

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة غرداية

Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie et Sciences
de la Terre



كلية علوم الطبيعة والحياة
وعلوم الأرض
قسم البيولوجيا

Département de Biologie

Université de Ghardaïa

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de
Master académique en Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie Appliquée

THEME

**Examen cyto bactériologique des urines (ECBU)
pratiqué à l'hôpital d'EL MENEAA**

Présenté par

DADDA Cherifa

BEN SAFIA Karima

Membres du jury	Grade		
BELGHIT Saïd	Maitre-Conférence B	Univ- Ghardaïa	Président
BOURAS Nour dine	professeur	Univ- Ghardaïa	Encadreur
HAMIDOUJANA Aicha	Maitre-Assistant A	Univ- Ghardaïa	Examineur

Mai 2017

Dédicace

A Mes chers

Pour leur amour, leur soutien et leur lumière. Merci pour tout, ce que vous m'avez donné pour contribuer à notre épanouissement et construire mon avenir.

Je n'ignore rien des sacrifices que vous m'avez assuré par la grâce de Dieu une bonne éducation. Vous m'avez inculqué l'amour du prochain, le sens du travail, de la responsabilité, et du goût de la réussite.

C'est pourquoi aujourd'hui ce travail vous revient dans toute son intégralité. Je vous dédie mes très chers parents ce modeste présent, fruit de vos prières, de votre soutien sans faille, de vos sacrifices et de vos encouragements.

A mes chers frères Abde Alsamad, Ataf, Bilal, Abde Alhadi, et Krime et *Mes chère Sœurs* Imane Safia, Aziza, et Souad.

AU mari de mes chers frères Kaltoum et Assma

A ma chère enfants Abde Almonime, Rahile, Abde Alkadar, et Fatima, Moade, Sarah, Abde Albaki, et Abde Alghafore.

Entre nous les mots n'ont pas leur place. Je souhaite simplement que Dieu nous accorde longue vie et une bonne santé pour que nous puissions cheminer ensemble sur la route du destin avec amour, respect mutuel, solidarité comme nous l'ont enseignés nos parents.

Pour prendre ma main mes oncle Fradje et Mohamed.

A ma sœur Karima BEN SAFIA et Assia.

A toute ma famille DADDA

A mes amies Sara, Mabouka, Ymina B, Sohayla, Nadia, Raja, Sadia, Naoul, Khadija, Hanane, Kaltoume et Yamina L, Khayra, Djamila, Amina L, Karima, Marieme, Assma, Bahia, Imane, Zohra.

N'oublié pas la groupe sportif de résidence universitaire et le chef de groupe Bouamar Bouhafsse

A MOUSTAFA KAHALAINO

Tous mes camarades de promotion, en souvenir des bons moments passés ensemble.

A tous mes enseignants au cours de notre cursus. Profonde Gratitude.

A tous ceux ou celles qui me sont chers et que j'ai omis de citer.

A toute personne qui j'aime.

A toute personne ayant participé de près ou de loin à la réalisation de notre travail trouve ici l'expression de notre profonde sympathie.

Cherifa DADDA

Dédicace

Dieu est pas content, mais la nuit par vous et un plaisir de jour bienfaisance remerciant mais pas mes meilleurs moments remilitariser pas au-delà parfumée mais rémission paradis parfumé non seulement de vous voir Dieu Tout-Puissant

Pour frapper le message du Secrétariat a informé la nation au Prophète de la miséricorde et de la lumière des mondes Prophète Muhammad, paix soit sur lui

Je apporter de mon nom avec fierté oh tu me manques depuis l'enfance Oh vacillante de mon cœur
mon père

Pour la main pur qui a retiré les épines de la route en face de nous Lignes peintes et l'avenir d'espoir et de confiance D'offres agenouillé devant ses pieds Et il nous a de son sang et son âme et son amour, la détermination et l'élan donné à demain plus beau

Cher à l'espoir que nous ne voyons pas seulement les yeux de **ma mère** bien-aimée

Mourad Pour mon frère et compagnon de chemin et cette vie

Flours Narcisse au débordement de l'amour et de la pureté de l'enfance et de parfum Chaudières, qui ma sœur **Fatima** et **Nacira** encore Hristibn sur les premières sœurs tiroirs époque

Pour jumeau spirituel et compatriote chemin. Son cœur aux bonnes et sincères intentions Pour ceux qui m'a accompagné depuis que nous faire des petits sacs et parcouru le sentier avec vous **Assia** étape par étape et d'accompagner encore moi jusqu'ici ma soeur

Zohra Pour Code de tendresse à la mère de toutes les personnes ma grand-mère cher

De qui a grandi sur le sens de la vie, je appris d'eux de ne pas Ladrerie à de tendresse et de la compassion et de leurs conseils à ma tante **Fatna** et **Halima**.

Pour prendre ma main et de tirer espère chaque marche de l'étape mes oncles :**Ahmed, Abdelallah, Abdelrahman, Abdelaziz, Houcin, Abdelkarim, Mohammed**

Code à la tendresse et de l'optimisme dans la maison pour nettoyer rire à Vénus au jeune fils de ma tante **Halima Abdelkhalik**.

Poure les grande amis :**Djamila, Saida, Naoel, Chérefa**

Pour mes amis qui habitent leurs images et les voix les plus beaux moments et les jours que je l'ai vécu.

Pour la Faculté des sciences de la nature et de la vie.

Pour tous ceux qui m'a aidé dans la réalisation de ce travail ... mes sincères remerciements et de gratitude

BENSAFIA Karima

Remerciement

D'abord je remercie *Dieu* le tout puissant de m'avoir donné courage, santé, souffle et patience pour accomplir ce travail.

A mon Maître et l'encadreur de la mémoire : Dr. BOURAS Noureddine.

La chance que vous m'avez donnée en me confiant ce travail.

Nous tenons aussi à remercier chaleureusement notre promoteur Madame GHAZAWI Fatima, mine de savoir et d'expérience, pour son grand soutien au travail.

Aux membres du jury :

A mon Maître et Président du jury : BELGHIT Saïd, qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de mémoire.

A mon Maître et Examineur : HAMIDOUJANA Aïcha

Vous me faites un grand honneur en acceptant de faire partie de mes jurys de mémoire. Soyez assuré de ma profonde gratitude et respectueuse considération pour le soutien important apporté à ce travail.

Nous n'oublierons pas de remercier chef de laboratoire de HASSI EL-Gara EL-HAMALE, pour les efforts qu'ils ont fournis durant notre travail afin de nous amener jusqu'au bout de la mémoire.

A tout le personnel du service de laboratoire bactériologie HASSI EL-Gara particulière Aïcha et au EPH EL MENEAA, maitres, biologistes.....ayant eu la gentillesse de consacrer de leur temps pour répondre à nos questions. Merci.

Grand remerciement pour tous les enseignants de département des sciences de la nature et de la vie GHARDAIA.

Enfin, grands merci à nos familles respectives et nos amis qui nous ont aidés.

Nous profitant de l'occasion pour remercier tous ceux qui ont collaboré de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.



Liste des Figures

Figure	Titre	Page
1.	Schéma d'ensemble de l'appareil urinaire	02
2.	Structure et morphologie bactérienne	07
3.	Structure de la paroi de Gram positif	08
4.	Structure de la paroi de Gram négatif	09
5.	Carte géographique de wilaya d'ELMENEAA	12
6.	Schéma représente la lame de Malassez	15
7.	Le dénombrement des colonies sur le milieu de culture gélose nutritive à 37°C après 24 heures	16
8.	Plaque galerie Api 20E	19
9.	La distribution des disques d'ATB sur milieu MH	21
10.	La répartition graphique selon le sexe des patients des infections urinaires signalées au niveau de l'hôpital d'El Ménéaa	23
11.	Répartition graphique des infections urinaires selon la tranche d'âge	24
12.	Répartition des infections urinaires selon le sexe à partir du tranche d'âge	24
13.	Identification des colonies d' <i>Escherichia coli</i> sur géloses BCP	25
14.	Identification biochimique de galerie AP20E : d' <i>E. coli</i>	25
15.	Les colonies de <i>Proteus mirabilis</i> sur gélose nutritive	26
16.	Identification biochimique de galerie AP20E : <i>Proteus mirabilis</i>	26
17.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> sur gélose nutritive	26
18.	Identification biochimique de galerie AP20E : <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27
19.	<i>Klebsiella</i> sur milieu nutritive	27
20.	<i>Staphylococcus aureus</i> sur milieu Chapman	27
21.	Les résultats de test de catalase	28
22.	Le résultat positif de test de coagulase	28
23.	Répartition des infections urinaires selon les espèces bactériennes isolées à partir des 60 ECBU considérés comme positifs.	29
24.	Répartition des <i>Escherichia coli</i> entre les femmes et les hommes	29
25.	Répartition des <i>Proteus mirabilis</i> entre les filles et les garçons	30
26.	Répartition des <i>Pseudomonas aeruginosa</i> entre les femmes et les hommes	30
27.	Répartition des <i>Staphylococcus aureus</i> entre les femmes et les hommes	31
28.	Représentation graphique de taux de résistance de l' <i>Escherichia coli</i>	32

29.	Représentation graphique de taux de résistance de <i>Proteus mirabilis</i>	32
30.	Représentation graphique de taux de résistance de <i>pseudomonas aeruginosa</i>	33
31.	Représentation graphique de taux de résistance de <i>Staphylococcus aureus</i>	33

Liste des Tableaux

Tableau	Titre	Page
1.	Principe espèce bactériennes responsables de l'infection urinaire	09
2.	L'indice de fréquence des germes dans milieu hospitalier et extrahospitalier	10
3.	La composition des milieux de culture	11-12
4.	Interprétation de quantité des éléments par des cotations	16
5.	Tableau de lecture de résultats de plaque galerie Api 20 ^E	19-20
6.	Charges des antibiotiques testés et caractérisation des diamètres de la zone d'inhibition	22

Liste des abréviations

ADH :	Arginine Dihydrolase.
AMC :	Amoxicilline +Acide clavulanique (Augmentin).
AMP :	Ampicilline
AMX :	Amoxicilline
Api 20E :	Analytical Profile Index 20 Essai.
ATB :	Antibiotique.
BCP :	Bromocrésol pourpre.
BHIB :	Bouillon cœur cerveau (Brain Heart Infusion Braeth)
CIP :	Ciprofloxacine
CIT:	Citrate
CL :	Céphalaxine
GN :	Gentamicine
CTX :	Cefotaxime
Cup :	Cupule
ECBU :	Examen Cytobactériologique des Urines
EPH :	Etablissement Public Hospitalier
GEL :	Gelatine.
GN :	Gélose Nutritive
H ₂ S :	Hydrogène Sulfuré.
IND :	Indole
IU :	Infection Urinaire.
LDC :	Lysine décarboxylase
MH :	Mueller Hinton
NO :	Nitroxoline
ODC :	Ornithine décarboxylase
SXT :	Cotrimoxazole (Triméthoprime+ sulfaméthoxazole)
TDA:	Tryptophane désaminase.
TP :	Taux de prothrombine
UFC :	Unité Formant Colonie
URE:	Urée
VP :	Voges Proskauer

Sommaire

Remerciement	ii
Liste des Figures.....	iii
Liste des Tableaux.....	v
Liste des Abréviations.....	vi

INTRODUCTION 01

Chapitre 01: SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. 1. URINE..... 02

1. 1. Appareil urinaire.....	02
1. 2. Anatomie de l'appareil urinaire.....	03
1. 2. 1. Haut appareil urinaire.....	03
1. 2. 2. Bas l'appareil urinaire.....	03
1. 2. 2. 1. Vessie.....	03
1. 2. 2. 2. Urètre.....	03
1. 3. Formation des urines.....	03
1. 3. 1. Définition de l'urine.....	03
1. 3. 2. Formation de l'urine.....	03
1. 4. Caractéristiques de l'urine.....	04
1. 5. Défense naturelle des voies urinaires	05

I. 2. INFECTION URINAIRE.....05

I. 2. 1. Définition.....	05
I. 2. 2. Classification d'infection.....	05
I. 2. 2. 1. Infection simple.....	05
I. 2. 2. 2. Infection compliqué.....	06
I. 2. 3. Types d'infection.....	06
I. 2. 3. 1. Cystite.....	06
I. 2. 3. 2. Urétrite.....	06
I. 2. 3. 3. Pyélonéphrite.....	06
I. 2. 4. Symptômes d'infection.....	06

I. 3. BACTERIES RESPONSABLES D'INFECTION.....07

I. 3. 1. Définition des bactéries.....	07
I. 3. 2. La paroi (Gram positif et négatif).....	07
I. 3. 3. Classification.....	09

Chapitre 02 : MATERIEL ET METHODES

II. 1. Matériel11

II. 1. 1. Milieu de culture.....11

II. 2. Méthodes.....12

II. 2. 1. Le lieu de stage.....	12
II. 2. 2. Période d'étude.....	13
II. 2. 3. Condition de prélèvement.....	13
II. 2. 4. Condition de transport.....	13
II. 3. Examen macroscopique.....	14
II. 4. Examen microscopique.....	14
II. 5. Examen cytologique.....	14
II. 6. Examen bactériologique.....	16
II. 6. 1. Identification des bactéries.....	17
II. 6. 2. Test d'orientation.....	17
II. 6. 2. 1. Coloration de Gram.....	17
II. 6. 2. 2. Mise en culture.....	17
II. 6. 2. 3. Test de catalase.....	17
II. 6. 2. 4. Test de coagulase.....	18
II. 6. 3. Identification biochimique.....	18
II. 6. 3. 1. Galerie API 20E.....	18
II. 7. Antibiogramme.....	21

Chapitre 03 : RESULTATS ET DISSCITION

III. 1. Résultats

III. 1. 1. Répartition des infections urinaires selon le sexe des patients.....	23
III. 1. 2. Répartition des infections urinaires selon la tranche d'âge des patients	24
III. 1. 3. Isolement et identification des souches bactériennes isolées par galerie API 20E.....	25
III. 1. 4. Isolement et identification des souches de <i>Staphylococcus aureus</i>	27
III. 1. 5. Identification bactériologique	28
III. 1. 6. Répartition des souches bactériennes selon le sexe des patients.....	29
III. 1. 7. Etude de sensibilité des germes isolent aux antibiotiques.....	31
III. 1. 8. Représentation de taux de résistance de l' <i>Escherichia coli</i>	32
III. 1. 9. Représentation graphique de taux de résistance de <i>Proteus mirabilis</i>	32
III. 1. 10. Représentation de taux de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	32
III. 1. 11. Représentation de taux de résistance de <i>Staphylococcus aureus</i>	33
III. 2. Discussion.....	34

CONCLUSION.....38

REFERENCES BIBLIOGRAPHIES39

Annexes

Résumé/Abstract/ملخص

Introduction

L'incidence annuelle moyenne du diabète insulino-dépendant chez l'enfant, est passée de 4,4 au cours de la décennie 80, à 6,7 pour 100000 habitants dans les années 90. la prévalence du diabète non insulino-dépendant est estimée à 7% chez les sujets âgés entre 30 et 64ans (Kouta, 2009).

Une incidence accrue des infections urinaires a été observé récemment dans la région d'EL MENEAA. Depuis des années, les infections urinaires constituent un problème de santé publique en considérant leurs couts au diagnostics et leurs traitement à partir des antibiotiques qui sont des substances naturelles ou de produits chimiques capable d'inhiber la multiplication des germes microbiens (bactériostatique) ou même de les détruire (bactéricide).

Cela explique que, L'ECBU (Examen Cyto-bactériologique des Urines) soit une des analyses microbiologiques les plus demandées. Son apparente simplicité d'exécution ne doit pas faire oublier qu'il convient de respecter toute les étapes et les conditions d'une méthodologie rigoureuse.

Les objectifs de cette étude sont principalement:

- étudier la répartition des infections urinaires;
- diagnostiquer les infections urinaires par la technique d'ECBU;
- isoler et identifier des germes les plus fréquemment isolés au niveau du laboratoire d'analyse bactériologique à partir les urines analysées au niveau de l'hôpital d'El Ménéaa;
- déterminer la sensibilité et la résistance aux antibiotiques de ces bactéries isolées.

La première partie de ce travail donne des informations globales sur les infections urinaire bactériennes rencontrées au niveau de l'hôpital d'El Ménéaa, ainsi que leurs principaux agents causals.

Ensuite, la présentation de la méthodologie adoptée, sera abordée dans une deuxième partie.

La troisième partie est consacrée à la discussion des principaux résultats obtenus et les comparer avec les autres études précédentes; et le travail se termine par une conclusion.

Chapitre 01 :

Synthèse

Bibliographique

Introduction

Les bactéries peuvent coloniser la vessie ou remonter les uretères et coloniser même le parenchyme rénal. L'ensemble de l'appareil urinaire est stérile, à l'exception de l'urètre (dans sa partie la plus externe); les bactéries vont donc provenir de la flore fécale, périnéale ou cutanée vulvaire de la femme. Les bactéries vont devoir remonter à contre-courant du flux urinaire normal, ce phénomène est favorisé par une anomalie de l'arbre urétral, un flux urinaire ralenti, ou une stagnation de l'urine dans la vessie; mais aussi par une pathogénicité bactérienne (par la présence de pili, capsules polysaccharidiques, endotoxines, uréase, etc.) qui augmente le pH urinaire (Brouard, 2011).

I. URINE

1. 1. Appareil urinaire

Le rôle apparent de l'appareil urinaire (Figure 1) est de produire l'urine et de la stocker avant son élimination, et donc il a principalement le rôle de purifier le sang et de maintenir l'homéostasie du sang (milieu intérieur) (Hugues, 2010).

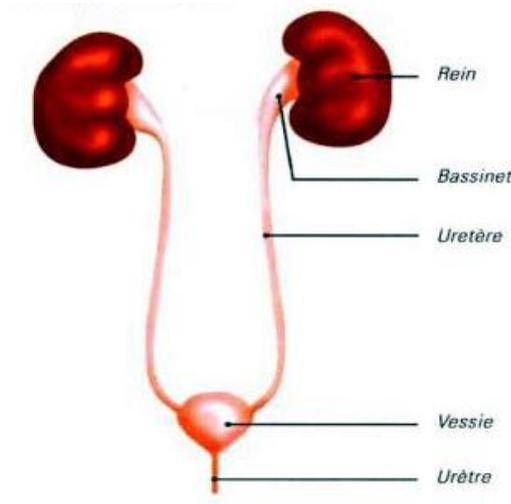


Figure 1. Schéma d'ensemble de l'appareil urinaire (Hugues, 2010).

1.2. Anatomie de l'appareil urinaire

1. 2. 1. Haut appareil urinaire

1. 2. 1. 1. Reins

Chaque rein a la forme d'un haricot à hile interne, au niveau du quel cheminent les vaisseaux rénaux (artères et veines), et le bassinet qui se poursuit vers le bas par l'uretère (Ben rais et Ghfir, 2002; Douadi, 2014).

1. 2. 1. 2. Uretères

Chacun des deux uretères transporte l'urine du bassinet d'un rein jusqu'à la vessie (Douadi, 2014).

1. 2 .2. Bas appareil urinaire

1. 2. 2. 1. Vessie

Elle situe dans la cavité pelvienne (derrière le pubis), est un lieu de stockage provisoire des urines. Elle a une fonction de réservoir et d'évacuation. C'est une poche rétractile, plus ou moins sphérique (Douadi, 2014).

1. 2. 2. 2. Urètre

C'est le conduit qui sert à évacuer les urines vésicales vers l'extérieur du corps humain. Il est entouré à son origine par un sphincter externe. Chez la femme, il mesure 3 à 4 cm et chemine sur la face antérieure de la cavité vaginale. Chez l'homme, sa longueur est d'environ 14 cm (Ben rais et Ghfir, 2002).

1. 3. Formation des urines

1. 3. 1. Définition d'urine

L'urine est un liquide sécrété par les reins. Ils doivent filtrer environ 1,2 L/min (litre de sang par minute), ce qui équivaut à 1 728 litres de sang par jour. Cette filtration est réalisée dans les glomérules qui sont de petites unités de filtration (URL 1).

1. 3. 2. Formation de l'urine

Elle s'effectue en 3 étapes principales :

1- Filtration glomérulaire

Le glomérule filtre le sang et les grosses molécules grâce à une membrane sélective et donne l'urine primitive (qui se compose de sucres, d'eau, de sel minéraux et d'acides aminés). Sur 180 litres de sang filtré, seulement 1,5 litre d'urine primitive a pu être formé (URL 2).

2- Réabsorption tubulaire

La réabsorption et la sécrétion tubulaires sont des processus qui se produisent au niveau des néphrons et forment, avec la filtration glomérulaire, les processus rénaux de base (URL 3).

3- Ajustement tubulaire

Une fois que l'urine aura parcourue le néphron, elle va finir sa modification et donner l'urine définitive. Puis, elle passera dans les uretères, la vessie pour être évacuée par l'urètre au moment de la miction (URL 2).

1. 4. Caractéristiques de l'urine

Les principaux constituants sont :

- L'eau : environ 950 grammes/litre (95% d'eau);
- Des molécules organiques : urée (20 g/L) issu de la dégradation des acides aminés, acide urique (3%);
- Des ions minéraux : Na^+ , K^+ ; phosphates, chlorures en concentration variable selon l'importance de leur apport dans l'alimentation.

L'urine concentre les déchets du métabolisme, et l'urée et l'acide urique sont les métabolites les plus concentrés dans l'urine. Certains déchets très toxiques sont présents dans l'urine comme l'ammoniaque.

Tout trouble dans le fonctionnement des reins entraîne des problèmes de santé comme:

- Un excès d'urée (qui est un signe d'urémie);
- La présence d'albumine (ou albuminurie) traduit un mauvais fonctionnement rénal;
- La présence de glucose dans l'urine est signe de glycosurie (Laurent, 2009).

1. 5. Défenses naturelles des voies urinaires

En principe, l'urine est stérile; elle contient de l'eau (à 96 %), des sels et des composants organiques, mais est exempte de micro-organismes. Le système urinaire possède de nombreuses défenses contre les infections bactériennes:

- le flot urinaire expulse les bactéries et rend plus difficile leur ascension vers la vessie et les reins;
- l'acidité de l'urine (pH < 5,5) inhibe la croissance bactérienne;
- la forme des uretères et de la vessie prévient le retour de l'urine vers les reins;
- le système immunitaire en général lutte contre les infections;

I. 2. INFECTION URINAIRE

I. 2. 1. Définition

L'infection urinaire (UI) c'est la présence d'un germe pathogène dans l'urine en présence d'une symptomatologie compatible. Les infections urinaires peuvent être localisées dans les voies urinaires basses (cystite, urétrite, prostatite et épидидymite) ou hautes (pyélonéphrite ou pyéélite) (AFSSAPS, 2008).

I. 2. 2. Classification d'infection

Pour décrire l'IU, il faut simplement utiliser les qualificatifs : simple ou compliquée.

I. 2. 2. 1. Infections urinaires simples (non compliquées)

Seules peuvent être qualifiées de simples, l'IU de la femme n'ayant aucun terrain particulier, aucune maladie associée et aucune anomalie organique ou fonctionnelle de l'arbre urinaire (AFSSAP, 2008).

- Cystite simple chez la femme non ménopausée et non enceinte;
- Pyélonéphrite aiguë chez la femme non enceinte;
- IU récidivantes de la femme, pendant la grossesse, chez les femmes ménopausées; ou chez le jeune homme (AFSSAP, 2008).

I. 2. 2. 2. Infections urinaires compliquées

Il s'agit d'une IU survenant chez un patient ayant au moins un facteur de risque pouvant rendre l'infection plus grave et le traitement plus complexe (AFSSAP, 2008); et les symptômes sont en général présents durant 7 jours ou plus (Djedid et *al.*, 2010).

L'IU compliquées touche surtout les hommes, les patients âgés, les femmes enceintes, les personnes atteintes du diabète, de l'immunosuppression, de l'insuffisance rénale, les personnes atteintes d'infection nosocomiale, les patients récemment opérés ou antibiothérapie récente (Djedid et *al.*, 2010).

I. 2. 3. Types d'infection

I. 2. 3. 1. La cystite

C'est une forme d'infection plus courante du bas de l'appareil urinaire (urètre et vessie). Il s'agit de l'inflammation de la vessie. Elle touche presque uniquement les femmes. La plupart du temps, l'inflammation est provoquée par la prolifération de bactéries intestinales de type *Escherichia coli* (Djedid et *al.*, 2011).

I. 2. 3. 2. L'urétrite

L'urétrite touche uniquement l'urètre (le conduit qui relie la vessie au méat urinaire). Il s'agit d'une IST (Infection Sexuellement Transmissible) courante chez les hommes, mais les femmes peuvent aussi en souffrir. Différents agents infectieux peuvent causer l'urétrite. Les plus communs sont la chlamydia et le gonocoque (la bactérie responsable de la gonorrhée) (Guyalbert, 2008)

I. 2. 3. 3. La pyélonéphrite

La pyélonéphrite est un état plus grave, elle désigne l'inflammation du bassinet et du rein (le haut de l'appareil urinaire). Celle-ci résulte habituellement d'une infection bactérienne. Il peut s'agir d'une complication d'une cystite (non ou mal traitée) qui permet la prolifération des bactéries de la vessie vers les reins (Guyalbert, 2008)

I. 2. 4. Les symptômes d'infection urinaire

Les symptômes les plus communs sont des douleurs ou des brûlures au moment d'uriner; une fréquence anormalement élevée de mictions durant le jour (parfois le besoin d'uriner survient aussi la nuit), un sentiment persistant d'avoir besoin d'uriner, des urines

troubles qui dégagent une odeur désagréable, une pression dans le bas-ventre, et parfois du sang dans l'urine .

Dans le cas d'une infection des reins, on remarque des douleurs lombaires, des frissons, de la fièvre et des vomissements.

Chez les enfants, l'IU se traduit aussi par de l'énurésie (pipi au lit) et aussi par des plaintes (douleurs) ou des pleurs au moment d'uriner (URL 5).

I. 3. BACTERIES RESPONSABLES D'INFECTION

I. 3. 1. Définition des bactéries

Les bactéries sont des micro-organismes, c'est-à-dire des cellules procaryotes unicellulaires (Figure 2) qui possèdent les éléments essentiels à la vie cellulaire. La taille varie généralement entre 1 et 10 μm . elles sont visible au microscope optique (Pierre et Marie, 2003).

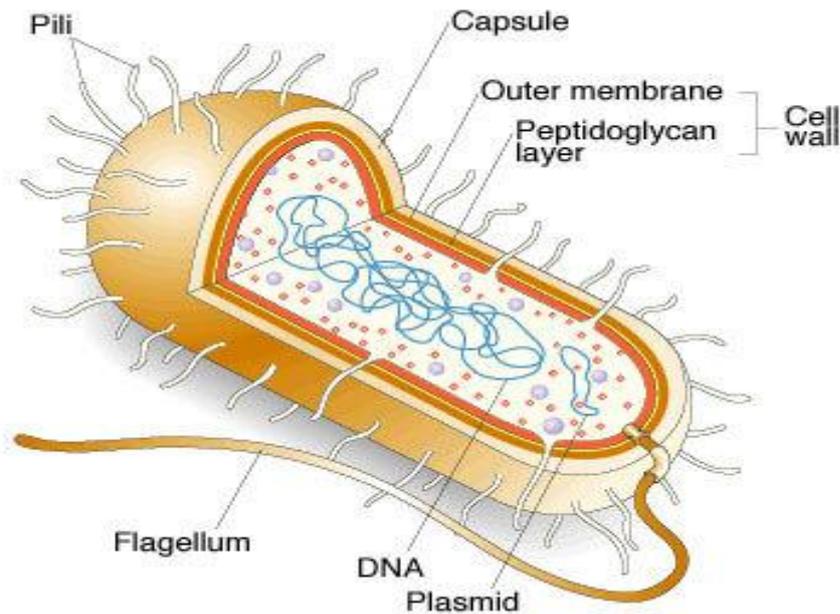


Figure 2. Structure et morphologie bactérienne (URL 6).

I. 3. 2. La paroi (Gram positif et négatif)

La paroi est une enveloppe caractéristique de la cellule procaryote. La paroi rigide est un véritable exosquelette qui confère à la cellule sa forme osmotique interne (Figarella *et al.*, 2010).

Les bactéries sont entourées par une paroi complexe, différente selon que la bactérie est à Gram positif ou négatif. De nombreuses bactéries possèdent des flagelles, des pili, ou une capsule à l'extérieur de la paroi. Aussi bien les bactéries à Gram positif que les bactéries à Gram négatif ont une membrane cytoplasmique formée d'une bicouche lipidique associée à des protéines. Dans les deux cas, le composant principal de structure de la paroi est le peptidoglycane, un réseau tridimensionnel des chaînes polysaccharidiques (composées de N-acétylglucosamine et d'acide N-acétylmuramique) et d'autres acides aminés (Tony et Paul, 2003).

Chez les bactéries à Gram positif, la paroi est constituée presque exclusivement de la couche de peptidoglycane, à laquelle sont associés des polymères d'acide téichoïque (Figure 3).

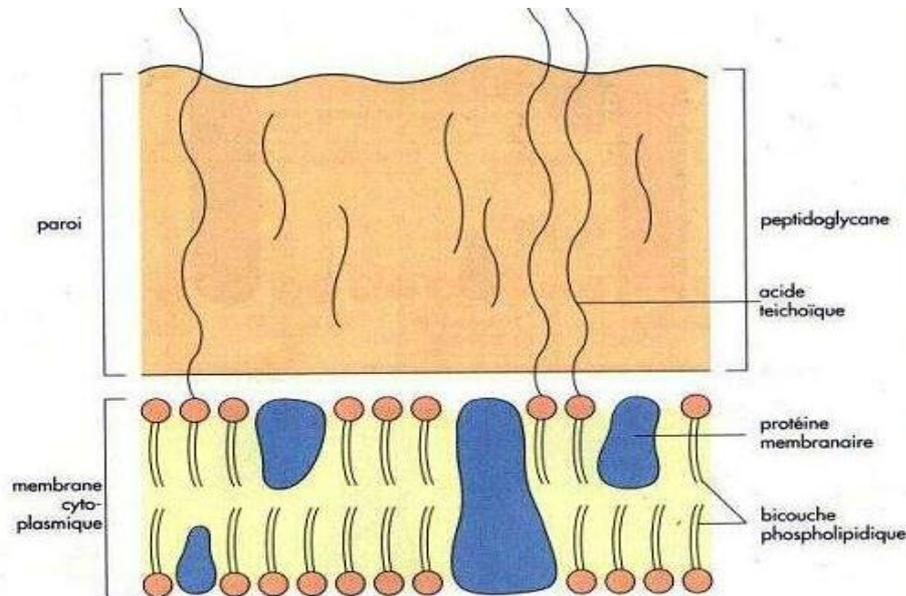


Figure 3. Structure de la paroi à Gram positif (Tony et Paul, 2003).

Chez les bactéries à Gram négatif, le peptidoglycane est plus fine que celle des Gram positif, et elle est entourée par une membrane externe composée de lipo-polysaccharides et de lipoprotéines (Figure 4). La partie lipo-polysaccharidique de la paroi des Gram négatif comprend les molécules d'endotoxine (lipide A) qui contribuent au pouvoir pathogène bactérien (Tony et Paul, 2003).

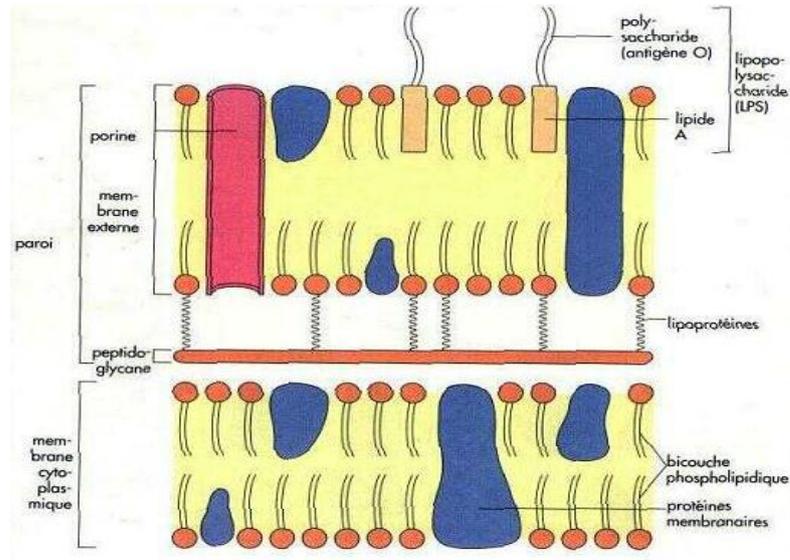


Figure 4. Structure de la paroi à Gram négatif (Tony et Paul, 2003)

I. 3. 3. Classification des bactéries :

La forme des bactéries et leur affinité pour les colorants constituent la base de leur classification (Tableau 1). Les bactéries peuvent être sphériques (coques ou cocci), en forme de bâtonnet (bacilles), ou intermédiaires (cocco-bacilles) (Tony et Paul, 2003).

Germes en cause:

Plusieurs germes présentent la capacité d'être uropathogènes, dont le type d'atteinte, la fréquence et la gravité sont différentes selon les facteurs de virulence (Koraïb *et al.*, 2012).

Tableau 1. Principales espèces bactériennes responsables de l'infection urinaire (Kouta, 2009).

Espèces bactériennes	Origine	Rôle infectieux
Entérobactéries	<ul style="list-style-type: none"> - <i>E. coli</i> - <i>Proteus mirabilis</i> - <i>Providencia</i> - <i>Klebsiella</i> - Entérobacter - <i>Serratia</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - C. BA.PN.P - C.BA.PN - BA.PN.P
Cocci à Gram positif	<ul style="list-style-type: none"> Entérocoques - <i>Streptocoque</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - C.BA.PN
	<ul style="list-style-type: none"> <i>Staphylocoques</i> - <i>S. aureus</i> - <i>S. epidermidis</i> - <i>S. saprophytica</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - C.BA.PN
Bacilles à Gram négatif	<ul style="list-style-type: none"> -<i>Pseudomonas</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - C.BA.PN.P

C : cystite - BA : bactériurie asymptomatique - PN : pyélonéphrite - P : prostate

La pathogénicité des bactéries est liée principalement à la présence de facteurs d'adhérence à la muqueuse du tractus urinaire, mais aussi à la résistance à l'activité bactéricide du sérum, à la production d'hémolysines, de la présence de dérophones (aérobactine), et de quantités importantes d'antigènes capsulaires. Certaines bactéries peuvent s'adapter au pH acide ou libération d'uréase alcalinisant les urines (Djedid *et al.*, 2010).

Tableau 2. Indice de fréquence des germes uropathogènes dans milieu extrahospitalier et hospitalier (Allag, 2016)

Bactéries	% communautaire	% hospitalière
<i>E. coli</i>	75 – 90	60 – 70
<i>Proteus</i> sp.	3-4	9-10
<i>Klebsiella</i> sp.	2	8-10
<i>Staphylocoque</i> sp.	2-3	4-5
Streptocoque/entérocoque	1	2-4
Autres bactéries Gram négatif	1,5	5-6
<i>Candida albicans</i>	0	2

Chapitre 02 :

Matériel et

Méthodes

II. MATERIEL ET METHODES

L'examen cytot bactériologique des urines (ECBU) est l'examen le plus demandé en pratique médicale au niveau des laboratoires d'analyses médicales. Il autorise le diagnostic de certitude d'une infection urinaire (IU), par l'isolement du microorganisme responsable (bactérie ou levure) et qui permet par la suite de déterminer la sensibilité de la ou des bactéries isolées aux antibiotiques (ATB) (Helene, 2007).

II. 1. Matériel

Le laboratoire dispose le matériel et les réactifs suivants :

Instruments et appareillage :

Pots stériles pour les prélèvements, hôte de bactériologie de référence (ESCO), Bec Bunsen, lame Malassez, étuve de référence (EN400), lame et lamelle, pince métallique, pied à coulisse, réfrigérateur pour la conservation des réactifs de référence (INOX430 à 4 °C), microscope optique de référence (OLYMPUS CH20), boîte de Pétri, écouvillon et pipette Pasteur à marque de (VOLAC) et anse de platine.

Réactifs:

Violet de gentian, lugol, alcool (éthanol), fuschine basique, eau oxygénée, eau distillée, eau physiologique, huile à immersion et galerie API 20E.

II. 1. 1. Les milieux de culture

Tableau 3. La composition des milieux de culture utilisés

Nom du milieu de culture	Composition	Quantité en (g/L)
Gélose nutritive	Peptone	5
	Extraits de viande	1
	Extraits de levure	2
	Chlorure de sodium	5
	Agar	15
	pH = 7,4 (+/- 0,2)	
Gélose au pourpre de bromocrésol (BCP)	Peptone de caséine	15
	Lactose	10
	BCP 1%.	0,025
	Agar	18
	Sel biliaire	3
	PH = 7	
Milieu de Mueller Hinton	Hydrolysate acide de caséine	17,5
	Extrait de viande	3

	Amidon	1,5
	Agar	16
	PH = 7,3	
Milieu de Chapman	Peptone	11
	Extrait de viande	1
	NaCl	75
	Mannitol	10
	Rouge de phénol	0,025
	Agar	15
	pH = 7,5	

II. 2. METHODES:

II. 2. 1. Le lieu de stage

Le stage est réalisé à l’Etablissement Public Hospitalier (EPH) Mohamed Chaabani (Cité Bel Bachir) d’El Ménéaa, Ghardaïa.

El Ménéaa (anciennement El Goléa) est une commune de la wilaya de Ghardaïa, située à 267 km au sud-ouest de Ghardaïa (Figure 5).



Figure 5. Carte géographique de wilaya de Ghardaïa (Google Maps).

II. 2. 2. Période d'étude (16 Août -18 Décembre 2016)

L'étude a été basée sur un échantillon de cent soixante (160) cas entre interne et externe, composé de femmes et d'hommes (17-50 ans), d'enfants (0-16 ans), et de sujets âgés (>50).

II. 2. 3. Les conditions du prélèvement

Le prélèvement est la première étape, la qualité de sa réalisation conditionne la fiabilité de l'ensemble des résultats de l'analyse. Recueillir dans un flacon stérile, les urines :

- du matin, de préférence (à défaut sans avoir uriné depuis 3 heures);
- avant tout traitement d'ATB;
- après nettoyage, rinçage et séchage par tamponnement du méat urinaire.

Cas général habituel

- lavage hygiénique des mains et toilette soignée au savon (ou antiseptique doux) de la région vulvaire chez la femme et du méat chez l'homme suivi d'un rinçage;
- éliminer le 1^{er} jet (20 mL) d'urines pour ne recueillir dans un flacon stérile que les 20 mL suivants au minimum en prenant soin de ne pas toucher le bord supérieur du récipient;
- Fermer hermétiquement le flacon, l'identifier très précisément et le porter immédiatement au laboratoire d'analyse accompagné de sa prescription et de l'heure date de prélèvement.

Les nourrissons

- utiliser un sac collecteur après nettoyage de la région périnéale, ce dernier ne doit pas être laissé en place plus de 30 min (Allag, 2016).

II. 2. 4. Conditions de transport

Acheminer les prélèvements le plus rapidement possible au laboratoire d'analyse. Ne doivent jamais être conservées plus de 2 heures à température ambiante; il faut les conserver à 4 °C pour une durée maximale de 24 heures (Allag, 2016).

Au laboratoire d'analyses, il faut bien nettoyer la paillasse de travail et l'hôte avec l'eau de javel avant l'ensemencement, et puis il faut classer les échantillons et les récipients d'urines des patients avec numérisation selon les demandes des analyses ECBU de chaque malade. De la même manière, il faut mettre les boîtes de Pétri de gélose nutritive selon l'ordre des patients.

II. 3. Examen macroscopique des urines

- **Aspect des urines:** limpide, louche ou trouble.
- **Présence du sang :** donne à l'urine une couleur d'aspect rouge brune et parfois noirâtre (excepté dans le cycle menstruel).
- **Couleur :** jaune paille (foncé), couleur hématique.
- **Odeur :** lorsque le processus d'infection est responsable d'une fermentation ammoniacale ou parfois putride dans les infections sévères.

II. 4. Examens microscopiques

Le principe de l'examen microscopique de l'urine est une étape essentielle qui peut apporter un indice de la présence (ou non) d'un état pathologique.

II. 5. Examens cytologique

Il se réalise au microscope optique (photonique) sur l'urine fraîchement prélevée. Il faut d'abord homogénéiser soigneusement l'urine par retournement du flacon d'urine, correctement bouché, puis déposer entre lame et lamelle (cellule Malassez), à l'aide d'une pipette Pasteure une goutte d'urine suivie d'une observation à l'examen microscopique à l'objectif 40× (Figure 6.A).

C'est une méthode de référence pour déterminer le nombre d'éléments qui se trouve dans l'urine (leucocytes, hématies, apprécier la présence de bactéries, parasites et levures); et évaluer qualitativement les éléments urinaires.

Description de la cellule de Malassez:

La cellule Malassez est une lame en verre portant un quadrillage centralisé formé de 100 carrés (10×10) dont la moitié est divisée en 100 petits carrés (Figure. 6.B).

Pour le dénombrement des cellules (Figure 6.C), un volume de 10 et 15 μL de cellules en suspension est déposé. Après avoir attendu quelques minutes pour la sédimentation des cellules, on peut compter le nombre de cellules dans 10 rectangles (quadrillés). Le volume d'un rectangle quadrillé étant de 0,01 μL , il suffit alors de multiplier le résultat par 10000 pour obtenir le nombre de cellules par mL. Par exemple, si 30 cellules sont observables sur 10 rectangles, on obtient un total de 300 000 cellules par 1 mL.

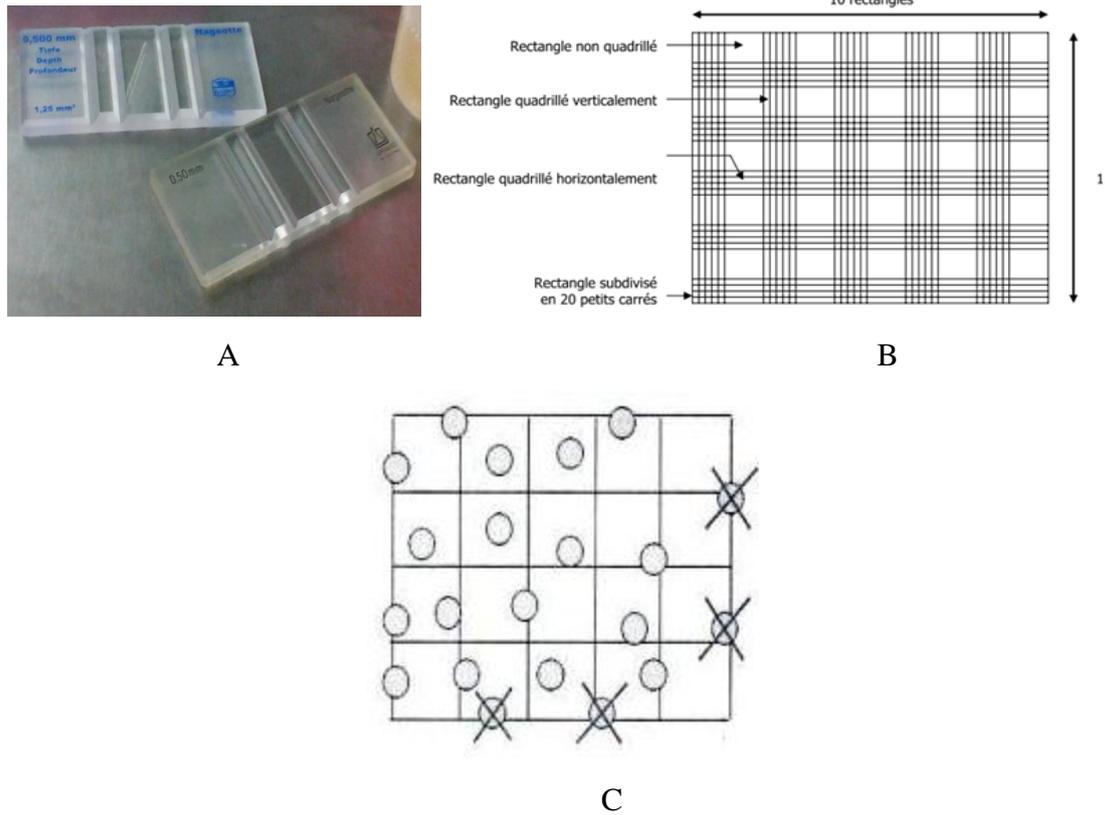
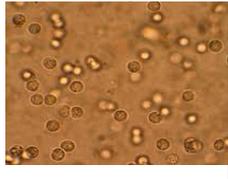
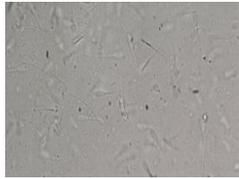
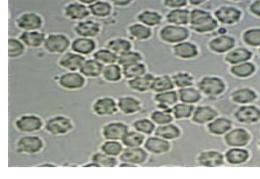


Figure 6. A : lame de Malassez; B : cellule de Malassez (quadrillage); C : dénombrement des cellules.

On peut trouver dans lame sous microscope optique les éléments suivants :

<p>Cristaux</p> 	<p>Hématies</p> 	<p>Leucocytes</p> 	<p>Germes amorphe</p> 
<p>Spermatozoïdes</p> 	<p>Cellules épithéliales</p> 		

La quantité des éléments est appréciée par des croix:

Tableau 4. L'interprétation de quantité des éléments par des cotations.

Quantité des éléments	Cotation	Interprétations
< 2/champ	Rare	Élément rare
2-5/champ	+	Quelques éléments
5-10/champ	++	Assez nombreux
10-50/champ	+++	Nombreux
> 50/champ	++++	Très nombreux

II. 6. Examen bactériologique

Manipuler l'échantillon, le plus rapidement possible après le prélèvement. Pour cela il faut prélever 0,1 mL d'urine à l'aide d'une pipette Pasteur qui est déposé dans 9,9 mL d'eau distillée (avec agitation), puis prendre de petite goutte de mélange pour la déposer sur la boîte de Pétri (contient milieux de gélose nutritive coulé). Puis faire un étalement par stries perpendiculaires serrées sur toute la surface de la boîte puis incubé pendant 24 h à l'étuve (à 37 °C).

Après 24 heures d'incubation, effectuer le dénombrement des germes. Le résultat est exprimé en nombre de bactéries par mL d'urine ou UFC/mL (Unité Formant Colonie). Aspects des cultures pour des nombres de germes entre 10^3 et 10^6 UFC/mL (Figure 7).

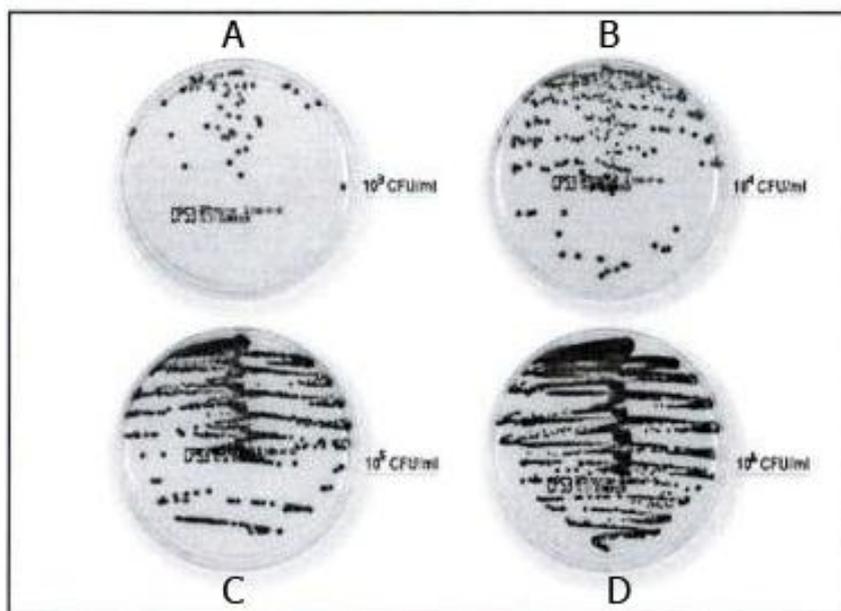


Figure 7. Le dénombrement des colonies sur le milieu de culture nutritive à 37°C après 24 heures (Koraïb *et al.*, 2012; Terry, 2006). A : 10^3 CFU/mL; B : 10^4 CFU/mL; C : 10^5 CFU/mL; D : 10^6 CFU/mL.

II. 6. 1. Identification des bactéries :

L'identification est réalisée à l'aide des caractères morphologiques, culturels et biochimiques des bactéries.

II. 6. 2. Tests d'orientation :**II. 6. 2. 1. Coloration de Gram :****Principe :**

Cette coloration permet de différencier entre les bactéries Gram positives et Gram négatives sur la base de la composition chimique de la paroi.

Technique :

- 1- Préparer un frottis bactérien;
- 2- recouvrir la lame par le violet de gentiane, et laisser 1 minute;
- 3- ajouter le lugol, et laisser 1 minute;
- 4- décolorer par l'alcool (éthanol) à 95° pendant 30 secondes;
- 5- rince avec de l'eau;
- 6- recolorer par la fushine pendant 1 minute, puis rincer avec de l'eau.
- 7- observer au microscopique à G×100 (sous huile l'émersion).

Lecture :

Les bactéries colorées en violet sont des bactéries à Gram positif. En revanche, les bactéries colorées en rose sont des bactéries à Gram négatif.

II. 6. 2. 2. Mise en culture

Le milieu Chapman est utilisé pour la culture des cocci à Gram positif, comme les staphylocoques.

Sur milieu gélose nutritive on observe des colonies de couleur jaunes, finement dentelées et une odeur aromatique, ce qui signifie la présence des bacilles pyocyanique c'est à dire *Pseudomonas aeruginosa*.

Proteus mirabilis pousse bien sur milieux nutritive (c'est une Entérobactérie) à 37 °C, c'est des grosses colonies, non hémolytiques, envahissant la surface de la gélose au sang sous forme d'ondes concentriques.

II. 6. 2. 3. Test de catalase :**Principe :**

La catalase est une enzyme qui permet la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) qui est un produit toxique du métabolisme aérobie.

Technique :

On dépose une goutte d'eau oxygénée (H₂O₂) sur lame et on rajoute quelques colonies.

Lecture :

Dégagement de bulles de gaz signifie catalase positif (+), et absence de bulles de gaz signifie catalase négatif (-).

II. 6. 2. 4. Test de Coagulase**Principe:**

La coagulase est un test utilisé pour l'identification de *Staphylococcus aureus*.

Technique :

Le test de détection consiste à incuber pendant 4 heures à 37 °C un mélange de plasma humaine TP 100% plus 500 µL de BHIB avec quelque colonie et comparé avec témoin (TP 100 %+ 500 µL de BHIB).

Lecture :

Positif : *Staphylococcus aureus* produit une coagulase, et négatif : pas de coagulase.

II. 6. 3. Identification biochimique :**II. 6. 3. 1. Galerie API 20E:****Principe :**

La galerie API 20E (Figure 8) comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Ces derniers sont inoculés avec une suspension bactérienne. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

Technique :

- On réunit fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartie environ 5 mL d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide et on place la galerie dans la boîte d'incubation.
- On prélevé une seule colonie et on prépare une suspension bactériennes.
- Remplir les tubes et les cupules des tests : CIT, VP, GEL avec la suspension bactérienne.
- Remplir uniquement les tubes des autres tests (et non les cupules).
- Créer une anaérobiose dans les tests : ADH LDC ODC URE H₂S en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- Refermer la boîte d'incubation et incuber à 37 °C pendant 24 heures.



Figure 8. Plaque galerie Api 20E

Lecture :

Après incubation, la lecture de galerie se fait à l'aide du tableau de lecture (Tableau 5) et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique (Annexe 01).

Test TDA : ajouter 1 goutte de réactif TDA. Une couleur marron-rougeâtre indique une réaction positive à noter sur le tableau de lecteur.

Test IND : ajouter 1 goutte de réactif JAMES. Une couleur rose diffusant dans tout et la cupule indique une réaction positive à noter sur le tableau de lecteur.

Test VP : ajouter 1 goutte des réactifs VP1 et VP2. Atteindre au minimum 10 minutes. Une couleur rose (ou rouge) indique une réaction positive à noter sur le tableau de lecteur. Une faible coloration rose apparaissant après 10 minutes doit être considérée négative.

Tableau 5. Tableau de lecture des résultats de plaque galerie Api 20E

Test	Composant actifs	QTE (mg/cup.)	Réactions/enzymes	Résultats	
				NEGATIF	POSITIF
OPNG	2-nitrophényl-BD-galactopyranoside	0,223	β -galactosidase (Ortho Nitrophényl-BD-Galactopyranosidase)	Incolore	Jaune(1)
ADH	L-arginine	1,9	Arginine DiHydrolase	Jaune	Rouge-orange (2)
LDC	L-lysine	1,9	Lysine DéCarboxylase	Jaune	Rouge-orange (2)
ODC	L-Ornithine	1,9	Ornithine DéCarboxylase	Jaune	Rouge-orange (2)
CIT	Trisodium citrate	0,756	Utilisation du CITrate	Vert pale-jaune	Bleu vert-bleu (3)
H₂S	Sodium thiosulfate	0,075	Production d'H ₂ S	Incolore-grisâtre	Dépôt noire-fin liseré
URE	Urée	0,76	UREase	Jaune	Rouge-orange (2)
TDA	L-tryptophane	0,38	Tryptophane DésAminase	<u>TDA/ immédiate</u>	
				Jaune	Marron- rougeâtre
IND	L-tryptophane	0,19	Production d'INDole	<u>JAMES/immédiate</u>	
				Incolore-Vert pale- jaune	Rose

VP	Sodium pyruvate	1,9	Production d'acétoïne (Voges Proskauer)	<u>VP1 + VP2/10 min.</u>	
				Incolore-rose pale	Rose- rouge (5)
GEL	Gélatin (origine bovine)	0,6	Gélatinase (GELatine)	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	1,9	Fermentation- oxydation (GLUcose) (4)	Bleu - bleu-vert	Jaune - jaune gris
MAN	D-mannitol	1,9	Fermentation/ oxydation (MANnitol) (4)	Bleu -bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	1,9	Fermentation-oxydation (INOsitol) (4)	Bleu -bleu-vert	Jaune
SOR	D-sorbitol	1,9	Fermentation- oxydation (SORbitol) (4)	Bleu - bleu-vert	Jaune
RHA	L-rhamnose	1,9	Fermentation/- oxydation (RHAmnose) (4)	Bleu - bleu-vert	Jaune
SAC	D-saccharose	1,9	Fermentation/ oxydation (SACcharose) (4)	Bleu - bleu-vert	Jaune
MEL	D-melibiose	1,9	Fermentation-oxydation (MELibiose) (4)	Bleu - bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	0,57	Fermentation- oxydation (AMYgdaline) (4)	Bleu - bleu-vert	Jaune
ARA	L-arabinose	1,9	Fermentation-oxydation (ARABinose) (4)	Bleu - bleu-vert	Jaune
OX	(voir notice du test oxydase)		Cytochrome-oxydase	(voir notice du test oxydase)	

- (1) Une très légère couleur jaune est également positive.
- (2) Une couleur orange apparaissant après 36-48 h d'incubation doit être considérée négative.
- (3) Lecture dans la cupule (zone aérobie).
- (4) La fermentation commence dans la partie inférieure des tubes, l'oxydation commence dans la cupule.
- (5) Une légère coloration rose apparaissant après 10 minutes doit être lue négative.
 - les quantités indiquées peuvent être ajustées en fonction des titres des matières premières.
 - certaines cupules contiennent des composants d'origine animale, notamment des peptones.

Identification :

1- elle obtenue à partir du profil numérique.

Sur la fiche de résultats (Annexe 02), les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1,2 et 4 est indiquée pour chacun. La galerie API 20E comportant 20 tests, en additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 7 chiffres; la réaction de l'oxydase qui constitue le 21^{ème} test est affectée de la valeur 4 lorsqu'elle est positive.

2- elle obtenue à partir des caractères biochimique (Annexe 03).

II. 7. Antibiogramme**Principe :**

La méthode utilisée est la diffusion d'antibiotiques ou antibiogramme standard. Des disques de papier buvard imprégnés d'antibiotiques à tester sont disposés à la surface d'une gélose Mueller Hinton (MH) (épaisseur en boîte est 4 mm) préalablement ensemencée avec une culture pure de la souche à étudier. Dans l'application des disques, L'ATB diffusent de manière uniforme et leurs concentrations sont inversement proportionnelles à la distance du disque (Annexe 04).

Technique :

On prélève quelques colonies de la bactérie à étudier avec une pipette Pasteur, on les introduit dans un tube contenant 10 mL d'eau distillée stérile et on forme une suspension. Ensuite ensemencer par écouvillon dans les boîtes de la gélose MH, puis déposer les disques d'ATB à tester (sans glissement) en appuyant légèrement, à l'aide une pince flambée.

Il faut éviter le chevauchement des zones d'inhibition, et donc il faut respecter une distance de 15 mm entre le bord de la boîte et les disques périphériques, puis une distance de 30 mm entre deux disques (Figure 9). Les boîtes sont incubées pendant 24h à 37 °C.



Figure 9. La distribution des disques d'ATB sur milieu MH.

Choix des disques antibiotiques à tester

Ce choix dépend de plusieurs paramètres. Il s'agit de :

- la connaissance de l'espèce et la souche bactérienne (Tableau 6);
- la fréquence des mécanismes de résistance;
- des habitudes de prescription;
- du spectre d'action de l'antibiotique;
- de l'origine du prélèvement.

Lecture:

On mesure les différentes zones d'inhibitions obtenues autour des disques d'ATB.

Tableau 6. Charges des antibiotiques testés et caractérisation des diamètres de la zone d'inhibition (Antibiotic Disk Interpretative Criteria and Quality Control-F14013-Rev.7/20.02.2013).

Antibiotique	Charge des disques (µg/D)	Entérobactéries			Staphylocoques			Pseudomonas		
		S	I	R	S	I	R	S	I	R
Amoxicilline (AMX)	25	25		19	36		28			
Ampicilline (AMP)	10	17	14-16	13	29		28			
Amoxicilline+Acide clavulanique (AMC)	10	18	14-17	13	20		19			
Céphalaxine (CL)	30	22		17	37		29			
Cefotaxime (CTX)	30	26	23-28	22	23		14	26	23-25	22
Ciprofloxacine (CIP)	05	22	20-21	19	20		20	25	23-24	22
Cotrimoxazole (SXT)	25	16	14-15	13	17	15-16	14			
Gentamicine (CN)	12	24		16	28		18			
Nitroxoline (NO)	30	25		19	36		28			

Chapitre 03:

Résultats et

Discussion

III. 1. Résultats :

D'après les résultats de l'étude rétrospective, 160 patients ayant eu des infections urinaires ont été recensés durant la période de stage (allant du 16 août au 18 décembre 2016).

Durant cette période d'étude, parmi les 160 ECBU (Examen Cyto-Bactériologique des Urines) réalisés, 60 cas positifs ont été enregistrés, 90 cas négatifs signalés, et uniquement 10 cas sont considérés comme contaminés.

III. 1. 1. Répartition des infections urinaires selon le sexe des patients

Le sexe féminin représente la majorité des patients touchés par les infections urinaires enregistrées au niveau de l'hôpital d'El Meneau (38 cas) ce qui représente un pourcentage de 63%.

Alors qu'uniquement 22 cas (c'est-à-dire un pourcentage de 37%) des souches bactériennes responsables des infections urinaires ont été isolés à partir des échantillons prélevés des hommes (Figure 10).

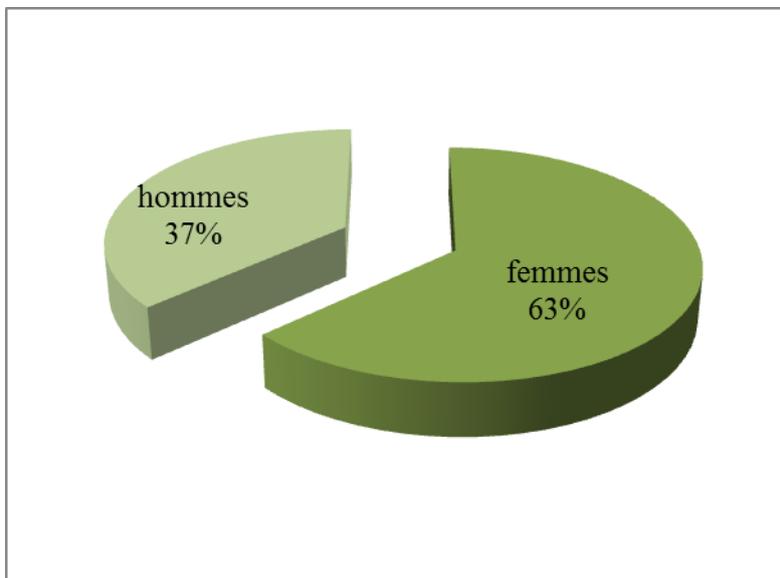


Figure 10. La répartition graphique selon le sexe des patients des infections urinaires signalées au niveau de l'hôpital d'El Ménéaa.

III. 1. 2. Répartition des infections urinaires selon la tranche d'âge des patients

La (Figure 11) laisse apparaître que la majorité des souches bactériennes responsables des infections urinaires ont été isolées à partir des échantillons prélevés des patients de 17-49 ans avec un pourcentage de 78% des cas signalés, suivi par la tranche d'âge des 0 à 16 ans (ce qui représente 14%), et en fin un pourcentage de 8% a été observé pour les patients de plus de 50 ans et la (Figure 12) par rapport au sexe, ont été trouvé le rapport 63% chez l'homme a l'âge 0-16 ans, suivie l'âge 17-49 ans on trouve 68% chez les femmes et aussi 60% a tranche d'âge >50 ans.

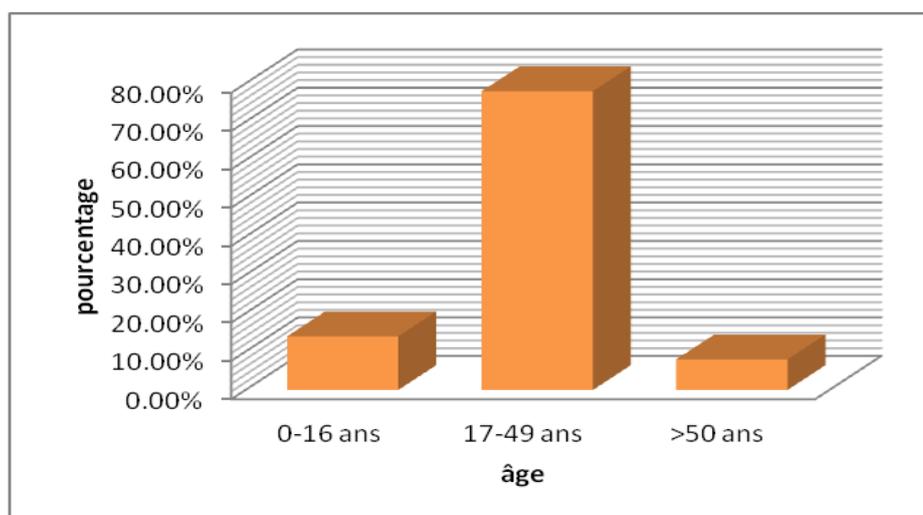


Figure 11. Répartition des infections urinaires selon la tranche d'âge.

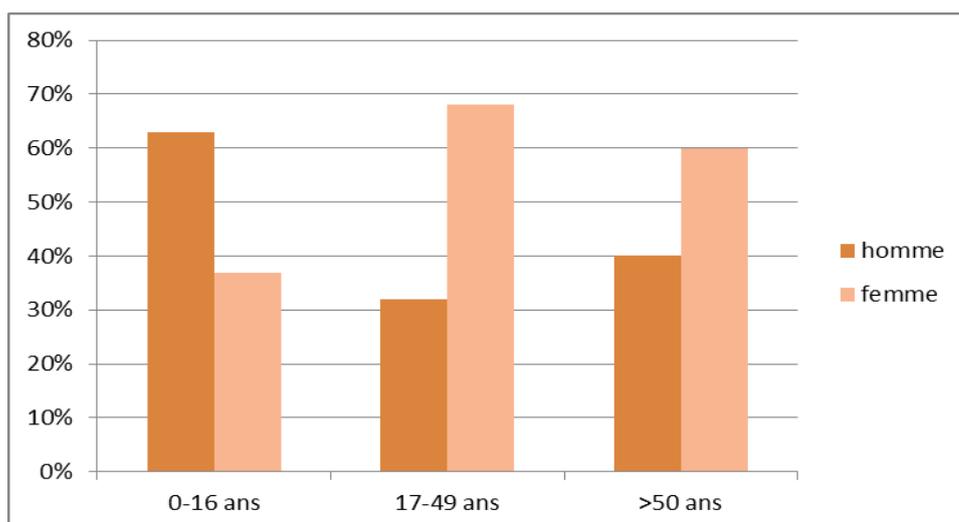


Figure 12. Répartition des infections urinaires selon le sexe a partir du tranche d'âge.

III. 1. 3. Isolement et identification des souches bactériennes isolées par galerie API 20E

A partir de 60 ECBU considérés comme positifs, des souches bactériennes, considérées comme responsables des infections urinaires, ont été isolées.

Par la suite, des souches représentatives de chaque groupe morphologique ont été identifiées par galeries Api 20E et/ou par le test de coagulase et test de catalase.

Cas 1. *Escherichia coli*

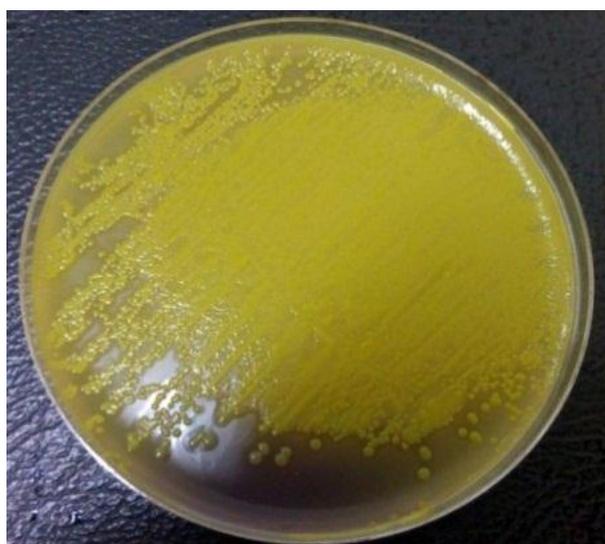


Figure 13. Les colonies d'*Escherichia Coli* sur géloses BCP.

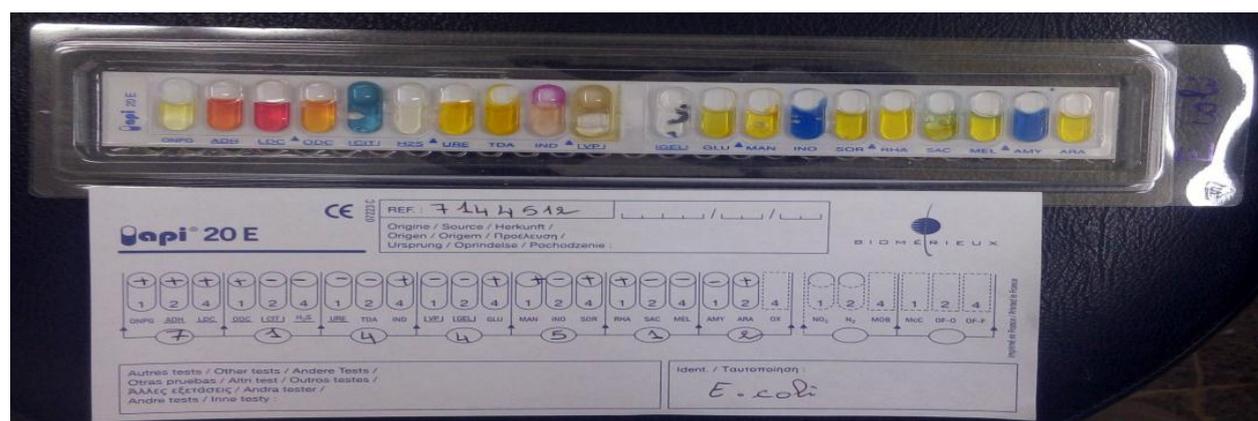


Figure 14. Identification biochimique de galerie AP20E d'*E. coli*.

Cas 2. *Proteus mirabilis*



Figure 15. Les colonies des *Proteus mirabilis* sur géloses nutritive.

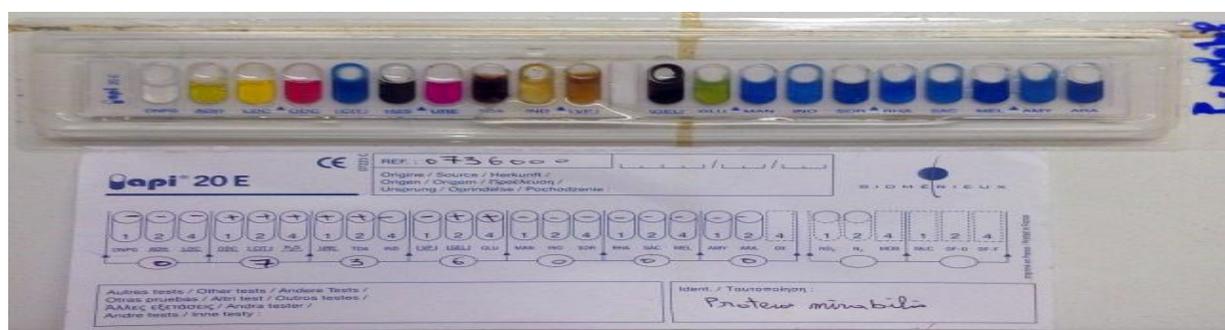


Figure 16. Identification biochimique de galerie Api 20E de *Proteus mirabilis*

Cas 3. *Pseudomonas aeruginosa*

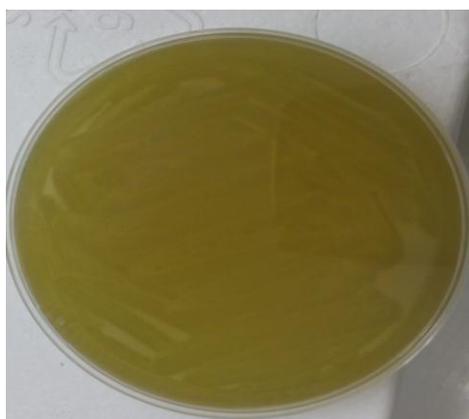


Figure 17. *Pseudomonas aeruginosa* sur gélose nutritive.



Figure 18. Identification biochimique de galerie Api 20E de *Pseudomonas aeruginosa*

Cas 4. *Klebsiella* sp



Figure 19. *Klebsiella* sP. sur milieu nutritive

III. 1. 4. Identification des souches de *Staphylococcus aureus*

Le test de coagulase (Figure 22) a été utilisé pour confirmer l'identification des souches de *Staphylococcus aureus*.



Figure 20. *Staphylococcus aureus* sur milieu Chapman.

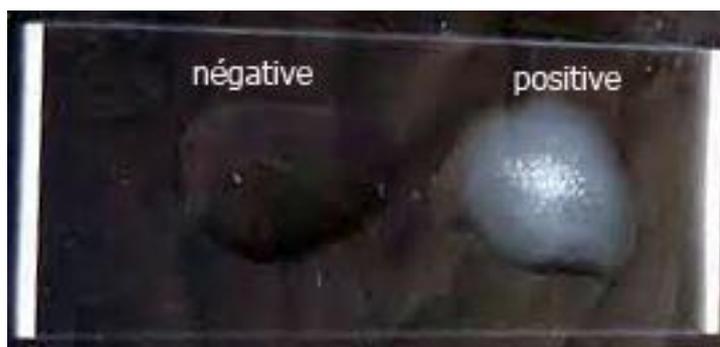


Figure 21. Les résultats de test de catalase



Figure 22. Le résultat positif de test de coagulase

III. 1. 5. Identification bactériologiques

L'identification bactériologique (réalisée par galeries Api 20E) indique la présence de 41 souches d'*Escherichia coli* (ce qui représente un pourcentage de 68,33%), 08 souches de *Proteus mirabilis* (ce qui représente un pourcentage de 13,33%), 05 souches de *Pseudomonas aeruginosa* (ce qui représente un pourcentage de 8,33%) et une seule souche du genre *Klebsiella* (ce qui représente un pourcentage de 1,67%) (Figure 23).

Le test de coagulase indique la présence de 05 souches de *Staphylococcus aureus* (ce qui représente un pourcentage de 8,33%).

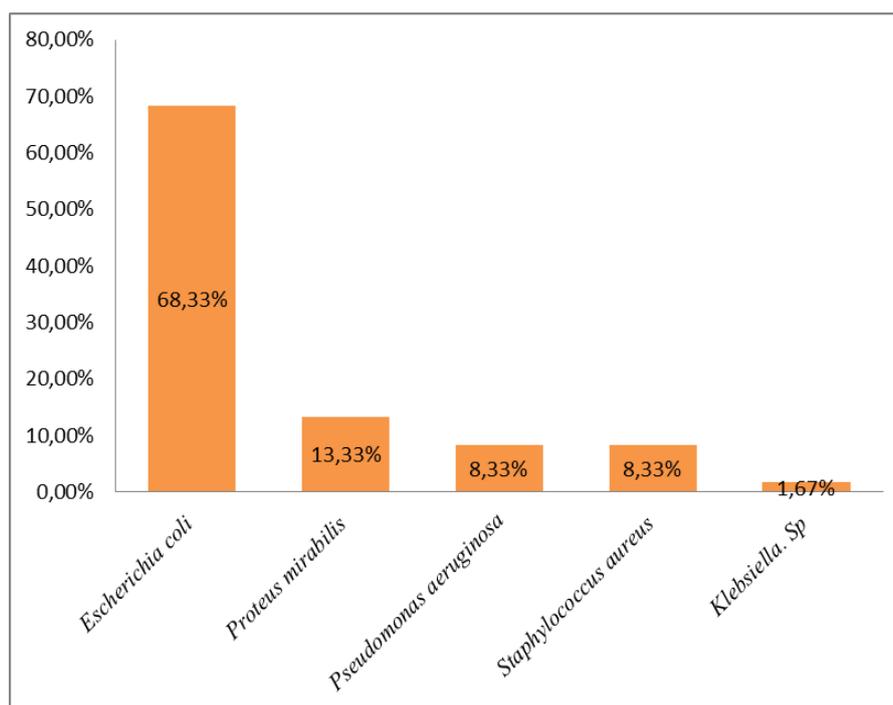


Figure 23. Répartition des infections urinaires selon les espèces bactériennes isolées à partir des 60 E. coli considérés comme positifs.

III. 1. 6. Répartition des souches bactériennes selon le sexe des patients

Les résultats obtenus montrent que le sexe féminin représente la majorité des patients touchés par l'infection urinaire due à la présence des souches de *Escherichia coli* (avec 28 femmes, ce qui représente un pourcentage de 68%). En revanche, uniquement 13 cas (c'est-à-dire un pourcentage de 32%) des souches bactériennes responsables des infections urinaires ont été isolées à partir des échantillons prélevés des hommes (Figure 24).

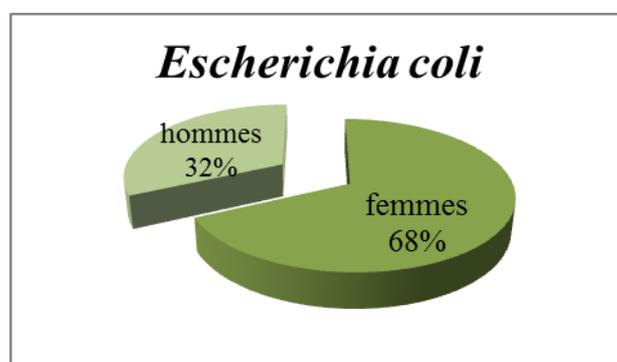


Figure 24. Répartition des souches d'*Escherichia coli* entre les femmes et les hommes.

Les résultats obtenus montrent que le *Proteus mirabilis* se trouve chez les enfants (05 chez les garçons et 03 chez les filles) (Figure 25).

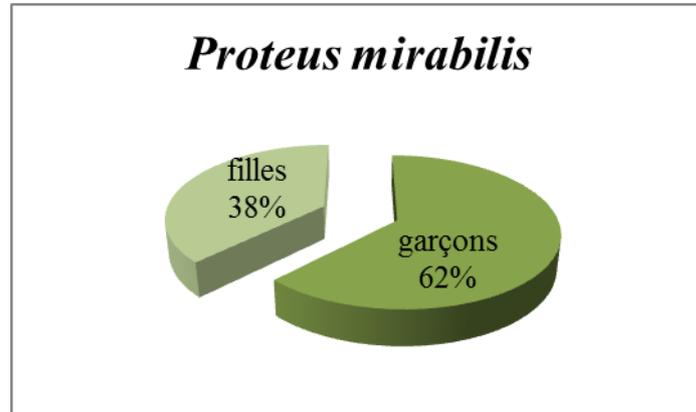


Figure 25. Répartition des souches de *Proteus mirabilis* chez les enfants entre les filles et les garçons.

Les résultats de notre étude montrent que le sexe masculin représente la majorité des patients touchés par l'infection urinaire due à la présence des souches de *Pseudomonas aeruginosa* (avec 03 hommes, ce qui représente un pourcentage de 60%). En revanche, uniquement 02 cas (c'est-à-dire un pourcentage de 40%) des souches bactériennes responsables des infections urinaires ont été isolées à partir des échantillons prélevés des femmes (Figure 26). Il est à préciser que le nombre réduit (uniquement 5 cas) de nombre de patients touchés par les souches bactériennes de *Pseudomonas aeruginosa* ne donne pas une estimation réelle de la distribution de cette maladie entre les deux sexes.

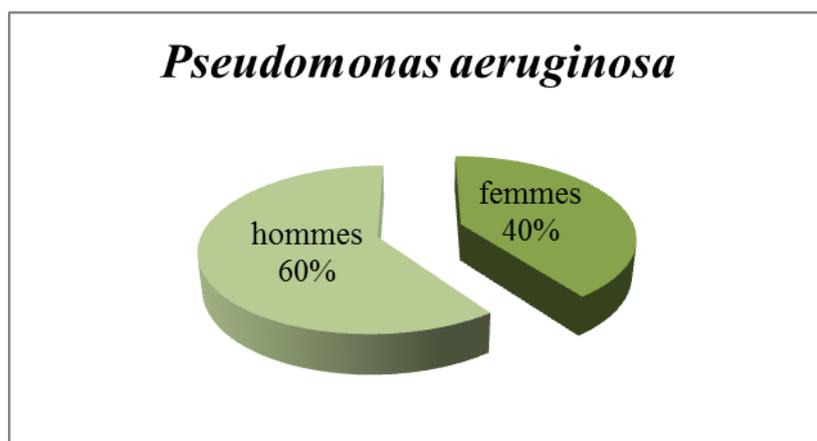


Figure 26. Répartition des *Pseudomonas aeruginosa* entre les femmes et les hommes.

Les résultats obtenus montrent que toutes les souches bactériennes de *Staphylococcus aureus* ont été isolées à partir des 5 patients femmes (Figure 27). Il est à préciser ici

également que le nombre réduit (uniquement 5 cas) de nombre de patients touchés par les souches bactériennes de *Staphylococcus aureus* ne donne pas une estimation réelle de la distribution de cette maladie entre les deux sexes.

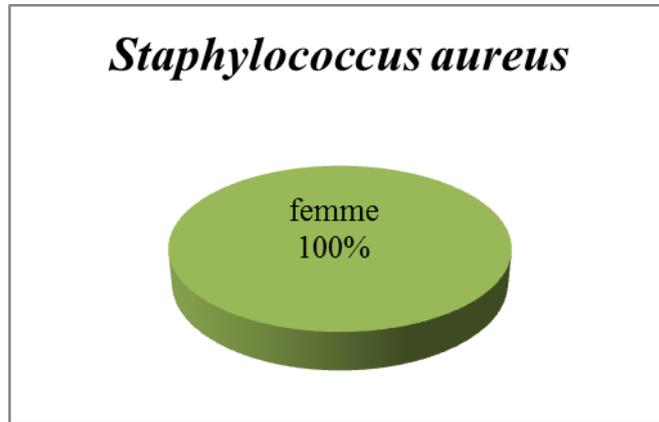


Figure 27. Répartition des *Staphylococcus aureus* entre les femmes et les hommes.

III. 1. 7. Etude de sensibilité des germes isolés aux antibiotiques

Cette partie de travail consiste à réaliser des antibiogrammes vis-à-vis des 9 antibiotiques marqueurs : AMP (Ampicilline), AMX (Amoxicilline), AMC (Amoxicilline +Acide clavulanique), CIP (Ciprofloxacine), SXT (Cotrimoxazole), NO (Nitroxoline), CL (Céphalaxine), CTX (cefotaxime), GN (Gentamicine), contre une souche représentative de chaque groupe bactérien (*E. coli*, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa* et *S. aureus*), à l'exception de l'unique souche de *Klebsiella* isolée. Les résultats obtenus ont montré que 63,34 % des souches sont sensibles à ces antibiotiques.

Ces 04 souches sont Gram négatif et autres sont Gram positif.

III.1. 8. Représentation de taux de résistance de *Escherichia coli*

E. coli présente une résistance importante (75,40%) à AMP, AMC et AMX et une faible résistance à CTX, SXT et NO (Figure 28).

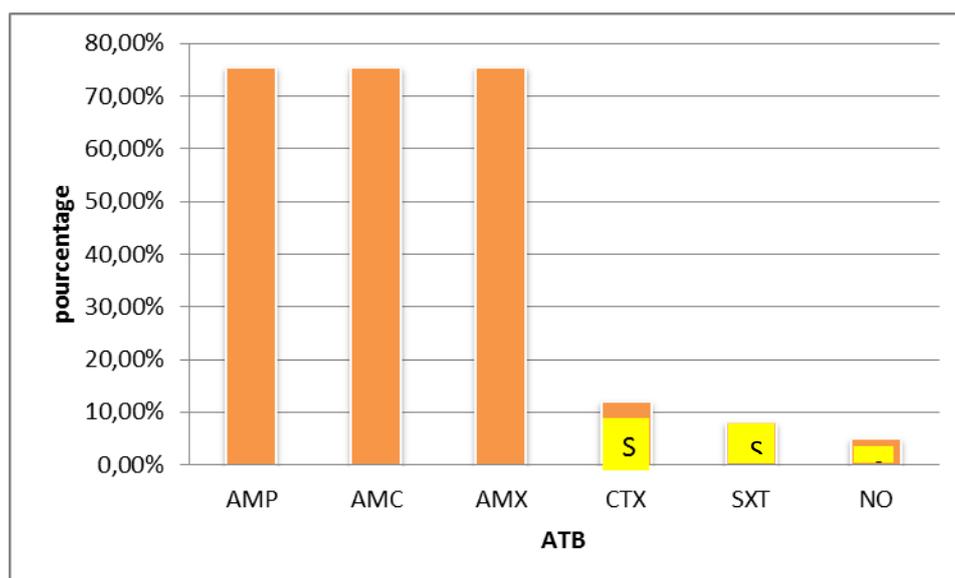


Figure 28. Représentation graphique de taux de résistance de *Escherichia coli*

III. 1. 9. Représentation de taux de résistance de *Proteus mirabilis*

Le *proteus mirabilis* présente une résistance de 66, 67% vis-vis AMC, AMX, AMP, CL et SXT et une sensibilité totale aux NO et CIP (Figure 29).

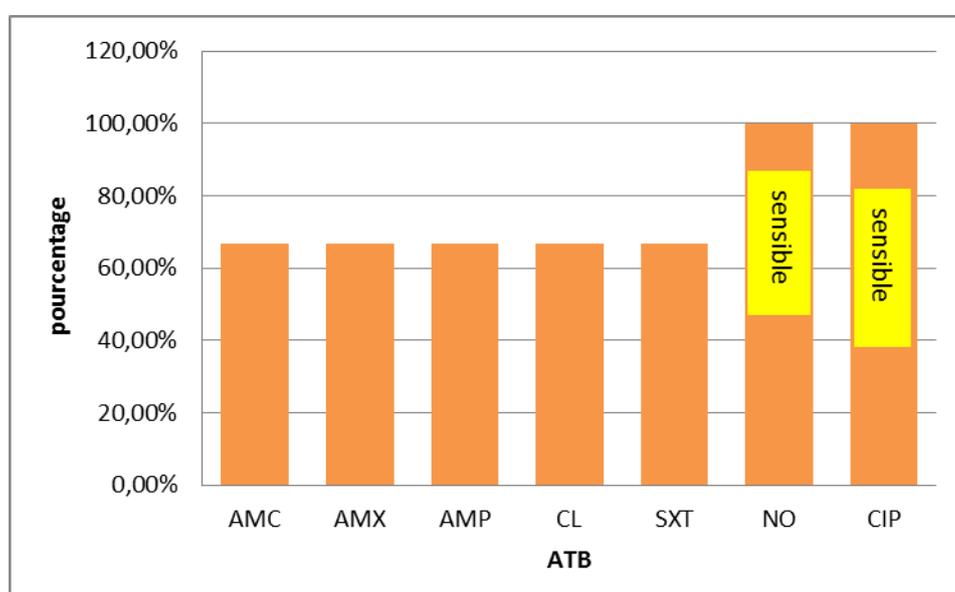


Figure 29. Représentation graphique de taux de résistance de *Proteus mirabilis*

III.1 . 10. Représentation de taux de résistance de *Pseudomonas aeruginosa*

Le *Pseudomonas aeruginosa* présente une résistance totale aux CIP et CTX.

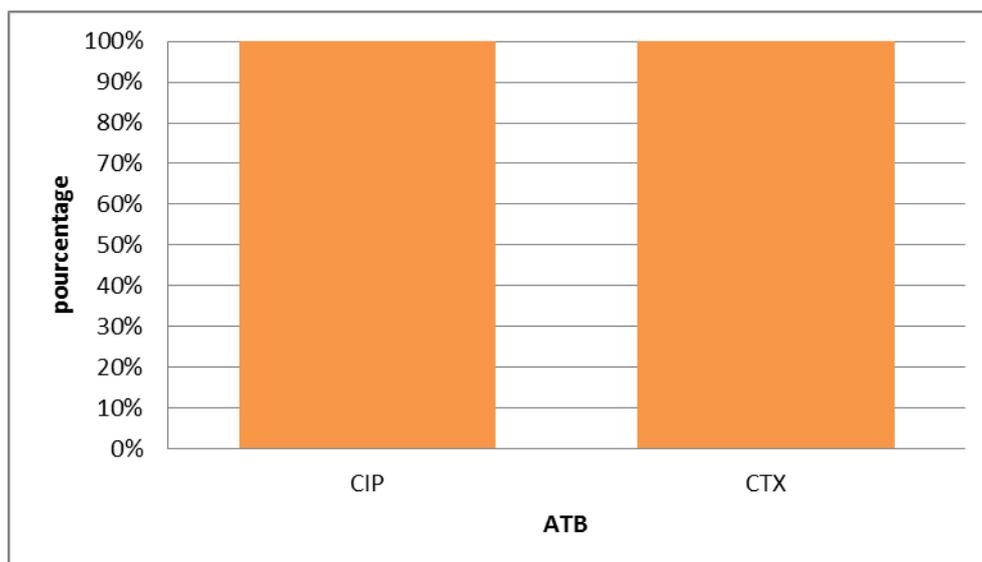


Figure 30. Représentation graphique de taux de résistance de *pseudomonas aeruginosa*

III. 1. 11. Représentation de taux de résistance de *Staphylococcus aureus*

Le *Staphylococcus aureus* présente un pourcentage de 90% vis-à-vis AMC, AMX et AMP et une sensibilité totale à CIP.

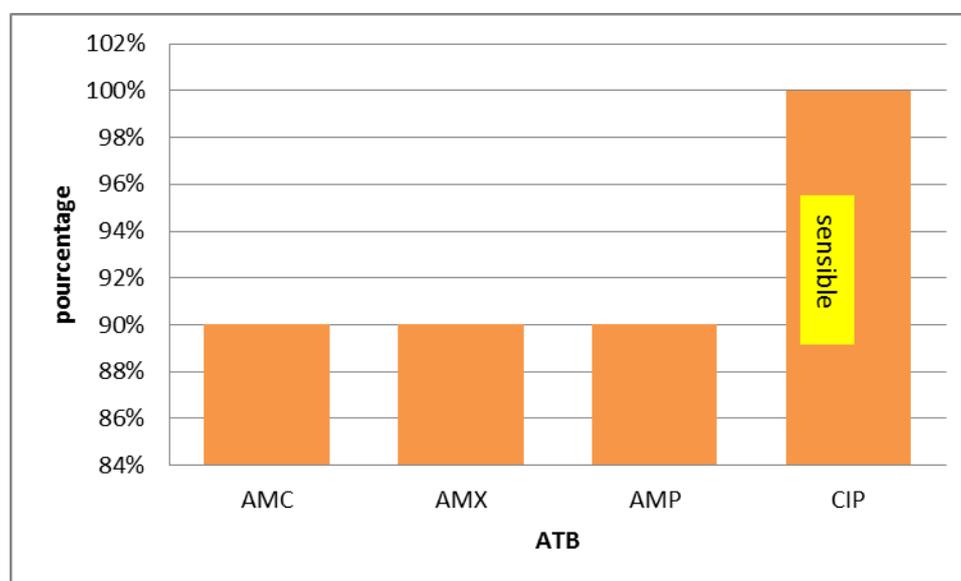


Figure 31. Représentation graphique de taux de résistance de *Staphylococcus aureus*.

III.2. Discussion

L'urine vésicale est normalement stérile, mais au cours des mictions, elle se contamine lors de son passage urétral, dont peut être colonisé le plus souvent par la flore urétrale ou par des germes ayant une origine différente, génitale ou cutanée.

Les infections urinaires sont très fréquentes en médecine générale puisque l'arbre urinaire représente le second site d'infection bactérienne après l'arbre respiratoire.

Pour les femmes, cette infection est un des motifs les plus fréquents de consultation du médecin généraliste (Prouzergue, 2011; Sekhsokh *et al.*, 2008; Daoudi, 2014)

Le diagnostic d'une infection urinaire repose sur des signes cliniques et biologiques. Il est confirmé par l'examen cyto bactériologique des urines qui doivent être pratiqué au moindre doute d'infection urinaire .

L'infection urinaire est affirmée par une bactériurie $> 10^5$ /mL lors d'une ECBU réalisé correctement. Une concentration comprise entre 10^3 / mL et 10^5 mL doit être considérée comme douteuse et doit faire renouveler l'examen.

Une concentration inférieure à 10^3 /mL est généralement le reflet d'une contamination et ne permet pas d'affirmer l'existence d'une IU. (Pechere et Girard. 1991)

Notre étude on à trouve 10 cas contamine à cause de prélèvement, parmi les causes, nous citons :

- Les patients n'attachent pas d'importance aux modes de prélèvements surtout chez la femme (si le rinçage et le mouvement d'essuyage se fait d'arrière vers l'avant, donc la flore commensale provenant de l'anus peut contamine l'urètre et peut être présente au moment du recueil).
- Mauvaise conditions de conservation et de transport (durée très longue avant l'étude, flacon non stérile, température non inadéquate).

Dans cette étude, nous trouve une prédominance du sexe féminin avec un pourcentage de 63% contre 37% pour les hommes. Cette résultats est en conformité avec les études épidémiologiques rigoureuses ont démontré une incidence plus élevée des infections urinaires chez les femmes que chez hommes. Plusieurs études signalèrent une grande incidence de cette infection chez les femmes Cette prédominance féminine est confirmée par d'autres auteurs Marrich, 2008 ; Daoudi, 2014 ; Kouta, 2009 ; et Hamraras et Azerine, 2015.

D'après résultats, la tranche d'âge la plus touchée est celle de 17 à 49 ans avec la prédominance féminine. Cette couche sociale représente celle des personnes sexuellement actives.

Chez les enfants, à l'âge 0 – 16ans, les garçons est la plus touchée par rapport à les filles, A partir de <50 ans, la femme est plus touchée que l'homme.

La fréquence des infections urinaires, est de 1% chez le nouveau-né, avec prédominance masculine, ces infections compliquent généralement des malformations urinaires. A l'âge préscolaire et scolaire, la fréquence d'IU atteint de 1 à 2% avec, cette fois, une forte prédominance du côté féminin (Pechere et Girard. 1991).

Selon Marrhich (2008), Les infections urinaires sont fréquentes en pédiatrie, puisque 1 à 2% des enfants présentent au moins un épisode d'infection urinaire avant la puberté en effet le prépuce contient une réserve de germes.

Chez les femmes, a l'âge adulte, la prédominance féminine s'accroît encore et la fréquence augmente avec l'âge, dont 1% avant 20 ans, 6% à 60 ans et 10% à 70 ans (Pechere et Girard. 1991).

A partir de >50 ans, l'IU devient moins exceptionnelle chez l'homme, quand apparaissent les premiers troubles prostatiques, cette fréquence augmente avec l'âge pour atteindre 4% de plus 60 ans (Pechere et Girard. 1991).

Les IU chez sujets âgés ont des particularités qui sont liées à la co- morbidité et aux conditions de vie qui ont une incidence particulière sur les modalités de présentation de la flore bactérienne retrouvée (Ben hedid *et al.*).

La plupart des études faites ont montré que les femmes ont beaucoup plus tendance à avoir des infections urinaires que les hommes (Querin et Valiquette, 2000). Donc ceci est lié aux raisons qui viennent :

L'anatomie de l'appareil génital chez la femme favorise l'IU, elle a un urètre très court, facilite l'accès de bactéries à la vessie, la proximité entre l'anus et le méat urinaire facilite grandement l'accès de l'urètre aux bactéries intestinales provenant de rectum, en outre l'homme a un appareil génital bien protégé; l'urètre est plus long.

Chez certaines femmes, l'augmentation de l'activité sexuellement peut provoquer les symptômes d'une IU (URL 5).

Les femmes enceintes sont particulièrement à risque en raison de la pression exercée par le bébé sur le système urinaire, les changements hormonaux, aussi la grossesse dilate les voies excrétrices (Pecher et Jacobs, 1994).

Après la ménopause, les IU peuvent être plus fréquentes à cause de l'absence de certaines hormones (Pechere et Girard, 1991).

L'usage d'un diaphragme et de spermicides comme moyens contraceptif augmentent le risque d'IU (Pechere et Girard, 1991).

Cependant en comparant entre les femmes des deux groupes, l'incidence de la bactériurie est plus élevée d'un facteur 2 à 4 chez les femmes diabétiques que les chez les femmes non diabétiques (Pechere et Girard, 1991).

Les résultats de l'analyse de la fréquence et la répartition des espèces bactériennes responsables d'infection urinaire montrent la prédominance des entérobactéries (81,66%).

Chez les patients, puisque l'infection urinaire est presque toujours acquise par voie ascendante à partir de la flore digestive et périnéale, et de ce fait presque toujours composée d'entérobactéries. Chez les patients, l'espèce prédominante est *Escherichia coli* (68,33%) suivit par : *Proteus mirabilis* (13,33%), et *Pseudomonas aeruginosa* (8,33%) avec *Staphylococcus aureus*.

L'*Escherichia coli* est le germe le plus souvent retrouvé au cours de l'IU, cette prédominance est en rapport avec leurs caractères de virulence qui sont :

L'adhésivité bactérienne des *Escherichia coli* qui grâce à des prolongements de leur paroi (fimbriae ou pili) adhèrent aux récepteurs glycolipidiques spécifiques présents dans les cellules uroépithéliales, cette adhésivité bactérienne permet de résister au flux urinaire;

L'hémolysine bactérienne qui lyse les érythrocytes et les cellules épithéliales;

L'aerobactine sidérophore, qui séquestrant le fer bactérienne permet la multiplication d'*E coli* dans l'urine; milieu pauvre en fer. (Degouvello *et al.*, 2004).

Les espèces isolées sont les *Staphylococcus aureus*, sont isolées chez les femmes.

Les raisons ne sont pas encore connues, mais il semble qu'elles sont en rapport avec les relations sexuelles et/ou des facteurs hormonaux. (Pechere et Girard, 1991)

La diversité des espèces responsables d'IU est influencée par plusieurs facteurs, dont les plus importants sont l'état de l'appareil urinaire (uropathie) ainsi que la prise ultérieure d'antibiotiques.

Les résultats de notre étude qui concerne la résistance de différents germes responsables de l'IU aux antibiotiques montre que :

- Nous avons testé 41 souches d'*Escherichia coli* et observé une résistance élevée (75%) pour la bêta-lactamines (AMP, AMC, AMX), et aussi la *proteus mirabilis* on observe un taux de résistance plus élevée pour AMC, AMX, AMP, CL et SXT (Annexe 05).
- Toutes les souches de *Pseudomonas aeruginosa* étaient résistance à CIP et CTX
- Pour les *Staphylococcus aureus*, d'après les résultats, sont résistant à la totalité des antibiotiques.

Plusieurs espèces d'entérobactéries sont naturellement résistantes aux β -lactamines par production d'une β -lactamase naturelle (Fauchere et Avril, 2002). Le comportement des espèces bactériennes à un antibiotique dépend classiquement de : la perméabilité de sa paroi, la production éventuelle d'une enzyme pouvant inactiver l'antibiotique, l'affinité de l'ATB pour les protéines cibles.

Conclusion

Le présent travail dont la réalisation a été facilitée grâce à la collaboration des laborantins de laboratoire de hôpital d'EL MENEAA et à l'obligeance de son chef de service à qui nous renouvelons nos remerciements, visait pour objectif d'étudier in vitro le niveau de sensibilité des bactéries responsables d'infection urinaire vis-à-vis des antibiotiques utilisés.

La facilité apparente et la clarté de ses étapes, les méthodes diagnostiques des infections urinaires aux laboratoires de bactériologie nécessitent une rigueur absolue du fait des grandes possibilités d'erreur qui peuvent être confrontées, surtout celles liées aux personnels effectuant les tests.

Afin d'éviter ce type d'erreur, le respect de bonnes pratiques de laboratoire, le suivi des protocoles standardisés et la formation continue des laborantins font la solution. Cela permettra non seulement une minimisation du cout pour le patient et un gain en réactifs et en temps pour le laboratoire, mais c'est essentiellement l'information fournie aux cliniciens suite à la réalisation de l'ECBU qui compte le plus et qui facilite la prescription du bon traitement.

Et, du fait que le traitement des infections du tractus urinaire repose le plus souvent sur l'antibiotiques, le bon diagnostic permettra de choisir l'antibiotique ou l'association d'antibiotiques la plus efficace évitant ainsi la résistance des bactéries aux antibiotiques.

Références

bibliographiques

A

- (1) ALLAG, H., 2016. Bactériologie de l'infection urinaire, ECB Urines, p 7-8.

B

- (2) BEN RAIS, N., et GHFIR, I., 2002. Anatomie et physiologies de l'appareil urinaire. 5p, 6p, 10p
- (3) BENHEDID, S., MOULAY-BRAHIM. H., et NEDJEM, R., 2006. Bactériologie des infections urinaires chez les patients diabétiques. Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme d'études supérieures en biologie, option microbiologie, université d'Ouargla.
- (4) BOUDELLAA, Y., LAYEB, M., et BOUGATTOUCHA, W., 2010. examen cyto-bactériologique des urines mémoire de fin étude en vue de l'obtention d'un diplômé d'état en laboratoire à école de Formation Paramédicale de Skikda. p6
- (5) Brouard, B., 2011. Les infections urinaires Section 4 Item 3. p 2

D

- (6) DARBAS, H., MARCHANDIN, H., BOURGEOIS, N., et CHARACHON, S., 2007. diagnostic et suivi des infections urinaires le bon usage de l'examen cyto-bactériologique des urines P2.
- (7) DEGOUVELLO, A., MERIA, P., RAVELY, V., 2004. Epreuves nationales classantes, urologie, infection de l'appareil urinaire. 2^{ème} édition, Paris.
- (8) DJEDID, S., BELHOUARI, N., OUAHABI, H., BENGUEDIH, A., 2010. Les infections urinaires. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention de diplôme de pharmacien. Université ABOU BAKR BELKAID, Tlemcen.
- (9) Douadi, I., 2014. Etude de l'antibiorésistances des souches bactériennes à l'origine des infections urinaires à l'EPH de Ouargla. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention de diplôme de master académique spécialité microbiologie appliquée à université KASDI MERBAH, Ouargla.

F

- (10) FIGARELLA, A., MAYER., A., DEIANA, J., BERNARD, A., 2010. cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés. 2^{ème} édition p18.

G

- (11) GUYALBERT, K., 2008. Mémoire d'étude bactériologique des infections urinaires au centre Pasteur du Cameroun. 10P, 11P, 50p.

H

- (12) HAMRARAS, D., AZERINE, F., 2015. étude physiopathologie des infections urinaires, mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme Master en biologie. université El DJILALI BOUNAAMA KHEMIS Miliana.
- (13) HELENE, D., HELENE, M., NATHALIE Bourgeois et Sylvie, M., LIPCOM, 2007. Diagnostic et suivi des infections urinaires le bon usage de l'examen cyto bactériologique des urines. p 01; MIC Néphrologie. Item 93. Laboratoire de Bactériologie. Faculté de Montpellier. Nîmes.
- (14) HUGUES, F., 2010. anatomie-et-physiologie-du-système-urinaire. physiologie humaine. nutrition, métabolisme et thermorégulation, système urinaire. P 3.

K

- (15) KORAI, H., LOUZIM, H., KHIAL, D., 2012. Les infections urinaires chez la femme. Mémoire de Fin d'Etude de Pharmacie. Université Aboubekr-Belkaid Tlemcen.
- (16) KOUTA, K., 2009. Infections urinaires chez les diabétiques adultes, mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme d'Etudes Supérieures en Biologie. université KASDI-MERBAH- OUARGLA.

L

- (17) LAURENT, 2009. l'Appareil Urinaire p2.
- (18) LEMORT, M., Neuville, S., Medus, M., Gueudet, P., Saada, M., Aumaitre, H., et Lecaillon, E., 2006. Evaluation comparée de la sensibilité de souches *E. coli* isolée d' infections urinaires des patients consultants aux urgences et de patients hospitalisée en 2002 et 2004 à l'hôpital de Perpignan Pathol biol.S4(8-9): 427-430.
- (19) Les recommandations de l'AFSSAPS, 2008. Diagnostique et antibiothérapie des infections bactériennes commentaires de l'adulte. 5 P, 18p.

Les sites d'internet

M

- (20) MARRHICH, B., 2008. les antibiotiques utilisés dans les infections urinaires. thèse pour obtenir le grade de docteur en pharmacie (diplôme d'état) université cheikh anta diop de dakar.
- (21) Mondor, H., 2004. Les infections urinaires basses et hautes et parasitologie. France. 9P-15P.

N

- (22) Nath, D., 2001. Examen cyto bactériologique des urines (E.C.B.U.) p 2.

P

- (23) PECHER., J., JACOBS, C., 1994. Le diabète sucré. 2^{ème} édition , Maloine, Canada.
- (24) PECHERE, J-C., GIRARD, J-F., 1991. Les infections. 3^{ème} édition, Edissem, Maloine, Canada.
- (25) Pierre et Marie Curie, 2003. Bactériologie DCEM1. Faculté de Médecine Pitié Salpêtrière. Université PARIS-VI. p1.
- (26) PROUZERGUE, B., 2011. Analyse de la prescription antibiotique des médecins généralistes en haute vienne dans le traitement des infections urinaires de l'adulte. thèse pour le diplôme d'état de docteur en médecine. Université de Limoges.

Q

- (27) QUERIN, S., VALIQUETTE, L., 2000. Physiopathologie des maladies du rein et des voies urinaires. Maloine, Canada.

S

- (28) SEKHSOKH, Y., CHADLI, M., et EL HAMZAOU, S.A., 2008. Fréquence et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées dans les urines. Médecine et maladies infectieuses;38 :324-327.

T

- (29) TONY, H., PAUL, S., 2003. Atlas de poche de microbiologie. 2^{ème} édition Paris.
- (30) URL 1 : www.lurine.net : des vertus moins connues. Net
- (31) URL 2 : www.modulesdivers.net : Urologie / Néphrologie. Net
- (32) URL 3 : www.reabsorptionetsecretion.know.html
- (33) URL 4 : ANONYME., 2007. Textes de référence Infection urinaire
- (34) URL 5 : www.cloudfront.net
- (35) URL 6 : www.wikipédia.com

Annexes

Annexe 01

Tableau de catalogue analytique des réactifs de galerie API 20E

Dénomination	Réactif à ajouter	Interprétation de la réaction			Objet de la réaction	Composition du réactif
		Positive	Négative	Commentaires		
TDA (Perchlorure de fer)	1 goutte TDA dans tube TDA	brun	jaune	réaction instantanée	transformation du tryptophane en acide indolpyruvique. Ce corps donne avec le perchlorure de fer une coloration brune.	perchlorure de fer solution aqueuse à 3,33 %
IND (Réactif de Kovacs)	1 goutte IND dans tube IND	anneau rose à violet dans la cupule	incolor ou jaune	réaction instantanée	formation d'indole à partir du tryptophane. L'indole donne un complexe rose à violet avec le réactif de Kovacs.	diméthylaminobenzaldéhyde à 5 % dans mélange alcool isoamy- lique acide chlorhydrique
VP ₁ - VP ₂	1 goutte VP ₁ + 1 goutte VP ₂ dans tube VP	rose ou rouge dans cupule ou tout le tube	incolor	attendre 10 minutes avant lecture	L'acétone formée donne un complexe rouge en milieu alcalin en présence d' α -naphthol	VP ₁ hydroxyde de potassium solution aqueuse à 40 % VP ₂ α -naphthol à 6 % dans l'alcool éthylrique

Annexe 02

Principe de la méthode de calcul

PRINCIPE DE LA METHODE DE CALCUL

Le test de l'oxydase est ajouté en tant que test N° 21 aux 20 caractères biochimiques la galerie API 20 Enterobacteriaceae.

Ces 21 tests sont divisés en 7 groupes de trois :

ONPG	ODC	URE	VP	MAN	RHA	AMY	=	1
ADH	CIT	TDA	GEL	INO	SAC	ARA	=	2
LDC	H ₂ S	IND	GLU	SOR	MEL	OXY	=	4

attribue à chaque réaction positive enregistrée une valeur numérique déterminée.

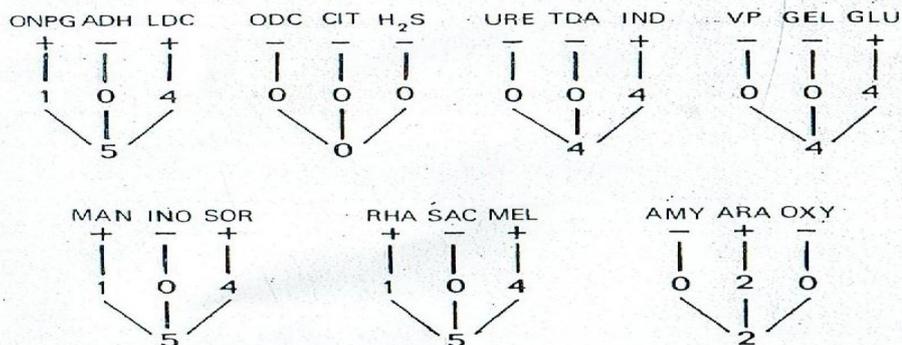
La valeur UN pour la 1ère réaction de chaque groupe (ONPG, ODC...)

La valeur DEUX pour la 2ème réaction de chaque groupe (ADH, CIT...)

La valeur QUATRE pour la 3ème réaction de chaque groupe (LDC, H₂S, IND...)

En additionnant les valeurs positives de chaque groupe, on obtient un nombre de 7 chiffres correspondant au profil numérique.

Exemple : 5 044 552 = *E. coli*.



N.B. : Chaque chiffre représente une seule combinaison et par conséquent, à chaque nombre de sept chiffres ne correspond qu'un seul profil.

api® 20 E

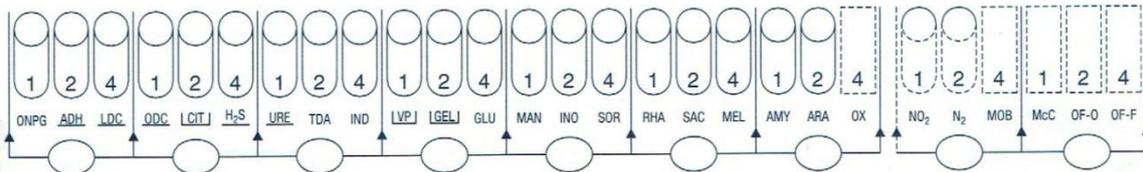


07223 C

REF :

Origine / Source / Herkunft /
 Origen / Origen / Προέλευση /
 Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie :

BIOMÉRIEUX



Autres tests / Other tests / Andere Tests /
 Otras pruebas / Altri test / Outros testes /
 Άλλες εξετάσεις / Andra tester /
 Andre tests / Inne testy :

Ident. / Ταυτοποίηση :

Imprimé en France / Printed in France

Annexe 03

Caractère biochimique différentiel obtenus à 37 °C après 24 heures au maximum

CARACTÈRES BIOCHIMIQUES DIFFÉRENTIELS OBTENUS À 37 °C APRÈS 24 HEURES AU MAXIMUM

	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX	NT
<i>Escherichia coli</i>	+	-	d	d	-	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	d	+	d	+	-	+
<i>Shigella</i>	d	-	-	d	-	-	-	d	-	-	-	+	-	-	d	-	-	-	-	d	-	+
<i>Edwardsiella tarda</i>	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Levinea (Citrobacter diversus)</i>	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	d	+	+	+	-	+
<i>Citrobacter freundii</i>	+	d	-	d	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>Salmonella SGI</i>	-	d	+	d	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>Salmonella SGIII (S. arizonae)</i>	+	d	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>Enterobacter aerogenes</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>E. cloacae</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>E. hafniae</i>	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>E. agglomerans (Erwinia)</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>Serratia liquefaciens</i>	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>S. marcescens</i>	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>Proteus vulgaris</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>P. mirabilis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>P. morganii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>P. rettgeri</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>Providencia stuartii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>Pr. alcalifaciens</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>Yersinia enterocolitica</i>	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>Y. pseudotuberculosis</i>	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+

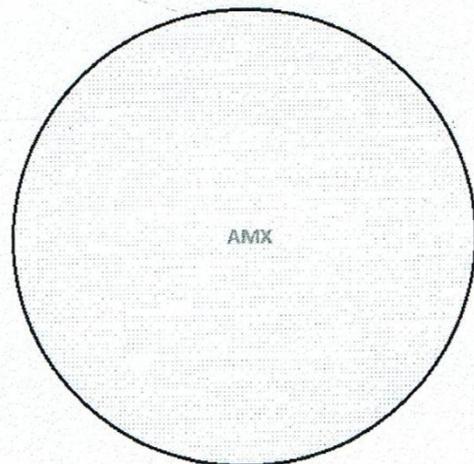
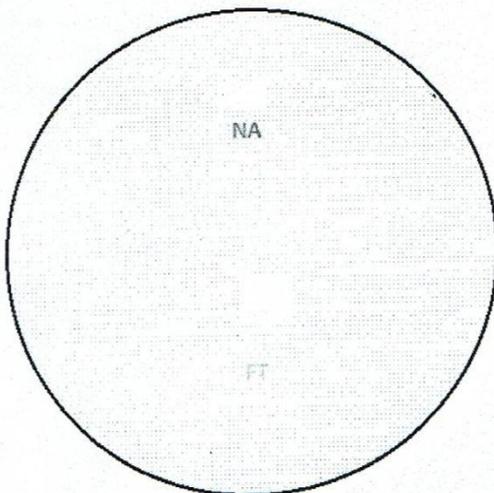
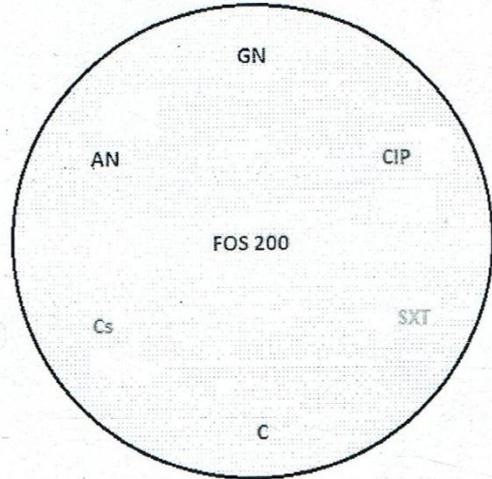
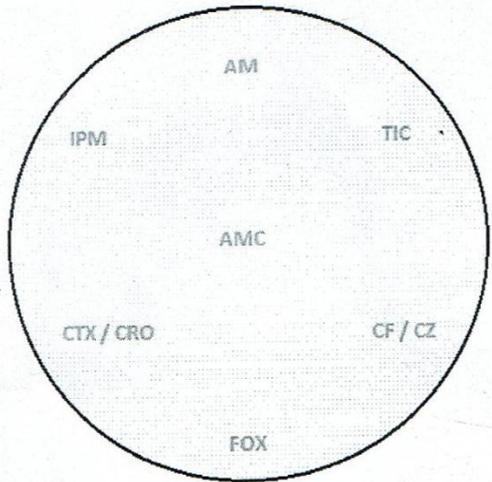
Diagnostic présomptif de quelques bacilles gram négatif autres que les Entérobactéries

<i>Pseudomonas</i> grp. fluorescente	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	d ⁸
<i>Ps. maltophilia</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> var. <i>anitratum</i> (<i>Moraxella glucidolytica</i>)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. shigelloides</i> (<i>Plesiomonas shigelloides</i>)	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+ Caractère en général positif
 - Caractère en général négatif
 ± Caractère le plus souvent positif
 d Caractère définissant différents typos biochimiques
 1 Les *E. coli* immobiles agaçonnés (*Aikalescens-Dispar*) sont ONPG - ou ONPG +
 2 *Salmonella paratyphi A* est LDC -, CIT -, H₂S +
 3 *Klebsiella pneumoniae* biotype *oxytoca* est IND +
 4 *E. hafniae* est CIT +, VP + après 24-48 heures d'incubation à 22 °C.
 5 *Y. enterocolitica* est ODC +, VP + après 24-48 heures d'incubation à 22 °C.
 6 *Ps. aeruginosa*, *fluorescens* ou *putida*, ce dernier étant toutefois GEL -.
 7 Métabolisme oxydatif.
 8 Réduction des nitrates jusqu'au stade azote, pour *Ps. aeruginosa*.
 9 Métabolisme oxydatif, ces caractères sont négatifs pour *A. calcoaceticus* var. *luoffii* (*Moraxella luoffii*).

Annexe 04

Antibiogramme des entérobactéries



SI COPRO OU ECBU

SI AM NON TESTEE
AMX TESTEE EN SFM (DILUTION 1/100)

AM : ampicilline
AMX : amoxicilline
AMC : amoxicilline + acide clavulanique
TIC : ticarcilline
CF / CZ : cefalotine / cefazoline
FOX : cefoxitine
CTX / CRO : cefotaxime / ceftriaxone
IPM : imipénème
GN : gentamicine

AN : amikacine
Cs : colistine
C : chloramphénicol
CIP : ciprofloxacine
NA : acide nalidixique
SXT : sulfaméthoxazole + triméthoprime
FOS 200 : fosfomycine 200 µg
FT : nitrofurantoïne

Annexe 05

Les familles des antibiotiques de les plupart souches bactériennes.

Famille	Antibiotiques
Bêta-lactamines	Amoxicilline
	Amoxicilline-acide Clavulanique
	Ticarcilline
	Piperacilline
	Cefalotine
	Cefotaxime
	Cefoxitine
	Cefepime
	Aztreonam
	Mecillinam
	Aminosides
Amikacine	
Quinolones	Acide nalidixique
	Norfloxacine
	Ciprofloxacine
Sulfamides associés	Cotrimoxazole
Nitrofuranes	Nitroxoline
Phosphonopeptides	Fosfomycine

نظرا للازدياد المتكرر للإصابة بالالتهابات البولية في منطقة المنبوعة وهذا بالنسبة لكل فئات المجتمع، هدفت دراستنا هذه إلى تشخيص هذه الالتهابات عن طريق الدراسة الخلوية البكتيرية لعينات البول أو ما يعرف اختصارا بـ ECBU وذلك في مخبر الميكروبيولوجي بمستشفى محمد شعباني بالمنبوعة، وذلك من أجل الخروج بحلول للحد من هذه الأخيرة.

تطبيقا درسنا 160 عينة من المرضى (نساء وأطفال ورجال) في الفترة الممتدة من 16 أوت إلى 18 ديسمبر 2016.

طريقة العمل كانت حسب بروتوكول ثابت حيث أخذت العينات البولية الصباحية، وقمنا بتحليل خلوي لمعرفة نسبة الخلايا ونوعها ودراسة البكتريا الموجودة في هذه العينات.

تم دراسة عينات من هذه البكتريا بواسطة الـ API 20، كما تم دراسة حساسية هذه البكتريا لمختلف المضادات الحيوية. أظهرت النتائج أن النوع البكتيري *Escherichia coli* هو النوع السائد في هذا النوع من الالتهابات، متبوعا بـ *Proteus mirabilis*، ثم نوع *Staphylococcus aureus*، ثم *Pseudomonas aeruginosa*، وأخيرا *Klebsiella* والتي تعتبر حالة نادرة.

حيث كذلك الفئة النسوية هي الأكثر عرضة للإصابة خاصة من سن البلوغ إلى سن اليأس، ثم الفئة الذكورية ولكن عند الاطفال الصغار قبل الختان تبين تعرضهم لحالات الإصابة بـ *Proteus mirabilis*.

وخلصت الدراسة إلى أنه باتباع بعض النصائح اليومية والمحافظة على النظافة الدائمة يمكن تجنب الكثير من الالتهابات البولية في منطقة غرداية.

الكلمات المفتاحية : الالتهابات البولية، بكتيريا، التشخيص، المضادات الحيوية، ECBU.

Résumé

Avec l'augmentation fréquente des infections urinaires dans la zone de Ghardaïa, notre étude visait à diagnostiquer ces infections par l'ECBU au laboratoire de hôpital Mohammed Shaabani d'El Ménéaa. Afin de trouver des solutions pour réduire ce dernier.

Nous avons examiné 160 patients (femmes, enfants et hommes) durant la période allant du 16 août au 18 décembre 2016. Le protocole de travail est un protocole standardisé qui consiste à prendre des échantillons urinaires du matin pour une analyse complète cellulaire (pour déterminer la proportion de cellules) et également pour une étude microbiologique (pour isoler et examiner les espèces bactérienne).

Nous avons évalué et confirmé l'infection des éléments présents dans l'urine, en particulier le nombre de ces éléments. Notre étude consiste à mettre en évidence l'infection bactérienne par galerie API 20E et l'étude de la sensibilité des antibiotiques (ATB) vis-à-vis des bactéries isolées.

Les résultats ont montré que le type bactérien le plus dominant dans ces infections dans la région de Ghardaïa est l'espèce *Escherichia coli*, suivie de *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*, plus un rare cas de *Klebsiella* qui a été signalé.

Ainsi que la catégorie des femmes (de l'âge de la puberté à la ménopause) sont particulièrement les plus vulnérables et la catégorie des hommes, et également pour les jeunes enfants avant la circoncision par *Proteus mirabilis*.

Cette étude a conclu que le suivi accompagné de quelques conseils quotidiens, avec le maintien d'une hygiène permanente peut diminuer ce type d'infections urinaires dans la région de Ghardaïa.

Mots clés : Infections urinaires, Diagnostique, Bactéries, Antibiotiques, ECBU.

Abstract

With the frequent increase in urinary tract infections in the area of Ghardaïa, our study aimed to study the ECBU infections in the laboratory of Mohammed Shabani hospital, in El Ménéaa.

We examined 160 samples (women, children and men) in the period from 16 August to 18 December 2016. In order to come up with solutions to reduce the latter.

The protocol of work is standardized with using the morning urine specimens to analyze cell and to determine the proportion of these elements, and also to study different types of bacterial infection in these samples.

To characterize the bacteria responsible of these infection, we used API 20E system and we studied also the antibiotic susceptibility of isolated bacteria.

The obtained results showed that the most dominant bacterial type is in these kind of infections is *Escherichia coli*, followed by *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. Furthermore, a rare case of *Klebsiella* has been reported in the area.

As well as the category of women (from the age of puberty to menopause) are especially the most vulnerable, and the category of men, but when young children, before being subjected to circumcision, have been infected by *Proteus mirabilis*.

Finally, follow up some daily tips and maintain a permanent hygiene can reduce a lot of cases of these urinary infections in the region of Ghardaïa.

Keywords: Urinary infections, Bacteria, Diagnosis, Antibiotics, ECBU