être détruits ;
- S'il n'y a pas de colonies, les milieux sont stériles et donc aptes à la culture.

10. Gestion des déchets :

Pendant la manipulation tous les objets souillés sont plongés systématiquement dans l'eau de javel à 12° de chlore. Les objets tranchants sont jetés dans une boîte de sécurité et les objets souillés non tranchants dans la poubelle jaune (poubelle contaminée). Tous les déchets seront éliminés après le travail.

ANNEXE N°V : MODE OPERATOIRE DU TEST DE LA COAGULASE.



Titre: **MODE OPERATOIRE DU TEST DE LA COAGULASE** - Version N° 1

Rédigé le:	23/02/2013	Par : Doussou COULIBALY	DC	
Vérifié le:	25/03/2013	Par : Judicaël OUEDRAOGO	JO	Visa :
Approuvé le:		Par : Dr Daniel YALCOUYE	DY	Visa :
Modifié le:		Par :		
Vérifié le :		Par :		Visa :
Approuvé le:		Par :		Visa :
Diffusé le :				
Objet de la modification:				
Archivé le :				

**Document provisoire
opérationnel**

Document

Destinataires

D. YALCOUE	N. KEITA	A. MAIGA	A. CISSE	A. TOURE
O. HAIDARA	L. SIDIBE	K. DIARRA	J.OUEDRAOGO	B. KANOUTE

1. Principe :

Le BBL Coagulase Plasma, Rabbit (Plasma de lapin pour test de la coagulase BBL) servent à déterminer qualitativement la pathogénicité des staphylocoques par la méthode directe en tube.

Cette méthode consiste à mélanger une culture en bouillon de la veille ou des colonies prélevées sur une boîte de gélose non inhibitrice dans un tube de coagulase plasma réhydraté. Le tube est incubé à 37°C, la formation d'un caillot dans le plasma indique une production de coagulase.

2. Matériel :

- Tube sec ;
- L'oeuse ;
- Souche pure ;
- Bec bunsen ;
- Portoir tube ;
- Etuve ;
- Chronomètre.

3. Réactif :

Le coagulase Rabbit est un plasma de lapin lyophilisé contenant environ 0,85% de citrate de sodium et 0,85% de chlorure de sodium.

4. Conservation du réactif :

Le BBL coagulase plasma, Rabbit non ouvert se conserve entre 2 – 8°C

Le Plasma reconstitué se conserve à 2 – 8°C jusqu'à 14jours, ou aliquoter et congeler immédiatement à – 20°C jusqu'à 30jours, ne pas recongeler une fois décongeler.

5. Nature du prélèvement :

Les colonies pures sur une souche gélosé ou en bouillon.

6. Contrôle de qualité :

Les contrôles positifs et négatifs sont testés aux souches de références pour vérifier la conformité des performances du coagulase Plasma avec les spécifications.

Microorganisme	ATCC	Réaction
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Caillot dans le tube
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12228	Absence de caillot dans le tube

7. Réalisation du test :

- Préparation des réactifs
 - Réhydrater le BBL Coagulase Plasma en ajoutant de l'eau purifiée dans le flacon comme indiqué ci-dessous puis mélanger en retournant alternativement le flacon.

Volume de produit	Eau purifiée stérile	Nombre approximatif de test
3 ml	3 ml	6
15 ml	15 ml	30
25 ml	25 ml	50

- Réalisation du test de BBL Coagulase
 - A l'aide d'une micropipette de 1 ml, ajouter 0,5 ml de BBL Coagulase Plasma, Rabbit réhydraté à un tube à culture sur un portoir ;
 - Ajouter environ 0,05 ml de culture en bouillon de la veille du microorganisme à tester dans le tube de plasma. Il est également possible, à l'aide d'un enseigneur à anse plastique stérile, d'émulsifier complètement dans le tube de plasma 2 – 4 colonies prélevées sur une boîte de gélose ;
 - Mélanger doucement ;
 - Incuber au bain-marie ou à l'étuve à 37°C pendant 4heures ;
 - Examiner périodiquement les tubes en les inclinant doucement. Ne pas agiter le

tube pour ne pas risquer de désagréger le caillot et par conséquent, d'entraîner des résultats de test douteux ou faussement négatifs. **Tout degré de coagulation dans un délai de 3 – 4 heures doit être interprété comme un résultat positif.**

De nombreuses souches productrices d'enzymes ne coaguleront le plasma qu'au bout de 24 heures d'incubation.

8. Résultat :

- **Si la coagulase est négative** : absence de formation de caillot, laisser jusqu'à 24 heures sur la paillasse ;
- **Si la coagulase est positive** : le caillot ne se détache pas lorsque le tube est retourné. Suspicion de *Staphylococcus aureus*.

Aspect avant

Ensemencement



Aspect du test positif



Aspect du test négatif



9. Gestion des déchets :

Les objets tranchants sont jetés dans une boîte de sécurité et les objets souillés non tranchants dans la poubelle jaune (contaminant).

ANNEXE N°VI : MODE OPERATOIRE DE LA TECHNIQUE DE COLORATION DE Gram.



Titre: MODE OPERATOIRE DE LA TECHNIQUE DE COLORATION DE Gram -Version N° 2

Rédigé le:	25/02/2005	Par : Al Hadji SIDIBE	AS	
Vérifié le:	25/02/2005	Par : Louis DEWEERDT	LD	Visa :
Approuvé le:	02/03/2005	Par : Fatou Traoré FAYE	FTF	Visa :
Modifié le:	21/02/2013	Par : Tony ZITTI	TZ	
Vérifié le :	25/03/2013	Par : Nana Kadidia KEITA	NK	Visa :
Approuvé le:		Par : Dr Daniel YALCOUYE	DY	Visa :
Diffusé le :				
Objet de la modification:	Mise à jour des documents assurance qualité			
Archivé le :				

**Document provisoire
opérationnel**

Document

Destinataires

D. YALCOUE	N. KEITA	A. MAIGA	A. CISSE	A. TOURE
O. HAIDARA	L. SIDIBE	K. DIARRA	J.OUEDRAOGO	B. KANOUTE

1. Principe :

C'est la coloration de base en bactériologie et elle permet une classification des bactéries selon leur structure. Elle est l'une des caractères essentiels de la classification des bactéries. Plusieurs facteurs vont intervenir dans cette coloration :

- La différence de composition chimique de bactéries ;
- La différence de perméabilité de la paroi bactérienne à l'alcool-acétone.

2. Matériel :

- Microscope ;
- Blouse ;
- Bac de coloration ;
- Plaque chauffante ;
- Bec bunsen ;
- Centrifugeuse.

3. Consommable :

- Gants ;
- Lames porte objet ;
- Tube conique ;
- Pipette pasteur.

4. Réactif :

- Colorants : violet de gentiane, le lugol, l'alcool-acétone, la fuchsine.
- L'huile d'immersion.

5. Nature du prélèvement :

Frottis d'un produit pathologique bien séché sur une lame

6. Contrôle de qualité :

Les lames positives (frottis préparés avec une souche de bactérie connue) sont conservées et utilisées comme lames de référence

7. Technique :

La coloration de Gram se déroule en plusieurs étapes qui se succède et consiste à :

- Fixer le frottis ;
- Recouvrir le frottis de la solution de cristal violet, laisser agir une minute (violet de gentiane) ;
- Rejeter le colorant puis laver à l'eau ;

- Recouvrir la préparation de lugol, laisser agir une minute ;
- Rejeter le colorant puis laver à l'eau ;
- Décolorer à l'alcool-acétone ;
- Rincer à l'eau de robinet et recouvrir la lame de solution de fuchsine diluée, laisser agir 30secondes ;
- Rejeter la Fuchsine, laver à l'eau, égoutter, sécher entre deux feuilles de papier buvard propres ;
- Lire le frottis coloré au microscope à l'objectif x100 à l'huile d'immersion.

8. Résultat :

A la coloration de Gram :

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

ANNEXE N°VII : MODE OPERATOIRE DE L'UTILISATION DU Vitek ® 2 Compact.



Titre: **MODE OPERATOIRE DE L'UTILISATION DU Vitek ® 2 Compact** -Version N° 1

Rédigé le:	22/02/2013	Par : Sandrine	S	
Vérifié le:	25/03/2013	Par : Nana Kadidia KEITA	NK	Visa :
Approuvé le:		Par : Dr Daniel YALCOUYE	DY	Visa :
Modifié le:		Par :		
Vérifié le :		Par :		Visa :
Approuvé le:		Par :		Visa :
Diffusé le :				
Objet de la modification:				
Archivé le :				

**Document provisoire
opérationnel**

Document

Destinataires

D. YALCOUE	N. KEITA	A. MAIGA	A. CISSE	A. TOURE
O. HAIDARA	L. SIDIBE	K. DIARRA	J.OUEDRAOGO	B. KANOUE

1. Principe :

Le système Vitek ® 2 Compact est destiné à l'identification des bactéries et levures, ainsi qu'à la réalisation d'antibiogrammes pour les bactéries significatives au plan clinique.

Le système comprend l'instrument Vitek ® 2 Compact, un ordinateur et une imprimante.

Le logiciel fourni par le système Vitek ® 2 Compact inclut des programmes d'analyses, de gestion de données et un système de contrôle de qualité afin de valider le kit test du Vitek ® 2 Compact.

2. Mode opératoire :

- Prendre le flacon eau saline Vitek 2, introduire la dispensette ;
- Prendre des tubes secs pour Vitek 2, y introduire dans les puits de la cassette ;
- La cassette peut prendre jusqu'à 10 tubes soit 2x5 (identification+ antibiogramme) ;
- Mettre dans chaque tube, 3ml de la solution saline du Vitek 2 à l'aide de la dispensette préalablement réglée à 3 ml.

N.B : Pour un germe, deux tubes secs seront utilisés dont l'un servira à l'identification et l'autre à l'antibiogramme ;

- Sur une feuille vierge, porter la date et le numéro de l'échantillon ainsi que le nom approximatif du germe à identifier ;
- A partir de la culture pure sur gélose (culture jeune 24 h), à l'aide d'une oese, prélever quelques colonies et les introduire dans le tube sec contenant la solution saline ;
- Homogénéiser la suspension et bien vortexer ;
- A l'aide du densitomètre, mesurer la concentration bactérienne à **0,5 McFarland** ;
- Poser le tube contenant la suspension bactérienne en première position et faire suivre celui prévu pour l'antibiogramme ;

- Préparer la solution pour antibiogramme :
 - Si la bactérie à identifier est à :
 - Gram positif, utiliser la micropipette calibrée à 280µl (bleue), Gram négatif, utiliser la micropipette calibrée à 145µl (rouge) ;
 - A partir de la suspension bactérienne, pipeter en fonction de la nature du germe suspecté (BGN ou BGP) et diluer dans 3ml d'eau saline contenu dans le tube voisin. On aurait ainsi préparé la suspension pour l'antibiogramme.
- Placer la carte d'identification (soit GN, soit GP ou YST) et la carte pour l'antibiogramme (soit AST- N, soit SST- P ou AST- Y) en fonction de la nature du germe sur la cassette.

NB : différentes cartes utilisables :

- Streptocoques et entérocoques : ID : GP 67, réf 22226 ; ATB : AST-P 586, réf 22276
- Staphylocoques: ID GP: réf 21342. ATB : AST-P 580, réf 22233
- ID GN : réf 21341 ; ATB : non entérobactéries : AST- 222, réf 413083 ; entérobactéries : AST-N 233, réf 413117
- Levures : ID : YST, réf 21343 ; ATB : AST-YS01, réf 22108
- Au niveau de l'ordinateur de l'automate, à l'apparition de la page principale ;
 - Cliquer sur Vitek 2
 - Mettre Identifiant : **labsuper**, le mot de passe : **labsuper**
 - Cliquer sur gérer la cassette virtuelle
 - Créer une cassette virtuelle
 - Identification de la cassette 1,2,...
 - Lecture du code à barre de chaque carte à partir de la douchette
 - Saisir les données de l'isolat ;
 - Entrer les informations de l'isolat (numéro attribué au laboratoire, nom du germe si déjà identifié par d'autres techniques)
- Puis enregistrer les données de la cassette virtuelle
- Au niveau de l'automate Vitek ® 2 Compact,
- Ouvrir le capot de remplissage et insérer la cassette à l'intérieur de la chambre ;
- Fermer le capot de remplissage ;
- Appuyer sur la touche **Lancer remplissage**, un bip indique que le cycle de remplissage est terminé ;
- Retirer la cassette du capot de remplissage et l'introduire dans la chambre de lecture où s'effectue le scellage. le processus de chargement/déchargement permet la lecture du code à barre des cartes et le code à barre de la cassette ;
- Lorsque le message **retiré** s'affiche dans la chambre de lecture, cela indique que le Vitek 2 a terminé le traitement des cartes contenues sur la cassette. On peut la retirer en ouvrant **le capot chargement** puis le refermer ;
- On attend le jour suivant où les résultats seront imprimés.

3. Résultats :

Le Vitek ® 2 Compact est un appareil qui permet d'identifier les germes et de réaliser l'antibiogramme puis d'interpréter les phénotypes de résistances acquise et naturelle puis la sensibilité naturelle du germe.

Exemple : les bêta-lactamases des entérobactéries (*Klebsiella*, *E. coli*), *S.aureus* résistant à méthicyline et vancomycine, *Pseudomonas* résistant à l'imipénème...et les phénotypes des souches sauvages (le germe sensible à tous les antibiotiques testés excepté les sensibilités naturelles).

4. Gestion des déchets :

▪ Retrait des cartes éjectées :

Pour éjecter une carte, le Vitek ® 2 Compact la retire du carrousel/incubateur, la présente au lecteur de cartes et la dépose dans le récipient collecteur de déchets. Le réceptacle collecteur de déchet peut contenir jusqu'à 60 cartes, il est recommandé de contrôler régulièrement le niveau du réceptacle collecteur de déchet et le vider.

▪ Retrait du réceptacle collecteur de déchet :

- Ouvrir le capot du récipient collecteur de déchets. Noter que les cartes usagées sont stockées à l'intérieur du réceptacle ;
- Retirer le réceptacle collecteur de déchet de la station de travail en tirant sur le bord avant, vers soi ;
- Jeter les cartes usagées dans la poubelle de déchets contaminés ;
- Remettre en place le réceptacle collecteur de déchets en le faisant glisser vers l'intérieur ;
- Fermer le capot du récipient collecteur de déchets.

Le Vitek ® 2 Compact réinitialise le compteur de déchets si le réceptacle est entièrement vidé.

ANNEXE N°VIII : FICHE D'ENQUETE.

Fiche d'enquête n°

I- IDENTIFICATION DU PATIENT

Q1 : N°.....

Q2 : Age (année)..... 0 -9 ans 10 – 19ans 20 - 39ans 40 – 59ans
≥ 60ans

Q3 : Sexe : Féminin Masculin

Q4 : Domicile.....

Q5 : Date d'isolement.....

II- PRELEVEMENT

Q6 : Origine

- Communautaire.....
- Hospitalier.....

Q7 : Germe isolé

- *Escherichia coli*.....
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Pseudomonas aeruginosa*.....
- Autre à préciser.....

III- ANTIBIOGRAMME

Antibiotiques		S	I	R	NT
B E T A L A C T A M I N E S	Ampicilline				
	Amoxicilline/Acide clavulanique				
	Ticarcilline				
	Ticarcilline/ Acide clavulanique				
	Pipéracilline				
	Pipéracilline/Tazobactam				
	Céfalotine				
	Céfoxitine				
	Céfotaxime				
	Ceftazidime				
	Céfépime				
	Meropénème				
	Ertapénème				
Imipénème					
AMINOSIDES	Amikacine				
	Gentamicine				
	Tobramycine				
QUINOLONES	Acide nalidixique				
	Ciprofloxacine				
	Ofloxacine				
	Levofloxacine				
AUTRES	Nitrofurantoïne				
	Cotrimoxazole				
	Colistine				
	Fosfomycine				
	Rifampicine				

S = SENSIBLE

I= INTERMEDIAIRE

R= RESISTANTE

NT= NON TESTEE

IV- RESISTANCE

Q9 : Bactérie multi- résistante (BMR) :

Oui

Non

FICHE SIGNALITIQUE

NOM : ZITTI

PRENOMS : Zardelon Tony Jonan

EMAIL : tonyjonan@yahoo.fr

TITRE DE LA THESE : MISE EN PLACE DE LA SURVEILLANCE DES RESISTANCES AUX ANTIBIOTIQUES DES GERMES RESPONSABLES D'INFECTIONS URINAIRES DANS LE LABORATOIRE RODOLPHE MERIEUX DE BAMAKO

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2013-2014

VILLE DE SOUTENANCE : Bamako/Mali

LIEU DE DEPOT : Bibliothèque de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de Bamako

SECTEURS D'INTERET : Bactériologie, Santé publique, Urologie et Néphrologie.

RESUME

Le but de cette étude était de mettre en place un système de Surveillance grâce à l'ECBU au Laboratoire Rodolphe Mérieux des résistances aux antibiotiques des germes responsables d'infections urinaires. Etude transversale prospective effectuée au LRM, portant sur les souches bactériennes isolées à partir des ECBU, de janvier à décembre 2013. L'identification des bactéries a été réalisée selon les caractères bactériologiques. L'étude de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries a été réalisée avec les automates Vitek 2 compact et Mini Api.

Au total 212 souches bactériennes (11,1 % du total des prélèvements) ont été obtenues à partir des 1907 ECBU effectués. Vingt (20) différents types de germes ont été identifiés ; représentés en majorité par *Escherichia coli* (61,8%), suivie de *Klebsiella pneumoniae* (14,2%) et de *Pseudomonas aeruginosa* (7,1%). Le niveau de résistance d'*Escherichia coli* aux aminopénicillines étaient relativement élevé, mais elle garde cependant une sensibilité relative aux C2G et C3G; aux aminosides et aux fluoroquinolones. Il en est de même pour l'imipénème, l'ertapénème et la nitrofurantoïne qui ont une sensibilité presque intacte sur *Escherichia coli*.

Cependant, le cotrimoxazole, les quinolones, les C2G et C3G ont un niveau de résistance très élevé à *Klebsiella pneumoniae*. Ainsi, toutes les souches de *Pseudomonas aeruginosa* sont résistantes à la rifampicine et au cotrimoxazole. Toutefois, ces dernières demeurent sensibles à la colistine, l'imipénème et à la méropénème.

La résistance était plus marquée à la gentamicine, tobramycine, et à la ciprofloxacine. La surveillance des résistances aux antibiotiques des principales souches bactériennes impliquées dans les infections urinaires nous ont permis d'identifier 30,1% de bactéries multirésistantes. Le système de surveillance, de la résistance aux antibiotiques est mis en place au LRM et permet de garantir la fiabilité des ECBU réalisés. Le phénomène multirésistance des bactéries est très élevé et doit conduire à renforcer sa surveillance au LRM et à mettre en place des bonnes pratiques en matière d'antibiothérapie aussi bien dans la communauté qu'à l'hôpital.

Mots clés : Infections urinaires– Antibiotiques– Laboratoire Rodolphe Mérieux- Résistance.

SUMMARY

The purpose of this study is to establish a system of monitoring through urinalysis Rodolphe Mérieux Laboratory antibiotic resistance of bacteria responsible for urinary tract infections. Transversale, prospective study was conducted at LRM, on bacterial strains isolated from urine cultures, from January to December 2013. Identification of bacteria was carried out by conventional bacteriological characters. The study of the antibiotic susceptibility of bacteria has been performed with Mini Api and two Vitek compact PLCs as well.

In total 212 bacterial strains (11.1% of total samples) were isolated from the 1907 urinalysis performed. Twenty (20) different types of bacteria have been identified; with *Escherichia coli* (61.8%) topped the list, followed by *Klebsiella pneumoniae* (14.2%) and *Pseudomonas aeruginosa* (7.1%). The level of resistance of *Escherichia coli* to aminopenicillins was relatively high, yet it retains a sensitivity on C2G and C3G; aminoglycosides and fluoroquinolones. It is the same for imipenem, ertapenem and nitrofurantoin which have almost kept intact sensitivity to *Escherichia coli*.

However, cotrimoxazole, quinolones, C2G and C3G have a very high level of resistance in *Klebsiella pneumoniae*. Thus, all strains of *Pseudomonas aeruginosa* were resistant to rifampicin and cotrimoxazole. However, they remain susceptible to colistin, imipenem and meropenem.

Furthermore, resistance was more pronounced against gentamicin, tobramycin, and ciprofloxacin. Surveillance of antibiotic resistance of major bacterial strains associated with urinary tract infections have allowed us to identify 30.1% of multi-resistant bacteria. The surveillance système of drug resistance was successfully implemented at LRM of the monitoring system was a great success and ensures the reliability of urinalysis performed. The phenomenon of multidrug-resistant bacteria which is relatively high, should lead to strengthen its surveillance at LRM and to implement good practices of prescript of antibiotics as well as at community as well as hospital level.

Keywords: Urinary Infections - Antibiotics - Rodolphe Mérieux Laboratory - Resistance.

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!