

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DU MALI

UN peuple - Un But - Une Foi



U.S.T.T-B

UNIVERSITE DES SCIENCES DES
TECHNIQUES ET DES
TECHNOLOGIES
DE BAMAKO



FACULTE DE PHARMACIE

Année universitaire : 2022-2023

N°/

THEME

**EVALUATION DE LA SENSIBILITE AUX
ANTIBIOTIQUES DES GERMES ISOLEES DES URINES
DANS LE LABORATOIRE GROUPE SANTE TIEBA DE
BAMAKO, MALI**

Présenté et soutenu publiquement le 27/07/2023 devant la Faculté de
Pharmacie du Mali

Par **M. Ibrahim Mahamadou MAIGA**

Pour obtenir le grade de Doctorat en Pharmacie (Diplôme d'Etat)

JURY :

Président : M. Amagana DOLO Professeur

Membres : M. Bourèma KOURIBA Maître de Conférences Agrégé

M. Ibréhima GUINDO Maître de Conférences Agrégé

Co-directeur : M. Oumar ATTAHER

Directeur : M. Boubacar TRAORE Professeur

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DE PHARMACIE



FAPH



LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DE PHARMACIE

ANNEE UNIVERSITAIRE 2023-2023

ADMINISTRATION

Doyen : Boubacar TRAORE, Professeur

Vice-doyen : Sékou BAH, Maître de Conférences

Secrétaire principal : Seydou COULIBALY, Administrateur Civil

Agent comptable : Ismaël CISSE, Contrôleur des Finances.

PROFESSEURS HONORAIRES

	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Flabou	BOUGOUDOGO	Bactériologie-Virologie
2	Boubacar Sidiki	CISSE	Toxicologie
3	Bakary Mamadou	CISSE	Biochimie
4	Abdoulaye	DABO	Malacologie -Biologie animale
5	Daouda	DIALLO	Chimie Générale et Minérale
6	Mouctar	DIALLO	Parasitologie-mycologie
7	Souleymane	DIALLO	Bactériologie - Virologie
8	Kaourou	DOUCOURE	Physiologie humaine
9	Ousmane	DOUMBIA	Chimie thérapeutique
10	Boukassoum	HAI'DARA	Législation
11	Gaoussou	KANOUTE	Chimie analytique
12	Alou A.	KEÏTA	Galénique
13	Mamadou	KONE	Physiologie
14	Brehima	KOUMARE	Bactériologie/Virologie
15	Abdourahmane S.	MAiGA	Parasitologie
16	Saibou	MAiCA	Législation
17	Elimane	MARIKO	Pharmacologie
18	Mahamadou	TRAORE	Génétique
19	Sékou Fantamadv	TRAORC	Zoologie
20	Yaya	COULIBALY	Législation

PROFESSFURS OECEDES

N°	PRENOMS	NOMS	SPECIALITE
1	Mahamadou	CISSE	Biologie
2	Drissa	DIALLO	Pharmacognosie
3	Moussa	HARAMA	Chimie analytique
4	Mamadou	KOUMARE	Pharmacognosie
5	Moussa	SANOGO	Gestion pharmaceutique

DER: SCIENCES BIOLOGIQUES ET MÉDICALES

1. PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOMS	GR ADE	SPECIALITE
1	Mounirou	BABY	Professeur	Hématologie
2	Mahamadou	DIAKITE	Professeur	Immunologie-Génétique
3	Alassane	DICKO	Professeur	Santé Publique
4	Abdoulaye	DJIMDE	Professeur	Parasitologie-Mycologie
5	Amagana	DOLO	Professeur	Parasitologie-Mycologie
6	Aldjouma	GUINDO	Professeur	Hématologie. Chef de DER
7	Akory Ag	IKNANE	Professeur	Santé Publique/Nutrition
8	Kassoum	KAYENTAO	Directeur de recherche	Santé publ./ Bio-statistique
9	Ousmane	KOITA	Professeur	Biologie-Moléculaire
10	Issaka	SAGARA	Directeur de recherche	Bio-statistique
11	Boubacar	TRAORE	Professeur	Parasitologie-Mycologie

2. MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOMS	GRADE	SPECIALITE
1	Bourèma	KOURIBA	Maître de conférences	Immunologie
2	Almoustapha Issiaka	MAÏGA	Maître de recherche	Bactériologie-Virologie
3	Mahamadou S.	SISSOKO	Maître de recherche	Bio-statistique
4	Ousmane	TOURE	Maître de recherche	Santé Publiq/Santé environ.
5	Djibril Mamadou	COULIBALY	Maître de conférences	Biochimie clinique
6	Djénéba Coumba	DABITAO	Maître de conférences	Biologie-moléculaire
7	Antoine	DARA	Maître de conférences	Biologie-moléculaire
8	Souleymane	DAMA	Maître de conférences	Parasitologie - Mycologie
9	Laurent	DEMBELE	Maître de conférences	Biotechnologie-Microbienne
10	Seydina S. A.	DIAKITE	Maître de conférences	Immunologie
11	Fatou	DIWARA	Maître de conférences	Epidémiologie
12	Ibrahima	GUINDO	Maître de conférences	Bactériologie Virologie
13	Amadou Birama	NIANGALY	Maître de conférences	Parasitologie – Mycologie
14	Fanta	SANGO	Maître de conférences	Santé publ/Santé commun.
15	Yéya dit Dadio	SARRO	Maître de conférences	Epidémiologie

3. MAITRE ASSISTANT/CHARGE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOMS	GRADE	SPECIALITE
1	Mohamed	AG BARAIKA	Maître-Assistant	Bactériologie-Virologie
2	Charles	ARAMA	Maître-Assistant	Immunologie
3	Boubacar Tiétiè	BISSAN	Maître-Assistant	Biologie clinique
4	Seydou Sassou	COULIBALY	Maître-Assistant	Biochimie Clinique
5	Klétigui Casimir	DEMBELE	Maître-Assistant	Biochimie Clinique
6	Yaya	GOITA	Maître-Assistant	Biochimie Clinique
7	Aminatou	KONE	Maître-Assistant	Biologie moléculaire
8	Birama Apho	LY	Maître-Assistant	Santé publique
9	Dinkorma	OUOLOGUEM	Maître-Assistant	Biologie Cellulaire

4. ASSISTANT/ATTACHE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOMS	GRADE	SPECIALITE
1	Djénéba	COULIBALY	Assistant	Nutrition/Diététique
2	Issa	DIARRA	Assistant	Immunologie
3	Merepen dit Agnès	GUINDO	Assistant	Immunologie
4	Falaye	KEITA	Attaché de Recherche	Santé publiq./santé Environn.
5	N'Deye Lallah Nina	KOITE	Assistant	Nutrition
6	Djakaridia	TRAORE	Assitant	Hématologie

DER : SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
1	Rokia	SANOOGO	Professeur	Pharmacognosie Chef de DER

2. MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
1	Loséni	BENGALY	Maitre de Conférences	Pharmacie hospitalière
2	Mahamane	H AidARA	Maitre de Conférences	Pharmacognosie

3. MAITRE ASSISTANT/CHARGE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
1	Bakary Moussa	CISSE	Maitre-Assistant	Galénique
2	Issa	COULIBALY	Maitre-Assistant	Gestion
3	Balla Fatogoma	COULIBALY	Maitre-Assistant	Pharmacie hospitalière
4	Adama	DENOU	Maitre-Assistant	Pharmacognosie
5	Hamma Boubacar	MAiGA	Maitre-Assistant	Galénique
6	Adiaratou	TOGOLA	Maitre-Assistant	pharmacognosie

4. ASSISTANT/ATTACHE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
1	Seydou Lahaye	COULIBALY	Assistant	Gestion pharmaceutique
2	Daouda Lassine	DEMBELE	Assistant	Pharmacognosie
3	Sékou	DOUMBIA	Assistant	Pharmacognosie
4	Assitan	KALOGA	Assistant	Législation
5	Ahmed	MAiGA	Assistant	Législation
6	Aichata Ben Adam	MARIKO	Assistant	Galénique
7	Aboubacar	SANGHO	Assistant	Législation
8	Bourama	TRAORE	Assistant	Législation
9	Sylvestre	TRAORÉ	Assistant	Gestion pharmaceutique
10	Aminata Tiéba	TRAORE	Assistant	Pharmacie hospitalière
11	Mohamed dit Sarmove	TRAORE	Assistant	Pharmacie hospitalière

DER : SCIENCES OU MEDICAMENT

1. PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
1	Sékou	BAH	Professeur	Pharmacologie
2	Benoit Yaranga	KOUMARE	Professeur	Chimie Analytique
3	Ababacar I.	MAiGA	Professeur	Toxicologie

2. MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
1	Tidiane	DIALLO	Maitre de Conférences	Toxicologie
2	Hamadoun Abba	TOURE	Maitre de Conférences	Bromatologie Chef de DER

3. MAITRE ASSISTANT/CHARGE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
1	Dominique Patomo	ARAMA	Maitre-Assistant	Pharmacie chimique
2	Mody	CISSE	Maitre-Assistant	Chimie thérapeutique
3	Ousmane	DEMBELE	Maitre-Assistant	Chimie thérapeutique
4	Madani	MARIKO	Maitre-Assistant	Chimie Analytique
5	Karim	TRAORE	Maître-Assistant	Pharmacologie

4. ASSISTANT/ATTACHE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
1	Mahamadou	BALLO	Assistant	Pharmacologie
2	Dalave Bernadette	COULIBALY	Assistant	Chimie analytique
3	Blaise	DACKOUO	Assistant	Chimie Analytique
4	Fatoumata	DAOU	Assistant	Pharmacologie
5	Abdourahamane	DIARA	Assistant	Toxicologie
6	Aiguerou dit Abdoulaye	GUINDO	Assistant	Pharmacologie
7	Mohamed El Béchir	NACO	Assistant	Chimie analytique
8	Mahamadou	TANDIA	Assistant	Chimie Analytique
9	Dougouti ui	TANGARA	Assistant	Chimie analytique

DER : SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
-	-	-	-	-

2. MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
1	Lassana	DOUMBIA	Maitre de Conférences	Chimie appliquée
2	Abdoulaye	KANT E	Maitre de Conférences	Anatomie
3	Boubacar	YALCOUYE	Maitre de Conférences	Chimie organique

3. MAITRE ASSISTANT/CHARGE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
1	Mamadou Lamine	DIARRA	Maitre-Assistant	Botanique-Biol. Végét Chef de DER
2	Boureima	KELLY	Maître-Assistant	Physiologie médicale

4. ASSISTANT/ATTACHE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
1	Seydou Simbo	DIAKITE	Assistant	Chimie organique
2	Modibo	DIALLO	Assistant	Génétique
3	Moussa	KONE	Assistant	Chimie Organique
4	Massiriba	KONE	Assistant	Biologie Entomologie

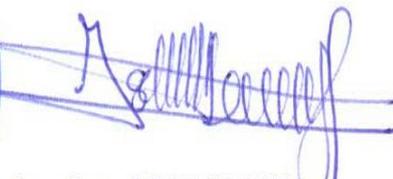
CHARGES DE COURS (VACATAIRES)

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Cheick Oumar	BAGAYOKO	Informati ue
2	Babou	BAH	Anatomie
3	Souleymane	COULIBALY	Psychologie
4	Yacouba M	COULIBALY	Droit commercial
5	Moussa I	DIARRA	Biophysique
6	Satigui	SIDIBÉ	Pharmacie vétérinaire
7	Sidi Boula	SISSOKO	Histologie-emb ologie
8	Fana	TANGARA	Mathématiques
9	Djénébou	TRAORE	Sémiologie et Pathologie médicale
10		SAMASSEKOU	Génétique
11	Boubacar	ZIBEÏROU	Physique

Bamako, le 23 mars 2023



P/Le Doyen PO
Le Secrétaire Principal


Seydou COULIBALY
Administrateur Civil

DEDICACE

DEDICACE

J'avoue ma reconnaissance à toutes les personnes qui m'ont soutenue durant mon parcours pour atteindre mon objectif. C'est avec amour respect et gratitude

Que

Je dédie cette thèse

Allah tout puissant

Qui m'a inspiré

Qui m'a guidé dans le bon chemin

Je vous dois ce que je suis devenue

Louanges et remerciements

Pour votre clémence et miséricorde

A ma très chère maman : Mariam Abdoulhamidou MAIGA.

A la plus douce et la plus merveilleuse de toutes les mamans.

A une personne qui m'a tout donné sans compter.

Malgré la distance, tu es toujours dans mon cœur.

Sans toi, je ne suis rien, grâce à toi je suis devenu docteur en pharmacie.

J'implore Dieu qu'il te procure santé et qu'il m'aide à te récompenser pour tous tes sacrifices.

A mon très cher papa : Feu Mahamadou Nouhoun MAIGA

Tu as été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, de la personne que tu es. Grace à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension

A mon oncle qui m'a adopté : Feu Housseyni Boubacar MAIGA.

Je te dédie ce modeste travail en témoignage de mon grand amour et ma profonde affection.

Grace à toi oncle, j'ai pu continuer mes études,

Tu as lutté et sacrifié pour m'offrir les conditions propices à ma réussite

J'implore le tout puissant pour qu'il t'accorde le paradis.

A ma sœur jumelle : Oumoukouloum Mahamadou MAIGA

Tu occupais franchement la place de notre mère.

Je te remercie énormément ma très chère sœur pour ton soutien, ton aide et ta générosité qui ont été toujours pour moi une source de courage et de confiance.

Je te souhaite tout le bonheur du monde dans ton foyer ; une vie pleine de sérénité avec ton mari Bella SIDIBE.

A ma très chère épouse et à mon fils : Tahiratou Moussa MAIGA et Mahamadou Ibrahim MAIGA

Merci pour le soutien dont tu as fait preuve pendant toute la durée de cette thèse.

Toi qui m'as offert ton cœur et toute ta tendresse, retrouve ici mon amour profond et ma reconnaissance. Qu'ALLAH te donne la paix et le bonheur dans le bas monde et dans l'au-delà.

A ma tante : Ramata TOUMAGNON

Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir.

A tous mes chers amis, amies, et collègues du Laboratoire Groupe Santé TIEBA :

En témoignages de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie de santé et de bonheur. Que notre fraternité reste éternelle.

A toute ma famille :

Je vous dédie ce travail en reconnaissant de l'amour que vous m'offrez quotidiennement et votre bonté exceptionnelle. Que Dieu le Tout Puissant vous garde et vous procure santé et bonheur.

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

A notre maître et président du jury,

Professeur Amagana DOLO,

- **Professeur titulaire de Parasitologie-Mycologie à la FAPH ;**
- **Directeur de l'Ecole Doctorale des Sciences et des Technologie du Mali (EDSTM) ;**
- **Coordinateur du Diplôme d'Etude Spécialisées (DES) de biologie clinique à la FAPH ;**
- **Enseignant-Chercheur à la FAPH.**

Cher maître,

Nous sommes très honorés que vous ayez accepté de présider notre jury de thèse.

Votre disponibilité, votre rigueur scientifique, votre esprit d'ouverture et amour pour le travail bien fait nous ont particulièrement impressionnés. Nous avons été séduits par votre qualité d'encadrement. Nous gardons de vous l'image d'un professeur rigoureux et soucieux de transmettre ses connaissances à la jeune génération. Veuillez recevoir cher maître, l'expression de notre profonde gratitude.

A notre maître et juge

Professeur Agrégé Bourèma KOURIBA

- **Maître de conférence Agrégé d'Immunologie à la Faculté de Pharmacie,**
- **Chef de l'unité d'Immunologie Cellulaire et Moléculaire des Parasites du MRTC/DEAP,**
- **Directeur Général du Centre d'infectiologie Charles MERIEUX-MALI (CICM)**

Cher maître,

Vous nous faites honneur en acceptant de vous associer à notre jury de thèse.

Vous représentez pour nous l'exemple du maître aux grandes qualités humaines et professionnelles.

Votre compétence et votre dévouement sont pour nous un exemple à suivre dans l'exercice de la profession médicale. Veuillez croire, cher maître, à l'expression de notre sincère reconnaissance et notre grand respect.

A notre maître et juge

Professeur agrégé Ibréhima GUINDO

- **Maître de conférence agrégée en Bactériologie-Virologie à la Faculté de Pharmacie ;**
- **Chef de service du laboratoire Bactériologie-Virologie à INRPS-INSP**
- **Professeur de Bactériologie-Virologie à la faculté de Pharmacie**

Cher maître,

Vous nous faites plaisir en acceptant de juger ce travail. Votre compétence, votre savoir-faire et votre simplicité exemplaire sont pour nous un objet de considération. Nous avons eu l'occasion d'apprécier vos qualités professionnelles et humaines qui ont toujours suscité notre admiration. Veuillez accepter, cher maître, nos sincères remerciements et toute la reconnaissance que nous vous témoignons.

A notre maître et Co-directeur de thèse

Dr Oumar ATTAHER

- **Pharmacien biologiste ;**
- **Biologiste au Laboratoire Groupe Sante TIEBA**
- **Chercheur au MRTC ;**

Cher maître,

Nous vous remercions de nous avoir servis et encadrés au cours de ce travail. Vous nous avez accordé votre soutien et motivation. Votre rigueur scientifique, votre ténacité et votre amour pour l'exercice bien fait nous ont été les actes les mieux appréciés. Cher maître, nous vous en serons toujours reconnaissants. Recevez cher encadreur, nos sincères remerciements et notre profonde administration.

A notre maître et directeur de thèse

Professeur Boubacar TRAORE

- **Professeur titulaire en Parasitologie-Mycologie à la Faculté de Pharmacie,**
- **Directeur scientifique de l'unité Paludisme, Grossesse et Immunopathologie parasitaire du MRTC/ICFR,**
- **Doyen de la Faculté de Pharmacie.**

Cher maître,

Vous nous avez fait un grand honneur en acceptant de nous confier ce travail de thèse.

Vous étiez toujours pour moi un modèle à suivre en raison de votre modestie et votre dévouement envers vos étudiants.

Je vous remercie infiniment pour votre aide ainsi que votre disponibilité et votre soutien tout au long de cette expérience enrichissante.

Liste des Abréviations

Ag : Antigène

AgH : Antigène H (Antigène flagellaire)

AgK : Antigène K (Antigène de la capsule)

AgO : Antigène O (Antigène de la paroi)

AgVi : Antigène Vi (Antigène d'enveloppe)

AM : Ampicilline

AMC : Amoxicilline + Acide clavulanique

AMK : Amikacine

ATB : Antibiotique

ATM : Aztreonam

ECBU : Examen Cytobactériologique des Urines

BCP : Bromo Cresol Pourpre

BGN : Bacille Gram Négatif

BLSE : Bêta-Lactamases à Spectre Elargi

BMR : Bactérie Multi-Résistante

CAZ : Ceftazidime

CD : Clindamycine

CFM : Cefuroxime

CGP : Cocci Gram Positif

CIP : Ciprofloxacine

CL : Chloramphénicol

CLED : Cystine Lactose Electrolyte Déficient

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CRO : Ceftriaxone

CST : Colistine

CXM : Cefixime

E. coli : *Escherichia coli*

ETP : Ertapenème

FEP : Cefepime

FOX : Cefoxitine

FUR : Nitrofurantoïne

GBEA : Guide des Bonnes Exécutions des Analyses

GEN : Gentamycine

HMIMV : Hôpital Militaire d'Instruction Mohamed V
H₂S : Sulfure d'Hydrogène
I : Intermédiaire
IMP : Imipenème
IU : Infection Urinaire
ITU : Infection du Tractus Urinaire
K : Kanamycine
KF : Cefalotine
LGST : Laboratoire Groupe Santé TIEBA
PDA : Phénylamine Désaminase
R : Résistant
REMIC : Référentiel de la Société française de Microbiologie
S : Sensible
S. agalactiae : *Streptococcus agalactiae*
S. aureus : *Staphylococcus aureus*
S. epidermidis : *Staphylococcus epidermidis*
S. maltophilia : *Staphylococcus maltophilia*
S. saprophyticus : *Staphylococcus saprophyticus*
SXT : Cotrimoxazole
TAZ : Piperazine-Tazobactame
TC : Ticarcilline
TDA : Tryptophane Désaminase
TE : Tétracycline
UFC : Unité Formant Colonie
VP : Vosges Proskauer
VPN : Valeur Prédictive Négative

LISTES DES TABLEAUX ET FIGURES

Liste des Tableaux

Tableau I : Subdivision hiérarchique de classification des entérobactéries	11
Tableau II: Classification des entérobactéries les plus fréquentes en clinique humaine	12
Tableau III: Caractère bactériologique de certains agents uro-pathogènes	13
Tableau IV: Caractères d'identification biochimiques des genres les plus fréquemment rencontrés	14
Tableau V: Seuil de bactériurie selon le sexe et l'agent pathogène	21
Tableau VI: Dénombrement des colonies et précision du néphélomètre	35
Tableau VII: Apport des examens bactériologiques au diagnostic des infections urinaires	37
Tableau VIII: Fréquence de l'infection urinaire dans la population étudiée.....	39
Tableau IX: Répartition de l'infection urinaire selon le sexe	39
Tableau X : Répartition des ECBU en fonction de centre de prescription.	41
Tableau XI: Répartition des ECBU selon la leucocyturie.....	42
Tableau XII: Répartition en fonction du Gram des bactéries isolés des urines	43
Tableau XIII: Répartition des germes selon la fréquence d'isolément	43
Tableau XIV : Sensibilité des entérobactéries isolées des urines aux bêtalactamines.....	44
Tableau XV: Sensibilité de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aux antibiotiques	45
Tableau XVI: Sensibilité de souches d' <i>Escherichia coli</i> aux antibiotiques.....	46
Tableau XVII: Sensibilités aux antibiotiques de souches de <i>Citrobacter freundii</i>	47
Tableau XVIII : Sensibilité des souches d' <i>Enterobacter cloacae</i> aux antibiotiques.....	48
Tableau XIX: Sensibilité de Cocci à Gram Positif aux antibiotiques	49
Tableau XX: Sensibilité des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> aux antibiotiques	50

Liste des figures

Figure 1 : L'appareil génital-urinaire de l'homme.....	7
Figure 2 : L'appareil génital-urinaire de la femme	7
Figure 3 : Macroscopie des urines	18
Figure 4 : Cylindre urinaire	19
Figure 5 : Cristaux urinaire	19
Figure 6 : Milieu de culture Gélose Drigalski au LGST.....	31
Figure 7: Numération bactérienne sur ensemencement urinaire	32
Figure 8 : Galerie d'identification Api 20 ^E au LGST.....	33
Figure 9 : Antibiogramme d'échantillon de l'uroculture sur le milieu Mueller Hinton.....	34
Figure 10 : BD Phoenix® M50, LGST-25/04/2023	35
Figure 11: Logigramme d'ECBU et d'antibiogramme au LGST.	36
Figure 12: Répartition de l'infection urinaire selon la tranche d'âge	40
Figure 13 : Répartition de l'infection urinaire en fonction des lieux de prélèvement	40
Figure 14: Répartition des ECBU selon les prescripteurs.....	41
Figure 15 : Répartition des ECBU selon les méthodes de traitement des échantillons	42
Figure 16: Coloration de Gram	71
Figure 17: Technique d'ensemencement d'une urine	72

TABLE DE MATIERES

Table des matières

1. Introduction	2
2. Objectifs	4
2.1. Objectif général	4
2.2. Objectifs spécifiques	4
3. Généralités	5
3.1. Définitions.....	5
3.2. Rappels anatomiques du tractus urinaires	5
3.3. Épidémiologie de l'infection urinaire	8
3.4. Physiopathologie de l'infection urinaire	8
3.5. Les facteurs favorisant les infections urinaires.....	10
3.6. Quelques bactéries responsables d'infections urinaires	10
3.6.1. Les entérobactéries	10
3.7. Diagnostic de l'infection urinaire.....	15
4. Méthodologie.....	26
4.1. Lieu d'étude.....	26
4.2. Type et période de l'étude.....	27
4.3. Population d'étude	27
4.4. Critères d'inclusion	27
4.5. Critères de non inclusion.....	27
4.6. Collecte des données	27
4.7. Considération éthique.....	27
4.8. Saisie et analyse statistique des données.....	28
4.9. Réactifs et Matériels.....	28
4.10. La Démarche Méthodologique.....	28
5. Résultats	39
6. Discussion.....	52
7. Conclusion.....	57
8. Recommandations :.....	59
9. Référence.....	60
10. ANNEXE	70

INTRODUCTION

1. Introduction

L'importance du laboratoire dans le diagnostic et le suivi du traitement de l'infection du tractus urinaire (ITU), recommande aux laboratoires de routines d'évaluer la sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées dans les urines. Celle-ci représente une des causes principales de demande d'examens bactériologiques et de prescription d'antibiotiques. L'infection urinaire (IU) constitue un véritable problème majeur de santé public [1]. La fréquence des infections urinaires est estimée à 150 millions de cas par an dans le monde, et le deuxième site infectieux en infectiologie [2].

Les infections du tractus urinaire (ITU) sont fréquentes aussi bien en milieu hospitalier qu'en milieu communautaire [3]. Elles constituent 40% des infections acquises à l'hôpital ; et le second motif de consultation et de prescription d'antibiotiques après les infections respiratoires avec leurs conséquences sur le coût des soins et du développement de résistances bactériennes [4-5]. La fréquence élevée des bactéries dans les urines pourrait s'expliquer par la prolifération préférentielle de certaines bactéries au niveau des voies urinaires et la multiplicité des facteurs favorisants (l'âge, le sexe, l'état du patient) [5]. Depuis la découverte en 1985 de la production des β -lactamases à spectre étendu (BLSE) par les entérobactéries (bactéries les plus répandues au cours des infections du tractus urinaire) plusieurs études se sont intéressées à leur profil et les facteurs de leur émergences et propagation [6-7]. La situation est particulièrement préoccupante en milieu hospitalier, surtout en urologie, où la résistance par production de BLSE est en augmentation [8]. Ainsi la prise en charge probabiliste adaptée de ces infections devient un des enjeux de santé publique [9].

L'examen cyto bactériologique des urines (ECBU) reste l'examen clé pour le diagnostic de cette infection. Il permet d'isoler la bactérie responsable de l'infection à partir de la culture, afin de l'identifier et d'étudier sa sensibilité aux antibiotiques [10]. L'émergence et la multiplication des bactéries multi-résistantes (BMR) pendant les IU limitent le choix des antibiotiques [11]. Les évaluations de la sensibilité aux antibiotiques des souches bactériennes ont révélé une résistance relativement importante aux β -lactamines particulièrement à l'amoxicilline et l'ampicilline pour la plupart des entérobactéries d'où l'importance d'une identification bactériologique adéquate en vue d'une antibiothérapie adaptée [12]. Le recueil de l'échantillon ainsi que son acheminement vers le laboratoire doivent être effectués dans des conditions strictes et selon un protocole bien défini pour éviter les erreurs d'interprétation [13].

En effet, la prévalence du portage de bactéries exprimant des bêtalactamases à spectre élargi (BLSE) était de 21,4% à l'hôpital du Mali [14].

La surveillance de la résistance aux antimicrobiens est d'importance dans les pays afin d'élaborer des stratégies efficaces de contrôle. Dans cette perspective des sites sentinelles ont été mise en place au Mali. Cependant les laboratoires publiques et privés doivent tous participer à cette surveillance en contribuant à la base de données nationale et renforcer ainsi la stratégie de lutte contre ce phénomène.

C'est pour cela, nous avons entrepris cette étude dont le but est d'évaluer le profil de sensibilité des bactéries isolées dans les infections urinaires dans le Laboratoire Groupe Santé TIEBA.

2. Objectifs

2.1. Objectif général

Evaluer la sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées chez les patients venus au Laboratoire Groupe Santé TIEBA de Bamako pour examen cytot bactériologique des urines.

2.2. Objectifs spécifiques

- 1) Déterminer la fréquence des examens cytot bactériologiques des urines positives ;
- 2) Identifier les différentes espèces des bactéries isolées dans les urines ;
- 3) Déterminer la prévalence de la sensibilité et de la résistance aux antibiotiques des bactéries isolées des urines.

3. Généralités

3.1. Définitions

❖ Infection urinaire

Est la colonisation des urines par des bactéries, ce qui se traduit le plus souvent par des signes infectieux urinaires. Elle peut être classée en deux catégories ; les infections urinaires hautes qui concernent les reins et les uretères et les infections urinaires basses qui affectent la vessie et l'urètre. Cette infection est dite nosocomiale lorsqu'elle n'était ni présente ni en cours d'incubation à l'admission du patient dans une structure de soins dans les 48 heures. Ce délai de 48 heures correspond à la durée d'incubation de la plupart des infections aiguës liées à une bactérie à croissance rapide. L'origine des bactéries nosocomiales est endogène (flore du patient) dans les deux tiers des cas, ou exogène [10]. Elle associe :

- Au moins un des signes suivants : fièvre ($>38^{\circ}\text{C}$), impériosité mictionnelle, pollakiurie, brûlures mictionnelles ou douleurs sous-pubiennes, en l'absence d'autre cause infectieuse ou non ;
- A une uroculture positive.

❖ Colonisation

La colonisation urinaire ou bactériurie asymptomatique est la présence d'un micro-organisme (ou de plusieurs micro-organismes) dans l'arbre urinaire sans manifestations cliniques associées. Il n'y a pas de seuil de bactériurie, sauf chez la femme enceinte, où un seuil de bactériurie $\geq 10^5$ ufc/ml est classiquement retenu. La leucocyturie n'intervient pas dans la définition [15].

❖ Examen cyto bactériologique des urines

C'est un examen permettant de réaliser sur un échantillon d'urine :

- Une étude de la **Cytologie**, c'est-à-dire l'étude des différents types de cellules retrouvées dans l'urine (hématies, leucocytes, cellules épithéliales recouvrant la surface de la vessie ;
- Une étude **Bactériologique**, c'est-à-dire la recherche, l'identification, et le compte des bactéries pouvant être présentes dans l'urine, après sa mise en culture. Si un germe est identifié, une étude de sa sensibilité à différents antibiotiques est réalisée [15].

3.2. Rappels anatomiques du tractus urinaires

L'appareil urinaire comprend : la vessie, les reins, les uretères, et l'urètre. Pour des raisons anatomiques, l'IU est plus fréquente chez la femme. En effet, chez la femme, le méat urinaire est proche de l'anus où sont toujours présentes des bactéries. Ces bactéries peuvent remonter le long de l'urètre vers la vessie et proliférer dans l'urine [16]. Un défaut d'hygiène locale peut

donc favoriser les IU de la femme. L'homme est relativement protégé des IU par la distance qui sépare l'anus de son méat urinaire (la longueur de l'urètre masculin est en moyenne de 16 cm, alors que celle de l'urètre féminin est de 2 cm) [17]. L'appareil urinaire bénéficie de barrières naturelles contre l'infection, qui sont anatomiques et mécaniques :

- La dynamique du flux urinaire qui assure la vidange des voies urinaires, s'oppose ainsi à tout envahissement microbien local ;
- Les propriétés antibactériennes de l'urothélium qui empêchent la diffusion et la multiplication des germes ;
- La jonction urétéro-vésicale qui constitue un obstacle pour le reflux vésico-urétéral de l'urine ;
- Les papilles calicielles qui s'opposent au reflux intra-rénal de l'urine. Il existe des récepteurs urothéliaux aux adhésines fimbriales des souches d'*Escherichia coli*, qui jouent un rôle prépondérant dans l'adhérence de ces germes à l'urothélium.

Le nombre et la nature de ces récepteurs seraient génétiquement déterminés, d'où la sensibilité variable aux infections urinaires d'un individu à un autre. Il n'est pas rare que l'urine soit contaminée malgré tous ces mécanismes de défense. Les principaux mécanismes de défense contre l'infection sont représentés par la dynamique du flux urinaire (vidange) et les propriétés antibactériennes de l'épithélium bordant l'appareil urinaire (urothélium) [18]. Le mécanisme des infections urinaires secondaires est relativement facile à concevoir (obstacle au libre écoulement urinaire : jonction pyélonéphrite urétérale, reflux, hypertrophie bénigne de la prostate...) par contre les facteurs responsables de l'infection urinaire « idiopathique » sont plus complexes. L'infection clinique résulte de la rencontre d'une bactérie capable de proliférer dans l'urine et d'un terrain qui permettra le développement bactérien [19]. L'écosystème bactérien Il peut être résumé ainsi :

- périnée postérieur (péri-anal) : Entérobactéries
- périnée antérieur (vestibule) : flore vaginale, *Gardenella*
- à la périphérie du périnée : flore cutanée commensale.

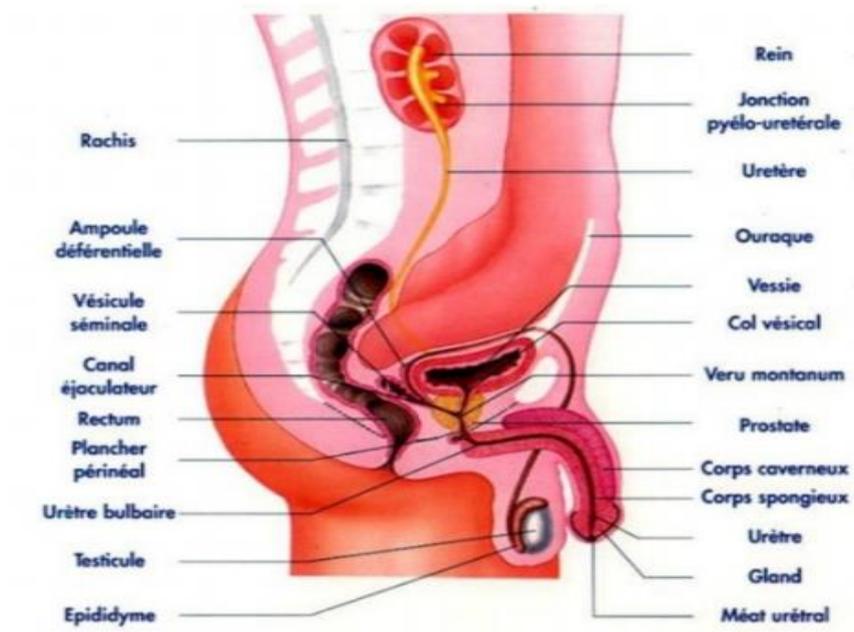


Figure 1 : L'appareil génital-urinaire de l'homme [17]

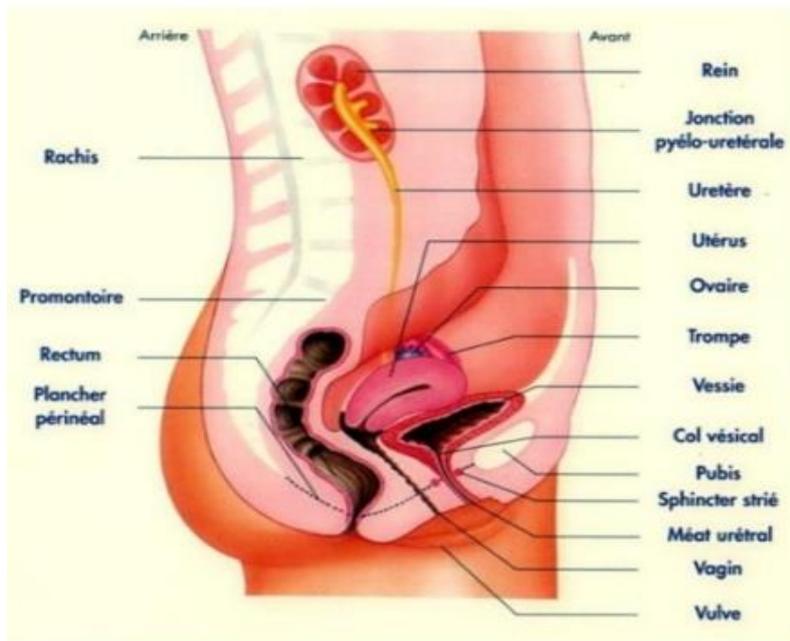


Figure 2 : L'appareil génital-urinaire de la femme [17]

3.3. Épidémiologie de l'infection urinaire

L'infection urinaire est le deuxième site d'infection bactérienne communautaire et le premier site de colonisation et d'infection nosocomiale dans environ 40% [2]. Le sexe et l'âge sont des facteurs de risque importants pour contracter une infection urinaire. De façon générale et toutes catégories d'âges confondues, les femmes sont plus à risque de développer une infection urinaire. Jusqu'à 40 % à 50 % des femmes rapportent avoir souffert d'au moins une infection urinaire au cours de leur vie. La fréquence augmente avec l'âge et deux périodes sont plus propices : en début d'activité sexuelle et en période post-ménopausique. La grossesse est aussi un facteur favorisant d'ailleurs, la fréquence d'une bactériurie pendant la grossesse varie de 2% à 6% [22]. Chez l'homme, cette infection est représentée principalement par l'atteinte prostatique, mais est rare sauf en cas d'anomalies anatomiques ou fonctionnelles du tractus urinaire. La fréquence augmente après 50 ans au moment où surviennent la pathologie prostatique et le nombre plus important d'explorations urinaires instrumentales. Chez les personnes âgées, la cystite est également l'infection la plus fréquente mais elle est souvent asymptomatique. Jusqu'à 5 % à 10% des hommes et 10 % à 20 % des femmes âgées de plus de 65 ans ont une bactériurie asymptomatique [22].

En effet, en Afrique, 30 à 50% des femmes disent avoir eu une infection urinaire au cours de leurs vies et après 7 ans, 7,8% des filles et 1,6% des garçons ont présenté une infection urinaire [49].

Au Mali ; les infections urinaires ont constitué la troisième cause de fièvre avec une prédominance féminine de 33% contre 26% chez les hommes en 1999 [55]. L'étude de Jeamine et Colette Epok aussi réalisée à Bamako en 1998 à l'hôpital national du point-G a montré que les infections urinaires ont été plus fréquentes en milieu hospitalier qu'en milieu extra hospitalier : 15,75% avec 11,08 % chez les consultants externes et 27,74% chez les hospitalisés [55]. Les résultats épidémiologiques ont montré que les entérobactéries représentent la grande majorité des bactéries responsables des IU (92%), dont E. coli est l'espèce la plus incriminée (63%).

3.4. Physiopathologie de l'infection urinaire

Le réservoir bactérien de l'infection est constitué par les intestins, et la pénétration du germe dans le milieu urinaire se fait à partir de trois voies [20] :

- Voie ascendante ;
- Voie lymphatique ;
- Voie hématique.

➤ **Voie ascendante**

C'est la voie la plus fréquente, les bactéries entériques colonisent successivement les régions périnéales, vulvo-vaginale, urétrales et remontent à la vessie, ou à la faveur d'un reflux vésico-urétéral, aboutissant au haut appareil urinaire. Une fois dans la vessie, les bactéries 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 milieu de culture pour les bactéries [19]. Les infections de l'appareil urinaire bas, habituellement la vessie et l'urètre, sont très fréquentes chez les femmes plus que les hommes, par la proximité des orifices (urétral, vaginal et anal), de même que la brièveté de l'urètre, explique 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 [17]. Chez les hommes, l'urètre est plus long (16 cm environ), ce qui fait qu'il est difficile pour les bactéries de remonter assez haut pour provoquer une infection. Ainsi, la remontée des bactéries le long de l'urètre est plus difficile et entraîne des infections urinaires moins fréquentes chez l'homme [17].

➤ **Voie lymphatique**

C'est une voie controversée. La présence des voies pathogènes lymphatiques possible entre le colon et le rein est suggérée par les faits expérimentaux. Cependant, il n'existe pas de preuves expérimentales formelles [20].

➤ **Voie hématogène**

Elle est rare, c'est l'ensemencement « primitif » du rein ou de la vessie par la voie sanguine. L'expérimentation a montré que les entérobactéries injectées massivement par voie intraveineuse n'entraînaient l'infection de la colonne que lorsqu'il y avait une obstruction : la présence concomitante d'*Escherichia coli* dans le sang et dans les urines suggère que la bactérie décelée dans le sang provient des urines et non l'inverse. La voie hématogène est limitée à certaines bactéries [21] :

- Une bactériémie à Staphylocoque à partir d'un site éloigné peut produire des abcès multiples dans le rein. Ces abcès peuvent s'étendre au fascia péri néphrétique et produire des abcès périnéaux. Un mécanisme similaire mais plus insidieux peut survenir avec la tuberculose.
- Le passage dans les urines d'une Salmonelle ou d'un Candida dans le cas d'une septicémie chez un sujet non cathétérisé ou immunodéprimé.

3.5. Les facteurs favorisant les infections urinaires

✓ Le sexe

Prédominance féminine du fait que l'urètre est proche de la région périnéale chez la femme [22].

✓ L'âge

Les patients de plus de 65 ans sont plus exposés au risque des infections du tractus urinaire. La vieillesse est ainsi un des facteurs favorisant l'apparition d'une bactériurie, chez 20% des vieillards institutionnalisés non sondés et chez 30% vivant en milieu hospitalier ou en soins continus [22].

✓ Maladies sous-jacentes et état immunitaire

- Les diabétiques : Cela est dû à la glycosurie qui altère l'activité des polynucléaires, la phagocytose, et la vidange vésicale, ce qui entraîne un déséquilibre favorisant l'infection ;
- La femme enceinte ; la ménopause
- Les sondes à demeure :
- Lithiase des voies urinaires ;
- Sténose urétrale congénitale ;
- Sténose du méat urétral ;
- Anomalies congénitales des voies génito-urinaires [50].

✓ Autres facteurs favorisant les UI

- Utilisation des spermicides ;
- Activité sexuelle.

3.6. Quelques germes responsables d'infections urinaires

3.6.1. Les entérobactéries

Ce sont des Bacilles Gram Négatifs (BGN) extrêmement répandus. Ils vivent à l'état commensal dans le tube digestif de l'homme et des animaux et plus particulièrement dans le colon et le rectum. On les trouve aussi au niveau des organes génitaux. La famille des *Enterobacteriaceae* comprend actuellement 100 espèces répertoriées. Les espèces les plus communément isolées en bactériologie clinique appartiennent à 12 genres : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia* [23].

Tableau I : Subdivision hiérarchique de classification des entérobactéries [23]

Rang taxonomique	Classification
Domaine	<i>Bacteria</i>
Embranchement	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Enterobacteriales</i>
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>

+ *Escherichia coli (E. coli)*

Escherichia coli est l'hôte normal du tube digestif de l'homme et de l'animal et constitue l'espèce dominante de la flore aérobie (environ 80%). Il n'existe pas normalement dans les environnants, mais sa présence signifie une contamination fécale.

+ *Klebsiella-Enterobacter-Serratia*

Le groupe comprend des entérobactéries qui ont en commun le caractère biochimique appelé réaction de Voges Proskauer (VP) qui est généralement positive. Cette réaction consiste à mettre en évidence la production d'acétyl méthyl carbinol (acétoïne) par la bactérie. Ce sont des bactéries saprophytes et très répandues dans la nature, elles peuvent se retrouver à l'état commensal dans le tube digestif, les voies urinaires, en particulier les voies respiratoires supérieures pour le *Klebsiella*. Ils sont responsables d'infections hospitalières nosocomiales.

+ *Citrobacter et Edwarsiella*

Ce sont des bacilles gram négatif. Le genre *Citrobacter* est un germe commensal et retrouvé fréquemment dans l'intestin de l'homme. Les espèces du genre *Edwarsiella* sont saprophytes mais peuvent parfois être retrouvé à l'état commensal dans l'intestin.

+ *Proteus-Providencia-Morganella*

Ce sont des entérobactéries qui possèdent en commun des enzymes permettant la désamination oxydative des acides aminés en corps cétonique. On les appelle ainsi les entérobactéries à TDA positif (+). Ils sont saprophytes, répandues dans le sol, habituellement les eaux d'égout. Ce sont aussi des hôtes normaux du tube digestif de l'homme et des animaux.

+ *Pseudomonas*

Les *Pseudomonas* vivent dans l'eau, le sol humide et dans les végétations et le tube digestif humain et des animaux, ils peuvent être saprophytes. C'est un germe opportuniste rencontré également dans les milieux hospitaliers dont l'espèce le plus fréquemment isolée est

Pseudomonas aeruginosa ou bacille pyocyanique. Les colonies poussent en 24 heures et sont plates, à bord irrégulier et prennent un aspect irisé métallique avec le temps. Un pigment vert brillant diffusible caractérise cette espèce.

✚ *Enterobacter*

C'est un genre qui colonise souvent les patients hospitalisés et plus particulièrement ceux traités par antibiotiques, et peut être à l'origine d'infections urinaires et de pneumonies, ainsi que des infections cutanées. Il peut être responsable de bactériémie, et c'est un pathogène dont l'incidence en milieu hospitalier a considérablement augmenté ces dernières années.

✚ *Acinetobacter*

Ce sont des bacilles gram négatif et souvent opportuniste chez les patients hospitalisés. L'espèce la plus fréquemment rencontrée dans 80% des infections est *Acinetobacter baumannii*. Il est responsable des infections respiratoires, des infections urinaires, des infections dermiques etc.

Tableau II: Classification des entérobactéries les plus fréquentes en clinique humaine [23]

GROUPE	FAMILLE	GENRE	ESPECE
Groupe I	<i>Edwardsiellaceae</i>	<i>Edwardsiella</i>	<i>Edwardsiella tarda</i>
	<i>Salmonellaceae</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella typhi</i> <i>Salmonella paratyphi</i> , <i>Salmonella enteritidis</i>
Groupe II	<i>Escherichiaceae</i>	<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia coli</i>
		<i>Shigella</i>	<i>Shigella dysenteriae</i> , <i>Shigella flexneri</i> , <i>Shigella boydii</i> <i>Shigella sonnei</i>
Groupe III	<i>Klebsiellaceae</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Klebsiella oxytoca</i>
		<i>Enterobacter</i>	<i>Enterobacter aérogènes</i> <i>Enterobacter cloacae</i>
		<i>Serratia</i>	<i>Serratia marcescens</i>
		<i>Erwinia</i>	
Groupe IV	<i>Proteaceae</i>	<i>Proteus</i>	<i>Proteus mirabilis</i> <i>Proteus vulgaris</i>
		<i>Providencia</i>	<i>Providencia rettgeri</i> <i>Providencia alcalifaciens</i> <i>Providencia stuartii</i>
Groupe V	<i>Yersiniaceae</i>	<i>Yersinia</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Yersiniaceae pseudo-tuberculosis</i>

3.6.1.1. Caractères bactériologiques des entérobactéries

Les entérobactéries ont toutes une morphologie très voisine, ce sont des bacilles gram négatifs. Ils se développent sur les milieux ordinaires en 24 heures à 37°C comme température optimale de croissance, mais la culture est possible entre 20° à 40°C. Le temps de division varie de 20 à 40 minutes. Sur la gélose ordinaire, on observe plusieurs types de colonies [24] :

- **Colonies S (smooth) lisses** : Elles sont bombées, régulièrement arrondies à bord régulier, surface lisse, translucides, présentant souvent un reflet bleuté ;
- **Colonies R (rough) rugueuses** : Elles sont plates, à bordures dentelées, surface rugueuses, et grisâtres. Elles s’observent surtout avec des souches ayant subi plusieurs repiquages ;
- **Colonies M (muqueuses)** : Elles sont volumineuses, arrondies, bombées à surface lisses, brillantes, réalisant l’aspect de coulée de miel. Ce type correspond souvent à des bactéries capsulées (*Klebsiella*) ;
- **Colonies envahissantes** : Elles forment des vagues successives couvrant toute la gélose. Ce type de colonie est caractéristique du genre *Proteus*.

Tableau III: Caractère bactériologique de certains agents uro-pathogènes [24]

Genres / Espèces	Caractères morphologiques	Caractères cultureux	Caractères biochimiques	Caractères antigéniques
<i>Entérobactéries</i>	-Bacille Gram- -Capsule +/- -Mobiles ou immobiles -Non sporulé	- Culture sur milieu ordinaire -37 C° - Non exigeant	Glucose+ Oxydase- Catalase + Nitrate +	Ag flagellaire : AgH Ag de paroi : AgO, Ag de surface : AgVi et AgK
<i>E. coli</i>	-Bacille Gram- -Coloration bipolaire -Mobile -Non sporulé	- Culture sur milieu ordinaire - 37 C° - Non exigeant	Glucose+ Catalase+ Oxydase – Urée -	Ag O (il existe 163 Ag O différents) Ag H , Ag Vi
<i>Staphylococcus aureus</i>	-Cocci à gram+ -En amas - Immobile -Non capsulé -Non sporulé	- Culture sur milieu ordinaire - Peu exigeant -Milieu sélective “CHAPMAN”	Catalase+ Coagulase+ Mannitol +	présence de protéine A et de récepteurs du fibrinogène
<i>Streptocoques</i>	-Cocci gram + -Immobile -Arrondi ou ovoïde -Non capsulé -En chaînettes	-Aérotolérant -Fragile -Exigent	Catalase- Oxydase -	Protéine M Capsule
<i>P. aeruginosa</i>	-Bacille Gram- -Non capsulé -Non sporulé -Mobile	-Aérobie stricte -Peu exigeant -Milieu au Cetrimide	Catalase+ Oxydase +	-

3.6.1.2. Caractères biochimiques des entérobactéries

Les caractères d'identification sont essentiellement biochimiques et utilisent des tests qui étudient le métabolisme protéique (présence d'uréase, production d'indole, dégradation du tryptophane) ou la fermentation des sucres (glucose, lactose, saccharose...), la capacité d'utiliser le citrate, la présence d'enzymes (décarboxylases, désaminases), la production d'hydrogène sulfuré ou la formation de gaz [24].

Tableau IV: Caractères d'identification biochimiques des genres les plus fréquemment rencontrés [24]

Genres	Glucose	Lactose	ONPG	Indole	V P	Citrate	Mobilité	Urée	TDA	H ₂ S
<i>Escherichia</i>	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-
<i>Citrobacter</i>	+	+	+	-	-	+	+	-	+/-	+/-
<i>Enterobacter</i>	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-
<i>Klebsiella</i>	+	+	+	+/-	+	+/-	-	+	-	-
<i>Serratia</i>	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-
<i>Salmonella</i>	+	-	-	-	-	+/-	+	-	+	+
<i>Shigella</i>	+	-	-	+/-	-	-	-	-	-	-
<i>Proteus</i>	+	-	-	+/-	-	+/-	+	+	+/-	+/-
<i>Providencia</i>	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-
<i>Yersinia</i>	+	-	-	+/-	+	-	+	+	-	-

3.6.1.3. Caractères antigéniques des entérobactéries

Les entérobactéries possèdent de nombreux antigènes :

- Antigène de paroi « O » : Est une endotoxine de nature glucido-lipido-polypeptidique, un constituant de la paroi. Il est thermostable, résiste à l'alcool et au phénol.
- Antigène flagellaire « H » : de nature protéique est présent chez les espèces mobiles. Il est thermostable, détruit par l'alcool mais insensible à l'action du formol. En présence de l'anticorps correspondant il donne une agglutination floconneuse facile à dissocier par agitation.
- L'antigène capsulaire « K » : de nature polysaccharidique, qui entoure la paroi de certaines entérobactéries et peut masquer l'antigène O. Il est présent surtout chez le genre *Klebsiella* [48].

3.6.2. Cocci à Gram positif (CGP)

3.6.2.1 *Staphylocoques*

Les espèces du genre *Staphylococcus* sont des Cocci à Gram positif groupés en amas ayant la forme d'une grappe de raisin, immobiles, sporulés avec une présence de catalase. Parmi les espèces du genre *Staphylococcus* actuellement répertoriées, les principales sont :

- *Staphylococcus aureus* ;
- *Staphylococcus epidermidis* ;
- *Staphylococcus saprophyticus*.

Le test à la catalase est positif pour les *Staphylocoques* ; ce qui le différencie des *Streptocoques*. La présence de la coagulase chez le *Staphylococcus aureus* permet de le différencier du *Staphylococcus epidermidis* et du *Staphylococcus saprophyticus*.

3.6.2.2. *Streptocoques*

Sont des Cocci à Gram positif (+) disposés par paire (diplocoques) en longue ou courte chaînette, non sporulés. Certains *Streptocoques* possèdent une capsule : c'est le cas de *Streptococcus pneumoniae* ou *pneumocoque*. Sur le milieu de culture, la gélose au sang, les colonies peuvent produire :

- Une hémolyse alpha, qui est caractérisée par une zone d'hémolyse étroite, verdâtre autour de la colonie (*pneumocoque*).
- Une hémolyse β ou complète, caractérisée par une zone d'hémolyse assez large autour de la colonie ; c'est le cas de *Streptococcus pyogenes* et du *Streptococcus agalactiae* du groupe B.
- Une hémolyse γ ou absence d'hémolyse, dans ce cas les colonies ne produisent pas d'hémolyse et sont appelées non hémolytiques.

3.7. Diagnostic de l'infection urinaire

3.7.1. Diagnostic clinique

Repose sur un tableau clinique

- **Cystite**

Le terme cystite doit être réservé à la femme, car chez l'homme une cystite s'accompagne toujours d'une prostatite. Les signes cliniques en sont bien connus : brûlures urinaires, pollakiurie, parfois hématurie terminale est présente dans 15 à 20 % des cas, due à un purpura de la muqueuse vésicale, absence de fièvre, présence dans les urines de germes et de leucocytes. La cystite simple est banale, fréquente, facilement diagnostiquée et guérit sans séquelle. Certaines femmes souffrent de récurrence, elle n'est souvent grave que dans la mesure où elle

altère la qualité de vie. Elle se définit par la répétition des épisodes au long des années (≥ 4 épisodes/an). La prise en charge implique la recherche d'un facteur favorisant [25].

- **Pyélonéphrite** : Peut-être aiguë ou chronique :

La pyélonéphrite aiguë : est un état inflammatoire, transitoire, d'origine infectieuse, atteignant le rein et sa voie excrétrice par voie canalaire plus souvent qu'hématogène, responsable d'un œdème, d'un afflux leucocytaire et d'une ischémie localisée du parenchyme rénal. Le tableau clinique associe une température supérieure à 38 °C, frissons, douleurs lombaires spontanée ou provoquée, le plus souvent unilatérale.

La pyélonéphrite chronique : Il s'agit habituellement d'une pyélonéphrite aiguë qui semblait avoir guéri mais qui a évolué lentement vers la chronicité sans signes subjectifs. Elle se manifeste par épisodes fébriles, douleurs lombaires, asthénies, céphalée anorexie, bactériurie, pyurie, anémie secondaire, hypertension tardive, détérioration fonctionnelle [51].

- **Prostatite**

La prostatite est souvent consécutive à une infection à entérobactéries (essentiellement *colibacilles*). Elle peut également faire suite par voie hématogène à une infection à distance, staphylococcique ou autre, parfois observée dans les jours précédents. Il se manifeste chez un homme jeune par l'apparition d'une fièvre à 40°C accompagnée de frissons et d'un malaise général d'allure grippale, des brûlures urinaires et l'émission d'urines purulentes. La prostatite peut évoluer vers la chronicité, dans ce cas, au toucher, la prostate est hypertrophique, parfois œdémateuse ou pseudo-adénomateuse et surtout douloureuse [52].

3.7.2. Diagnostic biologique

En présence des signes cliniques évoquant une infection urinaire, deux examens biologiques sont pratiqués : test de bandelette urinaire et examen cyto bactériologique des urines (ECBU).

3.7.2.1. Bandelette urinaire

La pratique des bandelettes urinaires permet d'orienter le diagnostic d'infection. Ces bandelettes réactives utilisent des méthodes biochimiques pour détecter la présence de deux stigmates essentiels de l'infection : la leucocyturie et la bactériurie. La présence de leucocytes se traduit par l'excrétion d'une enzyme, le leucocyte estérase, qui réagit avec la bandelette lorsque la leucocyturie est supérieure à 10/mm³. La mise en évidence des bactéries qui utilisent la présence des nitrates. Seules les bactéries possédant un nitrate réductase sont capables d'élaborer des nitrates dans les urines [26].

3.7.2.2. Examen cytbactériologique des urines (ECBU)

L'ECBU est le seul élément diagnostique de certitude de l'infection urinaire en isolant la bactérie causale et étudiant sa sensibilité aux antibiotiques. Cet examen comprend plusieurs étapes [27] :

- ✚ L'examen direct : pour rechercher des leucocytes et des bactéries dans les urines ;
- ✚ La culture quantitative de l'urine : considérée comme l'examen de référence qui permet un diagnostic de certitude ;
- ✚ L'identification et l'antibiogramme : permettant d'identifier la bactérie en cause de l'IU et d'étudier sa sensibilité aux antibiotiques afin d'adapter le traitement.

a. Recueil des urines

Conditions de prélèvement des urines [28]

Le prélèvement est le premier point critique susceptible d'influer sur le résultat de l'ECBU du fait de la présence d'une colonisation de l'urètre et des voies génitales externes par une flore commensale. Ainsi, de rigoureuses conditions d'hygiène et d'asepsie doivent être entretenues :

- Une asepsie locale préalable ;
- Une toilette génitale rigoureuse : désinfection du méat soit avec une solution de dakin soit à l'eau et au savon puis le rincer soigneusement.

Le prélèvement doit se faire en dehors de tout traitement anti-infectieux tout en évitant la contamination de l'échantillon par des bactéries de l'environnement. Il est préférable de réaliser le prélèvement d'urine le matin afin de recueillir une urine ayant séjourné suffisamment longtemps dans la vessie. On élimine la première partie de la miction pour recueillir le milieu de jet dans un flacon stérile.

➤ Cas particuliers

• Chez le nourrisson

Après toilette soignée de la région périnéale, le recueil des urines se fait en fixant l'urinocol (sac plastique collecteur muni d'un adhésif) au méat urétral. Ce sac doit être changé toutes les 30 minutes après nettoyage [29].

• Chez le patient porteur de sonde

Le recueil de l'urine se fait en clampant le tuyau évacuateur pendant 10 à 15 minutes pour laisser l'urine s'accumuler. En amont, le recueil se fera par ponction directe dans la paroi de la sonde après désinfection. Un site de ponction spécifique est incorporé dans la plupart des sondes [29].

b. Transport et conservation

La réalisation du prélèvement devrait être effectuée chaque fois que cela est possible au laboratoire. A défaut, il faut s'assurer que les urines n'ont pas été conservées plus de 2 heures à température ambiante ou plus de 24 heures à 4°C. Il existe des systèmes de transport stabilisateurs contenant de l'acide borique en conditionnement stérile qui permet une conservation de l'urine pendant 48 heures à température ambiante sans modification notable de la bactériurie et de la leucocyturie. Une conservation à +4°C permet une stabilisation de la bactériurie, mais les leucocytes peuvent s'altérer au-delà de la 12^{ème} heure [30].

3.7.3. Réalisation de l'examen cytobactériologique des urines [31]

3.7.3.1. Examen macroscopique

Il consiste à apprécier à l'œil nu le prélèvement et à noter l'aspect qui peut être limpide, légèrement trouble, trouble, ictérique ou purulent. L'urine normale a une couleur claire, d'aspect jaune citron tandis que l'urine infectée est souvent trouble, d'odeur nauséabonde et de couleur plus foncée. Parfois, on note la présence de sédiments blanchâtres (phosphates). La valeur prédictive positive de cet examen est faible et sa valeur prédictive négative est de l'ordre de 95%.



Urine claire

Urine purulente

Urine trouble

Figure 3 : Macroscopie des urines [31]

3.7.3.2. Examen microscopique

Cet examen associe obligatoirement deux étapes, cytologique et bactériologique, qui ont pour but d'apprécier de façon quantitative et qualitative la présence d'éléments figurés (leucocytes, hématies, cellules épithéliales cristaux, cylindres) et de bactéries dans les urines.

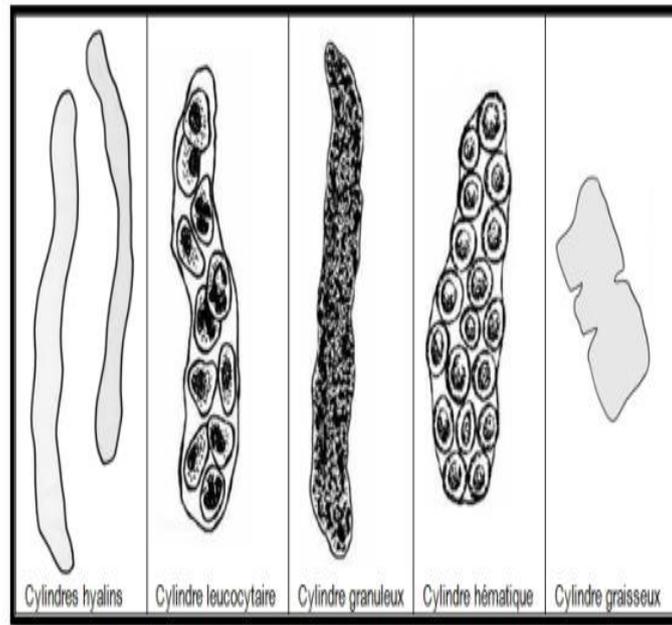


Figure 4 :Cylindre urinaire [31]

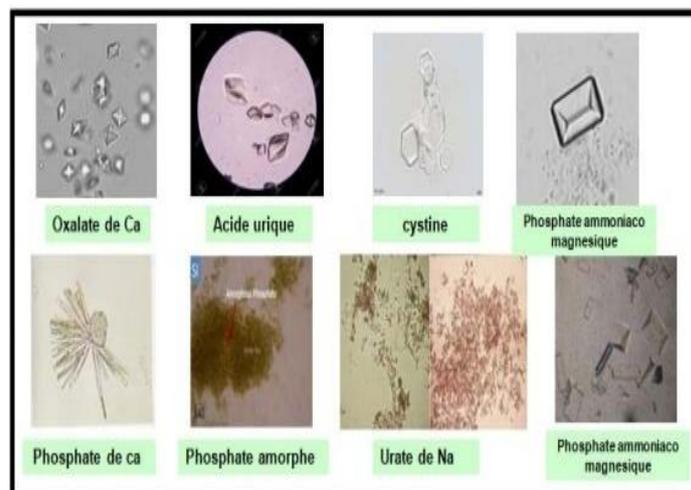


Figure 5 : Cristaux urinaire [31]

🚑 Leucocyturie

Elle est considérée comme le témoin d'une atteinte inflammatoire des tissus de l'arbre urinaire. La leucocyturie est mesurée par numération dans un volume donné de l'urine homogénéisée sur cellule de type Malassez, de préférence à usage unique. En cas d'infection urinaire, un processus inflammatoire se traduit par la présence de plus de 10^4 leucocyte/ml, parfois en amas,

fréquemment associée à une hématurie supérieure à 10^4 hématies/ml dans environ 30% des cas.

Le seuil significatif de leucocyturie est fixe de manière consensuelle à 10^4 /ml (10 leucocytes/mm³). Une leucocyturie non significative possède une excellente valeur prédictive négative (VPN) permettant souvent d'exclure une infection urinaire (sauf chez le sujet neutropénique ou à la phase initiale de l'infection). Cependant ce paramètre n'a pas de valeur chez un patient porteur d'une sonde à demeure ou présentant une vessie neurologique, circonstance où la leucocyturie est quasi constante.

Hématurie

En situation normale, les hématies sont rarement supérieures à 10.000 hématies/ml d'urine. En cas de troubles anormaux en dessus de ce seuil, on peut soupçonner une hématurie.

Bactériurie

La pratique d'une coloration de Gram, sur une urine centrifugée permet de connaître la morphologie des bactéries alors que sur une urine non centrifugée et homogénéisée, elle permet en plus d'effectuer une numération semi quantitative des bactéries. Elle est hautement recommandée car elle présente plusieurs intérêts :

- L'orientation du diagnostic en facilitant le choix de milieu de culture et des conditions de culture spécifiques ;
- L'orientation du prescripteur pour la mise en route d'une antibiothérapie probabiliste. Par ailleurs la présence de micro-organisme au fort grossissement en immersion est bien corrélée avec présence d'une bactériurie $>10^5$ ufc/ml, elle présente une sensibilité et une spécificité de 90% pour un microorganisme par champ.

Interprétation des résultats microscopique

- Bactériurie $\geq 10^5$ /ml et leucocyturie $< 10^4$ /ml :
 - IU récente.
- Bactériurie $\leq 10^3$ /ml et leucocyturie $> 10^4$ /ml :
 - IU au début d'une antibiothérapie ;
 - Réaction inflammatoire non infectieuse ;
 - Possibilité d'une IU tuberculeuse.
- Leucocyturie $< 10^4$ /ml :
 - Absence d'IU
- 10^3 /ml $<$ Bactériurie $< 10^5$ /ml :
 - urines n'ayant pas séjourné assez longtemps dans la vessie ;

- malade sondé ou incontinent ;
- auto-agglutinassions bactérienne (*Pseudomonas*, *Staphylocoque*,...) [31].

3.7.3.3. Uroculture

Depuis Kass, l'uroculture permet de détecter une infection urinaire en dénombrant les unités formant colonies (UFC) par ml d'urine. La culture est toujours nécessaire pour préciser l'espèce bactérienne, quantifier la bactériurie et effectuer un antibiogramme. Il est classique de considérer qu'une culture donnant un résultat $\geq 10^5$ ufc/ml est significative d'infection urinaire. En dessous de ce seuil, la contamination du prélèvement est possible. En présence de symptômes, une bactériurie retrouvée 2 fois consécutivement le même germe et un seuil supérieur à 10^5 ufc/ml a une sensibilité supérieure à 80% et une spécificité supérieure à 95%. Néanmoins, il est possible d'avoir une véritable infection urinaire avec un taux inférieur à 10^5 ufc/ml. Les milieux les plus usuels sont : Cystine Lactose Electrolyte Déficiant (CLED), gélose Mac Conkey, gélose au sang, gélose lactosée au Bromo Cresol Pourpre (BCP). L'incubation dure de 18 à 24 heures à 37°C. Dans certains cas (bactéries exigeantes ou déficientes), il faut prolonger l'incubation de 24 heures [32]. Selon le REMIC (Référentiel de la Société française de Microbiologie), le caractère pathogène d'un microorganisme et le seuil de bactériurie significative dépend du type de micro-organismes et de leur niveau d'implication dans l'étiologie des infections urinaires [15]. Quatre groupes ont été définis. (Voir tableau V).

Tableau V: Seuil de bactériurie selon le sexe et l'agent pathogène [32]

Groupe	Espèce	Taux de bactériurie significative ufc/ml
Groupe 1 : Pathogènes habituels	<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus saprophyticus</i> Ceci est valable quel que soit le tableau clinique d'IU (cystite, pyélonéphrite, IU masculine).	10^3
Groupe 2 : Espèces responsables d'infections communautaires et nosocomiales	<i>Proteus</i> , <i>Klebsiella spp</i> , <i>Enterobacter spp</i> , <i>Serratia spp</i> , <i>Citrobacter spp</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Enterococcus spp</i> , <i>S. aureus</i>	10^4 (femme) 10^3 (homme)
Groupe 3 : Pathogènes si isolés en grande quantité	<i>S. agalactiae</i> , <i>SCN sauf</i> <i>S. saprophyticus</i> , <i>Acinetobacter spp</i> , <i>S. maltophilia</i> , autres <i>Pseudomonaceae</i> , <i>Candida spp</i>	$>10^5$
Groupe 4 : Contaminants sauf si isolés de ponction sus-pubienne	<i>Lactobacilles</i> , <i>Streptocoques alphahémolytiques</i> , <i>Gardnerella vaginalis</i> , <i>Bifidobacterium spp</i> , <i>Corynébactéries</i> (sauf <i>C. urealyticum</i>)	-

3.7.3.4. Identification

Pour l'identification de l'agent pathogène, la technique à utiliser découle de la morphologie des colonies, complétée si besoin d'une coloration de Gram et de la recherche de l'oxydase et de la catalase. Le nombre limité d'espèce microbienne simplifie le choix de la galerie à utiliser. Cette dernière permet la recherche de plusieurs caractères biochimiques par des réactions enzymatiques, qui se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par addition de réactifs. L'utilisation du catalogue d'identification permet de reconnaître l'espèce bactérienne [33].

3.7.3.5. Antibiogramme

+ Définition d'antibiotique

Du grec anti : « contre » et bios : « la vie ». Au sens strict, les antibiotiques sont des agents antibactériens naturels d'origine biologique ; qui, à basse concentration, peuvent inhiber la croissance des micro-organismes. Ils sont élaborés par des microorganismes, champignons et diverses bactéries. Les produits employés actuellement sont des dérivés semi-synthétiques préparés par modification de produits de base naturels [35].

+ Notions de résistance et sensibilité

La résistance bactérienne à un antibiotique est d'origine génétique. Les gènes de résistance se trouvent soit dans le chromosome (résistance chromosomique), soit dans un élément mobile, comme les plasmides, les éléments transposables ou les intégrons (résistance extra chromosomique). La résistance peut être soit naturelle, soit acquise. En effet, une souche est dite « résistante » lorsque la concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter est plus élevée que la concentration que l'on peut atteindre in vivo à la suite d'un traitement. Le but de la réalisation d'un antibiogramme est triple [36] :

- la prédiction de la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques dans une optique essentiellement thérapeutique ;
- la surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne ;
- et l'identification bactérienne par la mise en évidence de résistances naturelles.

+ Recherche de la production de Bêtalactamases à spectre élargie (BLSE)

La recherche de BLSE a été systématique et consistait à placer autour d'un disque d'amoxicilline + acide clavulanique des disques de Ceftazidime, de Cefotaxime, de Ceftriaxone et d'Aztreonam.

La présence d'une image de synergie en bouchon de champagne dans la zone de contact entre l'AMC et les céphalosporines ou Aztreonam a été retenue comme signe de production de BLSE.

✚ **Technique classique d'antibiogramme**

• **Méthode de dilution**

Les méthodes de dilution sont effectuées en milieu liquide ou en milieu solide. Elles consistent à mettre un inoculum bactérien standardisé au contact de concentrations croissantes d'antibiotiques selon une progression géométrique de raison 2.

- **En milieu liquide**

Une solution mère d'antibiotique est diluée de 2 en 2. Le diluant est le bouillon de Muller-Hinton. L'inoculum est préparé à partir d'une culture de 24 heures en milieu liquide.

- **En milieu solide**

L'antibiotique est incorporé à des concentrations croissantes dans un milieu gélosé coulé en boîtes de pétri. La surface de la gélose estensemencée avec un inoculum des souches à étudier. Après incubation, la Concentration minimale inhibitrice (CMI) de chaque souche est déterminée par l'inhibition de la croissance sur le milieu contenant la plus faible concentration d'antibiotique. Dans la pratique courante, les méthodes de dilution sont de mise en œuvre délicate et onéreuse et elles sont réservées pour les infections graves.

• **Méthode de diffusion**

Antibiogramme standard en milieu gélosé : La culture bactérienne estensemencée à la surface d'une gélose spécialement étudiée, la gélose de Muller-Hinton. Des disques pré-imprégnés d'une dose connue d'antibiotique sont déposées à la surface de la gélose. L'antibiotique diffuse à partir du disque en créant un gradient de concentration décroissante. La détermination du diamètre de la zone d'inhibition permet une estimation de la concentration minimale inhibitrice. Les caractères de sensibilités ou de résistance de la souche bactérienne en seront déduits [37].

• **Méthodes automatisées**

Chaque antibiotique est testé avec deux concentrations critiques et le résultat s'exprime en croissance (+) ou en absence de croissance (-) pour chacune des concentrations en 24 heures. L'interprétation est directe : sensible, intermédiaire ou résistant. Pour l'interprétation des résultats, les résultats quantitatifs (CMI en mg/L) sont le plus souvent interprétés par les laboratoires en termes de possibilité thérapeutique. Cette interprétation consiste à comparer les valeurs des CMI avec les concentrations critiques établies pour les diverses classes d'antibiotiques.

- Si, pour un antibiotique donné, la CMI d'une souche est inférieur à la concentration critique inférieure, la souche est qualifiée de sensible(S).

- Si la CMI d'une souche est supérieure à la concentration critique supérieure, la souche est qualifiée de résistante (R).
- Si la CMI est comprise entre les deux concentrations critiques, la souche est dite de sensibilité intermédiaire (I).

La confrontation des CMI aux concentrations critiques permet donc aux laboratoires de donner les résultats sous la forme de bactérie sensible, intermédiaire ou résistante à un antibiotique. L'analyse de ces résultats doit être complétée par une lecture interprétative de l'antibiogramme. Cette dernière est fondée sur la connaissance des phénotypes de résistance, elle nécessite une identification correcte de la souche et une méthode d'antibiogramme parfaitement standardisée. La mise en évidence de phénotypes de résistance hautement improbables compte tenu de l'identification de la souche doit conduire à vérifier l'identification bactérienne à contrôler la pureté de l'inoculum et à contrôler la technique de l'antibiogramme [38].

METHODOLOGIE

4. Méthodologie

4.1. Lieu d'étude

Le laboratoire groupe santé TIEBA constitue notre lieu d'étude.

Le laboratoire groupe santé TIEBA est un laboratoire d'analyse biomédicale polyvalent siégeant à Sébénicoro près du point Woyowayanko en commune IV du district de Bamako. Le laboratoire dispose :

Au rez de chaussée

- Une salle d'accueil ;
- Une salle d'archive ;
- Une chambre froide
- Deux salles de prélèvements ;
- Une salle de PCR charge virale ;
- Une salle d'échographie ;
- Deux toilettes.

Au 1^{ère} étage

Unité de :

- Microbiologie ;
- Immuno-Hématologie ;
- Biochimie ;
- Salle de microscopie ;
- Salle de Tri ;
- Une toilette ;
- Bureau du Biologiste (Gérant).

Au 2^{ème} étage

- Bureau du Directeur Général
- Bureau du Biologiste.

➤ Les locaux du service de microbiologie sont équipés de :

- Un bureau pour le chef de l'unité ;
- Trois incubateurs ;
- Un appareil BD phoenix M50 pour identification et antibiogramme ;
- Une hotte ;
- Deux réfrigérateurs ;
- Un bac à colorant ;

- Une table (palliasse) ;
- Un appareil pour bain marin.
- Un appareil de stérilisation.

➤ **Les activités de l'unité de bactériologie**

- L'unité de bactériologie réalise les activités suivantes :
 - L'examen cytot bactériologique des urines ;
 - L'examen cytot bactériologique des prélèvements génitaux ;
 - L'examen cytot bactériologique des pus de diverses origines ;
 - L'examen cytot bactériologique des liquides de ponction (LCR et autres liquides biologiques) ;
 - L'examen cytot bactériologique des expectorations (crachats) ;
 - Des prélèvements de gorge, de nez et de la bouche ;
 - Des examens du sperme, des liquides prostatiques, des prélèvements urétraux.

4.2. Type et période de l'étude

Cette étude a été réalisée dans l'unité de microbiologie du laboratoire Groupe Santé TIEBA. Il s'agit d'une étude rétrospective concernant tous les examens cytot bactériologiques des urines (ECBU) allant sur une période de 56 mois (mai 2018 à décembre 2022).

4.3. Population d'étude

Notre étude a portée sur des souches bactériennes isolées dans les urines de la population générale.

4.4. Critères d'inclusion

Ont été inclus dans notre étude, l'ensemble des bactéries isolées dans les urines de la population générale.

4.5. Critères de non inclusion

Les examens cytot bactériologiques des urines dont les cultures ont été stériles sont exclus de notre étude.

4.6. Collecte des données

Les données ont été recueillies à partir du logiciel Winlab et des bulletins d'analyse photocopiés et archivés. Dans ces dossiers, on pouvait trouver des informations telles que : le numéro du patient, l'âge, le sexe, le centres, les prescripteurs, l'espèce bactérienne en cause de l'infection et l'antibiogramme réalisé.

4.7. Considération éthique :

L'anonymat et la confidentialité des informations des patients ont été respecté lors du recueil des donnés.

4.8. Saisie et analyse statistique des données

La saisie, le traitement et l'analyse des données ont été effectués à l'aide des logiciels, Excel 2016 et IBM SPSS (Statistical Package for the Social Sciences version 13.0).

Le pourcentage de sensibilité des germes isolés aux antibiotiques a été déterminé à partir des résultats de l'antibiogramme selon la formule suivante :

$$\% \text{ de sensibilité} = \frac{\text{Nombre de souches sensibles à un antibiotique donné}}{\text{Nombre total de souches testées du même germe}}$$

4.9. Réactifs et Matériels

- Cellule de Malassez ;
- Tube de 9,9ml d'eau distillé stérile ;
- Pipettes ;
- Micropipettes ;
- Embouts stériles ;
- Boîte de pétri d'un milieu gélosé ;
- Solution saline stérile à 0,85% ;
- Gants ;
- Pinces à disque ou applicateur de disque ;
- Etuve ;
- Centrifugeuse ;
- Milieux anaérobies ;
- Poubelles ;
- Ecouvillons stériles ;
- Galérie Api 20^E ;
- Automate BD Phoenix ;
- Gaz, pour source de flamme.

4.10. La Démarche Méthodologique

4.10.1. Phase pré-analytique

C'est l'une des étapes de la méthodologie la plus critique en microbiologie, ainsi la qualité du prélèvement conditionne la fiabilité du résultat. Les prélèvements sont effectués et recueillis au niveau des services concernés puis acheminés au laboratoire, ou directement recueillis au laboratoire (pour les prélèvements externes).

❖ Les modalités du recueil des urines

Le recueil des urines a été fait selon le respect du GBEA (Guide des Bonnes Exécutions des Analyses) sur des urines du matin ou des urines ayant stagnées au moins 3 heures dans la vessie.

La conformité du prélèvement doit contenir les renseignements suivants [39] :

- Nom et prénom du patient ;
- Date, heure du prélèvement ;
- Modalités de prélèvement (sondage vésicale, cathétérisme sous-pubien) ;
- Indication du prélèvement ;
- Terrain du patient ;
- Renseignements cliniques ;
- Antibiotiques (ATB) pris récemment.

▪ Recueil des urines chez l'homme

- Désinfecter le méat urinaire au Dakin ;
- Jeter les premiers ml d'urine et recueillir les 20ml suivants dans un flacon stérile.

▪ Recueil des urines chez la femme

- Introduire un tampon vaginal pour éviter la souillure de l'échantillon ;
- Désinfecter le méat urinaire ;
- Désinfecter la vulve de l'avant vers l'arrière au dakin de façon rotative ;
- Uriner en position naturelle en maintenant les grandes lèvres écartées ;
- Rejeter les premiers ml d'urine et recueillir les 20ml suivants dans un flacon stérile.

□ Acheminement et Stockage de l'échantillon

L'examen devra être effectué dans l'heure qui suit le prélèvement ou stocké à + 4°C au plus 24 heures en indiquant sur le flacon la date, l'heure du prélèvement en plus le nom du malade.

4.10.2. Phase analytique

Au premier jour, un examen macroscopique, un examen microscopique et une culture ont été effectués sur chaque urine.

4.10.2.1. Examen macroscopie

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.

4.10.2.2. Examen microscopique

Il comporte un examen à l'état frais et un examen après coloration de Gram :

a. Examen a l'état frais

L'examen à l'état frais a été effectué à partir de l'urine homogénéisé sur cellule type Malassez, cela a permis la mise en évidence de la présence de leucocytes, d'hématies, de levures, cylindres, de parasites et la flore bactérienne [30].

▪ Lecture de l'urinaire à l'objectif 40x

Observer et noter la présence de : bactéries, leucocytes, cristaux urinaire (figure 5), cylindres urinaires (figure 4), parasites (*Schistosoma haematobium*), levures, type de flore bactérienne.

- Dénombrer les leucocytes et les hématies dans 1mm^3 d'urine (compter 10 à 30 éléments au moins) ;
- rapporter le nombre d'éléments au ml en multipliant par 10^3 le nombre par mm^3 ;
- une bactériurie $\geq 10^5$ bactéries/ml définit l'infection de l'urine vésicale (bactériurie significative) ;
- une leucocyturie $\geq 10^4/\text{ml}$ définit l'existence d'une réaction inflammatoire [31].

Si l'on observe des bactéries à l'examen direct, étaler le culot sur une lame et faire une coloration de Gram.

b. La coloration de Gram

La coloration de Gram est la coloration de base en bactériologie, elle permet de différencier les bactéries, non seulement d'après leur forme, mais également d'après leur affinité pour les colorants liés à la structure générale de leur paroi (précise le caractère Gram positif ou Gram négatif des bactéries) [40].

✚ Principe de la coloration de Gram

La coloration de Gram-Nicolle est une coloration différentielle basée sur la structure de la paroi bactérienne qui est différente selon qu'il s'agisse de bactéries à gram positif ou à gram négatif. Elle est déterminée par :

- La formation d'un complexe entre le Violet de gentiane phéniqué, le Liquide de lugol et un constituant spécifique des bactéries à Gram positif insoluble dans l'alcool. Les bactéries à Gram positif ne sont donc pas décolorées par l'alcool et restent colorées en violet.
- Une perméabilité plus importante à l'alcool de la paroi des bactéries à Gram négatif permet une solubilisation du complexe Violet de gentiane-Liquide de lugol. Les bactéries à Gram négatif sont donc décolorées par l'alcool, elles fixent alors la Fuchsine de Ziehl et apparaissent colorés en rose.

✚ Préparation du culot urinaire pour la coloration de Gram

- Mélanger délicatement l'urine à l'aide d'une micropipette afin d'homogénéiser ;
- Identifier un tube conique à centrifuger et le remplir aux $\frac{3}{4}$ d'urine homogénéisée ;
- Centrifuger pendant 5 à 10 minutes, à vitesse moyenne (1500 tr/min) ;
- Verser le surnageant et étaler le culot urinaire sur une lame identifiée. (Voir SOP de la coloration de gram en annexe1).

✚ Résultats :

Les bactéries à Gram positive gardent le violet de gentiane et se colore en violet ou bleu et les bactéries à négatives sont donc décolorées par l'alcool, elles fixent alors la fuchsine de Ziehl et apparaissent colorées en rose [47].

4.10.2.3. La culture de l'urine

Les milieux de culture diffèrent selon la nature du prélèvement et les résultats de l'examen direct. Ils peuvent être ordinaires, enrichis, ou sélectifs. La méthode d'ensemencement utilisée dans notre étude est la méthode à l'anse calibrée et les milieux de culture utilisés étaient la gélose Drigalski et la gélose Uriselesct. (Voir SOP en annexe1).

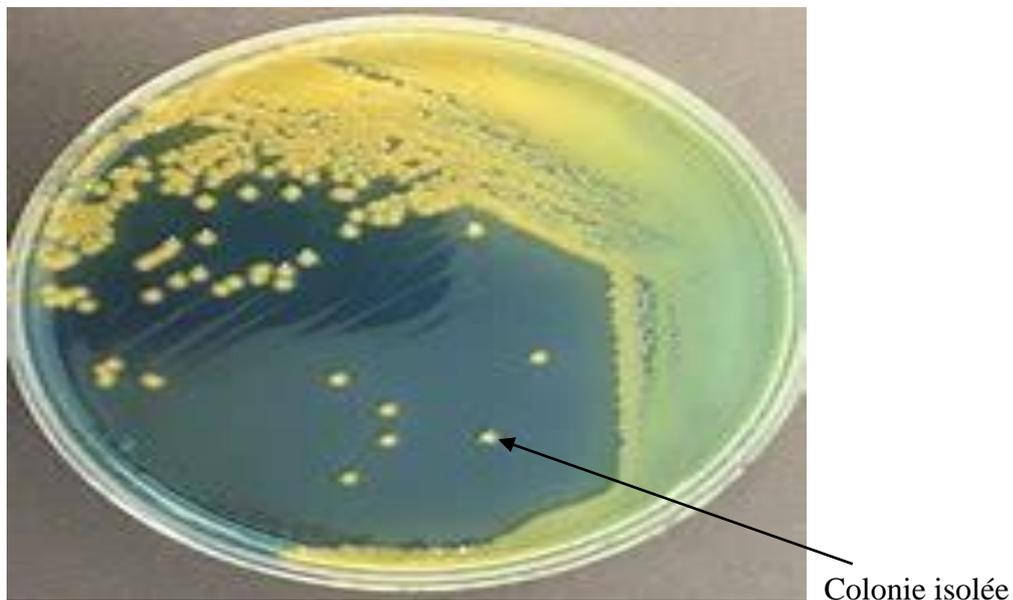


Figure 6 : Milieu de culture Gélose Drigalski au LGST-le 02/0/2023.

✚ Interprétation

Sur le milieu ensemencé par étalement, compter le nombre de colonies (en principe il n'y a qu'un type de colonie ; sinon compter séparément chaque type de colonie). Calculer le nombre B de bactéries par ml. $B = N \times 1000$. Le milieu ensemencé par isolement permet de contrôler la pureté de la culture en cas de confluence des colonies sur l'autre milieu [42].

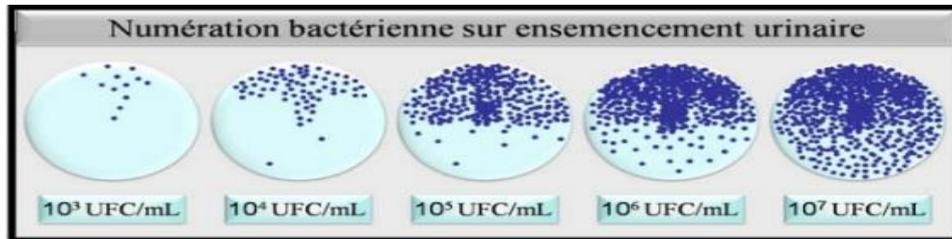


Figure 7 : Numération bactérienne sur ensemencement urinaire [42]

4.10.2.4. Identification et Antibiogramme

Au deuxième jour, nous avons utilisé l'une de ces deux méthodes : soit la méthode manuelle avec la galerie classique api 20^E et le milieu Muller Hinton ; soit la méthode automatisée 'BD Phoenix® M50'.

4.10.2.4.1. La méthode manuelle d'identification et d'antibiogramme des germes

a. Identification avec la galerie api 20^E

✚ Principe de la galerie api 20^E

La galerie api20^E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. L'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique [53]. (Voir SOP en annexe2).

✚ Lecture et interprétation de la galerie api 20^E

Après 24 heures, on procède à la lecture des réactions biochimiques dans les 20 microtubes (chaque microtubule est numéroté : 1,2 ou 4) ; la somme de ces trois va nous donner code d'identifiant comme indice sur la notice.

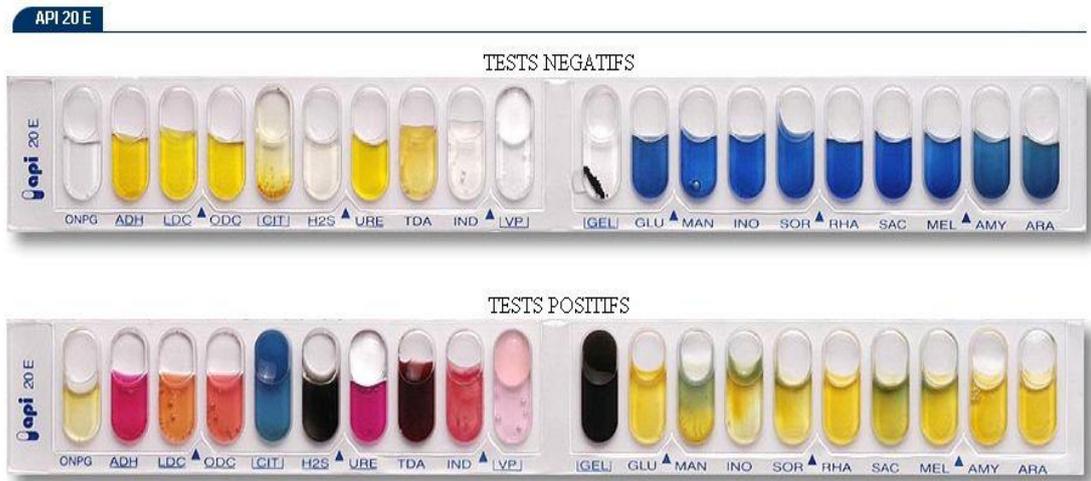


Figure 8 : Galerie d'identification API 20^E au LGSB-le 02/08/2023.

b. Antibiogramme avec la méthode manuelle

La technique utilisée dans notre étude était la diffusion sur gélose Mueller Hinton selon la recommandation du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM) (Recommandation 2018). Pour chaque souche de bacille à gram négatif, des disques d'antibiotiques ont été utilisés sur une boîte carrée de 120x120 mm. Certains de nos antibiotiques testés sont sur la liste ci-dessous.

- Bêtalactamines : Aztreonam, Ceftriaxone, Ceftazidime, Céfépime, Céfoxitine, Céfixime, Ticarciline
- Aminoside : Kanamycine, Gentamycine,
- Quinolones : Ciprofloxacine, Levofloxacine.
- Cyclines : Tétracycline.
- Autres molécules : Colistine, Sulfamethoxazole/Trimethoprim, Chloramphénicol, Clindamycine.

🌈 Principe de l'antibiogramme par la méthode manuelle

Les disques de papier imprégnés avec une concentration déterminée d'agent antimicrobien sont déposés à la surface d'un milieu adéquat préalablement ensemencé avec un inoculum calibré d'une culture pure de la bactérie à tester. Après incubation, les boîtes de pétri sont examinées et les zones d'inhibition entourant les disques sont mesurées et comparées aux valeurs critiques des différents agents antimicrobiens testés, afin de déterminer la catégorisation clinique (résistant, intermédiaire, sensible). Le diamètre de la zone d'inhibition est proportionnel à la sensibilité de la bactérie testée [56-57-58-59]. (Voir SOP en annexe2).

✚ Résultats

Avec une règle graduée on mesure le diamètre ou le rayon d'inhibition de l'antibiotique afin de décrire la sensibilité, l'intermédiaire et la résistance du germe à l'antibiotique.

Comparer les valeurs obtenues aux valeurs critiques figurants dans les tables de lecture correspondantes.

Classer la bactérie dans l'une des catégories : Sensible, Intermédiaire, Résistantes.

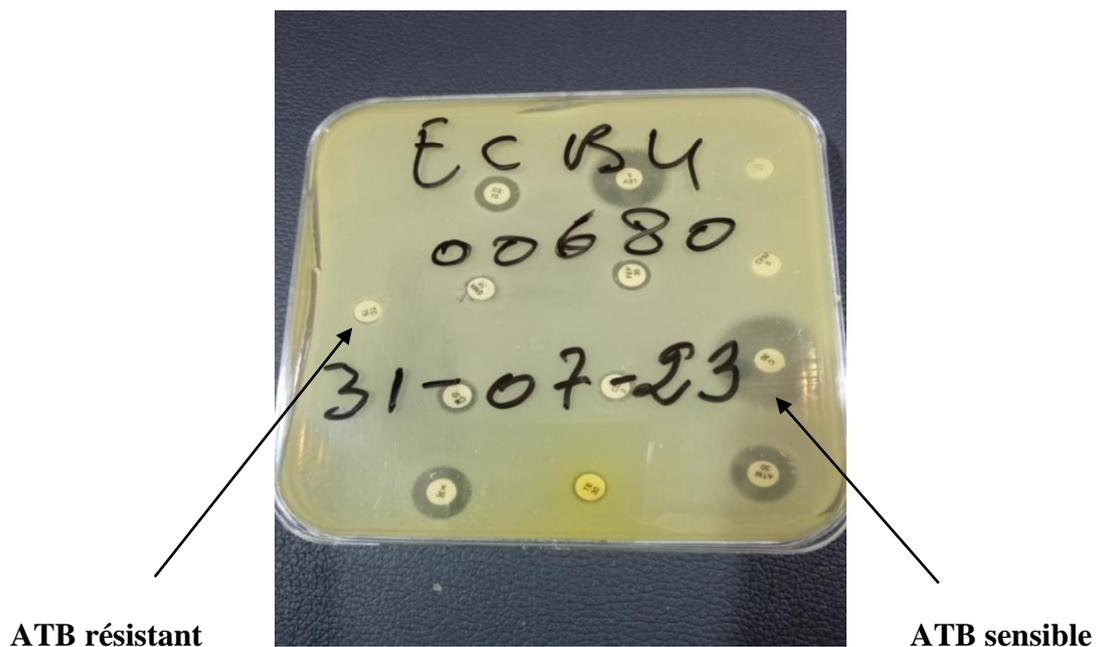


Figure 9 : Antibiogramme d'un échantillon de Puroculture sur le milieu Mueller HINTON (photo prise le 01/08/2023 au LGST).

4.10.2.4.2. La méthode automatisée avec BD Phoenix M50

✚ Principe de méthode

Le BD-Phoenix M-50 est piloté par un logiciel épicycle qui permet de faire simultanément l'identification ainsi que l'antibiogramme à partir des colonies de gram positives et ou négative poussée sur les milieux de culture standard [45-46].

✚ Caractéristique de la performance

Pour déterminer la précision du néphélémètre Phoenix Spec, on a compté le nombre de colonies dans une suspension de E. coli ATCC 25922 préparé dans du sérum physiologique.

Six réplifications de chaque dilution testée ont été comptées et la moyenne des dénombrements est donnée dans le tableau VI.

En raison de la difficulté à obtenir la densité Mc Farland exacte désirée, ces résultats ont été dérivés des lectures Pheonix Spec en ajustant les concentrations UFC/ml obtenues comme si chaque dilution correspondant exactement au Mc Farland cible [54]. (Voir SOP en annexe3)

✚ Résultat et Interprétation

Les résultats et l'interprétation sont en fonctions des caractéristiques biochimiques et des concentrations maximales inhibitrices (CMI) des antibiotiques.

Tableau VI: Dénombrement des colonies et précision du néphélomètre [54]

Mc Farland	Valeur escomptée UFC/ml x 10 ⁸	Valeur ajustée UFC/ml x10 ⁸	% CV
0,25	0,75	0,9	14,1
0,5	1,5	1,7	13,2
1	3,0	3,2	7,4
2	6,0	6,1	4,2
3	9,0	9,3	3,2
4	12,0	12,6	2,7



Figure 10 : BD Phoenix® M50, LGST-25/04/2023

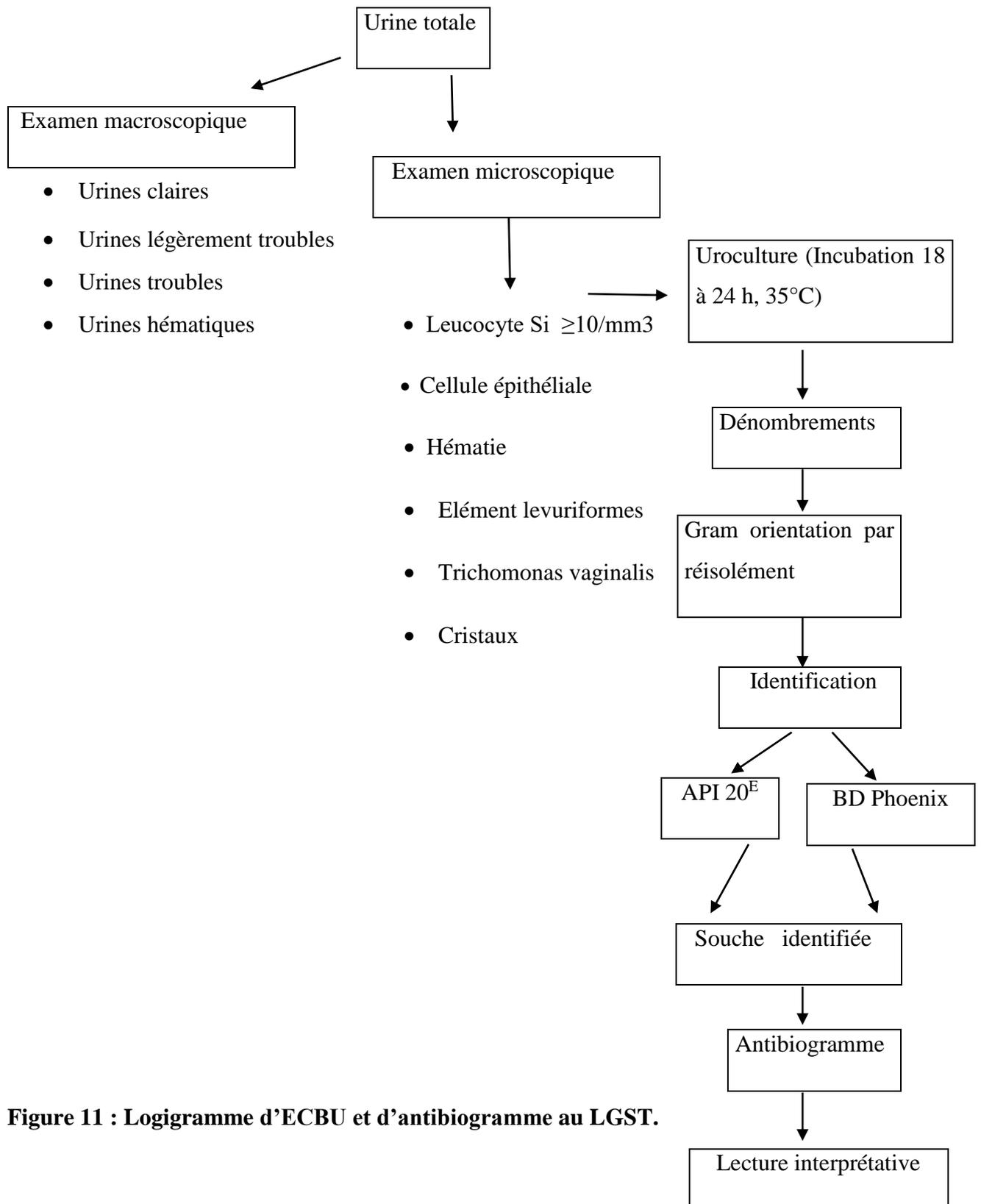


Figure 11 : Logigramme d'ECBU et d'antibiogramme au LGST.

Tableau VII: Apport des examens bactériologiques au diagnostic des infections urinaires

Objectifs	Examen à réaliser	Délai de réponse	Examen à prescrire
Prouver l'infection des urines	-Bactériurie par examen direct -Bactériurie par uroculture	Quelques heures 18H	ECBU standard
Caractériser la bactérie responsable	-Identification	36 à 48H	ECBU standard
Objectiver une réaction inflammatoire	-Leucocyturie	Quelques heures	ECBU standard
Déterminer l'antibiotype de la bactérie responsable	-Antibiogramme	48H	Antibiogramme

RESULTATS

5. Résultats

5.1. Résultats globaux

Parmi les 776 ECBU reçu dans notre Laboratoire Groupe Santé TIEBA, 302 cultures ont été positives. Le sexe féminin a été le plus touché et les personnes âgées de plus de 45 ont été les plus vulnérables aux IU. Les entérobactéries ont représenté 92,7%, dont les plus fréquentes ont été le *Klebsiella pneumoniae* (38,4%), suivi d'*Escherichia coli* (29,5%) et de *Citrobacter freundii* et *Enterobacter cloacae* avec le même taux (5,6%). Les entérobactéries ont été 100% sensibles aux Carbapénèmes.

5.2. Fréquence de l'infection urinaire dans la population étudiée

Tableau VIII: Fréquence de l'infection urinaire dans la population étudiée

ECBU	Nombre	Pourcentage
Positif	302	38,9
Négatif	474	61,1
Total	776	100

Sur un total de 776 ECBU reçu au LGST durant la période d'étude, 302 cultures ont été positives soit une fréquence de 38,9% de cas d'infection urinaire.

5.3. Répartition de l'infection urinaire selon le sexe

Tableau IX: Répartition de l'infection urinaire selon le sexe

Sexe	Nombre	Pourcentage
Féminin	162	53,6
Masculin	140	46,4
Total	302	100

Le sexe féminin a été dominant avec 53,6% de cas d'infection urinaire dans notre série.

Le sexe ratio (F/M=1,16).

5.4. Répartition de l'infection urinaire selon la tranche d'âge

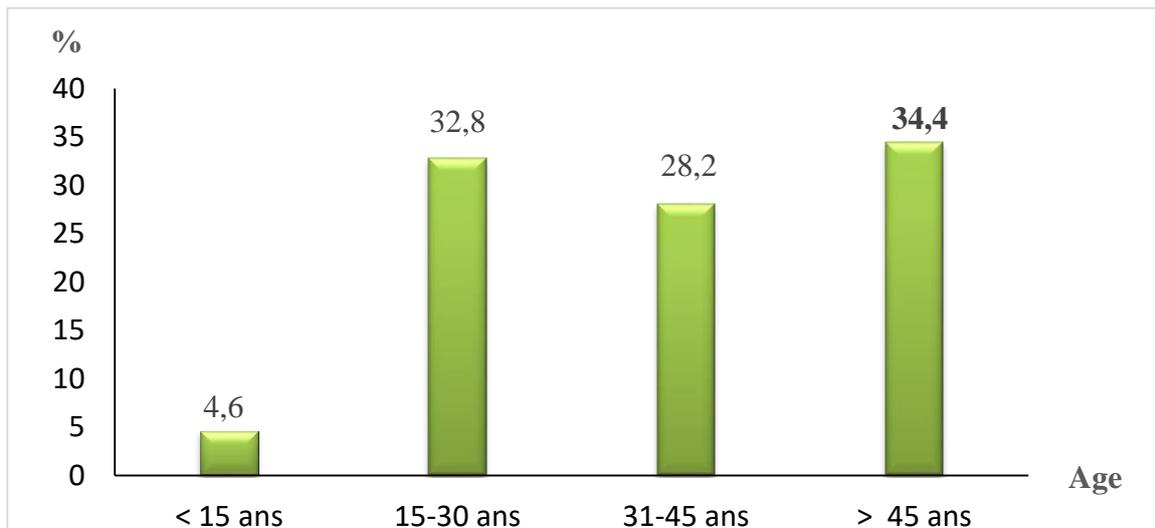


Figure 12 : Répartition de l'infection urinaire selon la tranche d'âge

La tranche d'âge la plus touchée a été les sujets âgés de plus de 45 ans, avec un pourcentage de 34,4% de cas.

5.5. Répartition des cas selon les lieux de prélèvements

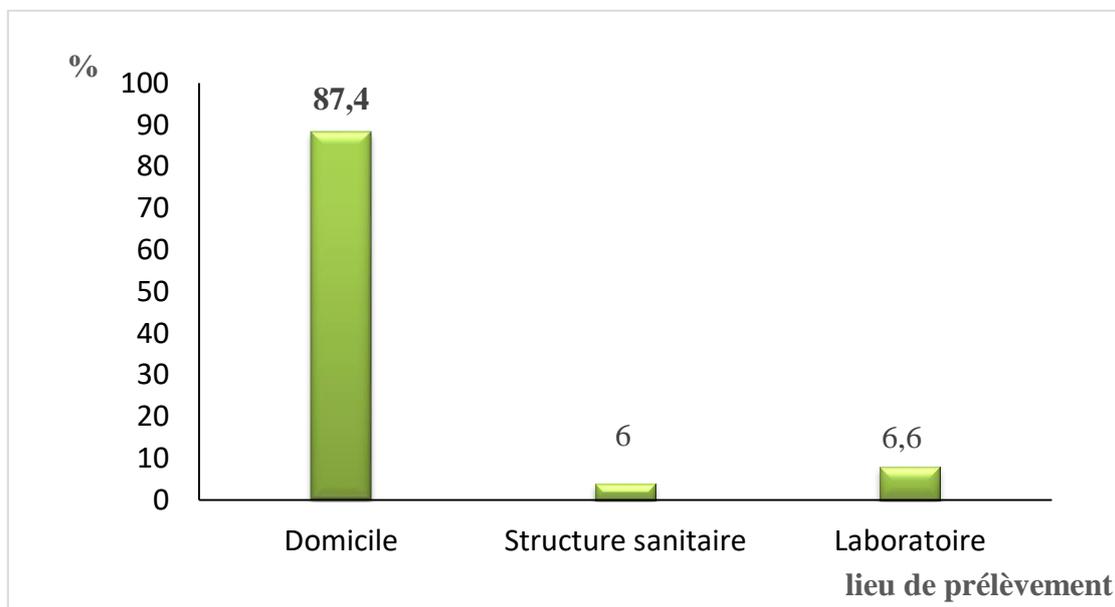


Figure 13 : Répartition de l'infection urinaire en fonction de lieux de prélèvement

Dans notre série, la majorité des échantillons ont été prélevés à domicile, soit un pourcentage de 87,4%.

5.6. Répartition des ECBU selon les centres de santé de prescription

Tableau X : Répartition des ECBU en fonction de centre de prescription.

Centres	Nombre	Pourcentage
Cabinet	42	13,9
Cscom	13	4,3
Clinique	96	31,8
Csref	30	9,9
Hôpital	54	17,9
Non renseignés	67	22,2
Total	302	100

Le plus grand nombre de nos échantillons ont été prescrit dans les cliniques avec une fréquence de 31,8% de cas.

5.7. Répartition des ECBU selon les prescripteurs

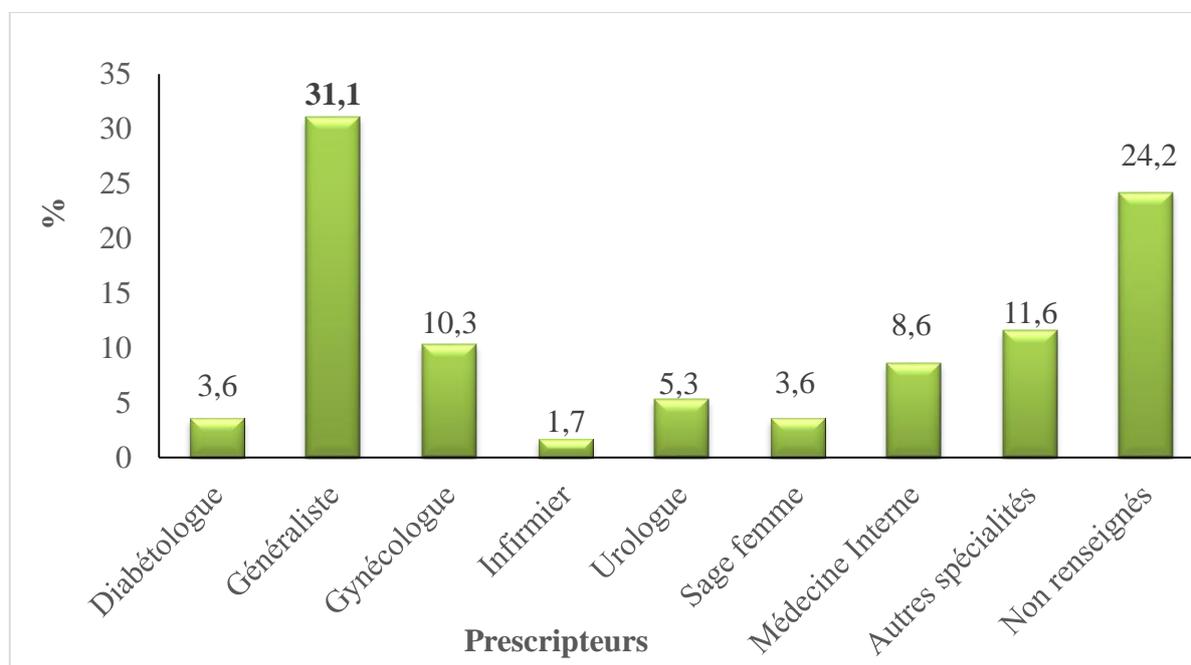


Figure 14 : Répartition des ECBU selon les prescripteurs

Les médecins généralistes ont été les prescripteurs qui avaient demandé le plus grand nombre d'ECBU avec une fréquence de 31,1% de cas.

Autres spécialités : Cardiologue, Dermatologue, Gastrologue, Oncologue, Pneumologue, Chirurgien, interne.

5.8. Répartition de l'infection urinaire selon la leucocyturie

Tableau XI: Répartition des ECBU selon la leucocyturie

Leucocytes/ml	Nombre	Pourcentage
≥ 10000	211	69,9
<10000	91	30,1
Total	302	100

Les patients ayant eu une infection urinaire associée à une leucocyturie ≥ 10000 /ml ont été les plus représentés avec 69,9% de cas.

5.9. Répartition des ECBU selon la méthode d'identification et d'antibiogramme

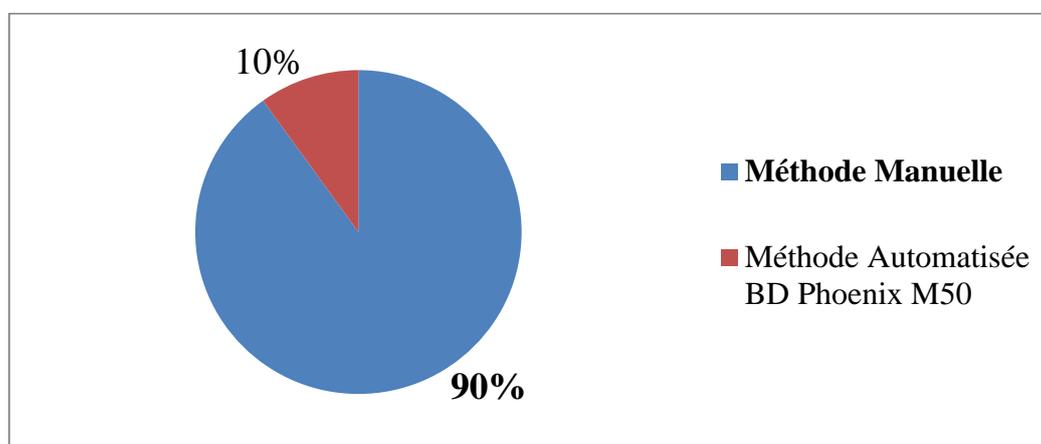


Figure 15 : Répartition des ECBU selon les méthodes de traitement des échantillons

La méthode manuelle a été la méthode la plus utilisée pour l'identification et l'antibiogramme, soit un taux de 90% d'ECBU techniques.

5.10. Etude de l'écologie bactérienne de l'infection urinaire

5.10.1. Etude des bactéries selon la coloration de Gram

Tableau XII: Répartition en fonction du Gram des bactéries isolées au cours des ECBU

Germe	Fréquence	Pourcentage
Bacille à Gram Négatif	280	92,7
Cocci à Gram Positif	22	7,3
Total	302	100

Les BGN ont été largement représentés avec une fréquence de 92,7% de cas.

5.10.2. Etude de l'infection urinaire selon la fréquence d'isolement des bactéries

Tableau XIII: Répartition des bactéries selon la fréquence d'isolément

Bactéries isolées	Nombre	Pourcentage
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	116	38,4
<i>Escherichia coli</i>	89	29,5
<i>Citrobacter freundii</i>	17	5,6
<i>Enterobacter cloacae</i>	17	5,6
<i>Serratia odorifera</i>	7	2,3
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	2,3
<i>Klebsiella oxytoca</i>	6	1,9
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	3	1,0
<i>Staphylococcus sp</i>	3	1,0
<i>Acinetobacter baumannii</i>	3	1,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	0,7
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2	0,7
<i>Citrobacter koseri</i>	2	0,7
<i>Enterobacter amnigenus</i>	2	0,7
Autres*	26	8,6
Total	302	100

* Représentent les espèces ayant été isolées une seule fois.

L'espèce la plus représentée a été le *Klebsiella pneumoniae* avec 38,4%, suivi d'*Escherichia coli* (29,5%) et de *Citrobacter freundii* et *Enterobacter cloacae* avec le même taux (5,6%).

5.11. Etude de sensibilité globale des différentes bactéries isolées dans les urines

5.11.1. Etude de sensibilité des entérobactéries aux Bêtalactamines

Tableau XIV : Sensibilité des entérobactéries aux bêtalactamines

Familles	Antibiotiques	Nombre de souches testées	Nombre de Souches sensibles (%)
Bêtalactamines	Amoxicilline+acide Clavulaniques	9	0(0)
	Pipéracilline-Tazobactames	9	5(55,6)
	Ampicilline	8	0(0)
	Ticarcilline	246	16(6,5)
	Ceftriaxone	156	66(42,3)
	Cefixime	251	99(39,4)
	Cefepime	257	75(29,2)
	Cefoxitine	257	75(29,2)
	Cefuroxime	10	2(20)
	Ceftazidime	257	24(9,3)
	Cefalotine	7	0(0)
	Ertapénème	7	7(100)
	Imipénème	8	8(100)
	Aztreonam	257	153(59,5)
Aminosides	Gentamicine	257	199(77,4)
	Kanamycine	247	110(44,5)
	Amikacine	8	8(100)
Quinolones	Ciprofloxacine	256	177(69,1)
	Levofloxacine	256	194(75,8)
Phénicolés	Chloramphénicol	247	194(78,5)
Cyclines	Tétracycline	246	36(14,6)
Polymixines	Colistine	248	54(21,8)
Sulfamides-diaminopyrimidines	Cotrimoxazole	255	70(27,5)

Toutes les espèces d'entérobactéries testées ont été sensibles aux Carbapénèmes (100%) et à Amikacine (100%) par contre elles ont été toutes résistantes à Amoxicilline+acide clavulanique (0%), à Ampicilline (0%) et au Cefalotine (0%).

5.11.2. Etude de Sensibilité des quatre principales bactéries isolées dans les urines

5.11.2.1. Sensibilité de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques

Tableau XV : Sensibilité de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques

	Antibiotiques	Nombre de souches testées	Nombre de Souches sensibles(%)
Bêtalactamines	Amoxicilline+acide Clavulaniques	6	0(0)
	Pipéracilline-Tazobactam	6	4(66,7)
	Ampicilline	6	0(0)
	Ticarcilline	103	4(3,9)
	Ceftriaxone	69	34(49,3)
	Cefixime	109	43(39,4)
	Cefepime	109	37(33,9)
	Cefoxitine	109	32(29,4)
	Cefuroxime	7	2(28,6)
	Ceftazidime	109	13(11,9)
	Cefalotine	6	0(0)
	Ertapenème	4	4(100)
	Imipenème	5	5(100)
	Aztreonam	109	51(46,8)
Aminosides	Gentamicine	109	89(81,7)
	Kanamycine	102	42(41,2)
	Amikacine	5	5(100)
Fluoroquinolones	Ciprofloxacine	108	84(77,8)
	Levofloxacine	107	82(76,6)
Phénicolés	Chloramphénicol	103	74(71,8)
Cyclines	Tétracycline	101	8(7,9)
Polymixines	Colistine	104	18(17,3)
Sulfamides-diaminopyrimidines	Cotrimoxazole	109	30(27,5)

Les souches de *Klebsiella pneumoniae* ont eu une sensibilité plus élevée au Gentamycine (81,7%), par contre elles ont été toutes résistantes à l'Amoxicilline + Acide clavulanique, à l'Ampicilline, et au Cefalotine.

5.11.2.2. Sensibilité de souches d'*Escherichia coli* aux antibiotiques

Tableau XVI : Sensibilité de souches d'*Escherichia coli* aux antibiotiques

Familles	Antibiotiques	Nombre de souches testées	Nombre de Souches sensibles(%)
Bêtalactamines	Amoxicilline+acide Clavulaniques	3	0(0)
	Pipéracilline-Tazobactam	3	1(33,3)
	Ampicilline	3	0(0)
	Ticarcilline	73	7(9,6)
	Ceftriaxone	50	15(30)
	Cefixime	79	25(31,6)
	Cefepime	79	19(24,1)
	Cefoxitine	79	27(34,2)
	Cefuroxime	3	2(66,7)
	Ceftazidime	79	8(10,1)
	Cefalotine	3	0(0)
	Ertapenème	3	3(100)
	Imipenème	3	3(100)
	Aztreonam	78	35(44,9)
Aminosides	Gentamicine	79	59(74,7)
	Kanamycine	76	31(40,8)
	Amikacine	3	3(100)
Fluoroquinolones	Ciprofloxacine	79	47(59,5)
	Levofloxacine	79	53(67,1)
Phénicolés	Chloramphénicol	76	63(82,9)
Cyclines	Tétracycline	74	12(16,2)
Polymixines	Colistine	76	22(28,9)
Sulfamides-diaminopyrimidines	Cotrimoxazole	76	17(22,4)

Les souches d'*Escherichia coli* ont été plus sensibles au chloramphénicol avec 82,9% et moins sensibles pour le Ceftazidime (10,1%), et la Ticarcilline (9,6%).

5.11.2.3. Sensibilité de souches de *Citrobacter freundii* aux antibiotiques

Tableau XVII : Sensibilités aux antibiotiques de souches de *Citrobacter freundii*

Familles	Antibiotiques	Nombre de souches testées	Nombre de Souches sensibles(%)
Bêtalactamines	Ticarcilline	17	1(5,9)
	Ceftriaxone	6	5(83,3)
	Cefixime	17	10(58,8)
	Cefepime	17	4(23,5)
	Cefoxitine	17	7(41,2)
	Ceftazidime	17	1(5,9)
	Aztreonam	17	15(88,2)
Aminosides	Gentamicine	17	13(76,5)
	Kanamycine	17	12(70,6)
Fluoroquinolones	Ciprofloxacine	17	12(70,6)
	Levofloxacine	17	13(76,5)
Phénicolés	Chloramphénicol	17	16(94,1)
Cyclines	Tétracycline	17	4(23,5)
Polymixines	Colistine	17	4(23,5)
Sulfamides-diaminopyrimidines	Cotrimoxazole	17	7(41,2)

Les souches de *Citrobacter freundii* avaient une sensibilité très élevée pour le Chloramphénicol (94,1%), l’Aztreonam (88,2%) et le Ceftriaxone (83,3%), par contre elles ont été moins sensibles pour Ticarcilline (5,6%).

5.11.2.4. Etude de sensibilité des souches d'*Enterobacter cloacae*

Tableau XVIII : Sensibilité des souches d'*Enterobacter cloacae* aux antibiotiques

Familles	Antibiotiques	Nombre de souches testées	Nombre de Souches sensibles(%)
Bêtalactamines	Ticarcilline	17	1(5,9)
	Ceftriaxone	8	1(12,5)
	Cefixime	17	4(23,5)
	Cefepime	17	1(5,9)
	Cefoxitine	17	5(29,4)
	Ceftazidime	17	1(5,9)
	Aztreonam	17	5(29,4)
Aminosides	Gentamicine	17	11(64,7)
	Kanamycine	17	8(47,1)
Fluoroquinolones	Ciprofloxacine	17	12(70,6)
Phénicolés	Chloramphénicol	17	14(82,4)
Cyclines	Tétracycline	17	3(17,6)
Polymixines	Colistine	17	5(29,4)
Sulfamides-diaminopyrimidines	Cotrimoxazole	17	5(29,4)

La sensibilité des souches d'*Enterobacter cloacae* au Chloramphénicol a été plus élevée avec un pourcentage de 82,4% et moins élevée pour Cefepime, Ceftazidime et Ticarcilline avec un même pourcentage de 5,9%.

5.11.2.5. Etude de l'antibiogramme sur les souches de Cocci Gram Positif

TableauXIX : Sensibilité de Cocci Gram Positif aux antibiotiques

Familles	Antibiotiques	Nombre de souches testées	Nombre de Souches sensibles(%)
Bêtalactamines	Amoxicilline+acide Clavulaniques	16	1(6,25)
	Ampicilline	8	0(0)
	Ticarcilline	10	2(20)
	Oxacicline	6	1(16,7)
	Cefepime	13	1(7,7)
	Céfoxitine	19	5(26,3)
	Céfuroxime	11	4(36,4)
	Ceftazidime	11	1(9,1)
	Cefalotine	10	1(10)
	Ertapénème	4	4(100)
	Imipénème	17	1(14,3)
	Aztreonam	11	2(18,2)
Aminosides	Gentamicine	18	10(55,6)
	Kanamycine	9	4(44,4)
Quinolones	Ciprofloxacine	19	13(68,4)
	Levofloxacin	5	5(100)
Phénicolés	Chloramphenicol	10	7(70)
Cyclines	Tetracycline	17	3(17,6)
Polymixines	Colistine	76	22(28,9)
Sulfamides-diaminopyrimidines	Cotrimoxazole	11	2(18,2)
rifamycines	Rifampicine	12	11(91,7)
Glycopeptides	Teicoplanine	6	5(83,3)
	Vancomycine	15	8(53,3)
Nitrofuranes	Nitrofurantoïne	6	4(66,7)
Macrolides	Erythromycine	5	2(40)

Le taux de sensibilité des Cocci Gram Positif a été plus élevé pour le Levofloxacin (100%), la Rifampicine (91,7%), la Teicoplanine (83,3%), par contre moins élevé pour l'Amoxicilline-acide clavulanique (6,25%), l'Ampicilline (0%) et Cefepime (7,7%).

5.11.2.6. Etude de l'antibiogramme des souches de *Staphylococcus aureus*

Tableau XX : Sensibilité des souches de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques

Familles	Antibiotiques	Nombre de souches testées	Nombre de Souches sensibles(%)
bêtalactamines	Ampicilline	1	0(0)
	Ticarcilline	2	0(0)
	Oxacilline	1	0(0)
	Cefepime	2	0(0)
	Cefoxitine	2	1(50)
	Ceftazidime	2	0(0)
	Aztreonam	2	1(50)
Aminosides	Gentamicine	3	1(33,3)
	Kanamycine	2	0(0)
Quinolones	Ciprofloxacine	3	3(100)
	Levofloxacine	3	3(100)
Phénicolés	Chloramphénicol	2	0(0)
Cyclines	Tétracycline	2	0(0)
Sulfamides-diaminopyrimidines	Cotrimoxazole	2	0(0)
Macrolides	Erythromycine	1	0(0)

Toutes les souches de *Staphylococcus aureus* ont été 100% sensibles au Ciprofloxacine et Levofloxacine et moins sensible pour la Gentamycine avec un pourcentage de 33,3%.

DISCUSSION

6. Discussion

6.1. Profil épidémiologique des entérobactéries isolées

Notre étude a porté sur des bactéries isolées des urines dans le but d'évaluer leurs sensibilités aux antibiotiques pendant la période allant de mai 2018 à décembre 2022. Sur cette période d'étude, notre laboratoire groupe santé TIEBA a reçu au total 776 ECBU, parmi lesquels 302 cultures ont été positives. La proportion de l'infection urinaire a été de 38,9%. Les entérobactéries ont représenté 92,7% des bactéries isolées dans les urines. Des taux inférieurs ont été rapportés dans la littérature par **KALAMBRY** en 2019 à l'Hôpital du Mali qui a trouvé une fréquence d'IU avec 18,5% et 76,7% d'entérobactéries isolés dans les urines [60].

Selon la répartition par genre, nous avons trouvé une prédominance féminine de 53,6% et 46,4% chez les hommes avec un sexe ratio de 1,16.

Des résultats similaires ont été retrouvés dans d'autres études comme celle réalisée à l'institut national de santé public (INSP) par **DEMBELE. M** qui a trouvé une prédominance féminine de 54,2% contre 45,8% chez les hommes avec un sexe ratio 1,18 [61].

D'autres résultats similaires ont été rapportés à Bamako en 2006 par **SISSOKO. MT** qui a montré également une prédominance de sexe féminin avec 56% contre 44% de sexe masculin [62].

Cette prédominance féminine se justifie du fait que, chez la femme, l'urètre est très proche de l'anus (2 cm environ) ou sont toujours présents des entérobactéries ; alors que chez l'homme la distance entre l'urètre et l'anus est de plus long (16 cm environ).

Dans notre étude, les personnes âgées de plus de 45 ans ont été les plus vulnérables aux infections urinaires avec 34,4% de cas. Ce résultat est concordant avec les données de la littérature, qui affirme que le site le plus infecté chez les personnes âgées est le site urinaire, ainsi les infections urinaires représentent environ 35 % des infections chez le sujet âgé [63].

Nos résultats sont aussi confirmés par ceux retrouvés en 2014 au Laboratoire Rodolphe Mérieux de BAMAKO par **ZITTI. T** qui avait trouvé les personnes de plus de 60 ans comme étant les plus représentées avec un pourcentage de 37,3% [64].

Nous disons que, la vulnérabilité de cette tranche d'âge serait liée au vieillissement de leur système immunitaire et ménopause chez la femme qui est un facteur qui diminue la production d'œstrogène ayant pour conséquences l'amincissement et l'assèchement de la muqueuse urogénitale et le rend plus sensible aux germes.

Dans notre étude, les sujets âgés de 15 à 30 ans ont représenté la deuxième catégorie d'âge ayant eu des infections urinaires avec un pourcentage de 32,8%.

Ce résultat s'explique du fait que les personnes en début d'activité sexuelle sont également vulnérables aux infections urinaires.

La majorité de nos patients avaient des bulletins d'analyse prescrits dans les cliniques avec 31,8%, suivie des hôpitaux avec 17,9% et 22,2% des patients avaient des bulletins dont les centres étaient non renseignés. Cette demande d'ECBU élevée par les cliniques se justifie par le fait que, la plupart des cliniques ne disposent pas de laboratoire pour la bactériologie.

Pour les prescripteurs, les médecins généralistes avaient plus demandé des ECBU avec un pourcentage de 31,1%, suivie des médecins spécialistes en médecine interne avec un taux de 8,6% et 24,2% de nos échantillons étaient des prescripteurs non renseignés.

6.2. Fréquences globales des espèces bactériennes isolées dans les urines

Le profil épidémiologique des bactéries isolées dans les urines avait montré dans notre étude, une grande prédominance des entérobactéries avec 92,7%. En tête de fil, nous avons trouvé *Klebsiella pneumoniae* avec 38,4%, suivie d'*Escherichia coli* (29,5%) ; et d'*Enterobacter cloacae* et *Citrobacter freundii* qui ont été retrouvés avec la même fréquence de 5,6% et ensuite les Cocci à gram positif ont représenté 7,3% des bactéries isolées dans les urines, dont 2,3% étaient des *Staphylococcus aureus*.

En comparant nos résultats avec les données de la littérature, on constate que le profil des bactéries uropathogènes est dominé par les entérobactéries et principalement par le *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* qui restent de loin les agents pathogènes responsables des infections urinaires.

Cette fréquence élevée des entérobactéries dans les infections urinaires se justifie par le fait que, ces sont des germes commensaux qui vivent dans les intestins et plus précisément au niveau du rectum et cela les rends plus susceptibles de coloniser l'urine de la vessie par la voie ascendante à travers l'urètre.

Notre résultat est légèrement supérieur à celui d'une étude réalisée au MALI en 2020 par **DOUMBIA. R** qui avait retrouvé 83% d'entérobactéries isolées au cours des ECBU [71].

Une autre étude réalisée en 1990 à Bamako avait retrouvé une prédominance de *Klebsiella pneumoniae* avec 26,1%, suivie d'*Escherichia coli* avec 21,9% [72]. De plus **Tony Jonan Zardelon ZITTI** en 2014 à BAMAKO a retrouvé également une prédominance de ces deux espèces d'entérobactéries avec un taux pour *Escherichia coli* de 61,8% et 14,2% pour *Klebsiella pneumoniae* [64].

Néanmoins, la fréquence des espèces bactériennes isolées au cours des examens cytobactériologiques des urines émanant des patients hospitalisés et externes varie d'une étude

à l'autre, et les bactéries les plus courantes sont soit à prédominance d'*Escherichia coli* ou parfois à *Klebsiella pneumoniae*.

6.3. Profil de sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées dans les urines

6.3.1. Les entérobactéries

Parmi les β -lactamines et les aminosides ; les Carbapénèmes et Amikacine étaient les plus efficaces avec un taux de sensibilité de 100% sur toutes les souches qui ont été testées. Cette tendance a également été retrouvée à MARRAKECH par **Hay MRICH** en 2018 qui confirmait que le taux de sensibilité d'*Escherichia coli* et d'*Enterobacter cloacae* était 100% aux Carbapénèmes, et le taux de sensibilité de *Klebsiella pneumoniae* était de 95,27% aux Carbapénèmes.

On peut conclure que l'efficacité des Carbapénèmes et Amikacine sur les entérobactéries est due à leurs prescriptions uniquement hospitalières et de leurs utilisations en dernière intention.

Quant au groupe de pénicillines : aucune de nos souches n'a été sensible à l'Amoxicilline + acide clavulanique, et l'Ampicilline (0%).

Des résultats légèrement supérieurs ont été retrouvés en 2020 au MALI par **SIDIBE M** qui confirmait un taux de sensibilité d'*E. coli* avec 14% à l'amoxicilline + acide clavulanique et pour *Klebsiella pneumoniae* le taux de sensibilité était de 39,6% à l'amoxicilline + acide clavulanique [65]. Cette résistance serait la conséquence de l'automédication et de la consommation abusive de ces antibiotiques dans les pays en développement.

Pour les Céphalosporines, le taux de sensibilité au Ceftriaxone retrouvait dans notre étude était de 49,3% pour le *Klebsiella pneumoniae* ; 30% pour *Escherichia coli* ; 83,3% pour *Citrobacter freundii* et 5,3% *Enterobacter cloacae*.

L'étude des entérobactéries sur les quinolones avait montré que le Levofloxacin a été le plus efficace avec 75,8%. Le taux de sensibilité des entérobactéries au Ciprofloxacine était de 69,1%. Les deux premières bactéries (*Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli*) ont respectivement une sensibilité de 77,8% et 59,5% pour la Ciprofloxacine ; 76,6% et 67,1% pour le Levofloxacin. Ce qui confirme que les quinolones sont efficaces sur les germes impliqués dans les infections urinaires.

Ces taux sont proches de ceux rapportés dans les études réalisées au Mali au CHU-Point G par **Minta et al** qui a trouvé 30% de sensibilité d'*E. coli* au Ciprofloxacine ; au Laboratoire PA et KA de Bamako la sensibilité des Quinolones sur les entérobactéries était de 40%, ainsi que ceux de certains centres hospitaliers étrangers tels que celui d'Algérie (80%) [67,68, 69].

Le taux de sensibilité au Gentamycine variait d'une espèce à l'autre, dans notre étude on a trouvé respectivement un taux de sensibilité de 81,7% ; 74,7% ; 76,5% et 64,7% pour le *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* ; *Citrobacter freundii* et *Enterobacter cloacae*.

Une étude menée par **SISSOKO** à Bamako en 2016, a constaté une forte diminution de sensibilité des entérobactéries aux aminosides [66].

A BAMAKO une autre étude menée par **DOUCOURE et al** en 2020 a trouvé 31,3% d'entérobactéries sensibles au Gentamycine, ce qui est légèrement inférieurs aux sensibilités retrouvées sur nos quatre premières bactéries isolées [70].

Concernant les autres antibiotiques, dans notre étude, les souches d'entérobactéries ont été beaucoup plus sensibles au Chloramphénicol avec 78,5%, par contre, nous avons retrouvé une sensibilité faible au Colistine 21,8% et au Cotrimoxazole 27,5%.

6.3.2. Les Cocci Gram Positif

D'après notre étude, les souches de *Staphylococcus aureus* ont été 100% sensibles pour Levofloxacin et ciprofloxacine.

Cefoxitine a été efficace à 50%, néanmoins ce taux reste faible par rapport à celui observé par l'**HMIMV** en 2014 qui était de 77% [73].

Le taux de sensibilité de *Staphylococcus aureus* pour la gentamycine était relativement faible (33,3%). De même, le *Staphylococcus aureus* a été résistant à beaucoup d'antibiotiques comme : Chloramphénicol, Tétracycline, Kanamycine, Cefepime, Ampicilline et Oxacilline.

Limite de l'étude : Les phénotypes des résistances n'ont pas pu être traités en raison du caractère rétrospective de notre étude.

CONCLUSION

7. Conclusion

Cette étude rétrospective nous a permis d'avoir une idée sur la fréquence de la sensibilité des principales bactéries impliquées dans les infections urinaires.

Les entérobactéries ont été les bactéries les plus fréquentes dans les infections urinaires (92,7%), notamment *Klebsiella pneumoniae* (38,4%) ; *Escherichia coli* (29.5%) ; *Citrobacter freundii* (5,6%) et *Enterobacter cloacae* (5,6%).

Les CGP ont été dominées par le *Staphylococcus aureus* (2,3%).

Toutes les espèces d'entérobactéries isolées dans les urines ont été sensibles aux Carbapénèmes et Amikacine et présentaient une sensibilité très élevée au Gentamycine, au Chloramphénicol, au Ciprofloxacine et au Levofloxacine.

Les Cocci Gram Positif ont été particulièrement sensibles au Ciprofloxacine et au Levofloxacine.

Ces données sont utiles pour le choix de l'antibiothérapie de première intention qui nécessite d'être adaptée au site de l'infection et au terrain sous-jacent.

RECOMMENDATIONS

8. Recommandations :

Au terme de notre étude, quelques recommandations nous semblent nécessaires :

❖ Aux autorités sanitaires

- Amélioration des connaissances générales sur l'usage des antibiotiques et le risques de diminution des sensibilités ;
- Mettre en place une surveillance épidémiologique de la résistance des bactéries aux antibiotiques à l'échelle du pays.

❖ Aux médecins et autres prescripteurs

- Un bon remplissage et une bonne tenue des dossiers des patients pour éviter certaines difficultés ;
- Demander dans la mesure du possible un antibiogramme avant d'envisager une antibiothérapie.

❖ A la population

- Eviter l'automédication par les antibiotiques afin d'éviter l'émergence et la propagation des bactéries multirésistantes.

9. Référence

1. **Zahir, H., Draiss, G., Rada, N., Abourrahouat, A., Ait sab Imane, Et all** Écologie microbienne et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées d'infections urinaires chez l'enfant au Maroc. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2019(511), 65–70.
2. **Bertholom C.** (2016). Épidémiologie des infections urinaires communautaires et nosocomiales. *Option/Bio*. 2016;27(541-542):23-24.
3. **Becq-Giraudon B.** Bactériurie asymptomatique du sujet âgé. *Médecine et Maladies infectieuses*. 1991;21(2):149-156.
4. **Caron F, Etienne M, Galperinne T, Merens A, Flateau C.** Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires de l'adulte. 2014.
5. **Wazieres B, Rainfray M.** Infections urinaires du sujet âgé. In Belmin J et al *Gériatrie pour le praticien*, 2^{ème} édition. (Masson Paris, 2009):367 - 369.
6. **Ben-Ami R, Rodríguez-Baño J, Arslan H, Pitout J.D, Quentin C, Calbo E.S, et al.** A multinational survey of risk factors for infection with extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in non-hospitalized patients. *Clinical Infectious Diseases*.2009;49(5):P682-690. <https://doi.org/10.1086/604713>.
7. **Arpin C, Quentin C, Grobost F, Cambau E, Robert J, Dubois V, et al.** Nationwide survey of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in the French community setting. *Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2009; 63 (6):1205-14.
8. **Fouquet M, Morange V, Bruyère F.** Évolution sur cinq ans des infections à germes produisant une β -lactamase à spectre étendu. *Progrès en urologie*. 2012;22(1):17-21.
9. **Pechere JC. Amerzaud N. Cherubin L. Genier B. Mollering et Coll.** Les infections urinaires. 2^{ème} éditions PM, 1985 ; 371-397.
10. **Debré B, Saighi D, Peyromaure M.** Abrégée urologie. Paris : Masson ; 2004.
11. **Pavese P.** Infections urinaires nosocomiales : définition, diagnostic, physiopathologie, prévention, traitement ; *Méd. Mal Infect* ; 2003 ; 33 : 266s-274s
12. **Elkharrat D, Arrouy A, Benhamou F, Dray A, Grenet J, Le Corre A.** Epidémiologie de l'infection urinaire communautaire de l'adulte en France in. LOBEL B, SOUSSY CJ. *Les infections urinaires*. Paris : Springer-Verlag, 2007, p.1-20.
13. **Société Française de Microbiologie et European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.** *European manual of Clinical Microbiology*, 1st Edition. Epernay, France, mars 2012.

14. **Duval V, Maiga I, Maiga A, Guillard T, Brasme L, Forte D, et al.** High Prevalence of CTX-M-Type β -Lactamases among Clinical Isolates of Enterobacteriaceae in Bamako, Mali. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(11):4957–8.
15. **Remic 2018.** Référentiel en microbiologie médicale
16. **Rossant L, Rossant-Lumbroso J.** *Encyclopédie médicale.* Les infections urinaires. 2010.
17. **Bessière S.** La féminisation des professions de santé en France : données de cadrage. *Revue française des affaires sociales.* 2005(1):17-33.
18. **H.T. Infection Urinaires Nephrohus online**
(T2000:WWW.didier.degleise.free.fr):8p.
19. **Maleb A LS, Rifai S, Rahmani N, Bensalah M, Benaissa E, et al. editors.** Un logigramme est toujours utile : application à l'interprétation de l'examen cytobactériologique des urines. *Annales de Biologie clinique ;* 2019.
20. **Mamadou B.** **Contribution à l'étude de l'infection urinaire au cours de la grossesse** : étude prospective du 1er janvier 2001 au 31 août 2001 au service de gynécologie obstétrique du CHU de Treichville : Thèse Med. Abidjan ; 2003.
21. **Fries D.** **Infection du tractus urinaire et pyélonéphrite. Maladies rénales :** Hermann, Editeurs des sciences et des Arts Ed Paris. 1992:123-45.
22. **Aninch JWM, Tanagho EA.** *Smith Urology; Piccin; 12ème edition; 1991; 207-218.*
23. **Millán-Rodríguez F, Palou J, Bujons-Tur A, Musquera-Felip M, Sevilla-Cecilia C, Serrallach-Orejas M, et al.** Acute bacterial prostatitis: two different sub-categories according to a previous manipulation of the lower urinary tract. *World journal of urology.* 2006;24(1):45-50.
24. **Zogheib E, Dupont H.** Entérobactéries multirésistantes. Conférences d'actualisation. 2005:p153-65. Sur le lien : http://www.sfar.org/sfar_actu/ca05/html/ca05_13/ca05_13.htm#94992.
25. **El Alia MM.** L'effet de deux plantes médicinales (*Nigellasativa L.* et *Salvia Officinale L.*) sur les bactéries responsables des infections urinaires. 2016.
26. **Cohena R, Raymonda J, Faye A, Gilleta Y, Grimprela E.** Prise en charge des infections urinaires de l'enfant. Recommandations du groupe de pathologie infectieuse pédiatrique de la Société française de pédiatrie et de la Société de pathologie infectieuse de langue française. *Archives de Pédiatrie.* 2015;22:665-71.
27. **Glissmeyer EW, Korgenski EK, Wilkes J, Schunk JE, Sheng X, Blaschke AJ, et al.** Dipstick screening for urinary tract infection in febrile infants. *Pediatrics.* 2014; 133 (5):e1121-e7.

28. **N'diaye A.** Les entérobactéries sécrétrices de bêtalactamases à spectre élargie. Thèse Université Cheikh Anta Diop de Dakar 65p. 2005.
29. **Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé février 2007.** Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires du nourrisson et de l'enfant.
30. **Millán-Rodríguez F, Palou J, Bujons-Tur A, Musquera-Felip M, Sevilla-Cecilia C, Serrallach-Orejas M, et al.** Acute bacterial prostatitis: two different sub-categories according to a previous manipulation of the lower urinary tract. World journal of urology. 2006;24(1):45
31. **Aspevall O, Hallander H, Gant V, Kouri T.** European guidelines for urinalysis: a collaborative document produced by European clinical microbiologists and clinical chemists under ECLM in collaboration with ESCMID. Clinical Microbiology and infection. 2001; 7(4):173-8.
32. **Cavallo JD, Garrabé E.** Outils du diagnostic biologique des infections urinaires nosocomiales (IUN) : analyse critique. Médecine et maladies infectieuses. 2003;33(9):447-56.
33. **Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé juin 2008 ;** Recommandation de bonne pratique ; diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires chez l'adulte.
34. **Janviera F, Mbongo-Kamaa E, Merensa A, Cavallo JD.** Les difficultés d'interprétation de l'examen cytobactériologique des urines. Revue Francophone des laboratoires 2008 ; N°406
35. **Cavallo J.** Bonnes pratiques de l'examen cytobactériologique des urines (ECBU) au laboratoire. Feuilles de biologie. 1997:7-14.
36. **Philippon A.** Antibiogramme : Quoi de neuf, en réalité, depuis 10 ans ? Revue francophone des laboratoires. 2006;2006 (379):44-8.
37. **Bergey DH, Boone DR, Castenholz RW, Garrity GM.** Bergey's manual of systematic bacteriology. Vol. 1, Archaea and the deeply branching and phototrophic bacteria: Springer; 2001.
38. **La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important !** Pharmactuel 2009;42.
39. **Société Française de Microbiologie et European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.** European manual of Clinical Microbiology, 1st Edition. Epernay, France, mars 2012.

40. **Onifade A, Anibijuwon I.** Urinary tract infection in apparently healthy individuals in Ile-Ife, Nigeria: Detection of predominant microorganisms and antibiotics susceptibility profile. *African Journal of Microbiology Research*. 2011;5(20):3233-6.
41. **PF B. 3d, Jarvis JA, Mitchell CK.** Urinary tract infections. *Prim Care*. 2003;30:41-61.
42. **M.Véron et coll.,** Compte-rendu de système du Contrôle National de Qualité en Bactériologie, avril 1977
43. **Appelbaum P.c., Stavitz J., Bentz M.S., Von Kuster L.C** Four methods for Identification of Gram-Negative Non Fermenting Rods: Organisms more commonly encountered in Clinical Specimens. (1980) *J.Clin. Microbiol.* 12,271-278.
44. **BROOKS K.A., JENS M., SODEMAN TM.** A Clinical Evaluation of the API Microtube System for Identification of Enterobacteriaceae (1974) *Am. j. Med.Techn.*40, 55-61.
45. **Mallette, MF 1969. XV.** Evaluation of growth by physical and chemical means, p. 521-566. In J.R. Norris and D.W. Ribbons (ed.), *Methods in microbiology*, vol 1. Academic Press Inc., New York.
46. **McFarland, J.1907.** The Nephelometer: an instrument for estimating the number of bacteria in suspension used for calculating the opsonic index for vaccines. *JAMA* 49:1176-1178.
47. **RICHARD C.,** Gram et la collaboration de Gram, *Ass. Anc. El. Inst. Pasteur*, vol. 33, n°129,1991, p. 15-19.
48. **Sougakoff W, Trystram D.** Résistances aux β -lactamines. *Service de Bactériologie Hygiène du CHU Pitié-Salpêtrière*. 2003:9-12
49. **Colon, S., (1990).** Anatomie microscopique normale. In : *néphrologie urologie ;(Paris) ; 7-19*
50. **Bensman, A., Las fargues, G.** Diagnostic positif et localisation de l'infection urinaires.pdf. 2016.
51. **. Hsu CY, Fang HC, Chou KJ, Chen CL, Lee PT, Chung HM.** The clinical impact of bacteremia in complicated acute pyelonephritis. *The American journal of the medical sciences*. 2006 ;332(4):175-80.
52. **Ouakhzan B.** Profil de résistance aux antibiotiques des principales entérobactéries isolées des infections urinaires au laboratoire de microbiologie de l'hôpital militaire d'instruction Mohamed V. 2011.
53. **Api 20^E,** système d'identification des Enterobacteriaceae et autres bacilles à gram négatif non fastidieux 07584J-2010/05.

- 54. MC. Farland. BD Phoenix Spec**, Nephelometer User's Guide 2013-04.
- 55. Jeamine EC.** Les infections urinaires à Bamako, aspects épidémiologiques et étiologiques. Thèse de Pharmacie, Bamako 1999- 32.
- 56. CLSI:** Clinical and Laboratory Standards Institute. 2010. Approved standard M2-A10. Performance standards for antimicrobial susceptibility tests, 10th ed. CLSI, Wayne, pa.
- 57. CLSI:** Clinical and Laboratory Standards Institute. 2010. CLSI document M100-S19. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 20th informational supplement, Wayne, Pa.
- 58. CA-SFM :** Comité de l'antibiogramme.2010. French Society of Microbiology.
- 59. EUCAST:** European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST QC Tables V1.2.2010.
- 60. Kalamby A, Gaudré N, Boubacar SI D, Poudiougou A, Kassogué A, Koné H et al.** Profil de résistance aux bêta-lactamines des entérobactéries isolées des prélèvements urinaires à l'Hôpital du Mali. 2019 ;(14) :1-10.
- 61. DEMBELE M.** Etude de la résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées dans les urines au service bactériologie-virologie de l'INRSP. Thèse Pharmacie : Bamako ; 2019-2020. 94p.
- 62. SISSOKO, M T.** Infections urinaires à Bamako : Aspects épidémiologique, bactériologique et clinique. Thèse Pharm FMPOS, Bamako, 2006. 28, FMPOS.
- 63. Durand-Gasselien B, Haber N.** Infections urinaires chez les personnes âgées. La Revue de gériatrie. 2001;26(7):A17-A21.
- 64. Tony Jonan Zardelon ZITTI.** Mise en place de la surveillance des résistances aux antibiotiques des germes responsables d'infections urinaires dans le Laboratoire Rodolphe Mérieux de BAMAKO,2014, p40, Thèse de Pharmacie.
- 65. SIDIBE M.** Caractérisation et phénotypique de la résistance aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella spp* isolées chez les humains, les animaux et dans l'environnement au laboratoire Rodolphe Mérieux de Bamako.2020, thèse de Pharmacie.
- 66. Sissoko T.** Aspects épidémiologiques et étiologiques des infections urinaires à l'hôpital National du point G. (Thèse, pharm N :06p049,) :38.
- 67. Traoré A, Minta DK, Cissé H, Coulibaly I, Niaré B, Dollo I, et al.** Profil épidémioclinique et bactériologique actuel des infections urinaires dans les services des maladies infectieuses du CHU du Point G, à Bamako, Mali, décembre 2012; CAMES-série A,13(2) :122-126.

- 68. GORO A.** Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à Bamako 2020. Thèse de pharm.p.64.
- 69. Ait Miloud khalid ;** L'infection Urinaire : Expérience du laboratoire de microbiologie de l'hôpital des spécialités de rabat.
- 70. Doucouré, D., Keita, B., Keita, M., Goita, D., Traoré, M., Konaté, I. et al.** Les infections urinaires bactériennes chez les PVVIH : Une étude transversale au service des maladies Infectieuses du CHU-Point G. 21(8). <https://www.hsd-fmsb.org/index.php/hsd/article/view/2190>.
- 71. DOUMBIA R.** Profil de l'antibio-résistances des germes responsables d'infections urinaires à l'Institut National en Sante Publique de BAMAKO de janvier 2015 à juillet 2019. Thèse de Pharmacie.
- 72. Soula GH, Pichard E, Soula GG, Kodio A ;** Etude bactériologique des infections urinaires à Bamako : Orientation pratique. Médecine d'Afrique noire : 1990,37(5).
- 73. Nezha Rachidi ;** Epidémiologie et résistance aux antibiotique des bactéries isolés d'infection urinaires à l'hôpital militaire d'instruction Mohamed V de rabat – 2014.

Fiche signalétique

Nom : MAIGA

Prénom : Ibrahim Mahamadou

Tel : 76 82 11 61

Adresse : maigaibrahim128@gmail.com

Pays : MALI

Ville : BAMAKO

Année de soutenance : 2022-2023

Lieu de dépôt : Bibliothèque des facultés de la FMOS/FAPH

Titre : Evaluation de la sensibilité aux antibiotiques des germes isolés des urines dans le laboratoire groupe santé TIEBA de BAMAKO, MALI.

Résumé :

Ce travail est une étude rétrospective portant sur des souches bactériennes isolées des urines ; et le but de ce travail est d'évaluer la sensibilité aux antibiotiques des germes isolés dans les urines au Laboratoire Groupe Santé TIEBA sur une période de 4 ans allant de mai 2018 à décembre 2022 (56 mois).

A noté que les infections urinaires constituent un motif fréquent de consultation et de prescription médicale en pratique courante. En effet, les voies urinaires représentent le second site d'infections communautaires après l'appareil respiratoire. Etant facile et orientant, le diagnostic des infections urinaires repose principalement sur la réalisation de l'examen cyto bactériologique des urines (ECBU). Il permet le diagnostic de certitude des IU en isolant le micro-organisme responsable et en déterminant ces caractères biochimiques et sa sensibilité aux antibiotiques.

Dans notre étude, nous avons eu au total 776 ECBU parmi lesquels 302 ECBU étaient positives à la culture. La proportion des infections urinaires était de 38,9%, dont 53,6% chez les femmes contre 46,4% chez les hommes avec un sexe ratio de 1,16.

Les sujets âgés de 45 et plus étaient les plus représentés avec 34,4% de cas.

L'étude des caractères biochimiques et du profil de sensibilité des souches isolées dans notre étude a révélé les résultats suivants : 92,7% des souches d'Entérobactéries isolées parmi lesquelles *Klebsiella pneumoniae* en tête de file avec 38,4% ; suivie de *Citrobacter freundii* (5,6%) et *Enterobacter cloacae* (5,6%).

L'étude de sensibilité de Bacilles gram négatif avait montré que le niveau de sensibilité était plus élevé pour le groupe de Carbapénèmes (100%), par contre toujours nulle pour amoxicilline + acide clavulanique (0%), Ampicilline (0%) et Cefalotine (0%).

Mots clés : Antibiosensibilité ; germe ; infection urinaire ; Laboratoire groupe santé TIEBA

SUMMARY

This work is a retrospective study on bacterial strains isolated from urine; and the purpose of this work is to evaluate the sensitivity to antibiotics of bacterium isolated during ECBU in the TIEBA Health Group Laboratory over a period of 4 years from 2018 to 2022 (56 months).

Noted that urinary tract infections are a frequent reason for consultation and medical prescription in current practice. Indeed, the urinary tract represents the second site of community infections after the respiratory system. Being easy and direct, the diagnosis of urinary tract infections is mainly based on the realization of the cylobacteriological examination of urine (ECBU). It allows the diagnosis of certainty of UI by isolating the responsible microorganism and determining its biochemical characteristics and its sensitivity to antibiotics.

In our study, we had a total of 776 ECBU among which 302 ECBU were positive to culture. The proportion of urinary tract infections was 38,9%, including 53,6% in women against 46,4% in men with a sex ratio of 1,16. Subjects aged 45 and over were the most represented with 34,4% of cases. The study of the biochemical characters and the sensibility profile of the strains isolated in our study revealed the following results: 92,7% of the strains of enterobacteria isolated among which *Klebsiella pneumonia* in the lead with 38,4%; followed by *Citrobacter freundii* (5,6%) and *Enterobacter cloacae* (5,6%).

The sensitivity study of gram-negative bacilli had shown that the level of sensitivity was higher for Carbapeneme (100%), on the other hand always zero for amoxicillin + clavulanic acid (0%), Ampicillin (0%) and Cefalotin (0%).

Keywords: Antibiosensitivity; bacterium; urinary tract infection; Health group laboratory TIEBBA.

ANNEXE

10. ANNEXE

ANNEXE 1

1. La coloration de Gram

1.1. Intérêt de la coloration de Gram

- Orienter le traitement antibiotique ;
- Inciter à refaire le prélèvement (si polymorphe) ;
- Orienter le biologiste pour le choix du milieu de culture approprié ;
- Effectuer sur demande du clinicien sur urine non centrifugée, systématique si signe de gravité.

1.2. Matériels et Réactifs

- Kit Gram :
 - Violet de gentiane (Ce réactif colore les bactéries en gram positif) ;
 - Lugol (Il permet de mieux fixer le violet de gentiane sur la membrane cytoplasmique des bactéries gram positif) ;
 - Alcool (Il décolore les bactéries gram négatif (enlève le violet) ;
 - Fuchsine (Elle colore les bactéries gram négatif ; celles qui viennent de perdre le violet de gentiane lors de la décoloration à l'alcool).
- Eau de rinçage ; Huile à immersion ; Lame ; Microscope ; Ecouvillon ; Source de flamme.

1.3. Méthode de la coloration de Gram

- Etaler les culots urinaires sur les lames et laisser sécher ;
- Fixer les frottis à la flamme ;
- Couvrir les frottis de violet de gentiane (attendre 1 minute) ;
- Verser le violet et recouvrir les frottis de lugol (pendant 1 minute) ;
- Ensuite décolorer à l'alcool jusqu'à ce que les dernières gouttes soient incolores ;
- Couvrir les frottis de fuchsine pendant 30 secondes, rincer les frottis à l'eau de robinet et laisser séchés les lames à l'air libre [47].

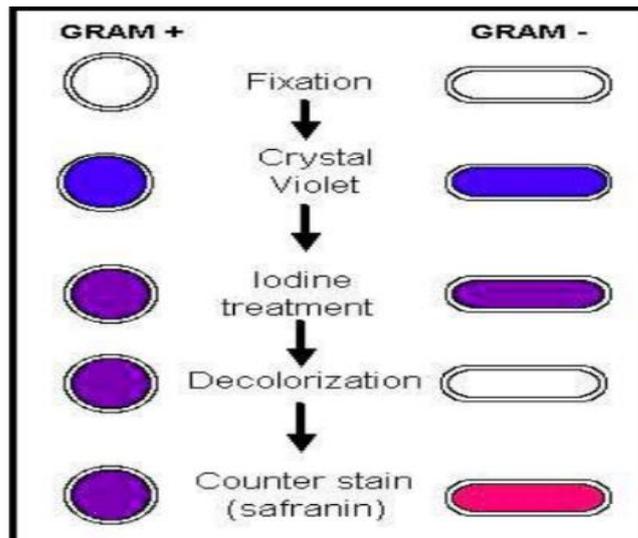


Figure 16 : Coloration de Gram [47]

2. Culture de l'urine

2.1. Procédure de culture de l'urine

Les urines sont mises en culture dans les milieux de cultures puis incubés à 37°C en aérobie, sous CO₂ ou en anaérobie en fonction des résultats de la coloration de gram, pour cela :

- Désinfecter les surfaces de travail, les matériels, les mains....
- Allumer la hotte, mettre en mode lumineux pendant 15 minutes ;
- Déposer les boites de pétri sous la hotte ;
- Ecrire sur les boites de pétri (sur le fond et non sur le couvercle) l'identifiant du patient, la date et l'analyse (ECBU) ;
- Avec un écouvillon stérile, tremper dans la solution de culture ;
- Ouvrir la boite de pétri, déposer l'écouvillon au bout d'une de pétri contenant de la gélose ;
- Etaler l'échantillon à la surface de gélose à l'aide de l'écouvillon stérile des stries de gauche à droite du début jusqu'à la fin.
- Refermer la boite de pétri et placer dans l'étuve à 37°C [41].

2.2. Limites de la procédure

- Les souillures.

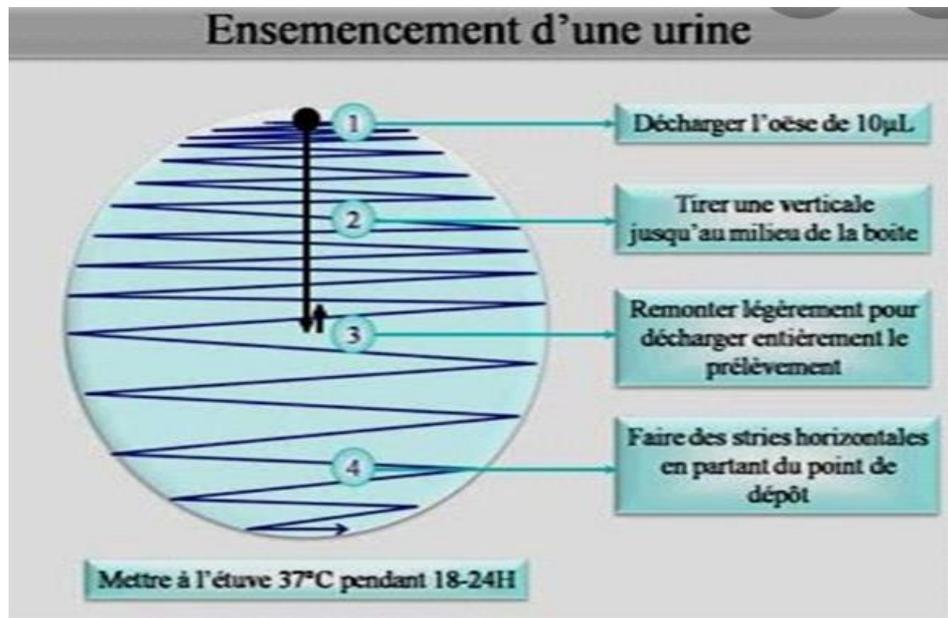


Figure 17 : Technique d'ensemencement d'une urine [41]

ANNEXE 2

1. Méthode manuelle d'identification et d'antibiogramme des bactéries

1.1. Identification avec la galerie api 20^E

1.1.1. Réactifs et matériels :

- Hotte à flux lumineux ;
- Pipette pasteur ;
- Boite à pétri ;
- Ecouvillon ;
- Etuve à 37°C
- Gant ;
- Blouse ;
- Suspension médium de 5 ml ;
- Kit réactifs (TDA, James, N1+N2, VP1+VP2) ;
- Huile de paraffine ;
- Pipette + embout ;
- Portoirs pour ampoule ;
- Catalogue analytique Api 20^E ;

1.1.2. Méthode d'identification des bactéries

- Repartir un peu d'eau dans les alvéoles du fond pour créer une atmosphère humide ;
- Incrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boite ;
- Déposer la galerie de façon stérile dans la boite d'inoculation ;
- Ouvrir une ampoule de « suspension médium » ou introduire quelques ml d'eau distillée stérile (avec une pipette Pasteur) dans un tube stérile ;
- Avec la pipette Pasteur, prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé ;
- Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu ;
- Avec la suspension bactérienne et la pipette ayant servi au prélèvement, remplir tubes et cupules des tests CIT, VP, GEL ;
- Remplir uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests ;
- Créer une anaérobiose dans les tests ; ADH ; LDC ; ODC ; URE ; H₂S ; en remplissant leurs cupules d'huile de paraffine ;

- Refermer la boîte d'incubation et la placer dans l'étuve à 35-37°C pendant 18 à 24 heures [53].

Au 3^{ème} jour ;

- Après incubation de 18-24 heures à 35-37°C, la lecture de la galerie est réalisée en se référant au tableau de lecture ;
- Noter sur la fiche des résultats toutes les réactions spontanées ;
- Si le glucose est positif, révéler les tests nécessitant l'addition de réactif ;
- Noter les résultats de la galerie et les résultats des tests complémentaires sur la fiche des résultats en se référant au tableau de lecture ;
- Avec le tableau d'identification : comparer les réactions notées sur la fiche de résultats avec celle du tableau ;
- Avec le catalogue analytique : les tests sont groupés en un groupe de 3, et une valeur (1, 2 ou 4) est indiquée pour chacun ;
- Additionner à l'intérieur de chaque groupe les nombres correspondants aux tests positifs, on obtient un nombre 7 chiffres qui sert de code d'identification [43-44].

2. Antibiogramme sur la gélose Mueller Hinton

2.1. Matériels et réactifs

- Milieu Muller Hinton ;
- Tube à hémolyse ;
- Eau physiologique ;
- Disque d'antibiotique ;
- Etuve ;
- Hotte ;
- Vortex.

2.2. Mesures de sécurité et de protections

Les précautions universelles de bonnes pratiques de laboratoire doivent être observées tout au long des différentes expériences. Tous les échantillons biologiques seront considérés comme potentiellement infectieux. Ainsi, le port des gants et des blouses est obligatoire. Après chaque expérience au laboratoire, on doit enlever les gants et se laver les mains avant de quitter le laboratoire.

2.3. Technique d'antibiogramme par la méthode disque

Après l'identification des souches bactériennes on passe à la réalisation des antibiogrammes par la méthode des disques.

- Préparer une suspension de la souche bactérienne (colonie pure + eau physiologique) puis vortexer jusqu'à l'homogénéisation totale ;
- A l'aide d'un écouvillon stérile faire des stries serrées sur toutes la gélose, ou verser 2 ml de la suspension dans le milieu Muller Hinton puis inonder toute la gélose ;
- A l'aide d'un distributeur déposer les disques d'antibiotique avec une distance de 6,35.

Exemple : Pour une boîte de 90 mm de diamètre 5 à 6 disques

Pour une boîte de pétri carrée de 120mm de diamètre 12 à 16 disques ;

- Refermer les boîtes de pétri, placer dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures.

NB : Tout le travail se fait sous une hotte ou à côté d'une flamme et les géloses doivent être séchées avant l'emploi.

ANNEXE 3

1. La méthode automatisée avec BD Phoenix M50

1.2. Matériels et réactifs

- Solution d'identification (ID)
- Solution de test susceptibilité à l'antibiotique (AST)
- Turbidimètre ;
- Solution Mc Farlan (MCF) : 0,25 ;0,5 ;1 ;2 et 5 ;
- Cassette de concentration minimale inhibitrice de gram négatif (NMIC) ;
- Cassette de concentration minimale inhibitrice de gram positif (PMIC)
- Indicateur de l'antibiogramme (AST indicator) ;
- Portoir ; Vortex ;
- Pipette de 50 µl et de 25 µl ;
- Colonies pures gram positive et ou négative.

1.3. Mesures de sécurité

Le port de gants et de blouse est obligatoire avant toutes manipulation au laboratoire.

1.4. Procédure du test

- Régler le turbidimètre avec le Mc Farlan 0,5
- Mettre des colonies pures issues des milieux de cultures dans la **solution ID** puis vortexer jusqu'à l'obtention d'une turbidimétrie de 0,5 au Mc Farlan. **Solution A**
- Ajouter une goutte d'indicateur (50µl) dans la **solution d'AST** puis le remuer.

Solution B

- Prendre 25 µl de la **solution A** et l'ajouter au contenu de la **solution B** puis le vortexer.

Solution C

- Verser la **solution A** dans le puit ID de la cassette ;
- Verser la **solution C** dans le puit AST de la cassette, puis fermer les puits ;
- Enregistrer l'échantillon dans le logiciel et sur la tablette puis introduire dans le Phoenix [54].

1.5. Limites de la procédure

Les espèces bactériennes ne faisant pas partir de la taxonomie du Phoenix AST.

SERMENT DE GALIEN

- Je jure en présence des maîtres de cette Faculté, des conseillers de l'ordre des Pharmaciens et de mes chers 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.
- Respectueux et reconnaissant envers mes maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.
- Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Je le jure !