

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHAJ-BOUIRA  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf..... /UAMOB/FSNVST/DEP.BIO/2022

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

**Domaine :** SNV      **Filière :** Biotechnologies

**Spécialité :** Biotechnologie microbienne

**Présenté par :**

*BARR Mouna & BENABDI Taous*

### *Thème*

**Efficacité des antibiogrammes standards soumis à une simulation des propriétés du site d'action de l'antibiotique : cas des infections urinaires**

**Soutenu le :** 07 / 07 / 2022

**Devant le jury composé de**

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
ARAB Amar	MCA	Univ. De Bouira	Président
BOUTHELDJA Razika	MCA	Univ. De Bouira	Examineur
RAI Abdelwahab	MCB	Univ. De Bouira	Promoteur
HAMID Sarah	Doctorante	Univ. De Bejaia	Co-promotrice
Dr.Sayeh	Doctorante	Laboratoire d'analyse médicale de Bouira	invité

*Année Universitaire : 2021/2022*

## **Remerciements**

*Ce travail est l'aboutissement d'un dur labeur et beaucoup de sacrifices, nos remerciements vont d'abord au créateur de l'univers qui nous a doté d'intelligence et nous a maintenu en santé pour mener à bien cette année d'étude.*

*Nous tenons à adresser nos vifs remerciements à notre promoteur « **M. RAI A.** » pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils qui ont contribué à alimenter notre réflexion. Permettez-nous Monsieur de vous témoigner ici notre profonde gratitude et notre respect.*

*Nos remerciements s'adressent également à notre Copromotrice « **Mme HAMID S.** » pour sa patience ainsi que son suivie tout au long de notre travail.*

*Nous tenons également à remercier l'examinatrice de notre travail, « **Mme BOUTHELJA R.** », Merci de nous avoir fait l'honneur de juger et d'examiner notre travail. Mille merci également au président du jury de notre soutenance « **M. A. Amar** » qui nous a fait l'honneur de présider ce jury.*

*Merci à tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce modeste travail.*

## ***Dédicace***

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut. Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance à ceux et celles pour qui je dédie ce mémoire...

À celle qui a constitué la première école de mon existence, la femme exemplaire, la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie, ma très précieuse et mon bonheur ; ma maman « **Khoukha** ». Vous n'avez cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, Votre patience sans fin, vos sacrifices votre compréhension, votre encouragement et vos prières sont pour moi le soutien indispensable que vous avez toujours su m'apporter. Je vous dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester votre fierté et ne jamais vous décevoir. Que Dieu te préserve des malheurs de la vie et te procure longue vie.

À mon très cher père « **Akli** », mon exemple éternel, mon soutien moral et ma source de joie et de bonheur. Aucun mot, aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, ma considération pour les sacrifices que tu m'as consenti pour mon éducation et mon bien être. Je souhaite que ce mémoire t'apporte la joie de voir aboutir tes espoirs et j'espère avoir été digne de ta confiance. Puisse Dieu te garder et te procurer santé et longue vie.

À mes chers frère « **Said, Hafid et Karim** » et mes sœurs « **Karima, Siham et Mames** », pour leur support continu et leur amour, pour l'intérêt que vous portez à ma vie que Dieu le tout puissant exhausse tous vos vœux.

À ma chère grand-mère maternelle « **Fatima** », toutes les paroles ne parviendraient jamais à exprimer tout l'amour que je te porte, ta patience, ton encouragement et tes prières ont été pour moi le gage de la réussite. À la mémoire de mes très chers grands parents « **Saïd, Ahmed et Mames** » et mon oncle « **Mohamed** », ma tante « **Taklith** » qui ont été toujours dans mon esprit et resteront à jamais gravé dans mon cœur. J'aurais aimé que vous soyez avec moi comme vous l'avez toujours été. Je vous dédie aujourd'hui ma réussite méritée grâce à vos prières et vos sacrifices. Je ne vous oublierai jamais, Que Dieu, le miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis.

À toute ma famille : mes oncles, mes tantes, mes chères cousines et cousins...  
Puisse ce travail être le témoignage de ma profonde affection, mon estime et mon attachement. Que Dieu vous comble de bonheur, de santé, de succès et de prospérité dans votre vie et vous protège. Pour mes très chers amis : **Madina, Asma, Lylia et Dounia**, je ne vous remercierai jamais assez pour vos encouragements, pour les jours de nos fous rires, nos déceptions et nos éclats de joie. A notre belle amitié.

À mon Binôme, ma sœur et ma meilleure « **Taous** » la source d'amitié, pour son amour, son soutien, sa présence et son écoute. Merci d'être là pour moi quand les moments étaient difficiles et pour tous ces bons moments passés avec toi, ça restera gravé dans mon cœur à jamais.

Mouna.

Je dédie ce modeste travail, qui n'a pas pu être accompli que grâce à Dieu, à ma très chère mère qui m'a donné la vie, Source d'amour et de tendresse, celle qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, celle qui m'a toujours soutenue et encouragé dans les moments difficiles pour arriver là où je suis.

A mon père qui m'a soutenu et veillé tout au long de ma vie à m'encourager.

A mon cher neveu IBRAHIM KHALIL.

A mes chères sœurs Amira et Sara, pour toute l'affection qu'elles m'ont donné et pour leurs précieux encouragements

A mes très chères amies, particulièrement Sara, Chahrazed, Souhila, Donia, Soumia, Mohamed et Nour El Houda et tous ceux qui était là pour ma réussite et mon bonheur.

Taous.

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Propriétés physicochimiques de l'urine .....	5
<b>Tableau 2.</b> Principaux constituants de l'urine.....	5
<b>Tableau 3.</b> Facteurs de risques liés aux infections urinaires.....	6
<b>Tableau 4.</b> Prévalence des IU selon les espèces .....	10
<b>Tableau 5.</b> Les autres antibiotiques agissant sur la paroi bactérienne .....	14
<b>Tableau 6.</b> Liste des antibiotiques utilisés. ....	20
<b>Tableau 7.</b> Catégorisation des bactéries selon les valeurs critiques .....	30
<b>Tableau 8.</b> pH et Conductivités électriques des échantillons d'urine.....	31
<b>Tableau 9.</b> pH et Conductivité électrique du milieu MH standard. ....	31
<b>Tableau 10.</b> Milieux pour les antibiogrammes de la souche <i>E. coli</i> .....	32
<b>Tableau 11.</b> Résultats des antibiogrammes de la souche <i>E. coli</i> .....	33
<b>Tableau 12.</b> Milieux pour les antibiogrammes de la souche <i>K. pneumoniae</i> 1 .....	34
<b>Tableau 13.</b> Résultats des antibiogrammes de la souche <i>K. pneumoniae</i> 1 .....	34
<b>Tableau 14.</b> Milieux pour les antibiogrammes de la souche <i>K. pneumoniae</i> 2 .....	35
<b>Tableau 15.</b> Résultats des antibiogrammes de la souche <i>K. pneumoniae</i> 2.....	36
<b>Tableau 16.</b> Effets du PH sur l'activité de quelques antibiotiques .....	44

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Anatomie de l'appareil urinaire .....	3
<b>Figure 2.</b> Cibles des principales familles d'antibiotiques .....	13
<b>Figure 3.</b> Laboratoire d'analyse médicale, Dr. Sayah .....	19
<b>Figure 4.</b> Antibiotiques utilisés .....	20
<b>Figure 5.</b> Quelques échantillons d'urines prélevés au laboratoire Sayah.....	22
<b>Figure 6.</b> Examen cytologique des urines. ....	23
<b>Figure 7.</b> Chimie des urines par la bandelette urinaire.....	24
<b>Figure 8.</b> Ensemencement des échantillons d'urine sur le milieu GN .....	25
<b>Figure 9.</b> Incubation des boîtes ensemencées. ....	25
<b>Figure 10.</b> Mesure du pH de l'urine .....	26
<b>Figure 11.</b> Mesure de la conductivité électrique de l'urine.....	27
<b>Figure 12.</b> Préparation de la suspension bactérienne .....	28
<b>Figure 13.</b> Ensemencement des souches à tester par écouvillonnage .....	29
<b>Figure 14.</b> Dépôt des disques d'antibiotiques à tester.....	29
<b>Figure 15.</b> Antibiogrammes réalisés pour la souche <i>E. coli</i> .....	33
<b>Figure 16.</b> Antibiogrammes réalisés pour la souche <i>K. pneumoniae</i> 1.....	35
<b>Figure 17.</b> Résultats des antibiogrammes de la souche <i>K. pneumoniae</i> 2.....	37
<b>Figure 18.</b> Antibiogrammes réalisés pour la souche <i>K. pneumoniae</i> 2.....	37



## Liste des abréviations

**AFSSAPS** : Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé.

**ATCC** : American Type Culture Collection

**BLSE** : Bêta-Lactamases à spectre Etendu.

**C3G** : céphalosporines de troisième génération.

**CMI** : Concentration minimale inhibitrice.

**Max D** : Diamètre critique haut.

**MBC** : Concentration minimale bactérienne.

**MBEC** : Concentration minimales d'éradication de biofilm.

**Min d** : Diamètre critique bas.

**PA** : Prostatite aigue.

**PCR** : *Polymerase Chain Reaction*.

**PLP** : Protéine de Liaison aux Pénicilline.

**RSA** : Relations structure –activité.



# Sommaire

**Remerciements**

**Dédicaces**

**Liste des tableaux**

**Liste des Figures**

**Liste des abréviations**

**Introduction .....1**

## **Chapitre I. Synthèse bibliographique**

1. L'appareil urinaire .....	3
1.1. Les reins.....	3
1.2. Les uretères.....	4
1.3. La vessie .....	4
1.4. L'urètre.....	4
1.5. L'urine .....	4
2. Les infections de l'appareil urinaire .....	6
2.1. La voie ascendante.....	6
2.2. La voie hématogène .....	6
2.3. Facteurs de risque .....	6
3. Les différents types d'infections urinaires.....	7
3.1. L'urétrite.....	8
3.2. La cystite.....	8
3.3. Pyélonéphrite aigue .....	8
3.4. Bactériurie asymptomatique .....	9
3.5. Prostatite .....	9
3.5.1. Prostatite aigue .....	9

## Sommaire

3.5.2. Prostatite chronique.....	9
4. Les infections urinaires d'origine bactérienne .....	10
4.1. Prévalence.....	10
4.2. Facteurs de virulences .....	11
5. Antibiotiques et problèmes thérapeutiques des infections urinaires.....	11
5.1. Les antibiotiques.....	11
5.1.1. Définition .....	12
5.1.2. Mode d'action .....	12
5.1.3. Classification des antibiotiques.....	13
5.2. Problèmes thérapeutiques des infections urinaires.....	16

## Chapitre II. Matériel et Méthodes

1. Période et lieu du stage .....	19
2. Echantillons biologiques.....	19
3. Matériel.....	20
4. Méthodes.....	21
4.1. Prélèvement des urines .....	21
4.2. Condition de transport et de conservation .....	21
4.3. Examen cyto bactériologique des urines (ECBU).....	21
4.3.1. Examen cytologique.....	22
4.3.2. Examen bactériologique.....	24
4.4. Paramètres physico-chimiques des urines .....	26
4.5. Etude du comportement bactérien vis-à-vis des antibiotiques .....	27
4.5.1. Protocole standard d'un antibiogramme .....	27
4.5.2. Antibiogrammes simulant l'environnement urinaire .....	30
4.6. Analyses statistiques.....	30

## Sommaire

### Chapitre III. Résultats

1. pH et Conductivité électriques des échantillons .....	31
2. Identité des souches isolées .....	32
3. Milieux de culture préparés et résultats des antibiogrammes .....	32
3.1. Souche isolée de l'échantillon Uri 01 ( <i>E. coli</i> ).....	32
3.1.1. Propriétés des milieux utilisés.....	32
3.1.2. Résultats des antibiogrammes .....	33
3.2. Souche isolée de l'échantillon Uri 02 ( <i>K. pneumoniae</i> 1).....	34
3.2.1. Propriétés des milieux utilisés.....	34
3.2.2. Résultats des antibiogrammes .....	34
3.3. Souche isolée de l'échantillon Uri 03 ( <i>K. pneumoniae</i> 2).....	35
3.3.1. Propriétés des milieux utilisés.....	35
3.3.2. Résultats des antibiogrammes .....	36

### Chapitre IV. Discussion

Discussion .....	38
Conclusion.....	46

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

# **Introduction**

## **Introduction**

Depuis l'introduction de la pénicilline au cours des années quarante du 20<sup>ème</sup> siècle, un grand nombre d'agents antibactériens ont été développés et commercialisés à des fins thérapeutiques, réduisant ainsi la morbidité et la mortalité humaine associées aux infections bactériennes (**Muylaert et Mainil, 2012**). En particulier, les infections urinaires sont un motif de consultation assez fréquent en médecine et constituent un vrai problème de santé publique, ces infections sont dues à l'agression d'un tissu de l'arbre urinaire par un ou plusieurs microorganismes, générant une réponse inflammatoire et des symptômes de nature et d'intensité variables selon le type de l'agent et la réponse de l'hôte (**Bouzenoune et al., 2008**).

L'infection urinaire (IU) est définie par la présence de germes pathogènes dans l'urine. Elle est localisée dans les voies urinaires basses (cystite, urétrite, prostatite, épидидymite) et/ou hautes (pyélonéphrite ou pyélite) (**François et al., 2013**). Les IU sont regroupées en : (1) infections urinaires simples chez des malades sans facteurs de risque et (2) compliqués survenant chez des malades présentant au moins un facteur de risque connu pour une IU (**Vorkafer, 2011**).

Bien que les IU puissent être suspectées cliniquement à partir de l'état du malade et de certains tests simples, tels que l'aspect macroscopique des urines et les bandelettes urinaires, la confirmation de l'étiologie bactérienne d'une infection urinaire ne peut avoir lieu que par l'examen cyto bactériologique des urines (ECBU) (**Hawa, 2006**). Ce dernier est l'examen le plus souvent demandé au laboratoire de bactériologie, dont la pratique permet de déterminer le germe responsable d'une IU et d'attribuer au malade le traitement antibiotique adéquat à travers la réalisation d'un antibiogramme. Ce dernier est un test dans lequel une bactérie est affrontée à un ensemble d'antibiotiques afin d'en choisir le plus efficace comme traitement (**Frédéric et al., 2008**).

Durant ces 60 dernières années, l'utilisation des antibiotiques a représenté une révolution de la médecine moderne. En effet, les infections bactériennes étaient la première cause de mortalité, en particulier chez les enfants et les personnes âgées. Cependant, l'introduction des antibiotiques, des molécules souvent produites par le métabolisme secondaire de certains micro-organismes, bactéries ou champignons, a permis de réduire la mortalité dues aux infections bactériennes à l'échelle planétaire. Cependant, l'utilisation

accrue des antibiotiques a abouti, de plus en plus, à l'apparition de bactéries résistantes et difficile à traiter (**Stéphanie, 2009**).

En fait, la plupart des infections sont traitées efficacement de façon probabiliste par le médecin, sans faire recours à l'antibiogramme. Néanmoins, le traitement de certaines infections nécessite le recours un antibiogramme permettant de donner la liste des antibiotiques efficaces vis-à-vis de la bactérie en cause. Le traitement reposera donc sur les résultats d'un travail expérimentale dont les conditions sont prédéfinies par un protocole standard. Cependant, les résultats d'un antibiogramme ne garantissent pas toujours un succès thérapeutique de l'infection. Ainsi, un antibiotique qui s'avère efficace durant un antibiogramme ne l'est pas toujours chez l'hôte (**François et Eterne, 2015**).

Ce travail a pour objectifs d'isolement et d'identification de quelques bactéries responsables d'infections urinaires ( *E.Coli et Kleibseilla pneumonia*) ainsi que la détermination de leurs profils de résistance/sensibilité à certains antibiotiques. Par la suite, l'efficacité de ces mêmes antibiotiques est réévaluée sous des conditions ressemblant à celle de l'environnement urinaire à partir duquel les bactéries ont été isolées (pH et salinité). En fait, ce travail est une suite d'un travail précédemment réalisé sous forme de projets de fin d'étude (**Hayet et Amina, 2019 ; Smaili et Saadaoui, 2020**), dont l'objectif était d'étudier le comportement de quelques souches bactériennes de référence vis-à-vis des antibiotiques sous conditions non orthodoxes pour un antibiogramme standard et de discuter les travaux scientifiques ayant abordés le même problème.

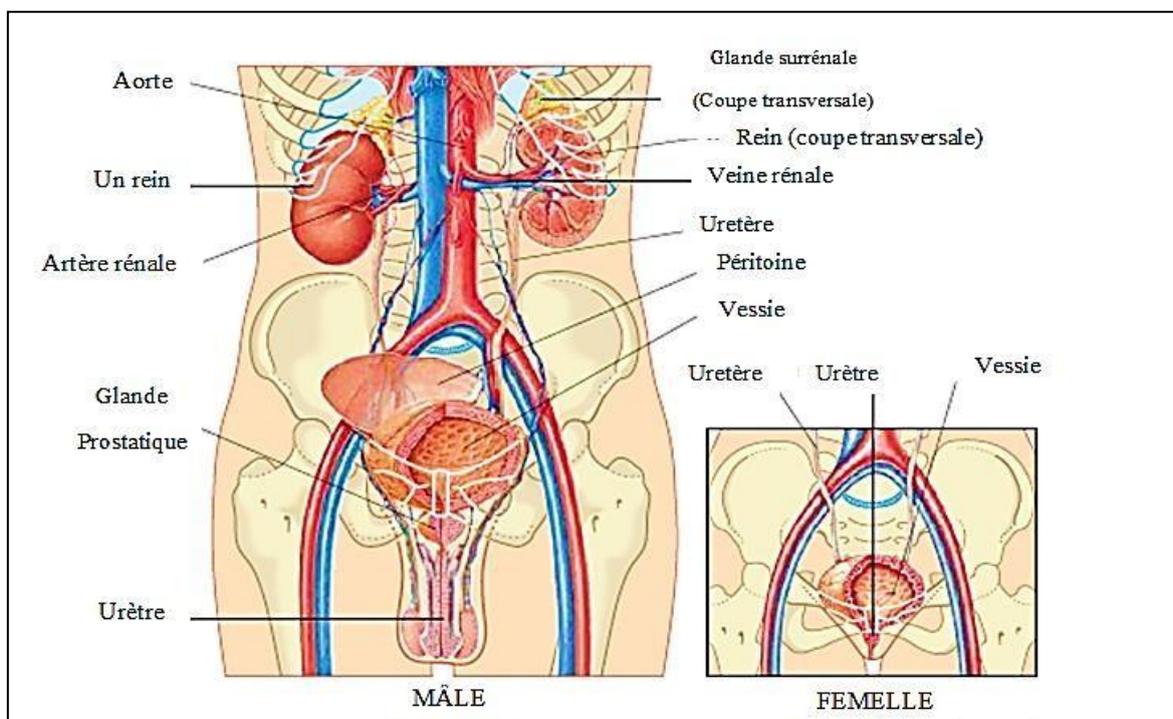
# **Chapitre I**

## **Synthèse bibliographique**

Les infections urinaires (IU) regroupent un ensemble hétérogène d'infections de l'un des constituants de l'arbre urinaire ou de ses annexes (Lobel et Soussy, 2007). Elles sont caractérisées par une multiplication des micro-organismes au sein du système urinaire (bactériurie), s'accompagnant d'une réaction inflammatoire (Pilly, 2018). En pratique bactériologique, on admet que la bactériurie est positive quand elle est supérieure ou égale  $10^5$  unités formant colonies (bactéries viables et dénombrables) par millilitre du liquide analysé ( $>10^5$  UFC/mL) (Lobel et Soussy, 2007).

## 1. L'appareil urinaire

On entend par appareil urinaire, l'ensemble des organes et conduits s'étendant du rein jusqu'au méat urétral (Shapiro, 1992). La figure 02 résume l'anatomie de l'appareil urinaire chez l'Homme.



**Figure 1.** Anatomie de l'appareil urinaire (Burns et Hamblin, 2007).

L'appareil urinaire comprend donc :

### 1.1. Les reins

Le rein est un organe pair qui sécrète l'urine. Il est situé de chaque côté de la colonne vertébrale dans la région lombaire, en arrière du péritoine. Les reins sécrètent l'urine et exerce une activité de glande endocrine, avec production de substances vasopressives comme la rénine (Quevauvilliers *et al.*, 2007).

## 1.2. Les uretères

Les uretères relient les bassinets à la vessie, leur rôle est d'acheminer l'urine dès sa formation dans les bassinets jusqu'à la vessie. Cette fonction est facilitée par la structure de leur paroi qui est composée de trois couches tissulaires superposées : une couche interne, une couche musculaire intermédiaire (la muqueuse) et une couche externe constituée d'un tissu conjonctif fibreux (**Anonyme, 2006**).

## 1.3. La vessie

Réservoir musculaire dans lequel l'urine, qui s'écoule par les uretères, s'accumule dans l'intervalle des mictions ; elle s'évacue par l'urètre. La vessie est située dans la cavité pelvienne, en arrière du pubis (**Quevauvilliers et al., 2007**).

## 1.4. L'urètre

Une petite structure tubulaire qui draine l'urine de la vessie. Chez les femmes, il mesure environ 3 cm de long et se trouve directement derrière la symphyse pubienne, en avant du vagin. Chez les hommes, il mesure environ 20 cm de long et commence au niveau de la vessie, passe par le centre de la prostate, passe entre deux feuilles de tissu reliant les os pubiens et passe finalement à travers le méat urinaire du pénis (**Marie, 2013**).

## 1.5. L'urine

Le terme « urine » est un mot issu du latin : *urina* et du grec : *ouron*. C'est un liquide excrémental, sécrété par les reins et excrété par les voies urinaires par filtration du sang. L'urine contient en poids, environ 95 % d'eau et 5 % de composants organiques et minéraux (**Quevauvilliers et al., 2009**). Les tableaux 1 et 2 récapitulent les principales propriétés physicochimiques de l'urine humaine et sa composition. Il est important de mentionner que ces propriétés varient en fonction du régime alimentaire, de la nature de la flore normale des urines, de l'âge et du sexe de l'individu etc.

**Tableau 1.** Propriétés physicochimiques de l'urine

Couleur	L'urine fraîchement émise est claire. Sa couleur jaune est due à l'urochrome, un pigment résultant de bilirubine, résultant de la dégradation de l'hémoglobine dans les globules rouges (érythrocytes) <b>(Elaine et Marieb, 2010).</b>
Odeur	L'urine fraîche est inodore ou légèrement aromatique, les bactéries qui contaminent l'urine peuvent provoquer la transformation des substances azotées, provoquant une odeur d'ammoniac <b>(Elaine et Marieb, 2010).</b>
pH	Ordinairement, le pH de l'urine est d'environ 6 mais il peut varier entre 4.5 et 8.0 selon le métabolisme et alimentation <b>(Elaine et Marieb, 2010).</b>
Turbidité	Fraîchement émise, l'urine normale n'est pas turbide, mais elle devient trouble au bout d'un moment <b>(Louis et Michel, 2009).</b>

**Tableau 2.** Principaux constituants de l'urine **(Hallouët et Borry, 2009)**

Constituants	Valeur moyennes	
Elément minéraux	- Sodium - Potassium - Chlore - Phosphate - L'eau	- 100 à 300 mmol/24h ; - 50 à 100 mmol/24h ; - 80 à 270 mmol/24h ; - 16 à 48 mmol/24h ; - 96%
Elément organiques	- Acide urique - Urée - Créatinine F - Créatinine H	- 2.4 à 7.5 mmol/24h ; - 335 à 500 mmol/24h ; - 9 à 12 mmol/24h ; - 10 à 22 mmol/24h ;
Constituants chimique anormaux	- Glucose - Lipide	- 0 ; - 0 ;

## 2. Les infections de l'appareil urinaire

### 2.1. La voie ascendante

La voie ascendante est la voie de contamination la plus fréquente (97% des cas). L'infection se fait le plus souvent par l'urètre et la prolifération bactérienne est favorisée par (Caron, 2003) :

- La stase urinaire : miction peu fréquente ou incomplète (résidus post-mictionnel) ;
- Un corps étranger calcul ou sonde vésicale ;
- La présence de glucose dans l'urine ;
- La présence de facteurs de virulence spécifiques de bactéries uropathogènes.

### 2.2. La voie hématogène

La voie hématogène correspond à une septicémie à localisation rénale. Elle est très rare, au maximum 3% des cas (Bruyere *et al.*, 2008). Les germes de la voie hématogène sont donc le plus souvent spécifiques tel que *Staphylocoque aureus*, *Candida*, *Mycobacterium tuberculosis* etc. (Vorkauffer, 2011).

### 2.3. Facteurs de risque

Un facteur de risque lié à une infection est un facteur favorisant son développement chez l'individu concerné. L'ensemble des facteurs de risques favorisant les infections urinaires (IU) est résumé dans le tableau 3.

**Tableau 3.** Facteurs de risques liés aux infections urinaires (Lobel et Soussy, 2007).

<b>Age avancé</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• L'incontinence, les dysfonctionnements mictionnelles, le sondage urinaire, l'affaiblissement du système immunitaire.</li> </ul>
<b>Sexe</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• L'urètre chez le sexe féminin est court (3-4 centimètres) et topographiquement proche du vagin et du périnée qui sont régulièrement colonisée par des bactéries d'origines fécales par contre l'urètre masculin est long de 20 centimètres et</li> </ul>

---

	est moins exposé aux infections.
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Grossesse et ménopause.</li> </ul>
<b>Facteurs anatomiques</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Anomalies génito-urinaires fonctionnelles (résidus post mictionnel, Incontinence...) et anatomiques (prolapsus) liées à l'âge favorisant les infections urinaires des femmes ménopausées ;</li> <li>• Rétrécissement et calculs urétraux (chez l'homme surtout) ;</li> <li>• Colonisation du gland et du prépuce chez les hommes non circoncis ;</li> <li>• Les anomalies congénitales qui sont le premier facteur de risque des infections urinaires ;</li> </ul>
<b>Facteurs comportementaux</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rappports sexuels fréquents et récents,</li> <li>• Utilisation de diaphragme vaginal et de spermicides à but contraceptif ;</li> <li>• Rappports anaux ;</li> <li>• Mictions différées après rapports sexuels ;</li> <li>• Prise récente d'antibiotique, quel que soit le motif de prescription ;</li> </ul>

---

### 3. Les différents types d'infections urinaires

Selon **Audenet et Bruyère (2015)**, on distingue :

- Les IU simples ; survenant chez des patients sans facteur de risque de complication ;
- Les IU à risque de complication ; présentant au moins un des facteurs de risque précédemment cités.

Selon l'**AFSSAPS (2008)**, Il existe trois types d'IU selon l'organe touché ; on parle alors d'urétrite, de cystite et de pyélonéphrite lorsque l'organe touché est l'urètre, la vessie et le rein, respectivement.

### 3.1. L'urétrite

C'est une infection touchant uniquement l'urètre. Elle entraîne une difficulté à uriner (dysurie), une douleur à l'écoulement de l'urine, et généralement un écoulement urétral. Chez l'homme, l'urétrite non traitée correctement expose au risque ultérieur de rétrécissement de l'urètre (**Himi, 2016**).

### 3.2. La cystite

Résulte d'une réponse inflammatoire à l'adhésion des bactéries à la surface de la muqueuse de la vessie ou de l'urètre (**Pilly, 2018**). Cela commence par une contamination bactérienne de la région vaginale et péri urétrale qui, selon **Gerber (2003)** est favorisée par :

- Une prédisposition génétique, en relation complexe avec les groupes sanguins des femmes ;
- L'emploi de spermicides et de diaphragmes comme contraceptifs ;
- Le manque d'œstrogènes.

L'ascension des bactéries de l'urètre jusqu'à la vessie (infection ascendante) est liée à des facteurs mécaniques (surtout l'activité sexuelle) et des facteurs bactériens tels que la motilité et l'adhésion des bactéries (**Gerber, 2003**)

Symptomatologie (**Anglaret et Mortier, 2002**) :

- Pollakiurie : mictions fréquentes a peu abondantes, avec parfois impériosité ;
- Brulures mictionnelles ;
- Urines troubles, parfois hématurie macroscopique ;
- Une cystite peut être totalement asymptomatique, révélée par l'examen microscopique des urines (cas fréquent pendant la grossesse).

### 3.3. Pyélonéphrite aigue

C'est un état inflammatoire transitoire d'origine infectieux, atteignant le rein et sa voie excrétrice responsable de l'œdème et d'un afflux leucocytaire (**Pilly, 2018**). Elle peut ou non être précédée d'une cystite et elle est considérée comme simple, sans obstruction et

sans hypotension, lorsqu'elle est unilatérale chez un patient en bonne santé (**Emonet et al., 2011**).

Par contre, une pyélonéphrite compliquée est une infection bilatérale, souvent associée à un obstacle sur les voies urinaires (calcul ou malformation) ou à la présence d'un abcès, de l'aire lors d'imagerie (pyélonéphrite emphysémateuse). Elle est souvent associée à une immunosuppression (**Emonet et al., 2011**).

Symptomatologie (**Anglaret et Mortier, 2002**) :

- Un début brutal ;
- Une fièvre élevée supérieure à 38,8 avec frisson ;
- Une douleur lombaire le plus souvent unilatérale localisée ;
- Des signes inconstants de cystite.

### **3.4. Bactériurie asymptomatique**

En absence des symptômes cliniques, une croissance bactérienne au niveau urinaire résulte généralement d'une colonisation bactérienne. Cette situation est fréquemment rencontrée chez les personnes âgées, les patients atteints de diabète et ceux ayant des cathéters urinaires (**Thirion et Williamson, 2003**).

### **3.5. Prostatite**

#### **3.5.1. Prostatite aigue**

La prostatite aigue (PA) est une inflammation d'origine bactérienne de la glande prostatique (**Lobel et Soussy, 2007**). Les symptômes apparaissent brusquement avec une fièvre à 40 °C, accompagnée de frissons, d'un malaise général d'allure grippale, de brûlures urinaires et d'une émission d'urines purulentes (**Meyrier, 2003**).

#### **3.5.2. Prostatite chronique**

Il s'agit d'une entité difficile à diagnostiquer, les risques principaux de l'échec thérapeutique de la PA sont les récurrences et le passage à la chronicité. Cette évolution vers la prostatite chronique bactérienne s'explique par la formation de « biofilms bactériens » (**Lobel et Soussy, 2007**).

#### 4. Les infections urinaires d'origine bactérienne

Les infections urinaires d'origine bactérienne constituent la principale cause d'infections urinaires. Les espèces incriminées varient en fonction de l'âge, le sexe et l'état de santé des personnes atteintes.

##### 4.1. Prévalence

La flore normale de l'urètre distal est composée de staphylocoques à coagulase négatif, *Streptococcus viridans* non hémolytiques, de lactobacilles, de corynébactéries, de *Neisseria* spp. et d'autres bactéries non pathogènes (Léone *et al.*, 2000). Les PH extrêmes, l'hypertonie de l'urée et la présence de résidus acides limitent la croissance bactérienne (Léone *et al.*, 2000).

L'infection urinaire fait suite à une colonisation de l'urètre par la flore rectale ou vaginale (Emonet *et al.*, 2011). Lors de cystite simple, *Escherichia coli* est l'agent responsable de la plupart des IU (Thirion et Williamson, 2003). Les IU compliquées sont causées souvent par *Proteus* spp., *Klebsiella* spp., *Morganella* spp., *Enterococcus* spp. et parfois par *Pseudomonas aeruginosa* (Emonet *et al.*, 2011). Le tableau ci-dessous résume la répartition des bactéries responsables d'IU selon le type de ces dernières :

**Tableau 4.** Prévalence des IU selon les espèces (Mouton *et al.*, 2000).

Type d'infection	Espèces bactériennes habituelle
Cystite simple	<i>Escherichia coli</i> (80%) ; <i>Proteus mirabilis</i> ; Autres bacilles à gram négatif ( <i>Klebsiella</i> ...) ; <i>Entérocoques</i> ; <i>Staphylococcus aureus</i> ; <i>Staphylocoques</i> à coagulase négative.
Cystite récidivante	<i>Proteus mirabilis</i> (lithiase) ; Autres bacilles gram négatif.
Infection urinaire compliquée communautaires (pyélonéphrite...)	<i>E. coli</i> ; Autres bacilles à gram négatif.

---

	<i>Klebsiella</i> ;
Infection urinaires compliquées	<i>Enterobacter</i> ;
nosocomiales (après investigation,	<i>Serratia</i> ;
chirurgie urologique, cathétérisme	<i>Proteus</i> indole positif ;
vésicale prolongé...)	<i>Providencia</i> ;
	<i>Citrobacter</i> ;
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> .

---

## 4.2. Facteurs de virulences

La virulence d'une bactérie au niveau urinaire est principalement déterminée par la présence de facteurs d'adhérence, la majorité des *E. coli* pathogènes ont la capacité de se lier aux récepteurs des cellules épithéliales à l'aide d'organelles filamenteuses que l'on retrouve à leur surface (**Thirion et Williamson, 2003**).

Un autre facteur de virulence bactérienne est la capacité des bactéries de se multiplier dans l'urine (synthèse d'acides aminés bactériens, enzymes, protéines et endotoxines habituellement absents dans l'urine), et leur capacité d'adaptation aux facteurs urinaires inhibant la prolifération bactérienne (osmolarité, acides organiques, anticorps produits localement...) (**Gerber, 2003**). Il existe aussi d'autres facteurs, telle leur capacité de se mouvoir pour progresser vers la vessie à partir de l'urètre. Le développement des connaissances sur les facteurs de virulence pourra mener possiblement à l'optimisation des outils thérapeutiques et expliquer la réussite ou l'échec de ceux déjà existants (**Thirion et Williamson, 2003**).

## 5. Antibiotiques et problèmes thérapeutiques des infections urinaires

### 5.1. Les antibiotiques

Le terme « antibiotique », dérivé d'antibiose, a été utilisé pour la première fois par Vuillemin en 1889 pour désigner le phénomène d'antagonisme (**Asselineau et Zalta, 1973**). En 1941, ce même terme a été proposé pour désigner toute substance produite par un microorganisme et ayant un pouvoir inhibiteur « **effet bactériostatique** » et/ou destructeur « **effet bactéricide** » d'autres microorganismes (**Larpen et Sanglier, 1989**). D'autres observations de ces phénomènes d'antibiose ont été faites avant l'année 1929, date capitale de l'histoire des antibiotiques quand Alexander Fleming découvrit l'activité

antibactérienne du champignon *penicillium notatum*. Il suggéra que cette moisissure synthétise une substance antibactérienne qu'il purifia et appela par la suite : **Pénicilline** (Asselineau et Zalta, 1973 ; Taright, 2006).

### 5.1.1. Définition

On appelle « antibiotique » toute substance d'origine biologique synthétisée par un organisme vivant (champignon ou bactérie) ou substance chimique synthétique, ou semi-synthétique obtenue par modification chimique d'une molécule naturelle possédant les caractéristiques suivantes (Rahal, 2017) :

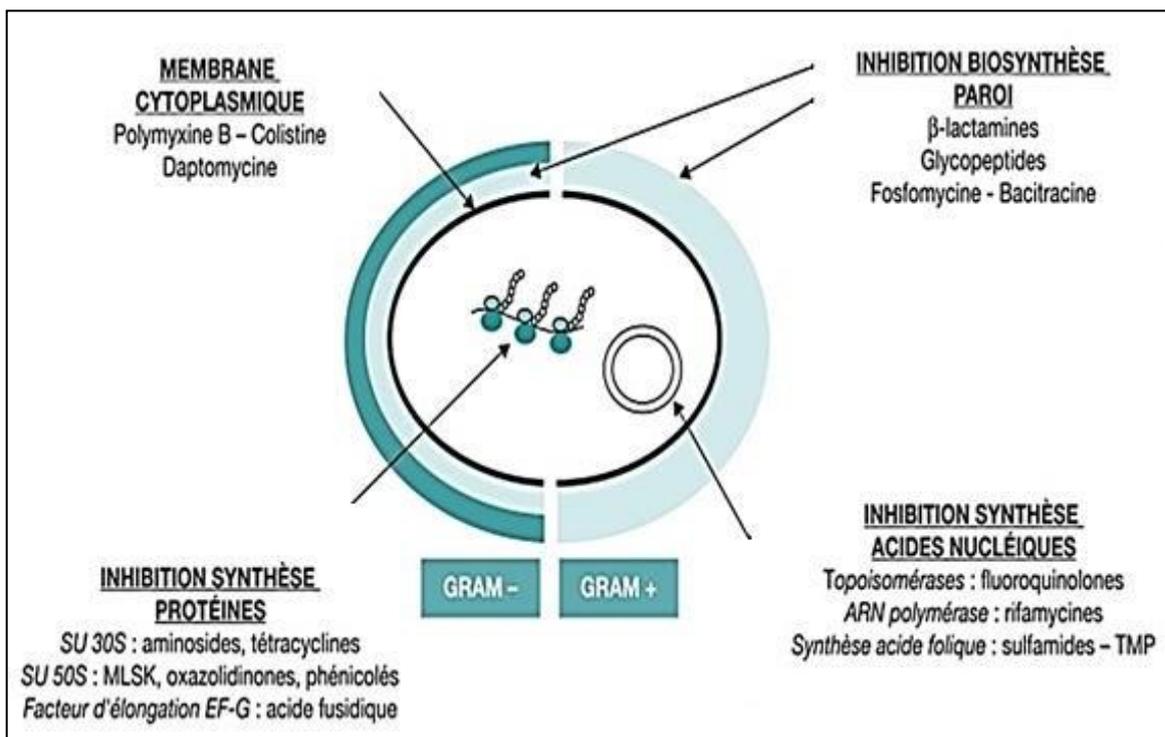
- Activité antibactérienne ;
- Toxicité sélective ;
- Activité en milieu organique ;
- Bonne absorption et bonne diffusion dans l'organisme.

### 5.1.2. Mode d'action

Les antibiotiques agissent essentiellement par inhibition de réactions de synthèse chez la cible (Larpent et Sanglier, 1989). Ils se fixent sur des sites précis ou cibles moléculaires de la cellule bactérienne, ce qui entraîne la perturbation de diverses réactions métaboliques de cette dernière (Larpent et Sanglier, 1989).

Cinq cibles sont distinguées (Gaudy et Buxeraud, 2005) :

- La paroi bactérienne ;
- La membrane plasmique ;
- Les ribosomes ;
- L'ADN ;
- L'ARN.



**Figure 2.** Cibles des principales familles d'antibiotiques (Demoré *et al.*, 2016).

### 5.1.3. Classification des antibiotiques

Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères : famille chimique, origine, mode d'action et cibles (Larpent et Sanglier, 1989).

Les principales familles d'antibiotiques sont classées comme suit :

#### a. Antibiotiques ciblant la paroi bactérienne

##### ❖ Les bêta-lactamines

Les bêta-lactamines se fixent sur les protéines spécifiques de la paroi de la cible (Protéine de Liaison aux Pénicilline : PLP) et inhibent la dernière étape de synthèse du peptidoglycane, provoquant ainsi un effet bactériostatique. L'effet bactéricide des bêtalactamines est dû à leur capacité à provoquer une surexpression des enzymes lytiques : glycosidases, amidases et peptidases impliquées dans l'assemblage de la structure de la cible, entraînant une destruction de la paroi bactérienne et donc, une lyse cellulaire (Demoré *et al.*, 2016).

Le nom bêtalactamine est lié à la présence d'une structure commune (un noyau bêta-lactame) chez tous les membres de cette famille d'antibiotiques. Il existe quatre sous-groupes de cette catégorie chimique (Patrik *et al.*, 2007) :

- Les Pénicillines ;
- Les céphalosporines ;
- Les carbapénèmes ;
- Les monobactames.

Les bêta-lactamines sont parfois associées à des inhibiteurs de bêta-lactamase comme l'acide clavulanique. Ces derniers n'ont aucune activité antibactérienne. Leur seul objet est d'empêcher l'inactivation des bêta-lactamines par les bêta-lactamases de la bactérie cible (**Patrik *et al.*, 2007**).

#### ❖ Autres

Les autres antibiotiques agissant sur la paroi bactérienne sont résumés dans le tableau suivant (**Nauciel et Vildé, 2005**) :

**Tableau 5.** Les autres antibiotiques agissant sur la paroi bactérienne.

<b>Famille</b>	<b>Exemple d'antibiotiques</b>	<b>Mode d'action</b>
<b>Glycopeptides</b>	Vancomycine Teicoplanine	Ils bloquent la polymérisation du peptidoglycane en se fixant sur la partie DAla-D-Ala terminale des peptides impliqués dans la phase de polymérisation du peptidoglycane
<b>Non classé</b>	Fosfomycine	Elle se fixe sur une enzyme impliquée dans la formation de l'acide Nacétylmuramique qui est l'un des précurseurs du peptidoglycane.

#### *b. Antibiotiques ciblant la membrane plasmique*

Ces antibiotiques ont la particularité de se fixées aux phospholipides de membrane cytoplasmique de la bactérie, et crée une désorganisation membranaire ce qui traduit par une fuite des constituants cytoplasmiques qui entraîne la mort cellulaire comme la Polymyxine (**Larpen et Sanglier, 1989**). Cette action s'effectue sur les bactéries métaboliquement actives que celle au repos (**Mazri, 2015**).

c. *Antibiotiques agissant sur la synthèse des protéines :*

Ces antibiotiques qui ont pour cible les ribosomes interfèrent avec la synthèse protéique en induisant des erreurs de synthèse ou en inhibant cette synthèse. La cellule bactérienne est ainsi dans une incapacité de synthétiser des protéines qui lui sont vitales (**Patrik et al., 2007**).

❖ **Les tétracyclines :**

Sont des inhibiteurs de traduction, ils vont se lier de façon irréversible sur un site de forte affinité la sous unité 30S du ribosome, ainsi ils vont empêcher la liaison de l'ARN de transfert bactérien a son site accepteur donc il aura blocage d'élongation de la chaîne peptidique (**Guyen et Baumard, 2012**).

Ce groupe contient (**Patrik et al., 2007**) :

- L'oxytétracycline ;
- La doxycycline ;
- La minocycline ;
- La chlorotétracycline ;
- La tétracycline de base etc.

❖ **Les aminosides**

Ces antibiotiques empêchent les cellules bactériennes à produire des protéines qui fonctionnent correctement (leur cible principale le ribosome), la présence des protéines malformées est mortelle pour les cellules bactériennes (**Patrik et al., 2007**).

Selon la même référence, ce groupe comprend :

- La streptomycine ;
- La gentamicine ;
- La kanamycine etc.

❖ **Les macrolides :**

Les macrolides agissent en se fixant sur la sous unité 50s du ribosome et bloquent l'assemblage du complexe ribosomique de la synthèse protéique chez la bactérie cible (effet bactériostatique) (**Yala et al., 2001**).

Les membres de ce groupe comprennent (**Patrik et al., 2007**) :

- L'érythromycine ;
- La clarithromycine ;
- L'azithromycine ;
- La josamycine ;
- La spiramycine etc.

#### ❖ Les Phénicolés

Les phénicolés se fixent sur la sous unité 50S du ribosome et empêchent la liaison du complexe aminoacyl-ARNt à son site fixateur et donc la réaction de transpeptidation (**Demoré et al, 2016**).

##### *d. Les antibiotiques ciblant l'ARN*

Ces antibiotiques inhibent la synthèse protéique à une étape précoce par une inhibition de la transcription d'ADN en ARN<sub>m</sub> en se fixant l'ARN polymérase bactérienne et bloquant son action, ce groupe contient les Rifampicines (**Larpent et Sanglier, 1989**).

##### *e. Les antibiotiques ciblant l'ADN*

Les antibiotiques ciblant l'ADN agissent soit en bloquant la réplication des ADN ou en se liant à des protéines réductrices qui entraînent la libération des radicaux toxiques capables de couper l'ADN (**Larpent et Sanglier, 1989**).

Ce groupe contient :

- Les sulfamides et triméthoprimes : sont des inhibiteurs enzymatiques de la biosynthèse d'acide tétra-hydro folique, précurseur des bases puriques et pyrimidiques ;
- Les quinolones, novobiocines et métronidazoles : inhibent la réplication de l'ADN, à différentes étapes de sa synthèse.

## 5.2. Problèmes thérapeutiques des infections urinaires

La résistance bactérienne aux antibiotiques dans le cas des infections urinaires est un problème majeur de santé publique. Cette résistance est principalement due à

l'utilisation massive d'antibiotiques avec ou sans prescription, mais aussi à leur présence en doses non négligeables dans les viandes (**Thirion et Williamson, 2003**).

La plupart des infections urinaires sont causées par des entérobactéries naturellement résistantes à la pénicilline G et M et ayant développé la capacité de production d'enzymes de résistance aux autres antibiotiques de la famille des  $\beta$ -lactamines (pénicillines et céphalosporines). Ils sont ainsi classés en 4 groupes (**Letertre, 2014**) :

- **Groupe 1** : non producteurs  $\beta$ -lactamase (*E. coli*, *P. mirabilis* ...);
- **Groupe 2** : producteurs d'une pénicillinase induisant une résistance aux antibiotiques de la famille des pénicillines (*Klebsiella spp.*...);
- **Groupe 3** : producteurs d'une céphalosporinase induisant une résistance aux antibiotiques de la famille des céphalosporines (sauf les Céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération : C3G) et aux aminopénicillines (*Enterobacter spp*, *Serratia spp.*...);
- **Groupe 4** : producteurs d'une pénicillinase et d'une céphalosporinase induisant une résistance aux pénicillines et aux céphalosporines (sauf les C3G).

Il existe une tendance inquiétante à la hausse de la résistance aux antimicrobiens chez les pathogènes responsables d'IU. Ce phénomène était surtout observé chez les patients présentant des comorbidités telles que le diabète ou la néphropathie par reflux. De plus, la résistance était plus fréquente chez les pathogènes nosocomiaux. Cependant, actuellement, la résistance aux antimicrobiens est également notée dans un nombre important d'infections communautaires. Ce n'est pas limité à un pays en particulier mais c'est un phénomène mondial (**Nickel, 2007**).

Certaines entérobactéries produisent une  $\beta$ -lactamase à spectre élargi (BLSE), inhibant toutes les  $\beta$ -lactamines, y compris les C3G (**Letertre, 2014**). Dans une étude récente en Inde réalisée par **Metri et al. (2012)** et ciblant les souches productrices de BLSE dans les pathogènes urinaires, il a été constaté que 40% des souches d'*E. Coli* et 45% des souches de *Klebsiella* produisaient des BLSE.

Dans une méta-analyse récente, des niveaux significatifs de résistance aux antimicrobiens ont été notés pour *E. coli* dans les infections urinaires pédiatriques. Le niveau de résistance a été noté plus élevé dans les régions du monde où les agents antimicrobiens sont disponibles en vente libre. Cependant, outre cette mauvaise utilisation

des agents antimicrobiens, d'autres facteurs tels que l'utilisation non réglementée d'antimicrobiens chez le bétail contribuent également à ce phénomène de résistance croissante (**Bryce *et al.*, 2016**).

Dans une autre étude norvégienne des niveaux très élevés de résistance aux agents antimicrobiens couramment utilisés pour le traitement des IU tels que l'ampicilline et la nitrofurantoïne. UTI est souvent traitée de manière empirique. Par conséquent, les lignes directrices pour le traitement des infections urinaires doivent prendre en considération ces changements dans les modèles de résistance (**Fagan *et al.*, 2015**).

En général, les propriétés physicochimiques et le volume urinaires sont très variables et dépendent de plusieurs facteurs. La présence d'une infection urinaire peut être la cause d'une modification majeure de ses paramètres. A titre d'exemple, Le pH normal de l'urine est légèrement acide, «4,5 à 8,0 ». Un pH urinaire de 8,5 ou 9,0 indique parfois la présence d'un microorganisme, tel que *Proteus*, *Klebsiella* ou *Ureaplasma* dans les urines ; par conséquent, un patient asymptomatique avec un pH élevé signifie une infection urinaire indépendamment des autres résultats des tests d'urine (**Bono et Reygaert, 2020**).

De même, l'urine ou la bile, à titre d'exemple, ne possèdent pas les mêmes propriétés physico-chimiques du milieu de l'antibiogramme. Ce dernier ne reflète donc pas l'efficacité réelle de l'antibiotique une fois administré, ni la réaction des bactéries vis-à-vis de cet antibiotique, car dans le corps humain, elles sont dans un état physiologique assez éloigné de celui d'un antibiogramme standard. Également, les phénomènes de biofilm et de bactéries adhérentes ne sont pas pris en compte dans une boîte de Pétri, pas plus que les carences nutritionnelles des bactéries présentes dans l'organisme (**Schulz *et al.*, 2012**).

# **Chapitre II**

## **Matériel et méthodes**

L'objectif de ce travail consiste, tout d'abord, à isoler et identifier quelques bactéries responsables d'infections urinaires à partir d'échantillons d'urine reçus au niveau du laboratoire d'analyse médicale (Dr. Sayah), situé à Bouira-Algérie. Par la suite, la sensibilité/résistance bactérienne aux antibiotiques à usage thérapeutique est évaluée sous antibiogrammes standards. Enfin, l'efficacité de ces mêmes antibiotiques est réévaluée sous des conditions ressemblant à celle de l'environnement urinaire à partir duquel les bactéries ont été isolées (pH et salinité).

Ce travail est une suite d'un travail déjà réalisé dans le cadre de deux projets de fin d'étude (**Hayet et Amina, 2019 ; Smaili et Saadaoui, 2020**), dont l'objectif était d'étudier le comportement de quelques souches bactériennes de référence vis-à-vis des antibiotiques sous conditions non orthodoxes pour un antibiogramme standard et de discuter les travaux scientifiques ayant abordés le même problème.

### 1. Période et lieu du stage

Le travail expérimental relatif à ce mémoire s'étale sur une période de vingt jours (du 05 au 25 mai 2022), dont une partie a été réalisée au niveau du laboratoire de Biologie Médicale de Dr. Sayah à de la ville de Bouira et une partie dans le laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre, Université de Bouira.



**Figure 3.** Laboratoire d'analyse médicale, Dr. Sayah (**Originale**).

### 2. Echantillons biologiques

Les échantillons d'urines analysés font partie des prélèvements habituels du laboratoire d'analyse médicale Dr. Sayah. Elles appartiennent donc à des patients de

susceptibles d'avoir une infection urinaire d'origine bactérienne. Les échantillons sont prélevés de patients de catégories hétérogènes (différents âges et sexes, avec ou sans facteurs favorisants). L'hétérogénéité des échantillons utilisés dans ce travail découle de son objectif, où l'origine de l'échantillon n'est pas un paramètre à prendre en considération.

### 3. Matériel

L'ensemble des appareillages, produits chimiques, matériel et des réactifs utilisés dans ce travail figure dans l'**annexe 01**.

Deux milieux de culture ont été utilisés dans le cadre de ce travail, Leur compositions (Gélose Nutritive et Gélose Muller Hinton) figurent dans l'**annexe 02**.

Les antibiotiques utilisés dans les différents tests d'antibiogramme sont classés dans le tableau suivant :

**Tableau 6.** Liste des antibiotiques utilisés.

Famille	Antibiotiques	Symbole sur le disque
Quinolone	Ofloxacin	<b>OFX</b>
	Ciprofloxacin	<b>CIP</b>
Macrolide	Erythromycine	<b>E</b>
Céphalosporine	Céphalothine	<b>KF</b>
Cycline	Tétracycline	<b>TE</b>



**Figure 4.** Antibiotiques utilisés (originale).

## **4. Méthodes**

### **4.1. Prélèvement des urines**

Le Prélèvement de l'urine constitue une étape importante de ce travail. Il doit être réalisé dans des conditions d'asepsie strictes, tout en évitant sa contamination lors de la miction par la flore commensale qui colonise l'urètre et la région périnéale. Les étapes suivantes ont été adoptées pour la réalisation des prélèvements :

- Exigence d'un lavage hygiénique strictes des mains du malade ;
- Toilette soignée avec du savon ou un antiseptique du méat chez l'homme et de la région vulvaire chez la femme (de l'avant vers l'arrière), suivie d'un rinçage ;
- Elimination du 1<sup>er</sup> jet (20 mL) d'urines ;
- Recueil de l'échantillon (20 mL) dans un flacon stérile « pot a ECBU des 20). Le recueil se fait sans toucher le bord supérieur du flacon ;
- Fermeture hermétique du flacon ;
- Identification du flacon ;
- Transport immédiat au laboratoire.

### **4.2. Condition de transport et de conservation :**

Idéalement, les urines recueillies dans un récipient stérile devraient êtreensemencées dans les 20 minutes suivant le recueil. En cas de besoin, les échantillons sont conservés à une température de 4 °C pour une durée maximale de 24 h. Ils ne doivent jamais être conservés plus de deux heures à température ambiante. L'objectif en est d'éviter la contamination de l'échantillon et/ou la dégradation de son contenu microbien. Et pour l'objectif de notre travail, la modification de ses propriétés initiales (pH et salinité).

### **4.3. Examen cyto bactériologique des urines (ECBU)**

La réalisation de l'examen cyto bactériologique des urines (ECBU) permet principalement de rechercher la présence d'une infection urinaire, de déterminer les

germes responsables et d'adapter ainsi le traitement antibiotique adéquat, à travers la réalisation d'un antibiogramme (Stéphane, 2016).

### 4.3.1. Examen cytologique

#### a. Examen macroscopique

Les urines sont observées dans le but de déceler une anomalie de couleur, odeur, transparence etc. Les urines sont normalement jaunes claires et limpides. L'examen macroscopique permet d'apprécier l'aspect, la couleur des urines, et la présence ou l'absence de pus ou de sang.



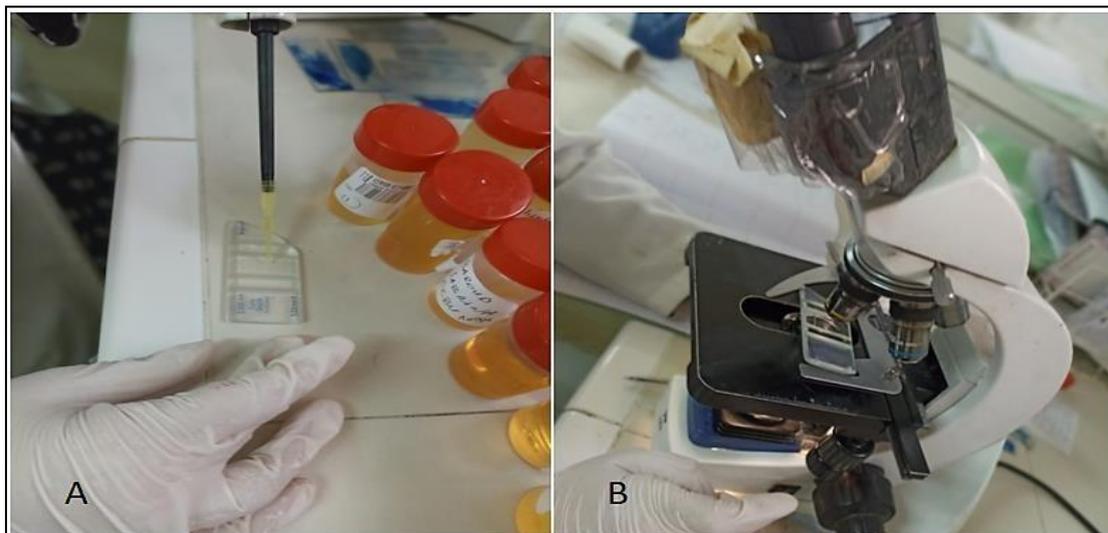
**Figure 5.** Quelques échantillons d'urines prélevés au laboratoire Sayah (**originale**).

Selon les patients, l'aspect du prélèvement peut varier de clair à hématique, trouble, ictérique, etc. La Couleur, quant à elle, peut varier de jaune à ambrée, rougeâtre etc. Les urines troubles suggèrent, mais pas obligatoirement, une infection urinaire (le trouble peut être liée à la présence de cristaux ou de médicaments).

#### b. Examen microscopique

Après homogénéisation de l'échantillon de l'urine, une goutte est déposée à l'aide d'une pipette Pasteur au centre d'une nageotte (lame d'observation et de comptage). Puis, une lamelle est placée au-dessus de la goutte. L'observation est faite au microscope à l'objectif  $\times 40$ .

Une cytologie qualitative et quantitative (détermination de la présence/absence, qualité et nombre des cellules) est réalisée systématiquement sur chaque prélèvement urinaire reçu pour examen cyto bactériologique.



**Figure 6.** Examen cytologique des urines. A : goutte d'urine sur lame de comptage ;  
B : observation au microscope (G\*40) (**Originale**).

❖ **Examen qualitative**

Une description des différents éléments cellulaires et acellulaires (polynucléaires, hématies, cellules épithéliales, cristaux, présence ou absence de bactéries) est réalisée. À l'état normal, l'urine contient un taux inférieur à 1000 leucocytes et moins de 1000 hématies/mL.

❖ **Examen quantitative :**

Les différents éléments dans l'urine par unité de volume (millimètre cube, microlitre ou millilitre) sont dénombrés (leucocytes, hématies etc.).

❖ **Chimie des urines :**

La chimie des urines est un examen systématique qui permet d'orienter le diagnostic en mettant en évidence dans l'urine d'éventuels éléments anormaux. Cet examen est effectué à partir de la bandelette urinaire (BU) qui donne des renseignements sur divers composants de l'urine.

La technique consiste à plonger la bandelette directement dans l'échantillon non centrifugé. Après deux minutes, cette dernière est tenue horizontalement sur une boîte pour faire la lecture de résultat. Cette dernière se fait visuellement en comparant les couleurs obtenues sur la bandelette avec la gamme colorimétrique indiquée sur l'emballage :

- Généralement, si le  $\text{pH} \geq 6$ , les résultats signifient que l'individu est suspecté d'avoir une UI ;
- La présence des leucocytes (virage de couleur au violet) signifie une inflammation ;
- La présence de nitrites qui se manifestent par une coloration rose indique la présence des Entérobactéries ;
- La présence du sang (coloration vert foncé) permet de suspecter une hématurie mais aussi certains traitements médicamenteux.



**Figure 7.** Chimie des urines par la bandelette urinaire (**originale**).

#### 4.3.2. Examen bactériologique

##### a. Examen à l'état frais

L'examen bactériologique à l'état frais est réalisé en même temps que l'observation microscopique de l'échantillon d'urine. La recherche d'éventuels microorganismes dans les urines (bactéries, champignons, protozoaires parasites etc.) est une étape importante afin de passer à la culture microbienne visant l'isolement et l'identification du germe responsable de l'infection. Cette dernière représente le seul diagnostique de certitude en microbiologie clinique.

##### b. Ensemencement et mise en culture

La culture bactérienne a pour objectif d'isoler et de dénombrer les bactéries en cause de l'IU. Une goutte de l'échantillon d'urine est ensemencée sur un milieu riche (Gélose nutritive).

La technique consiste à utiliser une anse de platine, stérilisée par flambage au bec Bunsen, pour ensemercer les échantillons sur les milieux de culture d'isolement.

- L'urine est homogénéisée par simple agitation ;
- A proximité du bec bunsen, une goutte d'urine est prélevée verticalement à l'aide d'une anse de platine stérile ;
- La goutte de l'urine est déposée dans la boîte de pétrie contenant le milieu d'isolement (milieu gélose nutritive : GN) ;
- Des stries centrales sous forme de lignes sont réalisées à la surface de la gélose ;
- Les boîtes sont incubées pendant 24h et à 37C°



**Composition du milieu de culture Mueller-Hinton (conventionnel)**

Infusion de viande de bœuf..... 300ml

Peptone de caséine ..... 17,5g

Amidon de maïs ..... 1,5g

Agar.....10g

pH = 7.4

Eau distillée..... 1000ml

**Figure 8.** Ensemencement des échantillons d'urine sur le milieu GN (**Originale**).



**Figure 9.** Incubation des boîtesensemencées (**Originale**).

A la fin de la période d'incubation, les échantillons positifs (présence de culture bactérienne) sont soumis à une identification de la bactérie responsable de l'infection. Les étapes d'identification de la souche, n'étant pas importants pour l'objectif de notre travail, ne figureront pas dans ce manuscrit. L'identité de chacune des souches utilisées dans le cadre de ce travail était, en revanche, fournie directement par le personnel du laboratoire d'analyse Dr. Sayah.

#### 4.4. Paramètres physico-chimiques des urines

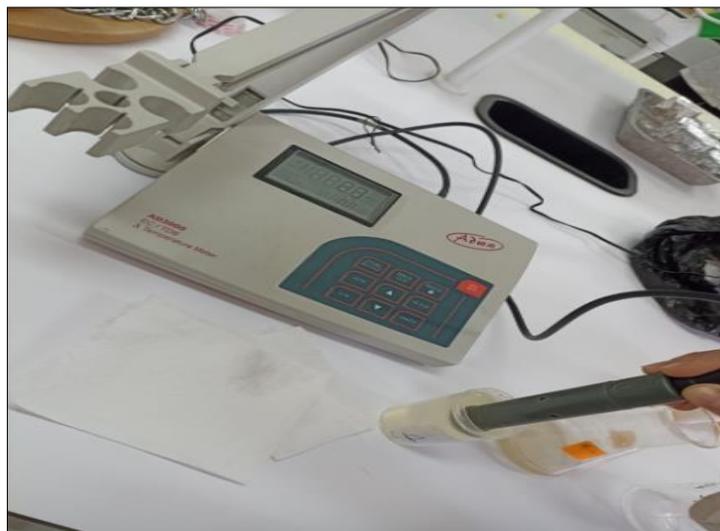
Partant de l'objectif de notre étude, la détermination des propriétés physicochimiques (pH et Salinité) des échantillons d'urine à partir desquels les bactéries ont été isolées constitue une étape importante.

La détermination du pH de l'urine a été faite à l'aide d'un pH-mètre Adwa AD8000. Après étalonnage de l'appareil à l'aide de solutions standards, la sonde du pH-mètre est mise en contact avec l'urine à étudier. Après un temps de stabilisation de la lecture, la valeur du pH de l'échantillon est lue directement sur l'écran de l'appareil.

La salinité des échantillons d'urine a été estimée en mesurant sa conductivité électrique (Rhoades, 1996). Pour se faire, le conductimètre Adwa AD3000 a été utilisé.



**Figure 10.** Mesure du pH de l'urine (Originale).



**Figure 11.** Mesure de la conductivité électrique de l'urine (**Originale**).

#### **4.5. Etude du comportement bactérien vis-à-vis des antibiotiques**

Afin d'étudier le comportement bactérien vis-à-vis des antibiotiques à usage thérapeutique habituel sous différentes circonstances : (1) celles d'un antibiogramme conventionnel habituellement utilisé aux laboratoires d'analyse médicaux et (2) celles simulant des conditions physicochimiques de l'échantillon à partir duquel les bactéries sont isolées (urine), le même protocole a été utilisé. Des modifications du pH et de la conductivité électrique (salinité) des milieux de cultures utilisés sont effectuées à chaque fois pour simuler les paramètres de l'échantillon d'urine.

##### **4.5.1. Protocole standard d'un antibiogramme**

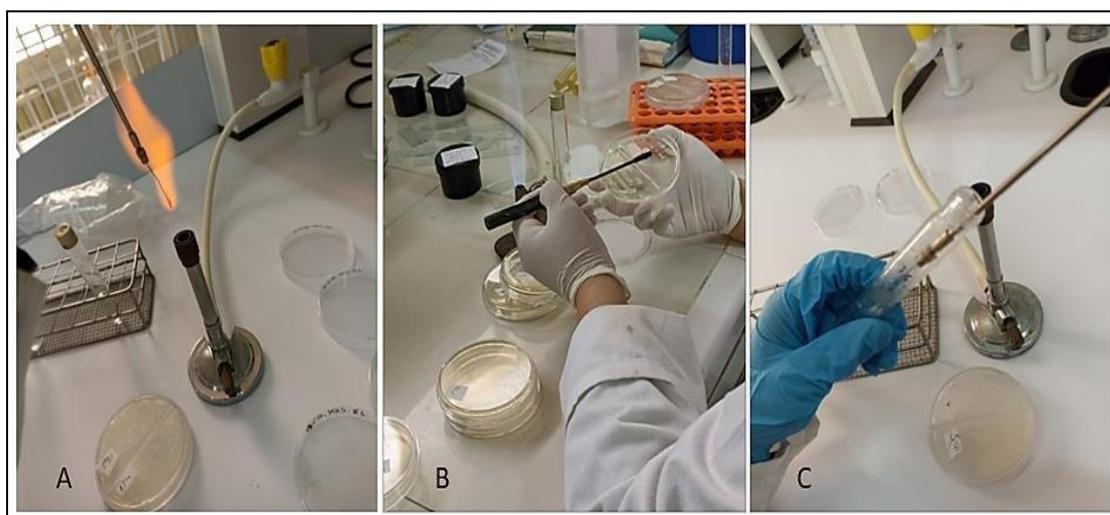
L'antibiogramme est une technique spécifique au laboratoire de bactériologie, dont l'objectif essentiel est de proposer aux médecins traitants le (les) antibiotique (s) les plus efficaces pour le traitement d'une infection (**Adem, 2005**). Le principe consiste à placer la culture de la bactérie à étudier en présence des antibiotiques et à observer les conséquences de cet affrontement sur le développement et la survie de celle-ci.

La méthode par diffusion, utilisée dans notre travail, permet de déterminer la résistance ou la sensibilité d'une bactérie vis-à-vis d'un antibiotique en utilisant la relation entre la CMI (Concentration minimale inhibitrice d'un antibiotique) et le diamètre de l'inhibition de la croissance bactérienne autour d'un disque du même antibiotique (disque de papier le plus souvent).

La lecture est donc relativement directe. Le diamètre d'inhibition est comparé à des diamètres critiques prédéfinis pour chaque antibiotique [MAX (D) et Min (d)] : en dessous d'un diamètre critique inférieur (d) la souche est classée résistante (R), au-dessus d'un diamètre critique supérieur (D) la bactérie est classée sensible (S) (Cavallo, 2015).

*a. Technique*

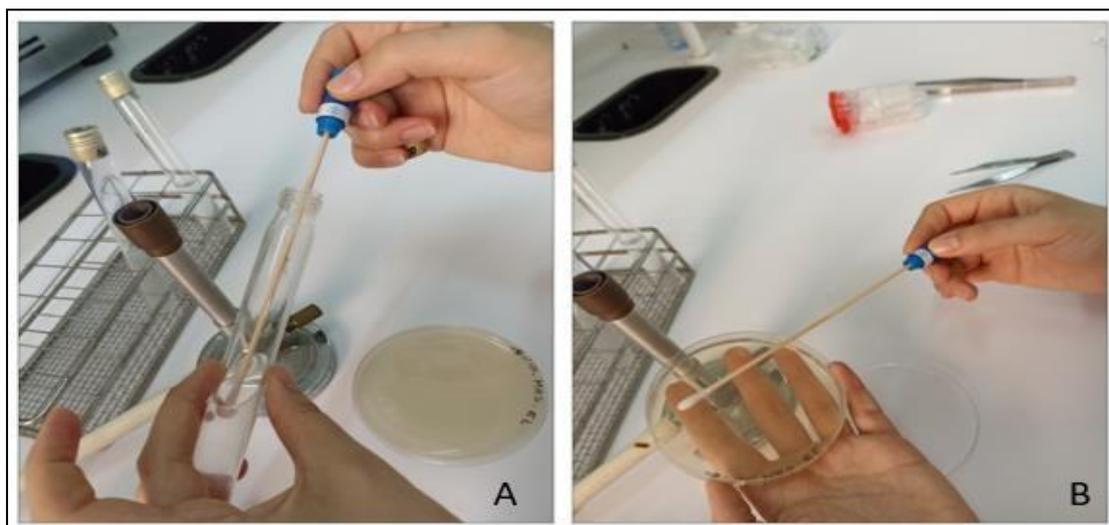
Une suspension bactérienne de la souche à étudier est préparée en raclant, à l'aide d'une anse de platine, des colonies pures obtenues à partir d'une culture jeune et en les mettant en suspension dans de l'eau physiologique stérile.



**Figure 12.** Préparation de la suspension bactérienne (**Originale**). A : stérilisation de l'anse de platine ; B : récolte de colonies pure de la souche à étudier ; C : préparation de la suspension.

Sur un milieu gélosé Mueller-Hinton (MH), spécifiquement destiné à cette méthode, est ensemencée la suspension préparée de la souche à tester. Pour se faire :

- Un écouvillon stérile est trempé dans l'inoculum, puis essoré en le pressant fermement contre la paroi interne du tube.
- La culture transportée par l'écouvillon est ensemencée sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas, en stries serrées, l'opération est répétée 4 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois. Sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.
- L'ensemencement est achevé en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.



**Figure 13.** Ensemencement des souches à tester par écouvillonnage (**Originale**). A : prélèvement de la suspension ; B : ensemencement.

Des disques de papier buvard imprégnés d'antibiotiques à concentrations données sont déposés à la surface de la gélose, ces derniers diffusent très rapidement de manière uniforme autour de chaque disque (**Talibi, 2008**).



**Figure 14.** Dépôt des disques d'antibiotiques à tester (**Originale**).

Après incubation à 37°C dans les conditions requises, une zone d'inhibition entoure les disques d'antibiotiques (ou non), signifiant une absence de culture (ou non) et donc ; un effet positif (ou négatif) de l'antibiotique testé.

#### *b. Lecture et interprétation*

Les résultats des antibiogrammes sont exprimés sous forme de catégories cliniques (Sensible, Résistant et Intermédiaire), qui sont destinées à guider vers le choix d'un antibiotique pour le traitement d'une infection urinaire (**Vandepitte, 1973**).

**Tableau 7.** Catégorisation des bactéries selon les valeurs critiques (Talibi, 2008).

	Sensible	Résistant	Intermédiaire
Diamètre	Diamètre $\geq D$	Diamètre $< d$	$d < \text{Diamètre} < D$
Succès thérapeutique	Une forte Probabilité de succès dans le cas d'un traitement par voie systémique avec la posologie recommandée	Une faible probabilité de succès quel que soit le type de traitement et la dose d'antibiotique utilisée	Le succès est imprévisible

Dans notre étude, seul l'effet des paramètres physicochimiques du milieu MH (pH et Salinité) sur les diamètres d'inhibition de chaque antibiotique nous importe. Nous nous contenterons donc uniquement de la détermination des diamètres d'inhibition dans chaque cas d'étude.

#### 4.5.2. Antibiogrammes simulant l'environnement urinaire

Après avoir déterminé le pH et la conductivité électrique de chaque échantillon d'urine. Les souches isolées de chacune des échantillons est soumise, en parallèle à un antibiogramme standard, à d'autres tests d'antibiogramme pour lesquels :

- Le pH du milieu est modifié pour être identique au pH urinaire de l'échantillon de l'urine (indépendamment de sa conductivité électrique ; pour se faire, des solutions de 1M NaOH et 1M HCl ont été utilisées pour augmenter ou baissé le pH du milieu MH, respectivement ;
- La Conductivité électrique du milieu est modifiée pour être identique à celle de l'échantillon de l'urine ; pour se faire, des solutions de 1M NaCl sont utilisées pour remodeler la conductivité électrique du milieu MH ;
- Le pH et la conductivité électrique du milieu sont modifié en même temps pour être identique à celle de l'échantillon de l'urine.

#### 4.6. Analyses statistiques

Le test statistique two-way ANOVA au logiciel statistique GraphPad Prism (V : 9.3.1) a été utilisé pour comparer les résultats obtenus pour les diamètres d'inhibition de chaque antibiotique sous différentes conditions du milieu de culture.

# Résultats

Les résultats exprimés ici concernent uniquement trois échantillons d'urine ayant donné une culture bactérienne positive. Ainsi, trois isolats bactériens ont fait l'objet d'une étude de leurs profils de sensibilité aux 5 antibiotiques précédemment mentionnés dans la partie 'Matériel et Méthodes'. Les antibiogrammes ont été réalisés sous conditions : (1) standards (milieu MH sans modification) et (2) modifiés selon les propriétés des urines à partir desquelles elles ont été isolées.

Selon l'objectif de l'étude, la première étape était donc de définir le pH et la Conductivité électrique initiaux de chacune des trois échantillons d'urine (ici dénommés Uri01, Uri02 et Uri3).

### 1. pH et Conductivité électriques des échantillons :

Les pH des échantillons varient de légèrement acide (5,5 et 5.82 pour les échantillons Uri 02 et Uri 01, respectivement) à légèrement basique (8.34 pour l'échantillon Uri 03). Les CE des trois échantillons varient de 5.57 à 24.5 et 61.2  $\mu\text{s}$  pour les trois échantillon Uri 01, Uri02 et Uri03 respectivement. Les résultats des pH et des Conductivités électriques des trois échantillons d'urine sont résumés dans le tableau 8.

**Tableau 8.** pH et Conductivités électriques des échantillons d'urine.

Urines	pH	CE ( $\mu\text{s}$ )
Uri01	5.82	5.57
Uri02	5.50	24.5
Uri03	8.34	61.2

Afin de vérifier l'existence, ou non, d'une différence entre le milieu de culture MH conventionnel et les milieux MH modifiés qui sont préparés dans le but simuler les environnements urinaires des trois échantillons. Nous avons jugé important de déterminer le pH et la Conductivité électrique du milieu MH standard (résultats exprimés dans le tableau 9).

**Tableau 9.** pH et Conductivité électrique du milieu MH standard.

Milieux	pH	CE ( $\mu\text{s}$ )
MH Standard	6.92	1.55

A partir des deux tableaux 8 et 9, il apparaît clairement que les pH et les CE d'un milieu conventionnel destiné à la réalisation d'un antibiogramme ne sont pas similaires aux propriétés d'un milieu urinaire présentant une infection bactérienne. Avec nos trois

échantillons, il est également constatable que les propriétés d'un milieu urinaire peuvent être variables. Ceci est probablement dû à la nature de l'infection elle-même, mais aussi à d'autres facteurs dont la nature ne nous intéresse pas dans le cadre de notre objectif.

## 2. Identité des souches isolées :

Selon les résultats de l'identification approuvés par le laboratoire de Dr. Sayah, les trois souches isolées à partir des échantillons de notre études ont été identifiées comme :

- **Echantillon Uri 01** : *Escherichia coli*
- **Echantillon Uri 02** : *Klebsiella pneumoniae* 1
- **Echantillon Uri 03** : *Klebsiella pneumoniae* 2

## 3. Milieux de culture préparés et résultats des antibiogrammes :

Selon les propriétés des trois échantillons, les souches ont fait l'objet de différents tests d'antibiogrammes simulant les conditions suivantes :

1. Condition d'un antibiogramme ordinaire (MH conventionnel) ;
2. Antibiogramme sous MH à pH urinaire ;
3. Antibiogramme sous MH à Conductivité électrique urinaire ;
4. Antibiogramme sous MH à pH et Conductivité électrique urinaires en même temps.

Les milieux utilisés et les résultats des antibiogrammes obtenus sont exprimés ci-dessous séparément pour chaque souche/échantillon.

### 3.1. Souche isolée de l'échantillon Uri 01 (*E. coli*)

#### 3.1.1. Propriétés des milieux utilisés

Les caractéristiques des milieux MH utilisés sont exprimées dans le tableau suivant :

**Tableau 10.** Milieux pour les antibiogrammes de la souche *E. coli*

Milieu utilisé	pH	CE (µs)
MH conventionnel	6.92	1.55
MH 1-Uri01	<b><u>5.82</u></b>	1.55
MH 2-Uri01	6.92	<b><u>5.57</u></b>
MH 3-Uri01	<b><u>5.82</u></b>	<b><u>5.57</u></b>

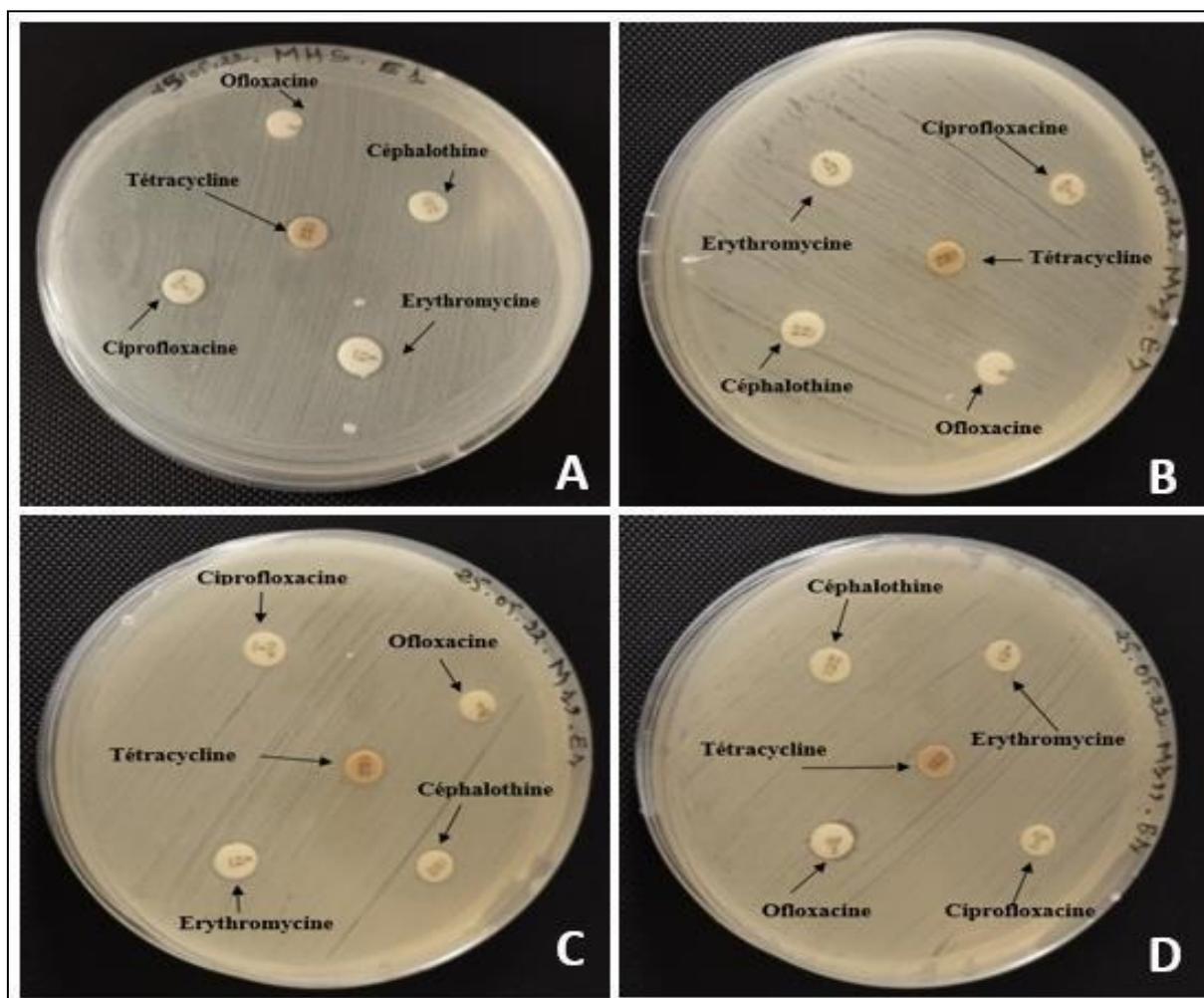
### 3.1.2. Résultats des antibiogrammes

La souche isolée du premier échantillon (Uri 01) et identifiée comme appartenant à l'espèce *E. coli* s'est avérée résistante à tous les antibiotiques testés sous différentes circonstances. Les résultats des quatre antibiogrammes sont exprimés dans le tableau 11 et la figure 15.

**Tableau 11.** Résultats des antibiogrammes de la souche *E. coli*.

	MH conventionnel	MH 1-Uri01	MH 2-Uri01	MH 3-Uri01
	ZI (mm)	ZI (mm)	ZI (mm)	ZI (mm)
Ofloxacine	0	0	0	0
Ciprofloxacine	0	0	0	0
Tétracycline	0	0	0	0
Erythromycine	0	0	0	0
Céphalothine	0	0	0	0

\* ZI = zone d'inhibition de la croissance bactérienne provoquée par la présence de l'antibiotique



**Figure 15.** Antibiogrammes réalisés pour la souche *E. coli*. A : MH conventionnel ; B : MH 1-Uri 01 ; C : MH 2-Uri 01 ; D : MH 3-Uri 01. (Originale).

### 3.2. Souche isolée de l'échantillon Uri 02 (*K. pneumoniae* 1)

#### 3.2.1. Propriétés des milieux utilisés

Les caractéristiques des milieux MH utilisés sont exprimées dans le tableau suivant :

**Tableau 12.** Milieux pour les antibiogrammes de la souche *K. pneumoniae* 1

Milieu utilisé	pH	CE ( $\mu$ s)
MH conventionnel	6.92	1.55
MH 1-Uri02	<b>5.50</b>	1.55
MH 2-Uri02	6.92	<b>24.5</b>
MH 3-Uri02	<b>5.50</b>	<b>24.5</b>

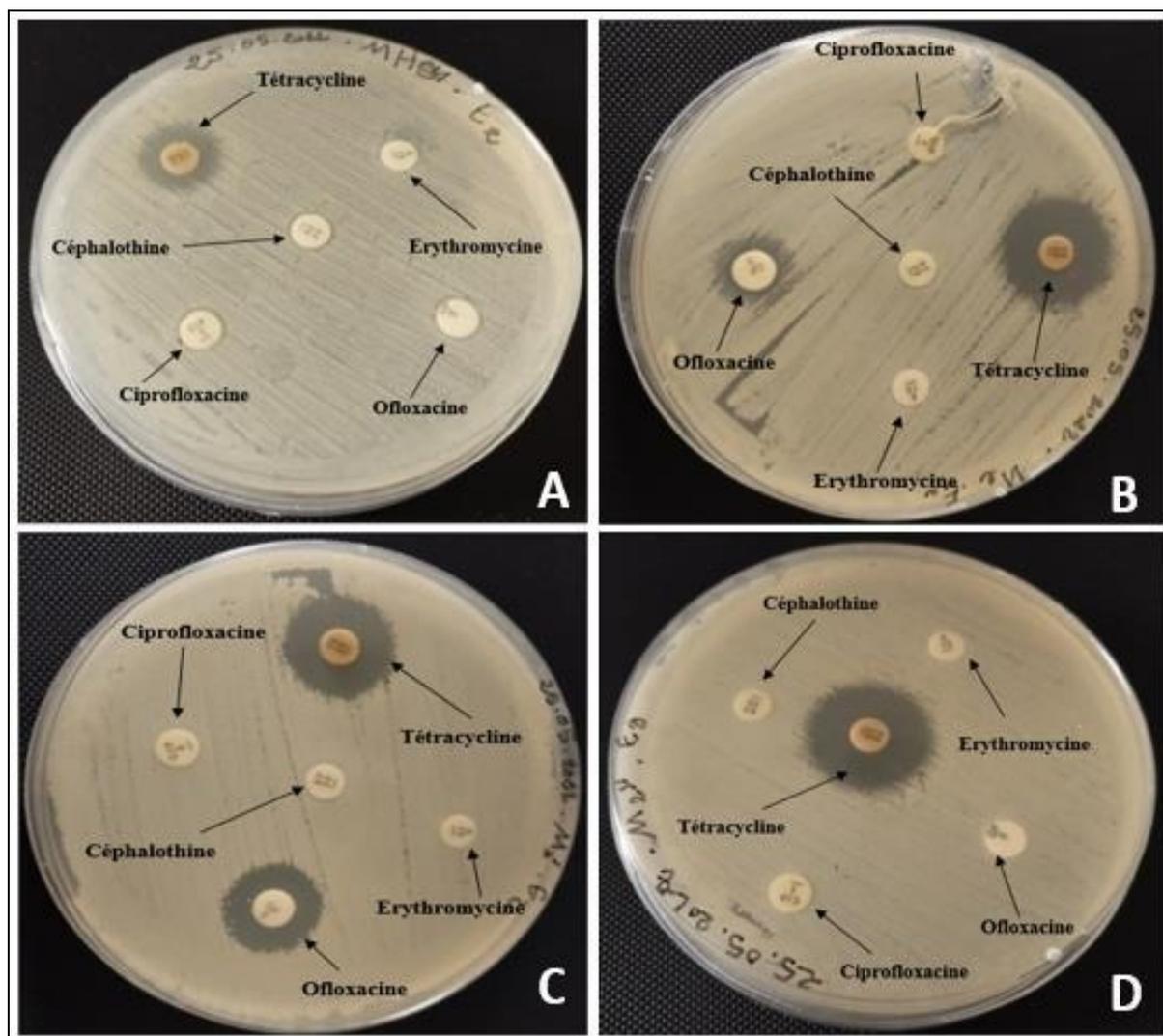
#### 3.2.2. Résultats des antibiogrammes

Sous conditions standard (MH conventionnel), La souche bactérienne isolée de l'échantillon Uri 02 s'est avérée résistante à la plupart des antibiotiques testés. Seule la tétracycline a pu exercer une activité inhibitrice de la croissance bactérienne (13 mm). Cependant, la modification de la conductivité électrique du milieu (MH 2-Uri02) a abouti à un changement de l'insensibilité de la souche à l'ofloxacine (16 mm). Il est important de mentionner que l'activité de la tétracycline augmente de façon drastique en passant d'un antibiogramme conventionnel aux autres antibiogrammes modifiées (de 13 à 21, 18 et 19 mm pour les trois milieux MH 1-Uri02, MH 2-Uri 02 et MH 3-Uri02, respectivement). Les trois antibiotiques ciprofloxacine, érythromycine et céphalothine n'ont montré aucune activité vis-à-vis de la souche isolée de l'échantillon Uri02, quelques soient les conditions du milieu utilisé pour la réalisation de l'antibiogramme. Les résultats des quatre antibiogrammes sont détaillés dans le tableau 13 et la figure 16.

**Tableau 13.** Résultats des antibiogrammes de la souche *K. pneumoniae* 1

	MH conventionnel	MH 1-Uri02	MH 2-Uri02	MH 3-Uri02
	ZI (mm)	ZI (mm)	ZI (mm)	ZI (mm)
Ofloxacine	0	0	16	0
Ciprofloxacine	0	0	0	0
Tétracycline	13	21	18	19
Erythromycine	0	0	0	0
Céphalothine	0	0	0	0

\* ZI = zone d'inhibition de la croissance bactérienne provoquée par la présence de l'antibiotique



**Figure 16.** Antibiogrammes réalisés pour la souche *K. pneumoniae* 1. A : MH conventionnel ; B : MH 1-Uri 02 ; C : MH 2-Uri 02 ; D : MH 3-Uri 02. (Originale).

### 3.3. Souche isolée de l'échantillon Uri 03 (*K. pneumoniae* 2)

#### 3.3.1. Propriétés des milieux utilisés

Les caractéristiques des milieux utilisés sont exprimées dans le tableau suivant :

**Tableau 14.** Milieux pour les antibiogrammes de la souche *K. pneumoniae* 2

Milieu utilisé	pH	CE ( $\mu$ s)
MH conventionnel	6.92	1.55
MH 1-Uri03	<b>8.34</b>	1.55
MH 2-Uri03	6.92	<b>61.2</b>
MH 3-Uri03	<b>8.34</b>	<b>61.2</b>

### 3.3.2. Résultats des antibiogrammes

La diversité des résultats obtenus avec les antibiogrammes de la souche *K. pneumoniae* 2 permettent de visualiser de façon plus claire l'effet des paramètres de l'environnement sur l'activité d'un antibiotique sur une bactérie. En effet, la souche isolée de l'échantillon Uri 03 s'est avérée sensible à la plupart des antibiotiques testés sous antibiogramme conventionnel (à l'exception de l'érythromycine). Cependant, l'effet de chacun des antibiotiques change de façon significative en modifiant les conditions du milieu MH utilisé pour l'antibiogramme.

L'érythromycine, qui semblait être inactif contre la bactérie sous conditions conventionnelles d'un antibiogramme, a changé d'activité en simulant l'environnement de l'échantillon urinaire à partir duquel la bactérie a été isolée. Son diamètre d'inhibition passe de 0 mm en condition conventionnelles (aucune activité) à 21.5, 10.5 et 24 mm en modifiant le pH, la CE et les deux en même temps, respectivement.

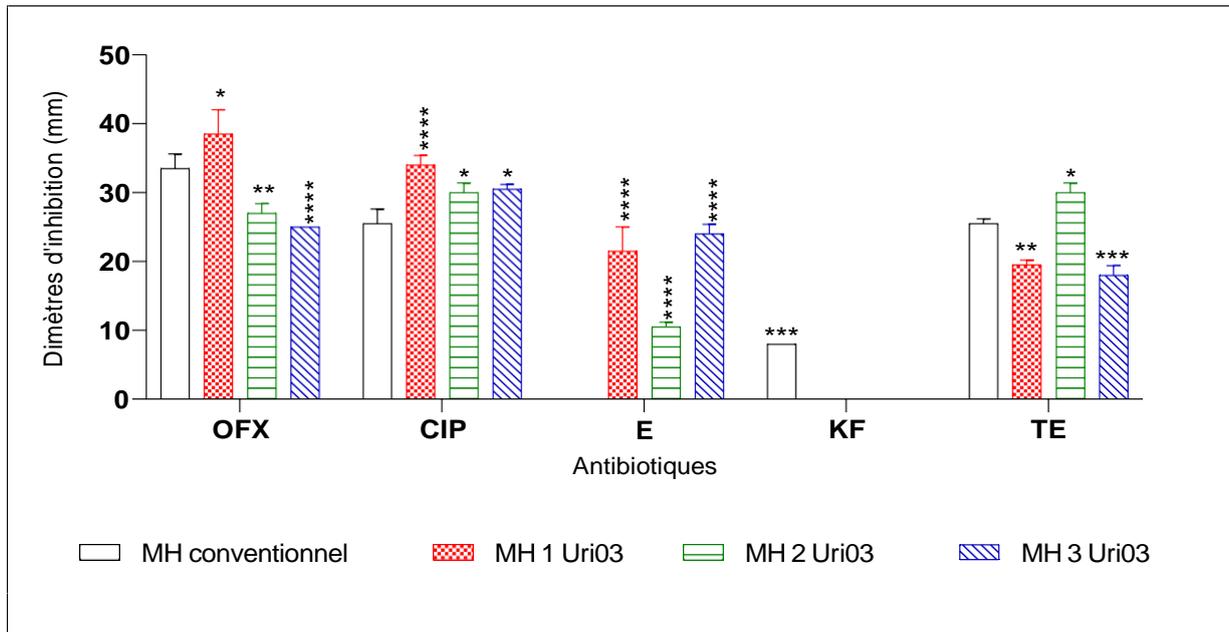
La céphalothine, ayant donné une légère activité inhibitrice de la souche sous conditions conventionnelles (8 mm), a perdu toute activité antibactérienne vis-à-vis de *K. pneumoniae* 2 après modification des propriétés du milieu MH. La modification du pH et de la CE du milieu affecte donc, de façon significative, le pouvoir inhibiteur de cet antibiotique.

L'activité de l'antibiotique ofloxacin varie de 33.5 mm de diamètre en conditions ordinaires à 38.5 et 27 mm de diamètre en modifiant le pH et la CE du milieu MH, respectivement. Le même antibiotique a provoqué une zone d'inhibition de 25 mm de diamètre autour de la souche sur le milieu MH 3-Uri03 (pH et CE urinaires), correspondant à une perte relative de son activité sous antibiogramme conventionnel. Les résultats des quatre antibiogrammes sont exprimés dans le tableau 15 et les figures 17 et 18.

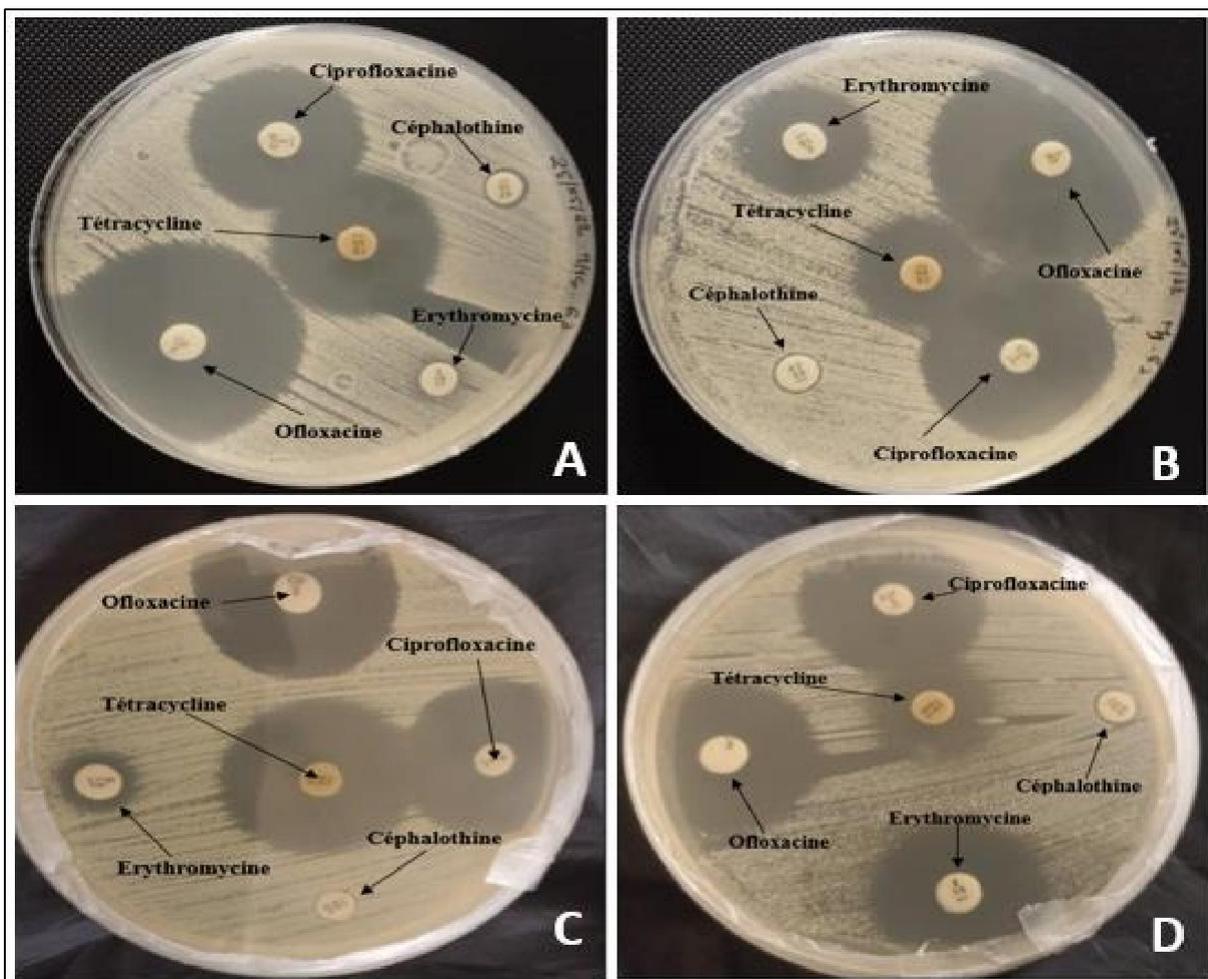
**Tableau 15.** Résultats des antibiogrammes de la souche *K. pneumoniae* 2

	MH conventionnel	MH 1-Uri03	MH 2-Uri03	MH 3-Uri03
	ZI (mm)	ZI (mm)	ZI (mm)	ZI (mm)
Ofloxacin	33.5	38.5	27	25
Ciprofloxacin	25.5	34	30	30.5
Erythromycine	0	21.5	10.5	24
Céphalothine	8	0	0	0
Tétracycline	25.5	19.5	30	18

\* ZI = zone d'inhibition de la croissance bactérienne provoquée par la présence de l'antibiotique



**Figure 17.** Résultats des antibiogrammes de la souche *K. pneumoniae* 2. \* : différence significative ( $p < 0.05$ ) ; \*\* : différence significative ( $p < 0.005$ ) ; \*\*\* différence significative ( $p < 0.001$ ) ; \*\*\*\* différence significative ( $p < 0.0001$ ).



**Figure 18.** Antibiogrammes réalisés pour la souche *K. pneumoniae* 2. A : MH conventionnel ; B : MH 1-Uri 03 ; C : MH 2-Uri 03 ; D : MH 3-Uri 03. (Originale).

# **Discussion**

## Discussion

D'après le travail de « **Hayet et Amina, 2019 ; Mouna et Sara, 2020** » qui ont évalué et discuté l'interaction bactérie-antibiotique sous stress environnemental dû au pH et à la salinité. **Hayet et Amina (2019)** ont utilisé deux souches bactériennes de référence, *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, dans leur travail de fin d'étude. Les deux souches ont été testées vis-à-vis de deux antibiotiques chacune ; Gentamycine/Acide Nalidixique pour *E. coli* et Gentamycine/Ceftazidime pour *P. aeruginosa*.

Le stress a été appliqué directement en modifiant la composition du milieu de culture de l'antibiogramme ou celui utilisé pour préparer l'inoculum (stress précoce). Les résultats obtenus ont clairement montré que le stress environnemental affecte sévèrement la réponse bactérienne aux antibiotiques. **Mouna et Sara (2020)** se sont servies de ces résultats afin de réaliser un travail de synthèse théorique dont l'objectif était de discuter les travaux scientifiques ayant abordés la problématique du changement des comportements bactériens vis-à-vis des bactéries soumises à des conditions environnementales variables.

Dans le cadre de ce travail, trois souches bactériennes responsables, chacune, d'une infection urinaire ont été isolées et identifiées. Elles ont été testées vis-à-vis de cinq antibiotiques chacune (Ofloxacine, Ciprofloxacine, Erythromycine, Céphalothine, Tétracycline). Le stress a été appliqué directement au milieu de culture de l'antibiogramme Muller Hinton en modifiant son pH et sa conductivité électrique. Les résultats obtenus ont clairement montré que le stress environnemental affecte sévèrement la réponse bactérienne aux antibiotiques. Parmi les trois bactéries isolées, deux peuvent être considérées comme multirésistantes aux antibiotiques testés.

L'organisme humain peut être représenté comme un ensemble de secteurs, souvent entouré de structures membranaires. L'absorption d'un médicament et sa diffusion à travers le site de l'infection sont conditionnées par le franchissement de ces membranes cellulaires, souvent de nature lipidique. La plupart des antibiotiques ont une masse moléculaire trop importante pour pouvoir traverser passivement les pores des membranes cellulaires (exception faite des pores de grande taille des endothéliums vasculaires). Ils ont donc besoin de systèmes de transport complexes. Ces derniers sont modulés, entre autres, par les signaux environnementaux (pH gastrique) qui les entourent (**Mazri, 2015**).

Le pH, comme la salinité, affecte également le fonctionnement et la structure des microorganismes. Les bactéries, par exemple, sont sensibles à la concentration en ions hydrogène dans leur environnement. Les grosses protéines membranaires sont également affectées par le pH. Leur forme change, entraînant très souvent une altération de leurs charges ioniques (**Ratzke et Gore, 2018**).

*E. coli* et *Klebsiella* sont des germes très fréquemment isolés au laboratoire de microbiologie clinique comme agents responsables d'infections urinaires **Sekhsokh, et al. (2008)**. **Yang et al (2014)** ont étudié l'impact du PH à une gamme de 5 à 8 sur l'efficacité de 24 antibiotiques largement utilisés contre des souches uropathogènes courantes (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus saprophyticus* et *S. epidermidis*). Ils ont démontré que le pH affecte l'activité inhibitrice de certains antibiotiques. Ces derniers ont montré des effets dépendant du pH contre certains organismes. Les Fluoroquinolones, le Co-trimoxazole, les aminoglycosides et les macrolides ont tous fonctionné de manière optimale à un PH alcalins, tandis que les tétracyclines, la nitrofurantoïne et de nombreux Bêta-lactamines testés ont montré leur activité la plus élevée dans des conditions plus acides.

Les quinolones (Ofloxacin, Ciprofloxacin) sont des bactéricides préconisés très utilisés en thérapeutique. Du fait de leur utilisation excessive, la résistance à ces antibactériens est en constante augmentation chez toutes les espèces bactériennes à travers le monde (**Vincent, 2012**). Cela peut expliquer, en partie, la résistance constatée de la souche *E. coli*, isolée dans le cadre de ce travail, aux deux antibiotiques Ofloxacin et Ciprofloxacin. De même, la tétracycline est un antibiotique largement utilisé en raison de sa faible toxicité et de son large spectre d'activité. Cependant, son utilité clinique a diminué en raison de l'apparition d'un nombre croissant d'isolats résistants (**Speer et al, 1992**). Cette résistance est due au fait que Plus de 70 % des tétracyclines sont excrétés sous forme active dans l'environnement via l'urine et les matières fécales des humains et des animaux. Ajouté à ça, leur caractère hautement hydrophile et leur faible volatilité ont entraîné une persistance importante dans les milieux aquatiques (**Daghrir et Drogui, 2013**).

**Coronado et al. (1995)** proposent plusieurs explications de l'augmentation de la tolérance aux agents antimicrobiens sous stress salin ; le sel inactive l'antibiotique comme dans le cas des tétracyclines, connues pour être inactivées par des ions inorganiques ; éventuellement par chélation. Pareillement, le sel peut modifier la structure des

antibiotiques, altérant leur capacité à pénétrer dans la cellule. Il peut également diminuer la perméabilité membranaire des bactéries vis-à-vis des antibiotiques en altérant les structures réceptrices de telles molécules, s'associant à une perte de leur activité intracellulaire.

Les résultats de **Tagajdid *et al* (2010)**, ont montré que dix souches d'*E. Coli*, responsables d'IU, était à la fois productrices de bêta-lactamases à spectre étendu, résistantes aux aminosides et aux fluoroquinolones. De même, la souche *E. coli*, isolée dans le cadre de ce travail s'est avérée résistante aux cinq antibiotiques : Tétracycline, Ciprofloxacine, Erythromycine, Ofloxacine et Céphalothine.

A nos jours, l'effet des antibiotiques sur les bactéries pathogènes est parfaitement étudié. Cependant, la quasi-totalité des études sont réalisés dans des conditions standards et n'ayant rien à voir avec l'environnement auquel ils sont censés avoir effet. En fait, les résultats obtenus confirment que les variations dans les valeurs du pH et de la concentration de sel dans le milieu Muller Hinton affectent considérablement le comportement bactérien vis-à-vis des antibiotiques testés. L'adaptation des microorganismes, de façon progressive, aux antibiotiques a obligé les scientifiques à poursuivre le chemin des travaux visant à chercher, identifier et synthétiser de nouvelles molécules d'ordre thérapeutique (**Matyara *et al.*, 2008**).

L'apparition continue des résistances bactériennes aux antibiotiques n'est pas uniquement due à la forte pression de sélection exercée par l'utilisation excessive des antibiotiques, mais aussi aux changements climatiques et à la posologie, souvent aléatoire, lors des traitements appliqués faces aux agents pathogènes (**Stanley *et al.*, 2007**).

La structure chimique des antibiotiques peut être fortement liée aux changements de leurs effets antibactériens une fois confrontés aux conditions de stress. La structure d'un antibiotique permet, dans une proportion non négligeable, de comprendre le comportement de l'antibiotique sous stress abiotique. Elle influence l'activité antibactérienne, les performances pharmacocinétiques et pharmacodynamiques (solubilité, absorption, diffusion tissulaire etc.) et la non susceptibilité aux mécanismes de résistances des bactéries. De plus la connaissance des **Relations Structure-Activité** (RSA) est une des bases nécessaires à la compréhension des mécanismes de résistances développés par les bactéries (**Démoré *et al.*, 2016**).

Lorsque les bactéries rencontrent un traitement antibiotique à l'intérieur du corps humain. La réponse cellulaire aux facteurs de stress environnementaux peut modifier le

schéma d'expression génique global des bactéries et leur réceptivité (sensibilité/résistance) à un antibiotique. Cependant, la relation entre la réponse cellulaire au stress et la sensibilité aux antibiotiques reste très mal étudiée (**Zhu et Dai, 2018**).

Selon **Masi et al. (2017)**, le stress salin peut altérer la concentration intracellulaire de certaines protéines. Ce qui a pour conséquence une réduction drastique de la perméabilité et de l'efflux des antibiotiques. Dans l'étude précédemment citée de (**Zhu et Dai, 2018**), il a été postulé que les protéines de porine OmpF et OmpC sont parmi les protéines membranaires externes les plus abondantes et sont proposées pour être responsables du contrôle de l'afflux de médicaments dans les cellules. D'autre part, AcrAB-TolC est le principal système de pompe à efflux multidrogues qui pompe un médicament hors de la cellule pour réduire sa concentration intracellulaire. Zhu et Dai ont donc mesurer l'expression relative de l'ensemble OmpF, OmpC, AcrA, AcrB et TolC dans des milieux normaux et salins. Comme résultats, les niveaux d'expression relatifs d'AcrA, AcrB et TolC augmentent fortement sous stress. L'expression de l'OmpF diminue fortement tandis que l'expression de l'OmpC augmente remarquablement dans des conditions à forte teneur en sel. En conclusion, la diminution de la sensibilité bactérienne à certains antibiotiques sous forte teneur en sel peut être attribuée à une augmentation de l'efflux de médicament, à une diminution de l'afflux de médicament (médiée par OmpF) ou aux deux phénomènes en même temps.

Dans le travail de **Beggs et Andrews (1976)**, la sensibilité des aminoglycosides au sel et son action sur les deux bactéries *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* ont été évalués. Ils ont démontré que, quelques soient les ions utilisés, la protection de *E. coli* contre la gentamycine augmente avec l'augmentation du stress. Ils ont également trouvé que les variations de la force ionique influencent significativement l'efficacité des aminosides contre les deux souches testées.

Dans une autre étude réalisée par **Coronado et al. (1995)**, 13 souches modérément halophiles appartenant aux genres *Chromohalobacter*, *Deleya*, *Halomonas*, *Vibrio* et *Volcaniella* ont été testées vis-à-vis des antibiotiques : ampicilline, gentamycine, kanamycine, néomycine et streptomycine. En général, les résultats obtenus montrent clairement que les concentrations élevées en sels diminuent considérablement le pouvoir antibactérien de la plupart des antibiotiques testés.

Les mêmes auteurs ont suggéré plusieurs explications de l'augmentation de la tolérance aux agents antimicrobiens sous stress salin ; le sel inactive l'antibiotique comme dans le cas des tétracyclines, connues pour être inactivées par des ions inorganiques, éventuellement par chélation. Pareillement, le sel peut modifier la structure des antibiotiques, altérant leur capacité à pénétrer dans la cellule. Il peut également diminuer la perméabilité membranaire des bactéries vis-à-vis des antibiotiques en altérant les structures réceptrices de telles molécules, s'associant à une perte de leur activité intracellulaire.

**En 1983, Bauearnfeind** démontra qu'une activité bactériostatique accrue de fluoroquinolones, ciprofloxacine et norfloxacine contre *Proteus mirabilis* est constaté aux pH élevés. De même, **Mou (1962)** démontra que les fluoroquinolones, cotrimoxazole, aminoglycoside et les macrolides fonctionnent de manière optimale aux pH alcalins, tandis que les tétracyclines, nitrofurantoïne et un bon nombre de beta lactames testés montrent une activité plus élevée dans des conditions plus acides. Également, les sulfaméthoxazole, l'oxacilline, l'acide clavulanique, la vancomycine et la clindamycine ne sont pas affecté par le pH.

Le pH, comme la salinité, affecte également le fonctionnement et la structure des microorganismes. Les microbes, tels que les bactéries, sont sensibles à la concentration en ions hydrogène qu'ils trouvent dans leur environnement. Les grosses protéines sont affectées par le pH. Leur forme change (ils se dénaturent) et entraînent très souvent une altération des charges ioniques de la molécule (**Ratzke et Gore, 2018**), ce qui peut expliquer la perte de l'activité de certains antibiotiques en état de stress.

**Yang et al. (2014)** ont étudié l'impact du PH à une gamme de 5 à 8 sur l'efficacité de 24 antibiotiques largement utilisés contre des souches uropathogènes courantes (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus saprophyticus* et *S. epidermidis*). Pour ceci, des antibiogrammes standards des cultures préalablement soumises au stress dû au pH, et des tests de micro dilutions en bouillon à pH variables et contenant, ou non, des antibiotiques ont été utilisés afin de déterminer les CMI.

Les résultats ont montré que pour 18 des 24 antibiotique testés, le PH a joué un rôle important comme modulateur de leurs activités inhibitrices. Les quinolones (fluoroquinolones), les cotrimoxazoles, les aminoglycosides et les macrolides ont montré une augmentation d'activités aux PH élevés, avec des CMI plus basses à pH 8 et plus élevées à pH 5. Yang et ses collègues ont postulé que ces phénomènes sont probablement

dû à l'augmentation des interactions zwitterioniques avec les porines et les lipides membranaires à pH élevé, favorisant une accumulation bactérienne accrue.

Yang et ses collègues ont suggéré que, selon **Eisenberg *et al.* (1984)**, les résultats obtenus étaient dû à des augmentations du potentiel électrique à travers la membrane bactérienne à pH élevé, conduisant à une absorption accrue des antibiotiques. D'autre part, les tétracyclines, les nitrofurantoïne et de nombreux  $\beta$ -lactames testés ont montré leur activité la plus élevée dans des conditions plus acides, avec des CMI plus basses à pH 5. Le sulfaméthoxazole, l'oxacilline, l'amoxicilline, la vancomycine, l'imipenème et la clindamycine étaient insensibles aux variations du PH.

**Irwin *et al.* (2013)** se sont également intéressés à l'évaluation de l'effet du pH sur la croissance et la sensibilité de *Proteus mirabilis* (pathogène producteur d'uréase) en mode plancton et biofilm aux antimicrobiens quinolones. La bactérie en question a été isolée d'un patient atteint du catharisme à long terme ; une infection urinaire entraînant l'élévation du pH urinaire et provoquant une incrustation du cathéter urinaire à travers la formation de biofilm cristallin.

La souche a été cultivée dans un bouillon Muller Hinton ajusté à des valeurs de pH allant de 5 à 10 avec l'addition, ou non, d'acide chlorhydrique ou de sodium hydroxyle et en présence/absence des trois antibiotiques : acide nalidixique, norfloxacine et ciprofloxacine à des différentes concentrations. La sensibilité de la bactérie aux antibiotiques à ces valeurs de pH a été déterminée par mesure des CMI, CMB (concentration minimale bactérienne) et CMEB (concentration minimale d'éradication de biofilm). La croissance bactérienne a été déterminer par turbidimétrie.

Dans cette étude, le pH alcalin a augmenté les activités bactériostatiques et bactéricides des fluoroquinolones testées contre le germe *P. mirabilis* à ses deux états plancton et biofilms. Les valeurs CMB et CMEB pour la ciprofloxacine ont diminué environ 6000 fois et 10 fois, en variant les valeurs du pH de 5 à 9, respectivement. Également, le taux de destruction des 3 agents été plus rapide à pH 7, pH optimal de croissance bactérienne. A pH 5, la norfloxacine s'est avéré inefficace contre le biofilm de *Proteus mirabilis* testé a des concentrations allant jusqu'à 200 mg/L. Aussi, la sensibilité bactérienne aux fluoroquinolones a remarquablement augmenté avec le pH.

Selon Irwin *et al.*, le pH a eu des effets sur l'absorption, l'état d'ionisation et donc la capacité des quinolones à atteindre leur cible intracellulaire. Les pH alcalins augmentent

l'activité bactéricide et bactériostatique des quinolones contre le plancton et biofilm de *P. mirabilis*, justifiant l'utilisation de ces agents pour le traitement des infections de cathéter urinaire.

Les résultats de **Timmers et Sternglanz (1978)** suggèrent que la liaison de la norfloxacin, analogue d'acide nalidixique, à l'ADN dépend du pH et de la Force ionique ; La liaison de la norfloxacin à l'ADN plasmidique a un pH optimum compris entre 4,5 et 6,5. Elle diminue fortement lorsque le pH augmente ou diminue. La liaison de la norfloxacin est inhibée par l'augmentation de la concentration du sel également.

L'effet du pH sur l'activité des antibiotiques a été très peu étudié au passé. Le tableau 16 est une synthèse réalisée par **Thomas, (1962)**. Cette synthèse récapitule l'effet du pH sur l'activité de quelques antibiotiques à usage habituel :

**Tableau 16.** Effets du PH sur l'activité de quelques antibiotiques (**Thomas, 1962**).

<b>Antibiotique</b>	<b>Bactérie</b>	<b>Constatation significative</b>
<b>Sulfanilamide</b>	<i>Divers</i>	Plus efficace dans les urines alcalines (PH alcalin)
<b>Sulfathiazole</b>	<i>Staphylococcus faecalis</i> <i>E. coli</i>	Plus efficace à PH 5.5 qu'à PH 7.2
<b>Pénicilline</b>	<i>Divers</i>	Plus efficace à PH 5 qu'à PH 7
<b>Streptomycine</b>		Moins efficace à PH 5 qu'à PH7
<b>Pénicilline</b>	<i>S. aureus</i>	Moins efficace lorsque le PH augmente de 7.5 à 7.7
<b>Streptomycine</b>	<i>S. aureus</i> <i>E. coli</i>	Plus efficace lorsque le PH passe de 5.3 à 7.3
<b>Chloramphénicol</b>	<i>S. aureus</i> <i>E. coli</i>	Moins efficace à PH 6.6, meilleur à des valeurs de PH plus élevées et plus basses
<b>Streptomycine</b>	<i>Divers</i>	Plus efficace en milieu alcalin
<b>Streptomycine</b>	<i>E. coli</i> <i>P. vulgaris</i>	Plus efficace en milieu alcalin
<b>Nitrofurantoïne</b> <b>Streptomycine</b>	<i>Divers</i>	L'activité a été meilleure dans les conditions acides

Les travaux réalisés jusqu'aujourd'hui ouvrent un champ large de perspectives afin de comprendre l'effet du stress sur molécules antibactériennes utilisées en thérapeutique. Il est également important de signaler l'absence d'une corrélation logique entre l'évolution du stress et son effet sur l'interaction bactérie-antibiotique. Ce qui est peut-être dû à la grande diversité des modes d'action des molécules antibactériennes et à la diversité de leurs cibles spécifiques.

Malgré l'importance de ce champ de recherche et l'émergence constante des résistances aux antibiotiques, ce thème reste très peu étudié par les scientifiques. Une compréhension plus profonde de l'effet du stress sur les bactéries pathogènes et sur les antibiotiques une fois au site de l'infection est nécessaire pour l'élaboration de plans thérapeutiques plus efficaces. De plus, une meilleure compréhension des modalités de réponse bactérienne aux stress et l'effet de ce dernier sur les structures chimiques des antibiotiques et leurs récepteurs bactériens respectives est un champ à découvrir.

# **Conclusion**

## **Conclusion**

Le comportement des microorganismes dans un environnement dépend fortement des propriétés de ce dernier. En effet, les antibiogrammes sont généralement réalisés dans des conditions standards, négligeant les propriétés du site de l'infection à partir duquel l'agent infectieux a été isolé. Les urines, ciblées comme site d'infection dans ce travail, ont des propriétés abiotiques souvent différentes de celles que l'on rencontre dans un antibiogramme conventionnel. Ainsi, nous avons clairement démontré que les résultats fournis par un antibiogramme réalisé vis-à-vis d'un germe responsable d'IU ne sont pas toujours fiables une fois appliqués au site de l'infection. De ce fait, il est primordial d'approfondir le peu de connaissances actuelles sur l'interaction bactérie-antibiotique dans des environnements simulant la réalité abiotique complexe du site d'action dans l'organisme.

Puisque l'activité de certains antibiotiques est altérée dans des conditions de stress au niveau du site d'action, l'antibiothérapie des infections en général, et particulièrement les infections urinaires, ne donnent pas de résultats stables d'un patient à un autre, même pour un germe commun. D'autres études sont, donc, nécessaires afin de mieux comprendre les conditions abiotiques des différents sites d'action des antibiotiques dans le corps humain, mais aussi leur effet sur la réponse bactérienne une fois en place. D'autres investigations visant à comprendre la réponse bactérienne aux variations des conditions du site de l'infection et leurs effets sur la bactérie et l'antibiotique sont nécessaires afin d'instaurer une antibiothérapie plus efficace au futur.

# **Références Bibliographiques**

## Références bibliographiques

**AFSSAPS.** (2008). Recommandation de bonne pratique : Diagnostic et Antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires chez l'adulte. p4

**Anglaret X. et Mortier E.** (2002). Maladies infectieuses. 3eme édition.

**Anonyme.** (2006). Larousse médical. Ed. Larousse, Paris, 1219p.

**Asselineau J. et Zalta JP.** (1973). Les antibiotiques ; structure et exemples de mode d'action. Herman, Paris. p: 1-2.

**Audenet F., Bruyère F. et Poupréte M.** (2015). Urologie : infection urinaire de l'enfant et de l'adulte. 3eme édition. P139-140

**Bauernfeind A.** (1983). In vitro activity of ciproflaxacin, norfloxacin and nalidixic acid. Eur J Clin microbiol2, 111\_115.

**Beggs WH. et Andrews FA.** (1976) Rôle of Ionic Strength in Salt Antagonism of Aminoglycoside Action on Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa. Journal of Infectious Diseases, 134(5), 500–504.

**Bono MJ. ET Reygeart WC.** (2020). Urinary tract infection. statpearls (internet). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470195/>.

**Bouzenoune F., Boudersa F., Bensaad A., Harkat F. et Siad N.** (2008). Les infections urinaires à Ain M'lila (Algérie). Résistance aux antibiotiques des 239 souches isolées entre 2006 et 2007. Laboratoire central, établissement publique hospitalier d'Ain Mlila, BP f55.

**Bruyere F., Cariou G., Boiteux GP., Hoznek A., Mignard JP., Escaravage L., Bernard L., Sotto A., Soussy SJ., Coloby. et le CIAFU.** (2008). Recommandation du comité d'infectiologie de l'AFU. Généralités, prog urol. p 4-8.

**Bryce A, Hay AD, Lane IF, Thornton HV, Wootton M, Costelloe C, et al.** (2016). Global prevalence of antibiotic resistance in paediatric urinary tract infections caused by Escherichia coli and association with routine use of antibiotics in primary care: Systematic review and meta-analysis. BMJ. 35:i939. [PMCID: PMC4793155] [PubMed: 26801884].

**Burns DA. ET Hamblin T.** (2007). The British Medical Association; Illustrated medical dictionary. Dorling Kindersley. p571. [ISBN : 0-7513-3383-2].

**Coronado MJ, Vargas C., Kunte HJ., Galinski EA., Ventosa A. et Nieto JJ.** (1995). Influence of Salt Concentration on the Susceptibility of Moderately Halophilic Bacteria to Antimicrobials and Its Potential Use for Genetic Transfer Studies. Current microbiology vol. 31. pp. 365-371

**Daghrir R. et Drogui P.** (2013). Les antibiotiques tétracyclines dans l'environnement : un bilan

**Démoré B., Grare M. et Duval R.** (2016). Généralité sur les antibiotiques par voie systémique et principe d'utilisation. P755-789

**Eisenberg ES., Mandel LJ., Kaback HR., et al.** (1984). Quantitative association between electrical potential across the cytoplasmic membrane and early gentamicin uptake and killing in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol.* r; 157:863867.

**Elaine N. et Marieb K.** (2010). Anatomie et physiologie humaines :Le système urinaire ,Adaptation de le 8 eme édition American du Renouveau pédagogique Inc .P1143,1145 ,1153 .ISBN (978-2-7613-3747-2)

**Emonet S., Vandelan C. et Harbarth S.** (2011). Infection urinaire de l'adulte. *Revue suisse.*

**Fagan M, Lindbaek M., Grude N., Reiso H., Romoren M., Skaare D., et al.** (2015). Antibiotic resistance patterns of bacteria causing urinary tract infections in the elderly living in nursing homes versus the elderly living at home: An observational study. *BMC Geriatr.* 15 :98. [PMCID : PMC4523906] [PubMed : 26238248]

**François H., Branadastter A. et Bréchet, A .** (2013). Infection urinaire –Hôpitaux universitaires de Genève (HUG) -DM service de médecine de premier recours .P :03

**Francois J., Eterne T. (2015).**Sensibilite des bacterie aux antibiotique :Les CMI sont complémentaire de l'antibiogramme ,*Revus Francophone des laboratoires* (476),47-61)

**Frederic, J., Elvire, M.k., Audrey, M., Cavallo, J.D.** (2008) ; Les difficultés d'interprétation de l'examen cyto bactériologique des urines, *Revue francophone des laboratoires* ; Vol. 406 : 51-59p.

**Gaudy C. et Buxeraud J.** (2005). Antibiotiques : pharmacologie et thérapeutique. Elsevier SAS. p:14-15.

**Gerber AU.** (2003). Infection simple des voies urinaires : diagnostic, traitement et prophylaxie. *Forum médicale suisse* N°11. p 267-274

**Guyen YN. et Baumard S.** (2012). Tétracyclines. Glycylyclines. Elsevier Masson SAS. Volume15, N°4. p 1-6.

**Hallouët P. et Borry A.** (2009). Mémo-guide de biologie et de physiologie humaine. Elsevier Masson SAS, Paris. p192. [ISBN : 978-2-294-70403-1].

**Hayet C. Amina G.** (2019) facteurs abiotiques et sensibilité /résistance bactérienne aux antibiotiques : impact du pH et de la salinité. Mémoire de fin d'études l'obtention du diplôme master, université Akli Mohan Oulhadj-BOUIRA.

**Irwin NJ., McCoy CP. et Carson L.** (2013). Effect of pH on their vitro susceptibility of planktonic and biofilm-grown *Proteus mirabilis* to the quinolone antimicrobials. *Journal of Applied Microbiology*, 115(2), 382–389.

**Larpent JP. et Sanglier JJ.** (1989). Biotechnologie des antibiotiques. Ouvrage publié avec le concours du centre national des lettres, Paris. p1-10.

**Léone M., Arnaud C., Boisson M., Blanc -Bimar C. et Martin C.** (2000). Infection urinaire nosocomiale sur sonde en réanimation : physiologie, épidémiologie et prophylaxie. 1ere édition p 23-24

**Letertre BC.** (2014). Infection urinaire chez la personne âgée : difficultés du diagnostic microbiologique et impact de la prescription des ECBU pour la prise en charge des personnes âgées au CHU d'Angers. Thèse pour obtention de doctorat en pharmacie.

**Lobel B. et Soussy CJ.** (2007). Les infections urinaires. Springer-Verlag France. p 16. [ISBN-13 : 978-2-287-25172-6].

**Louise M. et Michel F.** (2009).Maneuil d'anatomie et des physiologie humain :Le systhème urinaire ,Edition du renouveau pédagogiqes Ino p :520 ,526, 527 ,528, 529.ISBN (978-2\_8041-0169-5).

**Masi M., Réfregiers M., Pos KM. Et Pagès JM.** (2017). Mechanisms of envelope permeability and antibiotic influx and efflux in Gram-negative bacteria. *Mat Microbiol* 2 :17001. <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2017.1>.

**Matyara F., Kayab A. et Dinçerb Sk.** (2008). Antibacterial agents and heavy resistance in Gram-negative bacteria isolated from seawater, shrimp and sediment in Iskenderun Bay, Turkey. *Science of the Total Environment*. 407, 279-285.

**Mazri R.** (2015). Nouvelle approche des relations structure-activité dans les molécules antibiotiques. Thèse pour obtention de doctorat en chimie théorique et pharmaceutique. Université de Biskra.

**Metri BC., Jyothi P. et Peerapur BV.** (2012). Detection of ESBL in E.coli and K.Pneumoniae isolated from urinary tract infection. *Indian J Nephrol*.22 :401-2. [PMCID : PMC3544071] [PubMed : 23326060].

**Meyrier A.** (2003). Infections de l'appareil urinaire. *Encycl Méd Chir* (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris), Service de néphrologie, hôpital Européen Georges Pompidou. 5 p

**Mou TW.** (1962). Effect of urine ph on the antibacterial activity of antibiotics and chemotherapeutic agents. *The journal of urology*. Vol. 87, No. 6. The Williams & Wilkins Co, USA. p985

**Mouton Y., Binger E., Deboscker Y. et Dubruil L.** (2000). Antibiotique antiviraux anti -infectieux. Édition John libbey Eurotext, Paris. p116.

**Muylaert A. et Mainil J.G.** (2012).Résistance bactérienne aux antibiotiques, leur mécanisme et leur contagiosité.

**Nauciel C. et Vildé JL.** (2005). Principales familles d'antibiotiques et leur mode d'action. Edition : Masson. Paris .49-56p.

**Nickel JC.** (2007). Urinary tract infections and resistant bacteria : Highlights of a symposium at the meeting of the 25th international congress of chemotherapy (ICC)

and the 17th European congress of clinical diseases (ECCMID), Munich, Germany, Rev Urol.p :78-80. [PMCID : PMC1892623] [PubMed : 17592541].

**Pilly E.** (2018). Infection urinaire de l'adulte (connaître la particularité d'infection urinaire au cours de la grossesse). 26eme édition, Alénia plus, Paris. p141-147.

**Quevauvilliers J., Somogyi A. et Fingerhut A.** (2007). Dictionnaire Médical de poche .2eme édition. Elsevier Masson S.A.S, Paris. p 410- 497. [ISBN 978-2-29470129-0].

**Rahal K.** (2017). Les antibiotiques. 2ème édition, Office des publications universitaires. p11.

**Ratzke C. et Gore J.** (2018). Modifying and reacting to the environmental pH can drive bacterial interactions. PloS Biol. 16(3): e2004, p 248.

**Rhoades JD.** (1996) .Salinité :conductivite électrique et solidestotal des Méthode d'analyse se sol : Partie 3Méthode 1996 chimique 5,417-435.

**Rhoades JD.** (1996). Salinity: Electrical conductivity and total dissolved solids. *Methods of soil analysis: Part 3 Chemical methods*, 5, 417-435

**Schulz Ph. DLT., Barry C., Fox MD., Ron E., Polk Pharm D., Fidsa. et Fshea.** (2012). Can the antibiogram be used to assess microbiologic outcomes after antimicrobial stewardship interventions? A critical review of the literature. Reviews of therapeutics, Pharmacology. <https://doi.org/10.1002/j.18759114.2012.01163.x>

**Shapiro ED.** (1992). Infections of urinary tract *Pediatr. Infect. Dis.* 11:165-8.

**Smaili M. et Saadaoui S.** (2020). Interaction bactérie-antibiotique sous stress abiotique : Cas des infections urinaires. MEMOIRE DE FIN D'ETUDESL'OBTENTION DU DIPLOME MASTER, UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA

**Speer BS., Shoemaker NB. et Salyers AA.** (1992).Résistance bactérienne à la tétracycline : mécanisme, transfert et signification clinique. *Revue de microbiologie clinique.* vol 5, n4

**Stanley JT., Gunsalus RP., Lory S. et Perry JJ.** (2007). Biosynthesis of Monomers, Nitrogen Assimilation. *Microbial Life.* Second Edition ed. Sunderland MA: Sinauer associates Inc, 278-282

**Stéphanie F.** (2009).Transfert d'un gène de résistance aux beta-lactamines blaCTX-M-9 entre Salmonella et les entérobactéries de la flore intestinale humaine : influence d'un traitement antibiotique

**Tagajdid MR., Boumhil L., Adnaoui M. et Benouda A.** (2010). Resistance to fluoroquinolones and third generation cephalosporin of Escherichia coli isolated from urines. *Médecine et Maladies infectieuses.* Page 70-73. Volume 40

**Talibi, Y.** (2008). Infections urinaires à l'hôpital Ibn Sina : Expérience de laboratoire de bactériologie, sérologie et hygiène 2006-2007 (Doctoral dissertation).

**Taright SS.** (2006). La prescription en médecine dentaire. Office des publications universitaires. p15. [www.opu-dz.com](http://www.opu-dz.com)

**Thirion DJG. et Williamson D.** (2003). Les infections urinaires : une approche clinique N°5 p246-254.

**Timmers K. et sternglanz R.** (1978). Ionization and divalent cation dissociation constants of nalidixic and oxolinic acids .*bioinorg chem*; 9 :145-155

**Vandepitte J.** (1973). L'antibiogramme. Département de Microbiologie, Hôpital Universitaire St-Raphael. p151.

**Vincent C.** (2012).quinolones : de l'antibiogramme aux phénotypes de résistance. *Revue Francophone des laboratoires* page 79-87.volume 2012versité de lorraine France.

**Vorkauffer S.** (2011). Les infections urinaires communautaires bactériennes de l'adulte : prise en charge thérapeutique. Thèse pour obtention de doctorat en médecine universite Henri Poincaré).

**Yala D., Merad AS., Mohamedi D. et OuarKorich MN.** (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*, 91(1), 5.

**Yang L., Wang K., Li H., Denstedt JD. et Cadieux PA.** (2014). The Influence of Urinary pH on Antibiotic Efficacy Against Bacterial Uropathogens. *Urology*, 84: 731.e1e731.e7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.urology.2014.04.048>

**Zhu M. et Dai X.** (2018). High salt crossprotects Escherichia coli from antibiotic treatment through increasing efflux pump expression. *mSphere* 3 :e00095-18. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00095-18>.

# **Annexes**

## **Annexe 1**

### **Matériel utilisé :**

---

<b>Instrument et appareillages utilisée</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Microscope optique</li><li>- Nageotte.</li><li>- Réfrigérateur</li><li>- Bain marie.</li><li>- Incubateur</li><li>- Etuve (37 C°)</li><li>- Boite de pitre</li><li>- Anse de platine calibré</li><li>- Bec bunsen</li><li>- Bandelette urinaire</li><li>- Pipette de pasteur</li><li>- pH mètre</li><li>- Conductimètre</li><li>- Ecouvillons</li><li>- pince</li></ul>
<b>Réactifs</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Kovacs et TDA</li><li>- Urée indole</li><li>- Disques d'antibiotiques</li></ul>
<b>Les milieux de cultures</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Gélose nutritive</li><li>- Gélose Muller Hinton</li></ul>

---

## **Annexe 2**

### **Compositions du milieu de culture Géllose nutritive :**

Extrait de viande de bœuf... 01g

Extrait de levure..... 02g

Peptone..... 05g

Chlorure de sodium..... 05g

Gélose ..... 15g

pH = 7,4

Eau distillée..... 1000ml

### **Composition du milieu de culture Mueller-Hinton (conventionnel)**

Infusion de viande de bœuf..... 300ml

Peptone de caséine ..... 17,5g

Amidon de maïs ..... 1,5g

Agar..... 10g

pH = 7.4

Eau distillée..... 1000ml

## Résumé

Ici, nous avons étudié l'activité de certains antibiotiques à usage thérapeutique vis-à-vis de trois souches bactériennes isolées de patients souffrant d'infections urinaires (IU). L'objectif en est de déterminer l'effet du pH et de la salinité urinaires sur l'interaction bactérie-antibiotique. Les trois souches, identifiées comme *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* 1 et 2 ont montré des profils différents de sensibilité aux antibiotiques testés. Comme résultat, la sensibilité de la souche *K. pneumoniae* 2 à un même antibiotique change de façon significative selon les conditions du milieu de l'antibiogramme. L'érythromycine, qui semblait être inactif contre *K. pneumoniae* 2 sous conditions conventionnelles, a changé d'activité en simulant l'environnement de l'échantillon urinaire à partir duquel la bactérie a été isolée. Son diamètre d'inhibition passe de 0 mm en condition conventionnelles (aucune activité) à 21.5, 10.5 et 24 mm en modifiant le pH, la CE et les deux en même temps, respectivement. De plus, la souche *E. coli* s'est avérée résistante aux 5 antibiotiques testés quel que soit le milieu utilisé. Il est primordial d'approfondir le peu de connaissances actuelles sur l'interaction bactérie-antibiotique dans des environnements simulant la réalité abiotique complexe du site d'action dans l'organisme.

**Mots-clés :** Traitement, Infection, Médicament, environnement, Microorganismes, Activité inhibitrice

## Abstract

Herein, we studied the activity of certain antibiotics against three bacterial strains isolated from patients suffering from urinary tract infections (UI). The objective was to determine the effect of urinary pH and salinity on the bacteria-antibiotic interaction. The strains, identified as *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* 1 and 2 showed different susceptibility profiles to antibiotics. As a result, the *K. pneumoniae* 2 sensitivity to the same antibiotic significantly changes according to the antibiogram's environmental conditions. Erythromycin, which appeared to be inactive against *K. pneumoniae* 2 under conventional conditions, changed its activity when the urine sample environment was simulated in the antibiogram medium. Its inhibition diameter increases from 0 mm in conventional conditions (no activity) to 21.5, 10.5 and 24 mm when pH, EC and both at the same time were modified, respectively. In addition, the *E. coli* strain was resistant to the 5 tested antibiotics regardless of the used medium. It is essential to deepen the little current knowledge on the bacterium-antibiotic interaction in environments simulating the complex abiotic reality of the target site in the host organism.

**Keywords:** Treatment, Infection, Medicine, environment, Microorganisms, Inhibitory activity

## ملخص

هنا، درسنا نشاط بعض المضادات الحيوية ضد ثلاث سلالات بكتيرية معزولة عن مرضى يعانون من التهابات المسالك البولية (UI). كان الهدف من تحديد تأثير درجة الحموضة البول وملوحته على التفاعل بين البكتيريا والمضادات الحيوية. أظهرت السلالات، والتي تم تعريفها على أنها *Escherichia coli* و *Klebsiella pneumoniae* 1 و 2 حساسية مختلفة للمضادات الحيوية. ونتيجة لذلك، فإن حساسية *K. pneumoniae* 2 لزينس المضاد الحيوي تتغير بشكل كبير ونقياً للظروف البيئية للمضاد الحيوي. الريبتروميسين، الذي بدا أنه غير فعال ضد *K. pneumoniae* 2 في ظل الظروف التقليدية، تغير نشاطه عندما تم محاكاة بيئة عينة البول في وسط المضاد الحيوي. حيث تغير قطر التثبيط من 0 مم في الظروف التقليدية (بدون نشاط) إلى 21.5 و 10.5 و 24 مم عندما تم تعديل حموضة أو ملوحة الوسط أو كلاً منهما في نفس الوقت، على التوالي. بالإضافة إلى ذلك، أظهرت السلالة *E. coli* مقاومة للمضادات الحيوية الخمسة المدخلة بغض النظر عن الوسط المستخدم. من الضروري تعميق المعرفة الحالية حول تفاعل البكتيريا والمضادات الحيوية في البيئات التي تحاكي الواقع المعقد لموقع العلاج المستهدف في الجسم.

المضيق. الكلمات المفتاحية: العلاج، العدوى، الطب، البيئة، الكائنات الدقيقة، النشاط

التثبيطي