

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة 8 ماي 1945 قالمة

Université 8 Mai 1945 Guelma

**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCE DE LA TERRE ET
DE L'UNIVERS**

DEPARTEMENT D'ÉCOLOGIE ET GENIE DE L'ENVIRONNEMENT



MÉMOIRE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme :

« Master en Microbiologie Appliquée »

Session juin 2020.

Présenté par :

Mlle : **AOUNALLAH Amira**

Thème

**Contribution à l'étude des examens
cytobactériologique des urines dans la wilaya
de Guelma**

Devant le jury suivant:

Dr. MERZOUG Abdelghani	(MCB)	Président(e)
M. ROUABHIA Kamel	(MAA)	Examineur
Pr. HOUHAMDI Moussa		Encadrant

Année universitaire 2019–2020

DEDICACES

Je dédie ce travail à :

Ma mère qui m'a entouré d'amour,

d'affection et qui à fait tout pour ma réussite que dieu la garde.

*A mon cher père, qui à été toujours à mes cotés pour me soutenir et
m'encourage que ce travail traduit ma gratitude.*

Et mon affection :

A mes frères : Didine et Ramzi.

A mon grand père "BaBi "

A ma grand-mère.

A tout mes oncles et tantes.

A tout mes cousins et cousines et à tout mes amis.

Remerciements

A l'occasion de ma soutenance, je tiens à remercier vivement le DIEU, le tout puissant qui à éclairé mon chemin et pour la patience et la force qu'il ma donné afin de réaliser ce modeste travail.

Mon respect s'adresse particulièrement à mon encadreur : Pr. HOUHAMDI Moussa (Université 8 Mai 1945 Guelma), pour la confiance qu'il ma accordée en acceptant de diriger ce modeste travail, pour ses multiples conseils judicieux, son soutiens, son encouragement, ainsi que son suivie tout au long de mon travail.

Je tiens aussi à remercier Dr. MERZOUG Abdelghani (MCB, Université 8 Mai 1945 Guelma), qui m'a l'honneur d'accepter de présider ce jury.

Je remercie également M. ROUABHIA Kamel (MAA, Université 8 Mai 1945 Guelma), d'avoir accepté de faire part de ce jury.

Mes vifs remerciements au techniciens de laboratoire de Bactériologique de l'Hôpital Ibn Zohr de Guelma.

Je remercie enfin tout mes proches, particulièrement ma tante "Didi" qui m'a beaucoup aidée dans la réalisation de ce travail.

Mes sincères remerciements et ma profonde gratitude vont à tous les enseignants de la Faculté SNV-STU de l'Université 8 Mai Guelma, je les remercie d'avoir enrichi mes connaissances et de m'avoir guidé durant toutes ces années.

Aounnallah Amira

DEDICACES

REMERCIEMENTS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ABREVIATIONS

INTRODUCTION..... 1

PARTIE 01 : Revue Bibliographique

1. Appareil urinaire.....	2
1.1 L'appareil urinaire haut.....	2
1.1.1 Le rein.....	2
1.1.2 L'uretère	2
1.2 L'appareil urinaire bas	2
1.2.1 La vessie	2
1.2.2 L'urètre	3
2. Définition et composition physiologique des urines.....	3
2.1 Définition.....	3
2.2 Composition.....	3
3. Les infections urinaires.....	4
3.1 Définition.....	4
3.2 Types d'infections urinaires.....	4
3.2.1 Infection basses.....	4
3.2.2 Infection hautes.....	4
3.3 Origine de l'infection urinaire.....	4
3.3.1 Infection urinaire nosocomiale.....	4
3.3.2 Infection urinaire communautaire.....	5
3.4 Voies de contamination.....	5
3.4.1 Voie ascendante.....	5
3.4.2 Voie hématogène.....	5
3.5 Symptômes.....	5
3.6 Facteurs de risques de l'infection urinaire.....	6
3.7 Complication.....	6
4. Agents causales.....	7
4.1 Les principaux germes responsables des infections urinaires.....	7
4.1.1 Les Bacilles à Gram négatif.....	7
4.1.2 Les cocci à Gram positif.....	9
5. Traitement	10

TABLE DE MATIERE

PARTIE 02 : Matériel & Méthodes

1. Objectif.....	11
2. Méthode.....	11
2.1 Prélèvement.....	12
2.2 Condition de transport et de conservation.....	13
2.3 Examen macroscopique des urines.....	13
2.4 Examen Cytobactériologique des urines.....	13
2.4.1 Cytologie.....	13
2.4.2 Bactériologie.....	14
2.4.2.1 Dénombrement et Isolement des bactéries.....	14
2.4.2.2 Examen Macro/Microscopique.....	16
2.4.2.3 Identification.....	17
A. Tests Préliminaires.....	17
B. Tests Biochimiques.....	18
2.4.2.4 Antibiogramme.....	19

PARTIE 03 : Résultats & Discussion

1. Résultats.....	21
1.1 Examen macroscopique des urines.....	21
1.2 Examen cytologique.....	22
1.3 Examen bactériologique.....	22
1.3.1 Dénombrement.....	22
1.3.2 Lecture macro/microscopique.....	24
1.4 Identification.....	26
1.5 Antibiogramme.....	29
2. Etude statistique.....	31
2.1 Fréquence des ECBU positifs et négatifs.....	31
2.2 Fréquence des ECBU en fonction du sexe.....	32
2.3 Fréquence des ECBU en fonction de l'âge.....	33
2.4 Fréquence des ECBU en fonction des germes.....	34
2.5 Résistance et sensibilité des germes isolés aux antibiotiques	35
3. Discussion.....	41
Conclusion.....	46
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumé	

LISTE DES FIGURES

Figure 1	L'appareil urinaire chez l'homme et la femme.....	2
Figure 2	Les différentes complications d'infection urinaire.....	7
Figure 3	Protocole de la démarche de l'examen cyto bactériologique des urines.....	11
Figure 4	Pot stérile de prélèvement urinaire.....	12
Figure 5	Planches étalons servant le pour dénombrement des germes urinaires.....	15
Figure 6	Galerie biochimique API 20E.....	19
Figure 7	L'aspect urinaire.....	21
Figure 8	Observation(x40) : Des bacilles, des leucocytes.....	22
Figure 9	Cristaux d'acide urique.....	22
Figure 10	Des leucocytes, et des hématies.....	22
Figure 11	Cristaux d'oxalate de Ca ⁺⁺ , des cellules épithéliales, levure.....	22
Figure 12	Catalase négatif.....	27
Figure 13	Catalase positif.....	27
Figure 14	Oxydase négatif.....	27
Figure 15	Oxydase positif.....	27
Figure 16	Coagulase négatif.....	27
Figure 17	Coagulase positif.....	27
Figure 18	Résultats des antibiogrammes obtenus.....	30
Figure 19	Diagramme circulaire représentant la répartition des ECBU.....	31
Figure 20	Diagramme circulaire représentant la répartition des ECBU selon le sexe.....	32
Figure 21	Histogramme représentant la répartition des ECBU positifs selon les tranches d'âge.....	33
Figure 22	Diagramme représentant la répartition des espèces bactériennes isolées.....	34
Figure 23	Représentation graphique des résultats de l'antibiogramme appliqué à <i>E. coli</i>	35
Figure 24	Représentation graphique des résultats de l'antibiogramme appliqué au <i>Klebsiella pneumoniae</i>	36
Figure 25	Représentation graphique des résultats de l'antibiogramme appliqué au <i>Proteus mirabilis</i>	37
Figure 26	Représentation graphique des résultats de l'antibiogramme appliqué à <i>Enterobacter cloacae</i>	38
Figure 27	Représentation graphique des résultats de l'antibiogramme appliqué au <i>Pseudomonas spp</i>	39
Figure 28	Représentation graphique des résultats de l'antibiogramme appliqué au <i>Staphylococcus</i>	40

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1	Les principaux composants des urines.....	3
Tableau 2	Numération des leucocytes entre lame et lamelle.....	14
Tableau 3	Renseignements nécessaires sur les prélèvements d'urines des patients	21
Tableau 4	Résultats de l'aspect macroscopique des urines, examen cytologique, et numération bactérien après culture sur gélose nutritive.....	23
Tableau 5	Lecture macroscopique des colonies après culture.....	24
Tableau 6	Aspects cultureux des Bacilles Gram (-) sur les différents milieux utilisés.....	25
Tableau 7	Aspects cultureux des cocci Gram (+) sur les différents milieux utilisés.....	26
Tableau 8	Résultats des tests « Catalase, Oxydase et Coagulase ».....	26
Tableau 9	Résultats de l'API 20E, AP I20 NE, API Staph.....	28
Tableau 10	Résultats de l'antibiogramme de <i>E. Coli</i>	29
Tableau 11	Résultats de l'antibiogramme de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	29
Tableau 12	Résultats de l'antibiogramme de <i>Proteus mirabilis</i>	29
Tableau 13	Résultats de l'antibiogramme de <i>Enterobacter cloacae</i>	29
Tableau 14	Résultats de l'antibiogramme de <i>Pseudomonas spp</i>	29
Tableau 15	Résultats de l'antibiogramme de <i>Staphylococcus</i>	29
Tableau 16	Répartition des ECBU selon le résultat de la culture.....	31
Tableau 17	Répartition des ECBU selon le sexe.....	32
Tableau 18	Représentation des ECBU positifs en fonction des tranches d'âge.....	33
Tableau 19	Répartition des germes identifiés.....	34
Tableau 20	Interprétation des résultats de leucocyturie, de bactériurie et de la culture.....	43

LISTE DES ABREVIATIONS

ECBU : Etude Cytobactériologique des Urines.

IU : Infection Urinaire.

IST : Infection Sexuellement Transmissible.

RM : Rouge de méthyle.

VP : Voges-Proskauer.

KES : *Klebsiella-Enterobacter-Serratia*.

SCP : Staphylocoque à coagulase positive.

SCN : Staphylocoque à coagulase négatif.

GR : Globules Rouges.

H₂O₂ : Peroxyde hydrogène.

CLSI : Clinical and Laboratory Standards Institute.

UFC : Unité Formant Colonie.

L : Leucocytes.

GN : Gélose Nutritive.

GSF : Gélose au Sang Frais.

MH : Muller-Hinton.

ATB : Antibiotique.

AKN : Amikacine.

ETP : Ertapenam.

NIT : Nitrofurantoin.

COL : Colistine.

FOS : Fosfomycine.

FOX : Cifoxitine.

CTX : Cefotaxime.

GMN : Gentamicine.

CIP : Ciprofloxacine.

AMC : Ampicilline.

LISTE DES ABREVIATIONS

AMX : Amoxicilline.

CZ N : Céfazoline

OFX : Ofloxacine.

COT : Co-Trimoxazole.

IPM : Imipenème.

PIP : Piperacilline.

TOB : Tobramycine.

LVX : Levofloxacine.

ATM : Aztreonam.

CAZ : Ceftazidime.

TIC : Ticarcilline.

TCC : Ticarcilline/ Acide Clavulanique.

TEC : Teicoplanine.

VA : Vancomycine.

RIF : Rifampicine.

FC : Acide Fusidique.

LE : Lévofloxacine.

PEN : Pénicilline.

OXC : Oxacilline.

L : Linzolide.

ERY : Erythromycine.

TET : Tétracycline.

KNN : Kanamycine.

INTRODUCTION

De nos jours, l'infection urinaire est devenu une pathologie fréquente, elle occupe le 2^{ème} rang des infections bactériennes communautaires, juste après les infections respiratoire (**Chauffrey, 2012**). C'est ainsi qu'elle constitue le principal motif d'exploration microbiologique avec une incidence annuelle globale d'environ 250millions de cas (**Isnard, 2015**).

L'examen cytobactériologique des urines (ECBU) est l'examen clé diagnostiquer l'infection urinaire, qui est l'une des analyses microbiologiques les plus demandées. Son apparente simplicité d'exécution ne doit pas faire oublier qu'il convient de respecter toute circonstance une méthodologie rigoureuse. (**Flandrois, Chmarat, 1998**).

Cette méthodologie est basée sur examen cytologique et bactériologique qui donne une idée sur les cellules et les microorganismes présents dans les urines ainsi que leur identification par divers technique de laboratoire. Cependant, du fait de l'augmentation croissante des résistances acquises aux antibiotiques, l'antibiogramme est devenu systématique dans tous les cas d'infection urinaire qui déterminant la sensibilité ou la résistance des germes identifiés aux antibiotiques (**Abaliqumwe, 2004**).

Pour cela on s'est intéressé au cours de cette étude à examiner les urines des patients hospitalisés et consultants en externe suspectés ayans une infection urinaire au niveau de laboratoire de l'hôpital Ibn Zohr. L'objectif de mon travail a porté principalement sur :

- Etude les caractéristiques cytologique et microbiologique.
- Evaluer la fréquence d'isolement et identification biochimique des bactéries responsables.
- Etudier le profil de résistance aux antibiotiques des bactéries identifiées.

PARTIE 01 :
Revue
Bibliographique

1. L'appareil urinaire

L'appareil urinaire est un système complexe qui implique plusieurs organes : les reins ; l'uretère ; la vessie ; et l'urètre (figure 1) (Kamina, 2005). Il assure l'épuration du sang ainsi que la production et expulser les déchets liquide de l'homme sous forme d'urine et participe aussi au maintien de l'équilibre acido-basique de l'organisme (Luce, 2006).

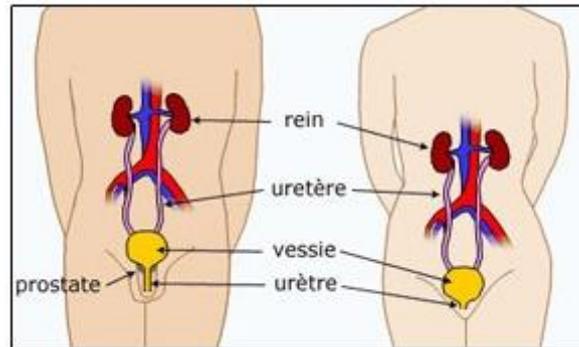


Figure 1 : L'appareil urinaire chez l'homme et la femme (Chekroud, 2017).

1.1 L'appareil urinaire haut

1.1.1 Le rein

Organe pair de couleur rouge-brun foncé en forme d'haricot, situés dans la partie postérieure de l'abdomen à côté de la colonne vertébrale qui forme l'urine à partir de la filtration du sang, et élimine des déchets toxiques, et participe aussi à l'équilibre de l'eau et des minéraux dans l'organisme « Régulation de l'homéostasie ». (Claude, 2015).

Le rein mesure 12cm de longueur, 6cm de largeur et 3cm d'épaisseur pour un poids de 150g en moyenne chez l'adulte (Ben Rais, Ghfir, 2002).

1.1.2 L'uretère

L'uretère est un organe pair. C'est un conduit excréteur du rein nombre de deux qui joue un rôle dans le transport des urines du rein à la vessie, ce conduit, musculéux-membraneux et contractile, présente deux parties, abdominale et pelvienne (Kamina, 2006). Chacune mesure 25 à 30 cm de long (Ben Rais, Ghfir, 2002).

1.2 L'appareil urinaire bas

1.2.1 La vessie

C'est une poche du petit bassin musculaire creux en forme de sphérique, qui sert de stockage provisoire où s'accumule entre deux mictions l'urine amenée par les uretères (Claude, 2015). Elle est située dans l'espace pelvis-sous-péritonéal en arrière de la symphyse

pubienne (**Benoit, Giruliano , 1991**), en avant des vésicules séminales et du rectum chez l'homme et en avant de l'utérus chez la femme (**Kamina, 2006**).

1.2.2 L'urètre

C'est un canal qui part de la vessie et aboutit à l'extérieur, permet d'évacuer les urines au cours de la miction pour les 2 sexes et évacuer le sperme au cours de l'éjaculation chez l'homme (**Claude, 2015**).

Leur longueur variable selon le sexe, Chez la femme, il mesure seulement 3cm situé entre la symphyse pubienne et le vagin. Et Chez l'homme, il mesure environ 16cm de long en traversant trois parties : prostatique, membranacée, spongieux (**Kamina, 2006**).

2. Définition et composition physiologique des urines

2.1 Définition

L'urine est un liquide organique de couleur jaune ambrée, secrétée par les reins qui sera ensuite expulsé hors du corps par le système urinaire (**Berrod, 2016**), sa densité est de 1,016 à 1,020, son pH est de 5 à 6. La production d'urine est d'environ 1,5l par 24heures (**Guilloneau et Vallancien, 1999**). Elle peut dégagée une odeur légèrement aromatique inhabituelles lors de la consommation de certains aliments ou médicaments, et de quelques maladies (tel que le diabète sucré) (**Elaine et Marieb, 2008**).

2.2 Composition

La composition de l'urine est variable d'un jour à l'autre, mais relativement stable qui est constitué de 95% d'eau et 5% des déchets de matières inorganiques et de matières organique (**Eddi, 2010**).

Tableau 1 : Les principaux composants des urines [1].

Principaux constituants d'urine	Volume
❖ Eléments minéraux	
○ Sodium	1,17 g/l
○ Potassium	0,750 g/l
○ Calcium	100 à 250 mg/24h
○ Chlorure	1,87 g /l
○ Sulfate	2 g/l
○ Phosphate	1,5 à 3 g/l
❖ Eléments organiques	
○ Urée	9,3 g/dl
○ Créatinine	0,670g/l
○ Acide urique	0,4 à 0,8 g/l
○ Protéines (protéinurie)	50 à 100 mg/24h
○ Urobiline (urobilinurie)	
○ Glucose (glycosurie)	Absente
○ Leucocytes	< à 10 000/ml
○ Hématies	< à 1 000/ml

3. Les infections urinaires

3.1 Définition

La présence d'une infection urinaire diagnostiquée par un examen cyto bactériologique des urines (ECBU) se définit par : une concentration bactériennes supérieure à 10^5 UFC/ml, et d'une leucocyturie supérieure ou égale à $10^4/mm^3$ ($10^4/ml$), avec l'isolement d'un seul type de la bactérie c'est à dire une culture pure mono-bactérienne (**Bonacorsi, 2011**).

Les infections urinaires peuvent être localisées dans les voies urinaires basses ou hautes. (**François et al, 2013**).

Les principaux bactéries responsables d'IU sont par ordre décroissant, *Escherichia coli* (la plus fréquente), *Enterococcus spp.*, et autres entérobactéries surtout *Proteus*, *Klebsiella*, et rarement il s'agit d'un *Staphylococcus* (**Riegel, 2003**).

3.2 Types d'infections urinaires

On distingue deux types :

3.2.1 Infection basses

➤ 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. Provoquer par des bactéries de la famille des entérobactéries (**Gyalbert, 2008. Brunner, 2011**).

Elle touche presque uniquement les femmes, car chez les hommes une cystite s'accompagne pratiquement d'une prostatite (**Gyalbert, 2008**).

➤ Urétrite

C'est une inflammation de l'urètre, en particulier au cours d'une IST (Infection Sexuellement transmissible) courante chez les hommes, mais les femmes peuvent aussi en souffrir. (**Claude, 2015**).

3.2.2 Infection hautes

➤ Pyélonéphrite

Est une inflammation bactérienne du bassinet et du rein, elle est fréquente chez les jeunes femmes et à des symptômes de façon brutale tels que : une forte fièvre, des frissons, et des douleurs au niveau des fosses lombaires, ces signes peuvent provoquées à des troubles urinaires (**Talha, 2018**).

3.3 Origine de l'infection urinaire

3.3.1 Infection urinaire nosocomiale

Une infection urinaire est considérée comme une infection nosocomiale lorsqu'elle est acquise dans un établissement de santé. Elle peut concerner les personnes séjournant visitant

ou travaillant à l'hôpital (Ctinils, 2007). Et les symptômes cliniques apparaissent qu'après la 48 heures d'hospitalisation (Valide et al, 2010).

L'appareil urinaire est le site d'infection nosocomiale le plus fréquent, représentant 40% du nombre totale rapporté par les hôpitaux de soins de courtes durées, et surviennent pour 80% de cas chez des patients porteurs de sonde à demeure (SAD) (Pavese, 2003).

3.3.2 Infection urinaire communautaire

Les infections urinaires communautaire est acquise en dehors de l'hôpital, et représentent le second site d'infection bactérienne après l'arbre respiratoire (Briquet, 2016).

3.4 Voies de contamination

Pour pénétrer l'arbre urinaire, les bactéries peuvent emprunter principalement deux voies (Voie ascendante ou voie hématogène).

3.4.1 Voie ascendante

C'est la voie la plus fréquente (95% des cas). L'infection se fait donc le plus souvent par l'urètre, et la prolifération des bactéries dans la vessie est favorisée par :

- La stase urinaire : miction peu fréquentes ou incomplètes (résidu post-mictionnel), boissons insuffisantes.
- Un corps étranger : calcul ou sonde vésicale.
- La présence de glucose dans l'urine.
- La présence de facteurs de virulence spécifiques des bactéries uropathogènes (Moulin et Peraldi, 2018).

3.4.2 Voie hématogène

Cette voie reste exceptionnelle et très rare, car les bactéries pénètrent dans la circulation sanguine, et leur localisation rénale d'une septicémie.

Les principaux micro-organismes impliqués sont :

- Staphylocoques blancs et dorés
- Salmonelles
- *Pseudomonas*
- *Candida albicans* (Moulin et Peraldi, 2018).

3.5 Symptômes

Les signes cliniques d'une infection urinaire sont : (Flandrois, Chomarat, 1988).

- Brulures mictionnelles
- Pollakiurie
- Dysurie
- Hyperthermie (> 38°C)
- Douleurs lombaires
- Douleurs abdominales

- Nausées et vomissements
- Frissons
- Sueur
- Hématurie

3.6 Facteurs de risques de l'infection urinaire

➤ Âge avancé

Après la première année de vie, Les infection deviennent plus fréquentes chez les filles jusqu'à la cinquantaine ou apparaissent cette fois-ci les maladies liées à la prostate et donc une augmentation des infections urinaires chez l'homme (Lobel, Soussy, 2007).

➤ Sexe

Les infection urinaire basses sont plus élevée chez la femme que chez l'homme, un tiers des femmes ont une IU au cours de leur vie, avec deux pics, l'un au début de le vie sexuelle et l'autre après la ménopause (la baisse de production de ces sécrétions), et pour l'homme la cystite s'observe généralement après 18 ans, et devient plus fréquente à partir de 50 ans, qui est favorisent par l'augmentation du volume de la prostate qui gêne la vidange de la vessie (Lobel et Soussy, 2007).

➤ Alitement hospitalisation

➤ Sonde urinaire

➤ Trouble neurologiques

➤ Grossesse

➤ Diabète

3.7 Complication

Les complications d'infection urinaire peuvent comprendre : (Spilf, 2015).

➤ Pyélonéphrite

➤ Cystite chronique

➤ Insuffisance rénale chronique sévère

➤ Prostatite chronique

➤ Sepsis sévère

➤ Abscess rénal

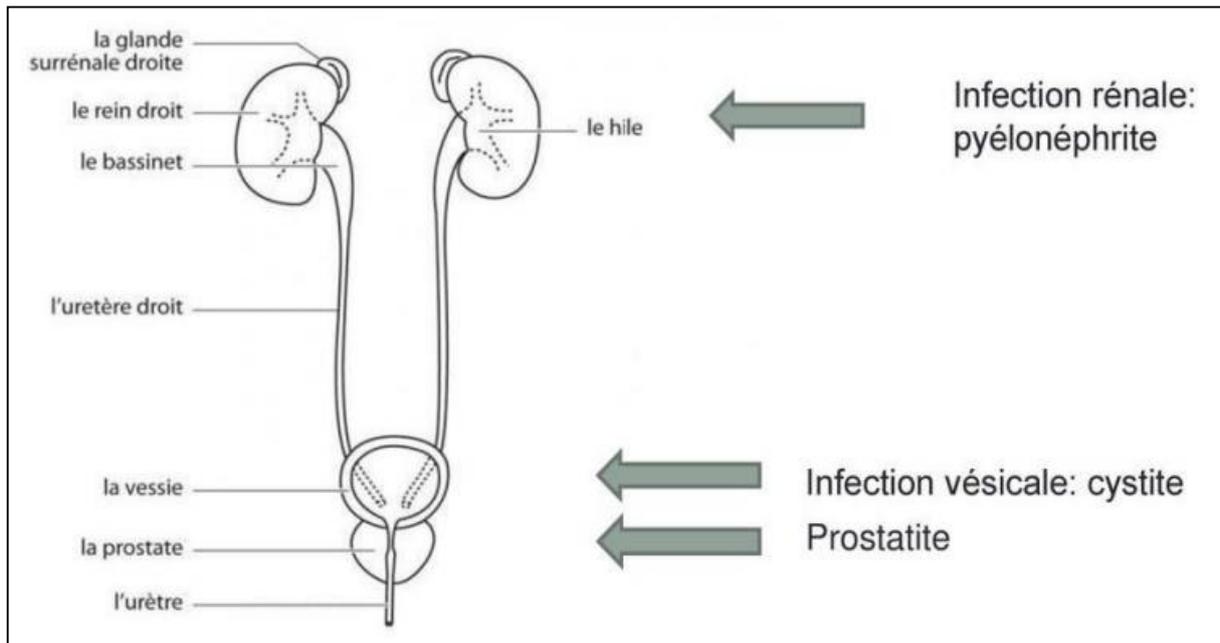


Figure 2 : Les différentes complications d'infection urinaire (Moreddu, 2007).

4. Agents causales

Les infections urinaires sont généralement causées par un seul micro-organisme uropathogène d'autre part les germes les plus fréquents sont les germes responsables des infections communautaires. Les entérobactéries sont les plus fréquemment isolées dans environ 90% des cas. *Escherichia coli* est le germe prédominant, (de 60 à 80% selon les études) (Caron, 1999), arrivent ensuite à l'espèce *Klasiella pneumoniae* et *Proteus mirabilis* (François et al, 2013).

D'autres bactéries du genre *Enterobacter sp.*, *Serratia sp.*, *Pseudomonas sp.*, ainsi que les staphylocoques sont l'apanage des infections nosocomiales et donc beaucoup plus rarement impliquées, et arrivent ensuite à les Entérocoques et les streptocoques (Caron, 2003).

4.1 Les principaux germes responsables des infections urinaires

Selon les germes fréquemment rencontrés dans les urines infectées, on peut distinguer deux groupes :

4.1.1 Les Bacilles à Gram négatif

1. Les Entérobactéries

La plupart des infections du tractus urinaires sont dues à la propagation par voie ascendante des bactéries d'origine intestinale d'où la prédominance des entérobactéries au sein desquelles (Boutolle, 2011).

Les entérobactéries appartiennent à une grande famille qui regroupe des bacilles à Gram négatif (BGN), se définit par les caractères suivants (Pierre et Marie, 2003) :

- Mesure 2 à 4 microns de long sur 0,4 à 0,6 microns de large.
- Aérobie-anaérobie facultatif.
- Immobiles ou mobiles par ciliature péritriche.

- Non sporulés.
- Poussant sur milieux ordinaires.
- Oxydase négative.
- Fermentant le glucose avec ou sans production de gaz.
- Capable de réduire les nitrates en nitrites.

Cette famille contient plusieurs genres :

1.1 *Escherichia coli*

Communément appelé " colibacilles ", il s'agit d'une entérobactérie lactose (+), indole (+), uréase (-), et réalisant une fermentation du glucose par la voie des acides mixtes (RM+, VP-) (**Guiraud et Rosec, 2004**).

E. coli est une bactérie commensal du tube digestif de l'homme, il représente une grande partie de flore bactérienne aérobie de l'intestin, souvent inoffensifs et ne provoque aucun symptôme, mais elles peuvent être pathogènes par leur passage dans l'appareil urinaire est la principale cause de cette infection. (**Pierre et Marie, 2003**).

1.2 *Klebsiella-Enterobacter-Serratia*

Il s'agit d'un groupe d'entérobactéries, souvent désignées par le sigle " KES ", qui ont en commun les caractères suivant (**Guiraud et Rosec, 2004**) :

- La réaction de voges-proskauer (VP) est positif.
- Ils sont Lactose (+).

➤ *Klebsiella*

Les *klebsiella* sont immobiles et capsulées. On distingue deux espèces les plus fréquentes dans les IU : *K. pneumoniae* la plus impliquées, et *K. oxytoca* moins fréquemment mais peut aussi causer ce genre d'infection. Elles fermentent le glucose, et pour leur identification ODC(-), ADH(-), TDA(-), seul le VP(+) c'est le caractère clé (**Guiraud et Rosec, 2004. Prescott et al, 2010**).

➤ *Enterobacter*

Le genre *Enterobacter*, fréquent dans l'environnement, est également un commensal du tube digestif et parfois un pathogène opportuniste lors d'infection nosocomiales, ses espèces les plus fréquentes sont : *E. cloacae* et *E. aerogenes*, sont mobiles ayant comme caractéristique la présence d'une ODC et l'absence d'uréase (**Guiraud et Rosec, 2004**).

➤ *Serratia*

Est une bactérie saprophyte présente dans l'eau et les cavités naturelles de l'homme, elle est mobile, sa température de croissance varie de 22°C à 37°C. Elle est responsable des infections urinaires nosocomiales, surtout chez les malades opérés ou sondés (**Berche et al, 1991**).

1.3 *Proteus-Providencia-Morganella*

Ces bactéries sont présents dans l'intestin de l'homme et des animaux, ils sont lactose (-) et produisent des désaminases (Tryptophane et Phénylalanine Désaminase, les *proteus* produisent en outre une uréase, qui est un caractère couramment utilisé pour les distinguer des autres entérobactéries qui sont le plus souvent uréase (-) ou faiblement (+) (**Guiraud et Rosac, 2004**).

Les *proteus* spp sont très mobiles, on distingue quatre espèces de *proteus* dont la plus répandues est *P. mirabilis* qui vient au second rang après *E.coli*, dans l'étiologie des infections urinaires de ville (10% des cas), et habituellement sensible aux antibiotiques (**Pierre et Marie, 2003**).

Les espèces rencontrées ensuite sont *M.morganii* et les *Providencia* (*P.stuarri*, *P.rettgeri*).

1.4 *Pseudomonas*

Les *pseudomonas* sont aérobies stricts, mobile, produisant souvent des pigments diffusibles et naturellement résistants à de très nombreux antibiotiques, ce qui en rend le traitement difficile, et joue un rôle important dans les infections urinaires nosocomiales. Et l'espèce principale est *Pseudomonas aeruginosa*. (**Pierre et Marie, 2003**).

4.1.2 Les cocci à Gram positif

Les infections urinaires à cocci Gram positif sont plus rares. Les genres bactériens les plus impliqués sont.

➤ **Staphylococcus spp**

Les Staphylocoques sont des coques à Gram positif d'un diamètre d'environ un micron, groupés en amas, immobile, non sporulée, Chez l'homme, l'espèce la plus couramment isolée est : *Staphylococcus aureus*, possèdent un potentiel important de pathogénicité et notamment une coagulase, ce qui le caractérise comme un staphylocoque à coagulase positive (SCP). La plupart des autres staphylocoques commensaux de la peau et des muqueuses ne possèdent pas de coagulase (SCN), mais ils peuvent cependant être infectieux (**Pierre et Marie, 2003. Guiraud et Rosac, 2004**).

➤ **Enterococcus spp**

Ces cocci habituellement sous forme de chaînettes. Les deux principales espèces sont *E.faecalis* et *E.faecium*, ce sont des pathogènes opportunistes et sont responsables d'infection urinaire et sont en cause de plus de 10% des infections nosocomiales (**Bouvet, 2010**).

➤ **Streptococcus spp**

Les Streptocoques sont des coques immobiles anaérobies facultatifs, disposés en très courtes chaînettes et légèrement ovoïdes, et les streptocoques du groupe (D)

et les streptocoques (B) sont les plus retrouvés dans les infections urinaires (Bouvet, 2010).

5. Traitement

❖ L'antibiothérapie

a. Antibiogramme

Est un examen de laboratoire qui permet d'apprécier in vitro la sensibilité ou la résistance aux antibiotiques d'une bactérie isolée dans un prélèvement, et supposée être à l'origine d'un processus infectieux. Le procédé consiste à tester l'efficacité de divers antibiotiques sur les colonies obtenues (Jahl et al, 2015).

L'antibiogramme est effectué en parallèle en testant antibiotiques qui ont une bonne élimination urinaire, en particulier : β -lactamines, quinolones et fluoroquinolones, aminosides, fosfomycine (Bonacorsi, 2011).

- **Technique**

Il existe de nombreuses méthodes pour réaliser un antibiogramme dont la plus répandue pour ECBU est : la méthode par diffusion en milieu gélosé.

- **Méthode de diffusion**

C'est cette méthode qu'on a adoptée pour la réalisation des antibiogrammes, et c'est la plus utilisée par la majorité des laboratoires de diagnostic. Dans ce cas, les disques de papier buvard imprégnés par différents antibiotiques déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier (Burnichon, 2003), et cette diffusion en milieu gélosé permet de mesurer des diamètres d'inhibition de la croissance d'une bactérie autour le disque, et de les comparer à des diamètres critiques (Jahl et al, 2015).

- **Antibiotique à action urinaire**

Un antibiogramme à action urinaire doit posséder certaines qualités :

- Etre bactéricide et bactériostatique.
- Etre actif sur les espèces bactériennes habituellement responsables d'infection urinaire.
- S'éliminer dans les urines sous forme active.
- Atteindre les concentrations suffisantes dans le parenchyme rénal et les urines.
- Induire un faible de mutation bactérienne.
- Convenir aux malades les plus exposés aux infection urinaire, femmes enceintes, sujets âgés, sujet opérés, sujet avec insuffisance rénale (Ouattara, 2013).

PARTIE 02 :
Matériels
&
Méthodes

1. Objectif

Le but de cette étude prospective est l'isolement et l'identification des germes causales qui se trouve dans les prélèvements des urines, et ainsi étudier leur sensibilité et résistance aux antibiotiques, et à la fin réaliser des comparaisons entre les fréquences des Examen Cyto-Bactériologique des Urines (ECBU) positif entre les sexes, l'âge, les germes.

2. Méthode

- L'examen cyto bactériologique des urines consiste en un prélèvement aseptique des urines du sujet concerné suite à la demande du médecin traitant. Ce prélèvement se fait dans un récipient stérile afin d'en effectuer une analyse cytologique et bactériologique pour affirmer ou infirmer la présence d'une infection du tractus urinaire.
- La manipulation se fait par plusieurs techniques pendant 3 jours pour une identification précise. On commence par une étude macroscopique et biochimique des urines durent le premier jour ; puis une étude cyto bactériologique des urines qui prend trois jours.

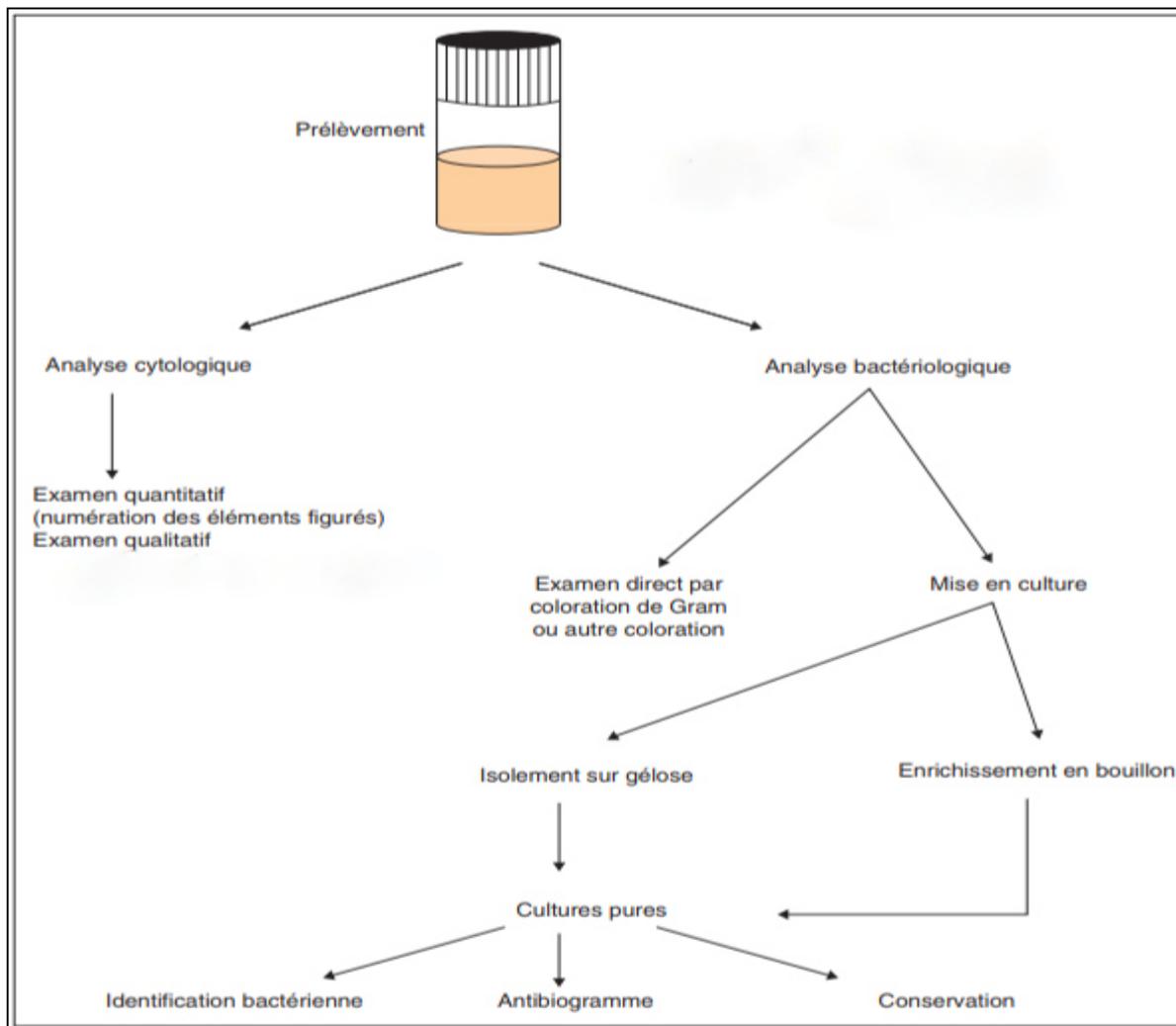


Figure 3 : Protocol de la démarche de l'examen cyto bactériologique des urines (Lanotte et al, 2011).

2.1 Prélèvement

L'examen est fait sur l'urine de la première miction du matin (9 ml-10 ml). Toutefois, en cas d'urgence l'ECBU peut être pratiqué sur un prélèvement effectué 4 heures ou plus après la dernière miction.

1. Homme :

Désinfecter le méat urinaire au DAKIN (solution antiseptique), éliminer les premiers ml d'urine dans les toilettes et recueillir les 10ml suivants du deuxième jet dans un pot stérile.

2. Femme :

Toilette soigneuse à l'eau et au savon des organes génitaux externes. Sécher, ensuite désinfecter le méat urinaire au DAKIN. Uriner en position naturelle en maintenant les grandes lèvres écartées, éliminer les premiers ml d'urine dans les toilettes et recueillir environ les 10ml suivants dans un pot stérile.

3. Nourrisson :

Après désinfection locale, placer une poche stérile adhésive et la maintenir en place moins d'une heure. Retirer la poche dès que l'enfant a uriné, remplir le pot et adresser le rapidement au laboratoire.

Dans le cas où le nourrisson n'a pas uriné au bout d'une heure, retirer la poche et procéder de la même façon autant de fois qu'il faut jusqu'à obtention du prélèvement.

4. Malade porteur d'une sonde à demeure :

Désinfecter le point de ponction sur la sonde (solution de BETADINE).

Ponctionner 5 à 10ml, en piquant à travers l'opercule, avec une aiguille montée sur une seringue (**Bonacorsi, 2011**).

- Tout prélèvement accueilli doit être accompagné par les coordonnées suivant de patient : l'âge, sexe, la date.



Figure 4 : Pot stérile de prélèvement urinaire (**Berthélémy, 2016**).

2.2 Condition de transport et de conservation

Une fois effectués les prélèvements doivent être adressés au laboratoire dans un délai le plus court possible, le cas contraire ils doivent être conservés au réfrigérateur à + 4°C sans dépasser 2 heures pour éviter la prolifération bactérienne (**Bonacorsi, 2011**).

Le travail pratique a été réalisé au niveau du laboratoire de Bactériologie de l'hôpital Ibn Zohr à la ville de Guelma, sur 128 Prélèvements des patients de nature : hospitalisés (service infectieux), ou consultant en ambulatoire, pendant une période de 18 jours (mars).

L'âge des patients dont le prélèvement urinaire est positif est compris de 10 à 71 ans.

2.3 Examen macroscopique des urines.

- Il est effectué dès la réception des urines après homogénéisation par retournement du flacon.
- Il permet d'apprécier :
- L'aspect : Claire, légèrement trouble, trouble.
- La couleur : jaune pâle ou jaune foncé, hématurique, coloré avec des médicaments.
- L'odeur. (**El Manni et al, 2004**).
- Les urines sont normalement jaunes clair et doivent être limpide (**Berthélémy, 2016**).

2.4 Examen Cytobactériologique des urines

- C'est l'examen le plus utilisé pour détecter les infections urinaire.
- Cette analyse s'effectue en deux étapes : un examen Cytologique et un examen Bactériologique.

2.4.1 Cytologie

➤ Examen microscopique :

La cytologie des urines consiste à rechercher au microscope des cellules anormales.

Procéder dans un premier temps à l'homogénéisation des urines.

● Etude quantitative

Il y'a deux méthode de dénombrement :

- Déposer à l'aide d'une micro pipette un petit volume de l'urine à analyser entre la cellule de Malassez et la lamelle, et procéder au dénombrement des leucocytes contenus dans un volume de 1mm^3 .
- Ou bien prendre une goutte (10ul) d'urine non centrifugée à l'aide de l'anse de platine stérilisé sur bec bunsen, est déposée sur une lame, Couvrir ensuite avec la lamelle pour effectuer l'observation au microscope (objectif x40), et on dénombre les différents éléments figurés qui se trouve dans les urines (**Lanotte, 2011**).
- Etude qualitative
- Signaler la présence de GR, de C épithéliales et de levures.

- Signaler la présence de bactéries (abondance, morphologie, agencement).
- Signaler la présence de cristaux (**Lanotte, 2011**).

Tableau 2 : Numération des leucocytes entre lame et lamelle (Selon laboratoire de l'hôpital Ibn Zohr).

+/-	Rares	5-10 L/mm ³	1L tous 1-2champs
+	Quelque	10-25 L/mm ³	1-2 L/champs
++	Assez-nombreux	25-100 L/mm ³	5-10 L/champs
+++	Nombreux	100-500 L/mm ³	10-50 L/champs
++++	Très nombreux	>500 L/mm ³	Nappe de leucocytes

2.4.2. Bactériologie

2.4.2.1 Dénombrement et Isolement des bactéries

➤ Culture

La culture bactérienne permet de préciser l'espèce bactérienne, quantifier la bactériurie, identifier les différents types des germes pathogènes, et d'effectuer un antibiogramme.

● Choix des milieux

La très grande majorité des bactéries responsables d'infections urinaires ne sont pas exigeantes et sont cultivées sur géloses ordinaires (Annexe 1) (**Bonacorsi, 2011**).

Technique :

- La méthode de l'anse calibrée c'est une méthode manuelle actuellement la plus utilisée pour **dénombrement** des germes urinaires et **isolement** sont simultanés.
- Elle nécessite un milieu non sélectif coulé en boîte de pétri et une anse calibrée de 10ul.
- Déposer 10ul d'urine bien homogénéisée sur un rayon de la boîte à l'aide d'une anse calibrée stérile.
- Une strie centrale est puisensemencée le dépôt en stries perpendiculaires au rayon sur toute la surface de la gélose.
- Incuber dans une étuve à 37°C durant 18 à 24heures.
- Après l'incubation, en comparant la densité des colonies présentes sur la présente sur la supérieure de la gélose) celle du schéma fourni avec "la planches étalons".
- La culture doit être pure, en cas d'aspect polymicrobien refaire l'analyse.
- Rendre le résultat en nombre UFC/ml d'urine (**Djennane et al, 2009**).

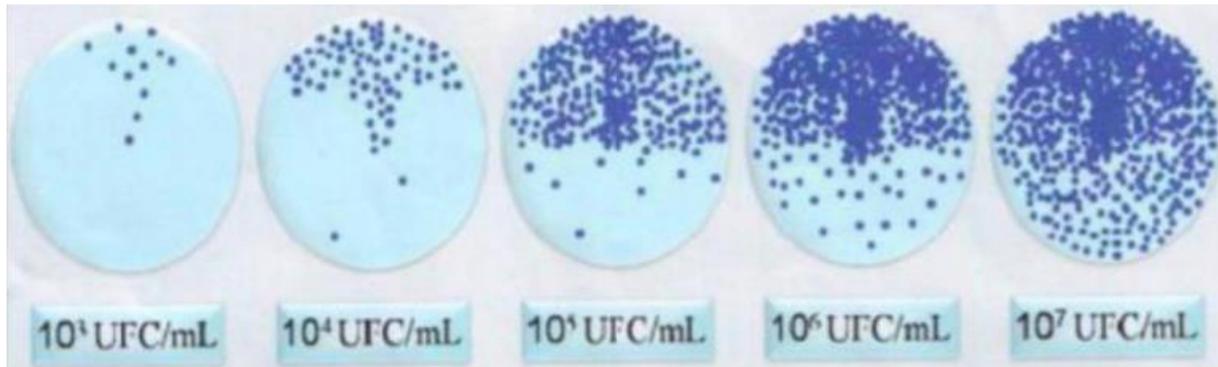


Figure 5 : Planches étalons servant le pour dénombrement des germes urinaires (Djennane et al,2009).

La mise en culture a été faite sur différents milieux notamment :

➤ **Gélose nutritive :**

C'est un milieu d'isolement ordinaire non sélectif, permettant la croissance de la quasi-totalité des germes.

La numération bactériennes été réalisé à partir ce milieu (Djennane et al, 2009).

A. Recherche des bactéries à Gram négatif :

➤ **Gélose Mac Conkey :**

La gélose Mac Conkey est un indicateur, un milieu de culture sélectif, il comporte de sels biliaries et de cristal violet qui inhibant la croissance des germes à Gram positif, et favorise l'isolement et la croissance des Bacilles Gram négatif tels que la famille des Entérobactéries et les NE comme les *pseudomonas*.

C'est une gélose lactosée détermine si la bactérie fermente le lactose ou pas :

- Lactose (+) : colonies rouges entourées d'un halo opaque de la même couleur du à la précipitation des sels biliaries.
- Lactose (-) : colonies jaunes ou incolores (Graffar, 1948).

➤ **Gélose Hektoen :**

- La gélose Hektoen est un milieu sélectif d'isolement des Salmonelles et des Shigelles, bien que de nombreuses bactéries à Gram négatif puissent se développer sur ce milieu.
- L'identification d'entérobactéries pathogènes (les colonies bleues ou vertes) repose sur le non utilisation des glucides présents dans le milieu (Djennane et al, 2009).

B. Recherche des bactéries à Gram positif :

➤ **Gélose chapman :**

Est un milieu au mannitol hypersalé (75g/l de chlorure de sodium), qui est sélectif permettant la croissance des germes halophiles, figurent au premier rang les bactéries du genre *staphylococcus* (Lanotte et al, 2011).

- Mannitol (+) : les colonies pigmentées en jaunes, c'est à dire fermentent le mannitol.

- Mannitol (-) : les colonies reste rouge, c'est-à-dire ne fermentent pas le mannitol.

➤ **Gélose au sang frais :**

C'est un milieu d'isolement enrichi sur lequel les streptocoques se développent bien (gélose nutritive ou gélose Columbia contenant 5-10% de sang (**Bianchi et al, 2003**)).

C. Recherche des levures :

➤ **Gélose Sabouraud au chloramphénicol :**

La gélose de Sabouraud est un milieu permettant la croissance et l'isolement des levures.

Dans le cas de prélèvement fortement contaminés, il est préférable d'utiliser la gélose Sabouraud + Chloramphénicol, qui inhibe la croissance des bactéries Gram négatif et Gram positif (**Bianchi et al, 2003**).

2.4.2.2 Examen Macro/Microscopique

A. Examen Macroscopique :

L'examen macroscopique permet de déterminer les caractères phénotypiques des colonies obtenues après culture sur les différentes géloses : la forme des colonies, la taille, aspect, odeur, dimensions, pourtour, élévation, opacité, ainsi la croissance et la pigmentation des colonies (**Bonacorsi, 2011**).

B. Examen Microscopique :

Il peut se faire à l'état frais, soit après coloration.

➤ **L'état frais :**

- L'examen microscopique à l'état frais permet de voir la forme bactérienne, le mode de groupement, ainsi que la mobilité.
- Une méthode rapide consiste à observer entre lame et lamelle une suspension bactérienne à l'objectif (x40).

➤ **Après coloration de Gram :**

C'est un examen direct permet de différencier entre les bactéries Gram (+) et Gram (-) sur la base de différence de structure membranaire (paroi).

Est utilisé aussi pour apprécier la présence et la morphologie des colonies.

Technique :

▪ **Préparation d'un frottis bactérien :**

- Avec une pipette pasteur stérile, prélever dans la zone stérile du bec une colonie bactérienne de la boîte de pétri.
- Les diluer dans une goutte d'eau sur une lame propre, ne pas trop étaler.
- Fixer le frottis à la chaleur de la flamme du bec Bunsen.

▪ Coloration :

- Couvrir le frottis fixé de solution de Violet de Gentiane, laisser agir 1minute, puis rincer à l'eau de robinet.
- Recouvrir le frottis avec le lugol pour la fixation, laisser agir 1min, puis rincer à l'eau.
- Décolorer avec l'alcool (95%), pendant 30 seconds, et puis rincer à l'eau.
- Recolorer avec la fuchsine, pendant 1minute, puis rincer à l'eau. **(Lanotte, 2011).**
- Sécher entre deux feuilles de papier filtre, puis à la chaleur.
- Examiner au microscope optique a l'objectif à immersion (x100).

▪ Lecture :

- Gram (+) : les bactéries colorées en violet.
- Gram (-) : les bactéries apparaissent en rose.

2.4.2.3 Identification

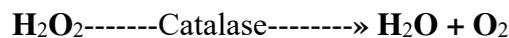
L'identification de la bactérie est menée en fonction de la morphologie des colonies, et des premiers caractères biochimiques d'orientation, propres à chaque espèce.

Le nombre limité d'espèces microbiennes impliquées simplifie le choix de la galerie commerciale à utiliser.

Elle se divise en deux types de Tests :

A. Tests Préliminaires**B. Test Biochimiques****A. Tests Préliminaires :****➤ Test catalase**

Certaines bactéries ont la faculté de dégrader le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), en présence d'une bactérie aérobie productrice de l'enzyme catalase, on observe à partir de H₂O₂ une libération d'oxygène selon la réaction :



Ce test constitue pour les bactéries à Gram (+) un critère de différentiation entre les staphylocoques (possédant une catalase) et les streptocoques (absence d'une catalase).

Technique :

Avec une pipette pasteur, prélever une colonie bactérienne de culture pure de 24h sur milieu d'isolement et la déposer dans une goutte d'eau oxygénée préalablement déposée sur une lame propre et observer.

Lecture :

Catalase (+) : dégagement des bulles de gaz dans l'eau oxygénée.

Catalase (-) : pas de dégagement gazeux **(Delarras, 2014).**

➤ Test oxydase

Test de détection de l'enzyme cytochrome oxydase chez les bactéries Gram négative qui produisent cette enzyme qui réagit directement avec l'oxygène, tels que *pseudomonas*.

Est en utilise le N-diméthyl-paraphénylène diamine comme un réactif, généralement imprégnés sur des disques oxydases.

Technique :

- Placer un disque imprégné sur une lame à l'aide d'une pince flambée.
- Avec une pipette pasteur prélever une colonie isolée sur milieu et la déposer doucement sur le disque.

Lecture :

Oxydase (+) : l'apparition d'une tâche violette, c'est-à-dire la bactérie possède l'activité oxydase.

Oxydase (-) : la colonie reste incolore, c'est-à-dire la bactérie ne possède pas l'activité oxydase (Cherradi, 2015).

➤ Test coagulase :

La coagulase est une enzyme capable de faire coaguler le plasma sanguin, et aussi est un des critères d'identification de staphylocoques en médecine humaine.

Technique :

Dans un tube à hémolyse stérile, 0,5ml de plasma humain dont introduit, puis additionnés de 0,5 ml d'une culture de staphylocoques de 24 heures en bouillon. Le tube homogénéisé puis placer à l'étuve et incubé à 37°C pendant 24 heures.

Lecture :

Coagulase (+) : si le plasma coagule en moins de 24h, le germe possède une coagulase (Delarras, 2014).

B. Test Biochimiques

➤ Galeries Biochimiques API

La galerie API^R Bio Mérieux est un système standardisé pour l'identification de bactéries, elle est composée d'un nombre variable de microtubes (10 ou 20 le plus souvent), contenant des substrats déshydratés qui permettent de réaliser des tests biochimiques.

Dans cette étude on utilise 4 différents type de galerie API qui sont : API 20E, API 20 NE, API STAPH, API STREP, permettent une identification rapides des bactéries (Lanotte et al, 2011).

Technique :

▪ Inoculum :

- Pour la préparation de l'inoculum, en utilise un tube contenant 5ml d'eau physiologique stérile ou d'eau distillée, ou bien en utilise une ampoule de suspension Médium.

- On prélève une seule colonie bien isolée sur milieu gélose, en utilisant des cultures jeunes (14 à 24h), et on réalise une suspension bactérienne d'opacité légère (**Lanotte et al, 2011**).
- Inoculation de la galerie (API 20E) :
 - Tout d'abord, réunir fond et couvercle de la boîte d'incubation et répartir quelques millilitres d'eau distillé dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide, la galerie est déposée ensuite dans la boîte d'incubation.
 - Inoculer à partir de la suspension chaque microtube à l'aide d'une pipette pasteur stérile, appuyer à l'intérieur et sur le côté pour éviter la formation de bulles.
 - Remplir les tubes et les cupules des tests encadrés : CIT, VP, GEL.
 - Remplir uniquement les tubes des autres tests (et non les cupules).
 - Créer une anaérobiose dans les tests soulignés : ADH, LDC, ODC, H₂S, URE en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
 - Refermer la boîte et incuber à 35-37°C pendant 18 à 24 heures (**Lanotte et al, 2011**).
- Lecture :

La lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture, et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou grâce à un logiciel d'identification.

La lecture de quelques tests nécessite l'addition des réactifs :

 - Pour le test TDA, l'ajout d'une goutte du réactif TDA.
 - Pour le test indole, l'ajout d'une goutte de réactif de Kovacs.
 - Pour le test VP, l'ajout d'une goutte des réactifs VP1 et VP2.

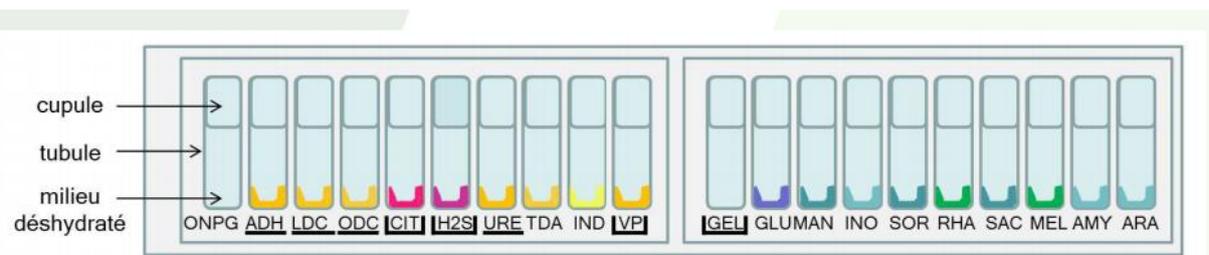


Figure 6 : Galerie biochimique API 20E (Kari, 2013).

2.4.2.4 Antibiogramme

L'antibiogramme est une technique de laboratoire qui vise à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis de plusieurs antibiotiques, il est utilisé pour guider le clinicien dans le choix d'un antibiotique pour traiter une infection bactérienne, une indication supplémentaire pour l'identification du germe.

❖ Méthode manuel

L'antibiogramme est réalisé par méthode de diffusion en disque selon les recommandations du CLSI pour chaque germe isolé (Ministère de la santé, 2014).

- Milieu pour antibiogramme :
Le milieu adéquat est la gélose Muller-Hinton (MH) doit être coulé en boîtes de pétri sur une épaisseur de 4mm.
- Préparation pour inoculum :
 - A partir d'une culture pure de 18h à 24h, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolé .
 - Décharger par la suite l'anse dans un tube d'eau physiologique stérile.
 - Bien homogénéiser la suspension bactérienne jusqu'à devenir trouble (**Bonacorsi, 2011**).
- Ensemencement :
 - La technique d'ensemencement par écouvillonnage est celle utilisée dans cette étude.
 - Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.
 - puis frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée sèche, de haut en bas, en stries serrées.
 - Répéter l'opération trois fois ; en tournant la boîte de 60° à chaque fois.
 - Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose (**Bonacorsi, 2011**).
- Application des disques d'antibiotiques :
 - Déposer chaque disque d'antibiotique à tester sur la gélose.
 - Puis à l'aide d'une pince bactériologique, le presser pour s'assurer de son application.
 - Une fois appliqué le disque ne doit pas être déplacé (**Bonacorsi, 2011**).
- Incubation :
Les boîtes sont incubées pendant 24 heures à 37°C.
- Lecture :
 - On mesure avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'une règle graduée sur le fond de la boîte.
 - On compare les résultats aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondante.
 - Selon le diamètre d'inhibition, on classe la bactérie dans l'une des catégories : Sensible, Intermédiaire, ou Résistante (**Bonacorsi, 2011**).

PARTIE 03 :
Résultats
&
Discussion

1. Résultats :

Au cours de cette étude réalisée à l'hôpital de Ibn Zohr, 128 prélèvements d'ECBU ont été effectués. Nous avons trouvée 15 prélèvements positifs et 113 prélèvements négatifs.

Le tableau ci-dessous englobe les informations nécessaires sur les 15 prélèvements positifs des différents patients.

Tableau 3 : Renseignements nécessaires sur les prélèvements d'urines des patients.

N° de prélèvement	Sexe	Age	Nature de prélèvement
1	Homme	40	Ambulatoire
2	Femme	50	Ambulatoire
3	Femme	28	Ambulatoire
4	Femme	54	Ambulatoire
5	Femme	62	Ambulatoire
6	Femme	52	Ambulatoire
7	Femme	10	Ambulatoire
8	Femme	43	Ambulatoire
9	Femme	35	Ambulatoire
10	Homme	55	Ambulatoire
11	Homme	70	Ambulatoire
12	Homme	70	Ambulatoire
13	Homme	70	Ambulatoire
14	Femme	53	Ambulatoire
15	Homme	71	Ambulatoire

1.1 Examen macroscopique des urines

Les différents aspects macroscopiques des urines obtenus sont exposés dans la figure (7).

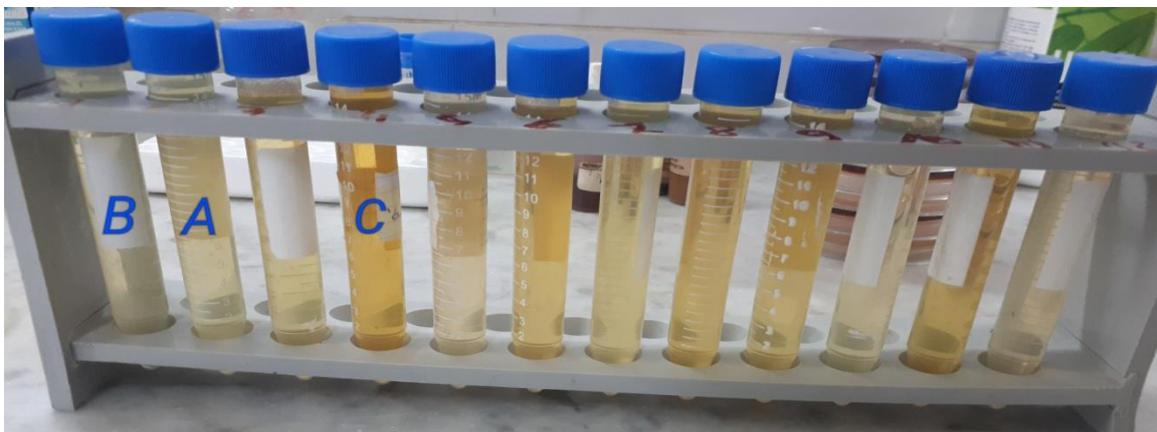
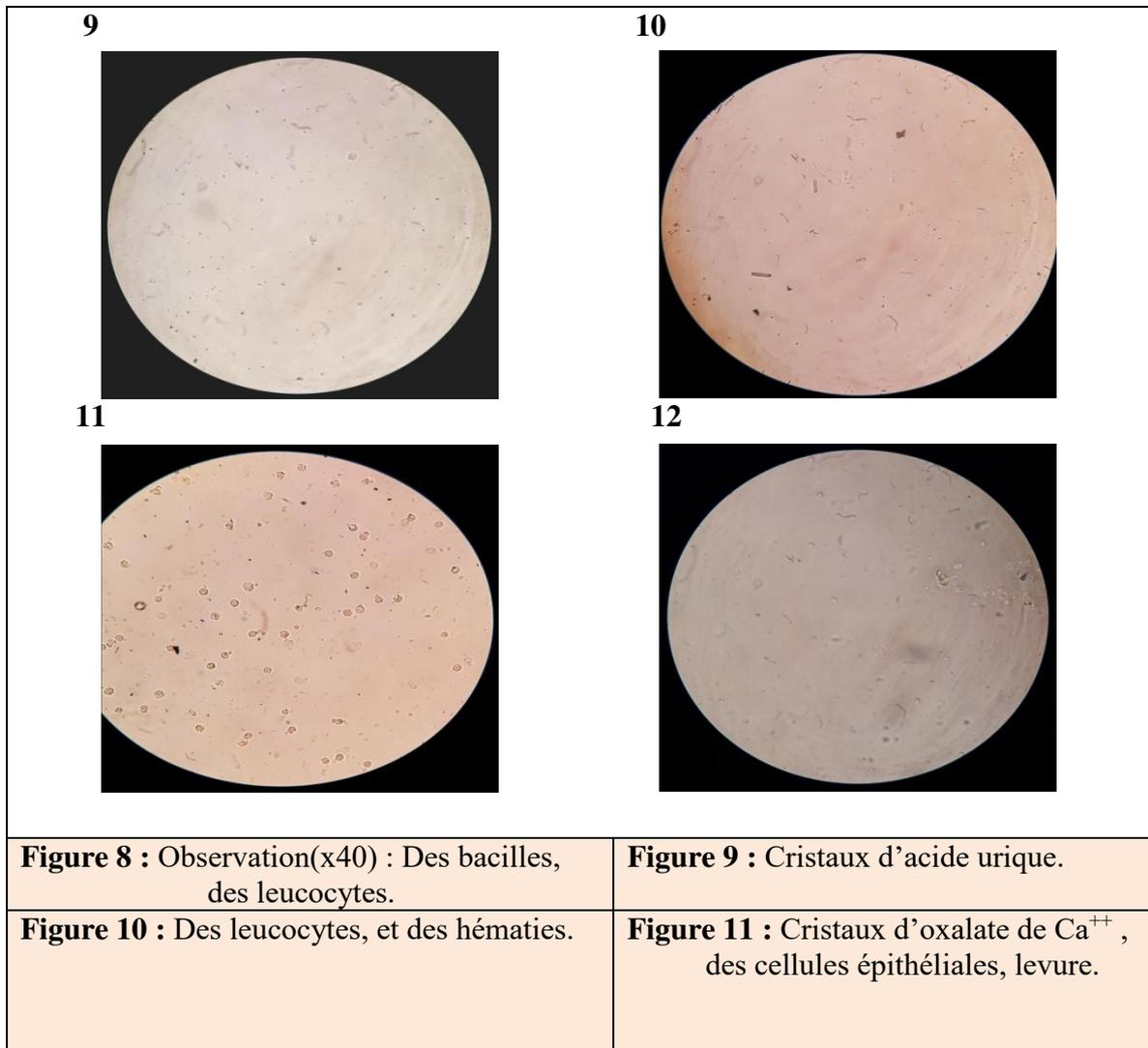


Figure 7 : L'aspect urinaire. **A :** Urine claire, **B :** Urine trouble et **C :** Urine légèrement trouble.

1.2 Examen cytologique :

Les différentes cellules que nous avons trouvées dans les urines au cours de notre étude microscopique sont exposées dans les figures (8, 9, 10 et 11).



1.3 Examen bactériologique

Après la mise en culture de l'urine pendant 24 heures d'incubation les résultats sont les suivants :

1.3.1 Dénombrement

Les résultats de dénombrement bactérien après culture sont :

- Bactériurie $< 10^3$ UFC/ml : bactériurie non significative.
- Bactériurie $> 10^5$ UFC/ml : bactériurie significative.

Les prélèvements et leurs coordonnées sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 4 : Résultats de l'aspect macroscopique des urines, examen cytologique, et numération bactérien après culture sur gélose nutritive.

N° de prélèvement	Age	Aspect macroscopique	Examen cytologique							Numération bactérien après culture sur GN :UFC/ml d'urine.
			Leucocytes	Hématies	Cristaux	Cellules épithéliales	Levures	Bacilles	Cocci	
1	40	Trouble	+	+	+Oxalates de Ca ⁺⁺	-	-	+++	-	>10 ⁵ UFC/ml
2	50	Trouble	+/-	-	-	-	-	++	-	>10 ⁵ UFC/ml
3	28	Légèrement trouble	-	-	-	-	-	+++	-	>10 ⁵ UFC/ml
4	54	Trouble	-	-	-	-	-	+++	-	>10 ⁵ UFC/ml
5	62	Clair	+	-	-	-	-	+/-		>10 ⁵ UFC/ml
6	52	Légèrement trouble	+	-	-	-	-	++	-	>10 ⁵ UFC/ml
7	10	Légèrement trouble	++	-	-	-	-	+++	-	>10 ⁵ UFC/ml
8	43	Légèrement trouble	+	-	++Oxalates de Ca ⁺⁺	++++	+	+++	-	>10 ⁵ UFC/ml
9	35	Trouble	-	-	-	-	-	++	-	>10 ⁵ UFC/ml
10	55	Trouble	-	-	Cristaux d'urate amorphe	-	-	-	-	>10 ⁵ UFC/ml
11	70	Trouble	++	-	-	-	-	++	-	>10 ⁵ UFC/ml
12	70	Trouble	++	-	-	-	-	+	-	>10 ⁵ UFC/ml
13	70	Trouble	+++	-	-	-	-	+++	-	>10 ⁵ UFC/ml
14	53	Légèrement trouble	+/-	-	-	-	-	-	-	>10 ⁵ UFC/ml
15	71	Légèrement trouble	+/-	+	-	-	+	-	-	≥10 ³ UFC/ml

- : Absence.

+/- : Rares (1-2/champs).

+ : Quelques (2-3/champs).

++ : Assez-nombreux (5-10/champs).

+++ : Nombreux (10-20/champs).

++++ : Très nombreux.

1.3.2 Lecture macro/microscopique

Les caractères cultureux des colonies bactériennes sur les différentes géloses obtenus (la taille, la forme, la couleur, l'aspect, l'odeur.....) sont regroupés dans les tableaux suivants (Tableau 5, 6 et 7).

Tableau 5 : Lecture macroscopique des colonies après culture.

N° de Prélèvement	Gélose nutritive	Gélose Mac Conkey	Gélose Hektoen
6	Petites, arrondies, Blanchâtres, lisses, à bords réguliers, légèrement bombées.	Grosses, arrondies, rouge brique à rose entourées d'un halo opaque, à bord réguliers de 2 à 3mm.	Petite, arrondies, Colonie saumon, bombées, réguliers
13	Grosses, blanchâtres, muqueuses	Grosses, roses, muqueuses.	Aucune pousse
4	Blanchâtres, lisses, brillantes.	Petites, incolores, bombés, de mauvaise odeur.	Aucune pousse
12	Grosses, arrondies, blanchâtres, légèrement bombées.	Grosses, arrondies, rose clair, bombées.	Aucune pousse
14	Plates, opaques à surface dépolie	Culture confluyente rose	Aucune pousse
5	Petites, blanchâtres, arrondies, plates, à contour régulier.	Aucune pousse	Aucune pousse
2	Fines, blanchâtres, arrondies, à contour régulier.	Aucune pousse	Aucune pousse

Tableau 5 : Lecture macroscopique des colonies après culture (suite).

N° de Prélèvement	Gélose au sang frais	Chapman	Sabouraud Chloramphénicol
6	Aucune pousse	Aucune pousse	Aucune pousse
13	Aucune pousse	Aucune pousse	Aucune pousse
4	Aucune pousse	Aucune pousse	Aucune pousse
12	Aucune pousse	Aucune pousse	Aucune pousse
14	Aucune pousse	Aucune pousse	Aucune pousse
5	Aucune pousse	Colonies pigmentées en jaunes= mannitol +	Aucune pousse
2	Blanchâtre, lisses, bombées	Aucune pousse	Aucune pousse
8	Aucune pousse	Aucune pousse	Grosses, arrondies, blanchâtres.

Tableau 6 : Les aspects cultureux des Bacilles Gram (-) sur les différents milieux utilisés.

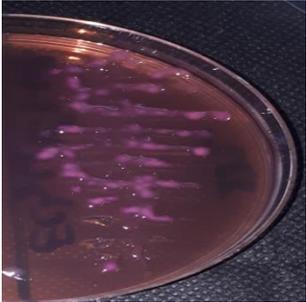
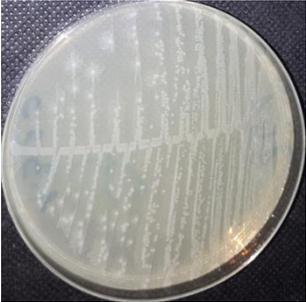
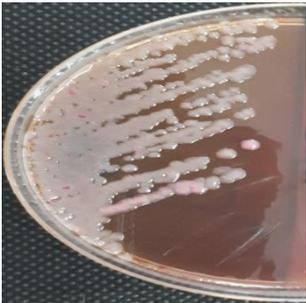
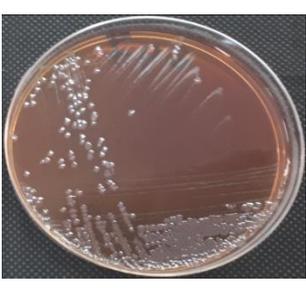
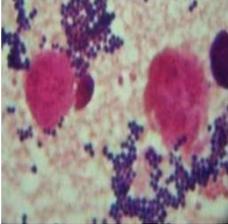
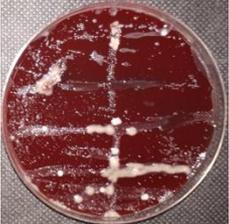
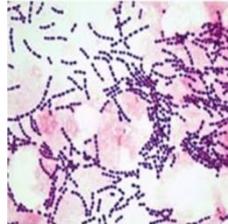
Germe	Gélose nutritive	Mac Conkey	Gram
E. coli			
Klebsiella			
Proteus			
Enterobacter			
Pseudomonas			

Tableau 7 : Les aspects culturels des cocci Gram (+) sur les différents milieux utilisés.

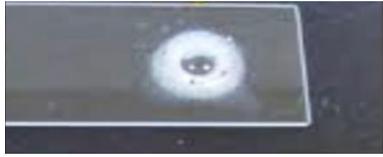
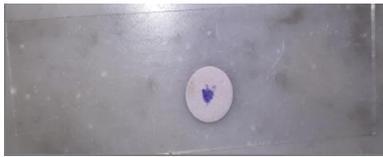
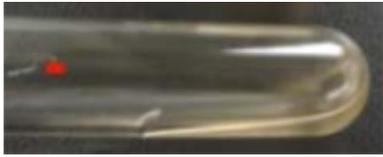
	Gélose nutritive	Gélose au sang frais	Chapman	Gram
Staphylococcus		-		 Cocci en grappes de raisin Gram positif
Streptococcus			-	 Cocci en chaînette Gram positif

1.4 Identification :**1.4.1 Test préliminaires :**

Les résultats des différents tests (catalase, oxydase, coagulase) réalisés sur les différents prélèvements, et leur réaction obtenus sont présentés dans le tableau 8, et exposés dans les figures (12-17):

Tableau 8 : Résultats des tests « Catalase, Oxydase et Coagulase ».

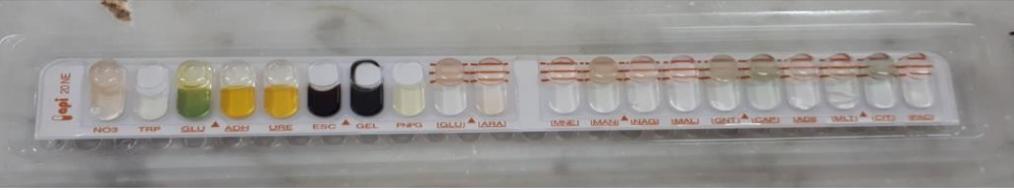
	Mac Conkey			Chapman			GSF		
	Cat	OX	Coag	Cat	OX	Coag	Cat	OX	Coag
6	(+)	(-)							
13	(+)	(-)							
4	(+)	(-)							
12	(+)	(-)							
14	(+)	(+)							
5				(-)	(-)	(-)			
2							(-)	(+)	

	
Figure 12 : Catalase négatif.	Figure 13 : Catalase positif.
	
Figure 14 : Oxydase négatif.	Figure 15 : Oxydase positif.
	
Figure 16 : Coagulase négatif.	Figure 17 : Coagulase positif.

1.4.2 Tests Biochimiques

Les résultats de l'identification des bactéries isolées par les galeries biochimiques obtenus à l'aide du catalogue analytique sont exposés dans le tableau 9: (Annexe 2).

Tableau 9 : Résultats de l'API 20E, AP I20 NE, API Staph.

Bactéries identifiées	Système API correspondant
<i>Escherichia coli</i>	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
<i>Proteus mirabilis</i>	
<i>Enterobacter cloacae</i>	
<i>Pseudomonas spp.</i>	
<i>Staphylococcus</i>	

1.5 Antibiogramme :

L'étude de la sensibilité et de la résistance aux antibiotiques a été réalisée à partir des différentes cultures isolées, et les résultats sont regroupés dans les tableaux (10-15) et illustrés dans la figure (18).

Tableau 10 : Résultats de l'antibiogramme de *E. Coli*.

	Germe	AKN	ETP	NIT	COL	FOS	FOX	CTX	GMN	CIP	AMC	AMX	CZN	OFX	COT
1	<i>E. coli</i> BLSE (+)	18	28	22	14	30	22	0	0	0	12	0	0	0	-
11	<i>E. coli</i>	18	32	20	13	28	17	30	17	0	12	0	16	0	0

Tableau 11 : Résultats de l'antibiogramme de *Klebsiella pneumoniae*.

	NIT	COL	FOS	FOX	GMN	CIP	OFX
13	17	13	17	0	0	11	0

Tableau 12 : Résultats de l'antibiogramme de *Proteus mirabilis*.

	AKN	ETP	NIT	CTX	AMX	CZN
4	16	28	10	31	0	19

Tableau 13 : Résultats de l'antibiogramme de *Enterobacter cloacae*.

	AKN	ETP	NIT	COL	FOS	FOX	CTX	GMN	CIP	AMC	AMX	CZN	OFX	COT
12	20	32	13	13	23	0	35	19	34	0	0	0	28	30

Tableau 14 : Résultats de l'antibiogramme de *Pseudomonas* spp.

	AKN	COL	FSF	GMN	CIP	IPM	PIP	TOB	LVX	ATM	CAZ	TIC	TCC
14	24	13	14	19	30	28	22	22	22	19	10	0	0

Tableau 15 : Résultats de l'antibiogramme de *Staphylococcus*.

	FSF	GMN	CIP	TEC	VA	RIF	FC	LE	FOX	PEN	OXC	L	ERY	TET	TOB	KNM
5	26	18	26	20	25	22	26	21	0	0	0	0	0	0	14	0

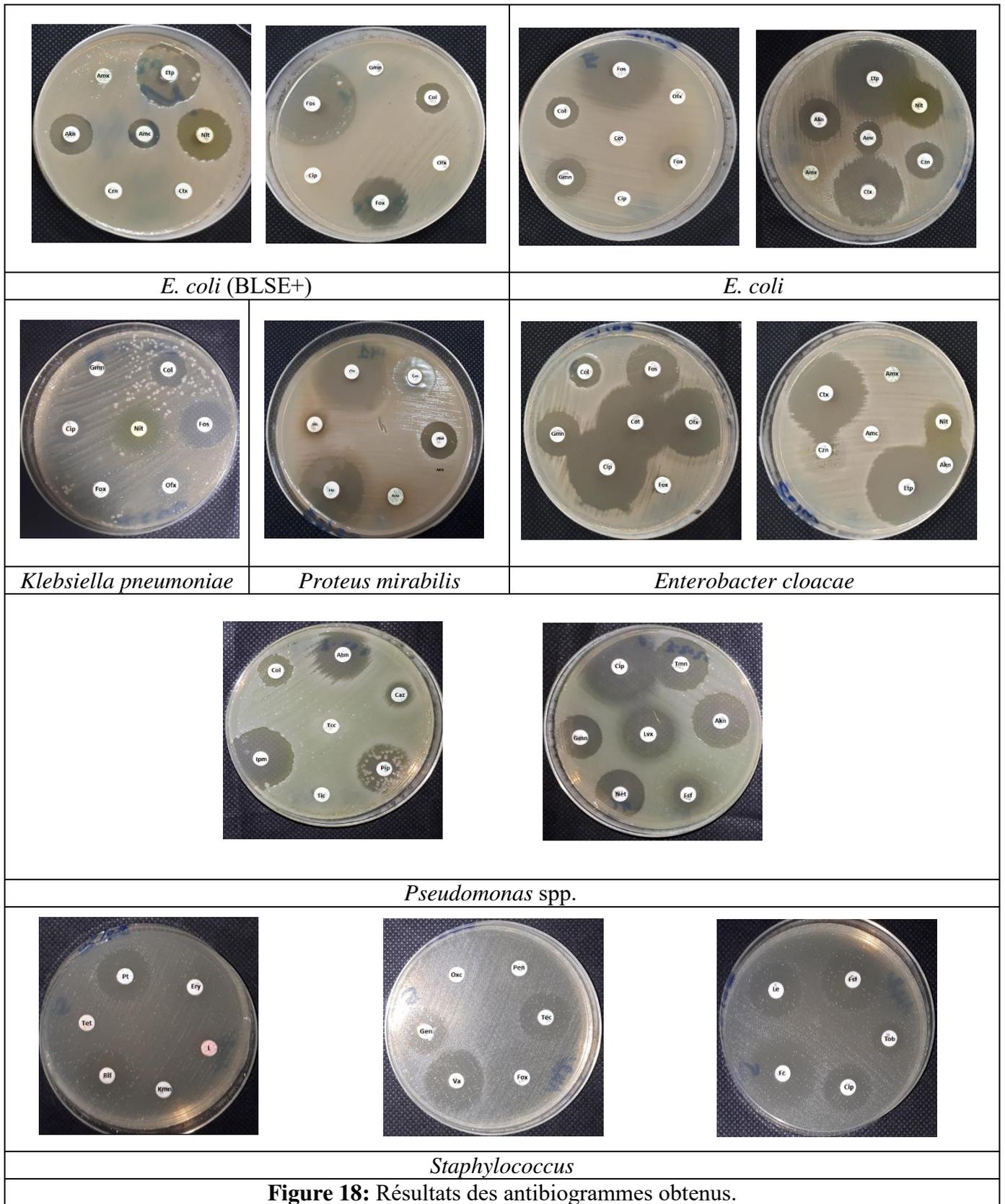


Figure 18: Résultats des antibiogrammes obtenus.

2. Etude statistique

2.1 Fréquence des ECBU positifs et négatifs

Tableau 16: Répartition des ECBU selon le résultat de la culture.

	N° des prélèvements	Pourcentage %
Positifs	15	11,72
Négatifs	113	88,28
Total	128	100

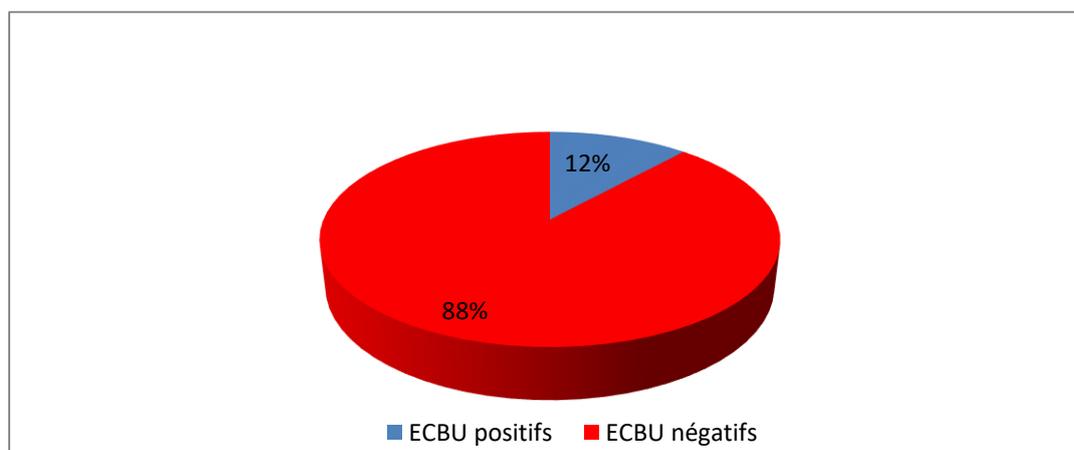


Figure 19 : Diagramme circulaire représentant la répartition des ECBU.

2.2 Fréquence des ECBU positifs en fonction du sexe

Tableau 17 : Répartition des ECBU selon le sexe.

Sexe	N° de prélèvements	Pourcentage %
Féminin	9	60
Masculin	6	40
Total	15	100

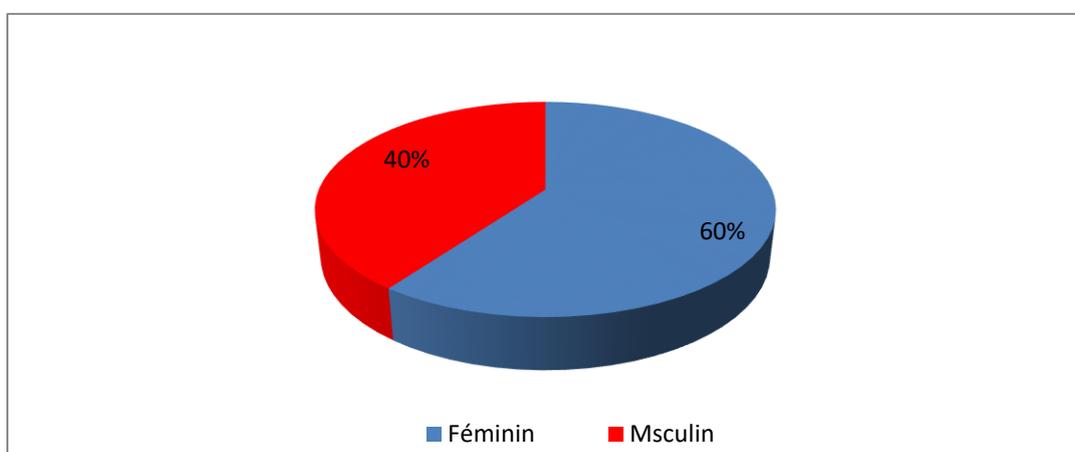


Figure 20 : Diagramme circulaire représentant la répartition des ECBU selon le sexe.

2.3 Fréquence des ECBU en fonction de l'âge

Tableau 18: Représentation des ECBU positifs en fonction des tranches d'âge.

Tranche d'âge	Nombre	Pourcentage %	Sexe	
			Femme	Homme
[10 -26]	1	6,67	1	0
[26 - 41]	3	20	2	1
[41 - 56]	6	40	5	1
[56 - 71]	5	33,33	1	4

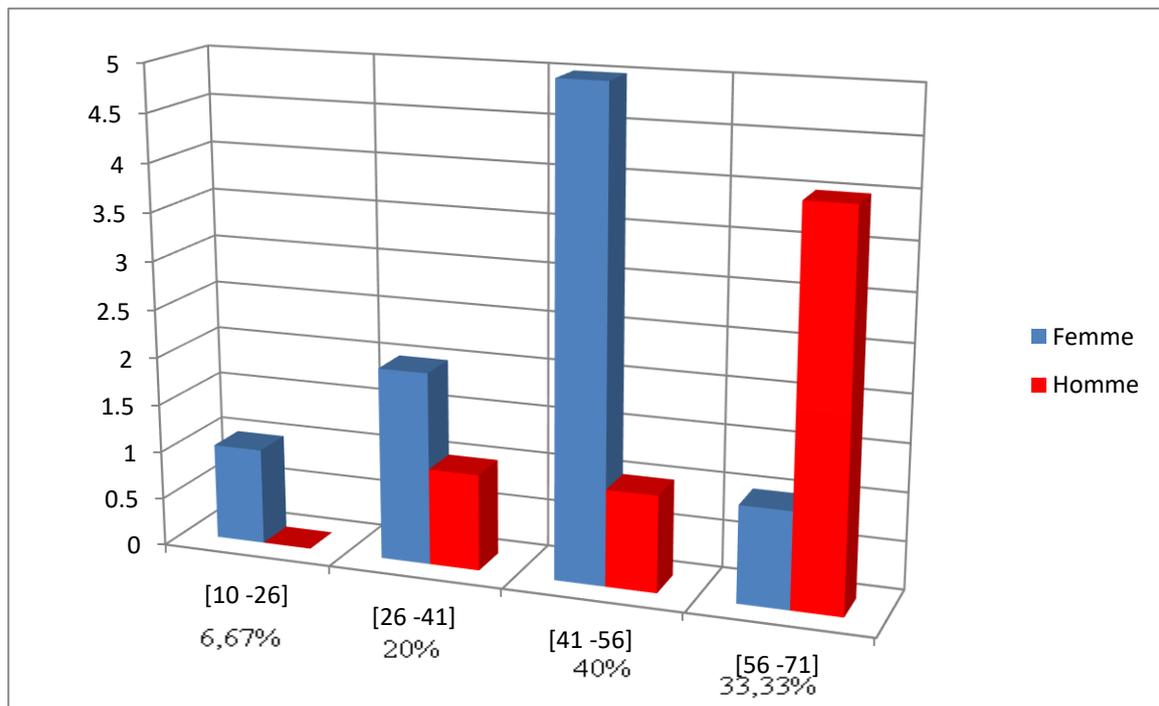


Figure 21 : Histogramme représentant la répartition des ECBU positifs selon les tranches d'âge.

2.4 Fréquence des ECBU en fonction des germes

Tableau 19 : Répartition des germes identifiés.

Gram	Germes	Fréquence	Pourcentage %
-	<i>Escherichia coli</i>	8	53
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	13
	<i>Proteus mirabilis</i>	2	13
	<i>Enterobacter cloacae</i>	1	7
	<i>Pseudomonas spp.</i>	1	7
+	<i>Staphylococcus</i>	1	7

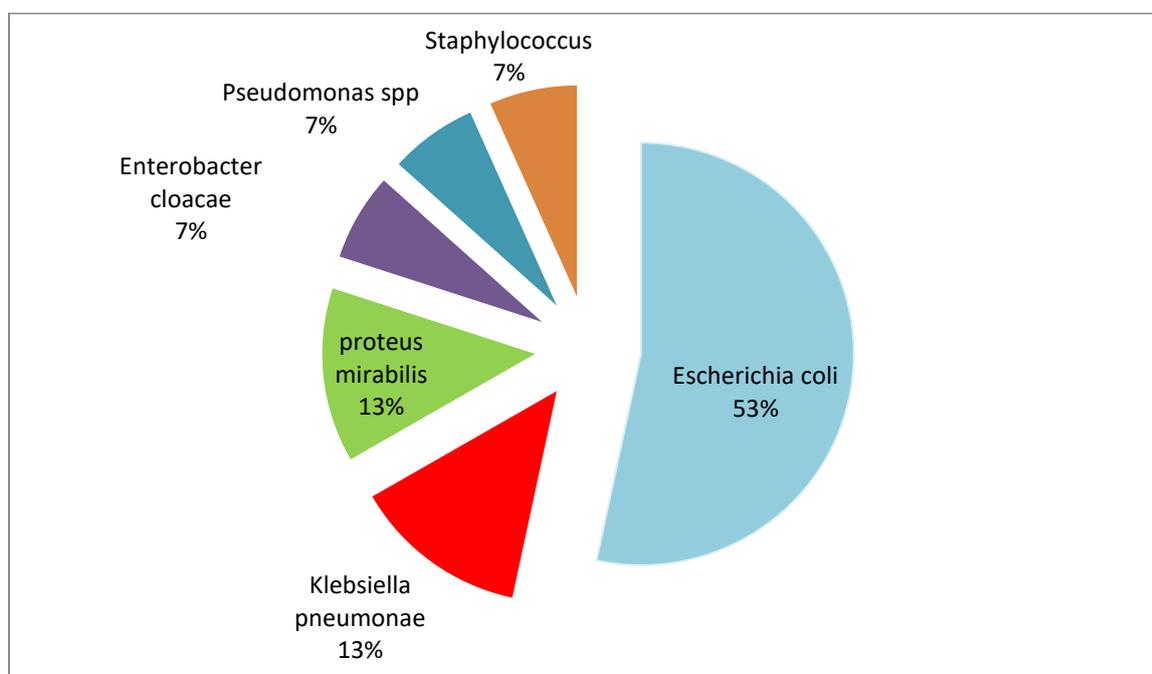


Figure 22 : Diagramme représentant la répartition des espèces bactériennes isolées.

2.5 Résistance et sensibilité des germes isolés aux antibiotiques

Tableau 10: Résultats de l'antibiogramme de *E. Coli*. (Suite)

Germe	AKN (mm)	ETP (mm)	NIT (mm)	COL (mm)	FOS (mm)	FOX (mm)	CTX (mm)	GMN (mm)	CIP (mm)	AMC (mm)	AMX (mm)	CZN (mm)	OFX (mm)	COT (mm)
<i>E. coli</i> BLSE (+)	18	28	22	14	30	22	0	0	0	12	0	0	0	-
<i>E. coli</i>	18	32	20	13	28	17	30	17	0	12	0	16	0	0

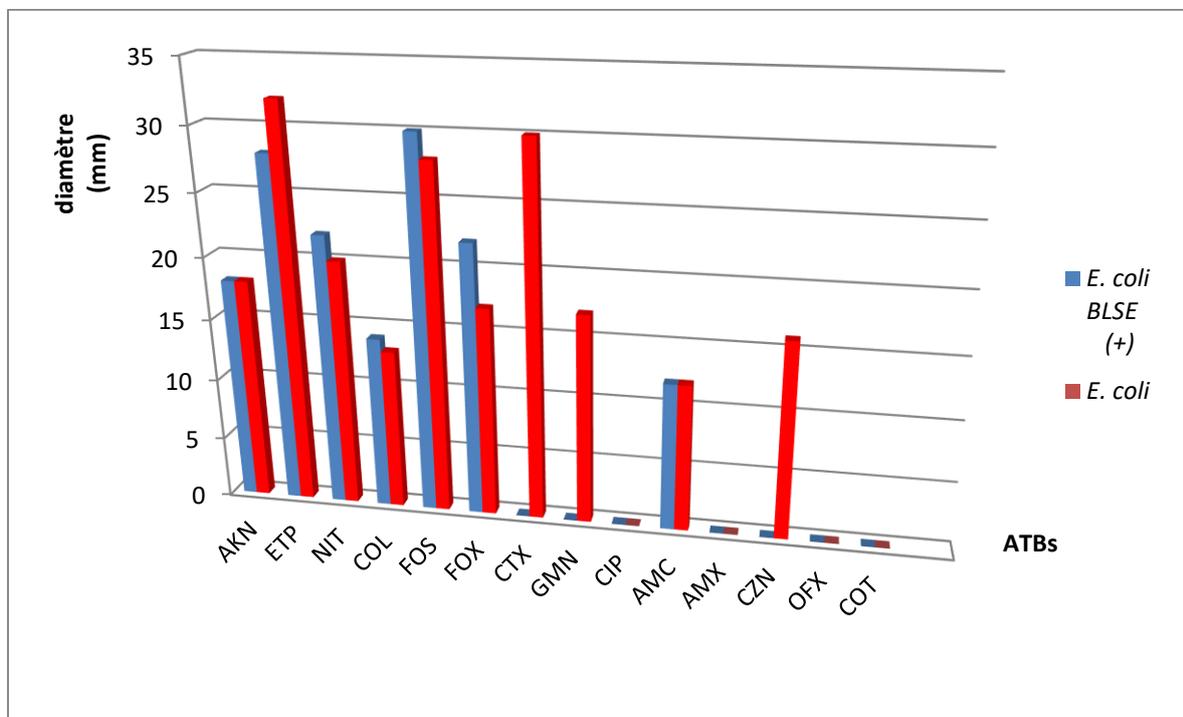
Figure 23 : Représentation graphique des résultats de l'antibiogramme appliqué à *E. coli*.

Tableau 11: Résultat de l'antibiogramme de *Klebsiella pneumoniae*. (Suite).

	NIT (mm)	COL (mm)	FOS (mm)	FOX (mm)	GMN (mm)	CIP (mm)	OFX (mm)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	17	13	17	0	0	11	0

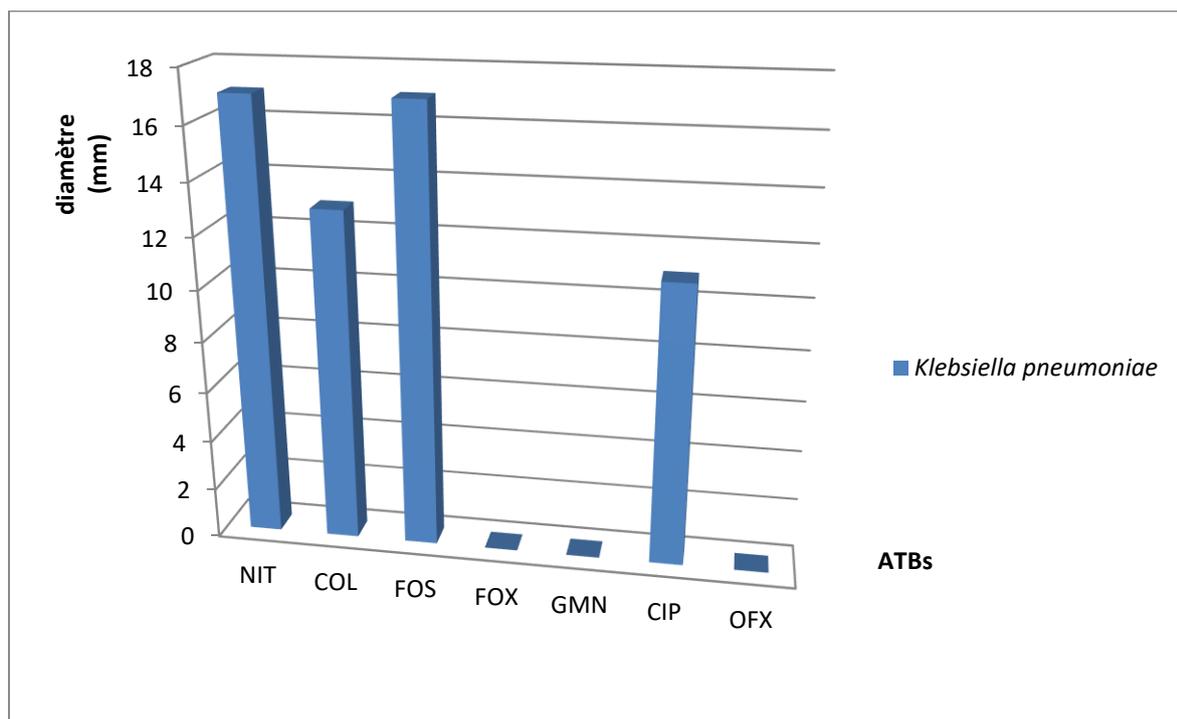
**Figure 24 :** Représentation graphique des résultats de l'antibiogramme appliqué au *Klebsiella pneumoniae*.

Tableau 12 : Résultat de l'antibiogramme de *Proteus mirabilis*. (suite)

	AKN (mm)	ETP (mm)	NIT (mm)	CTX (mm)	AMX (mm)	CZN (mm)
<i>Proteus mirabilis</i>	16	28	10	31	0	19

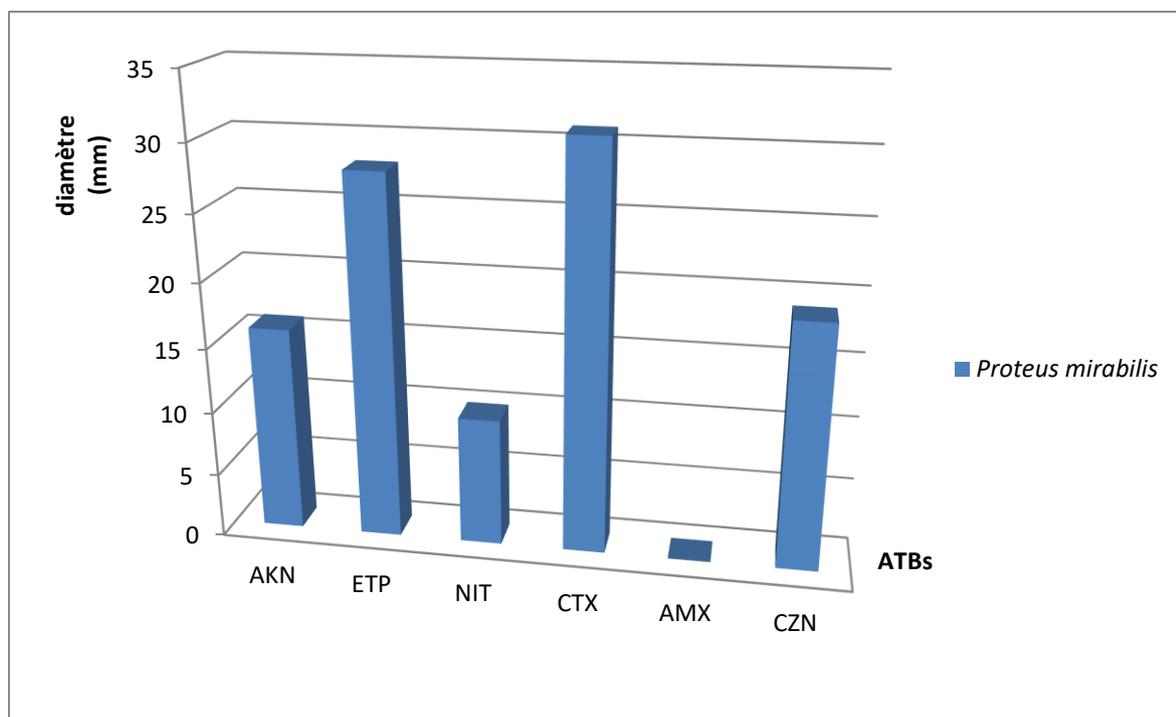
**Figure 25** : Représentation graphique des résultats de l'antibiogramme appliqué au *Proteus mirabilis*.

Tableau 13 : Résultat de l'antibiogramme d'*Enterobacter cloacae*. (suite)

	AKN (mm)	ETP (mm)	NIT (mm)	COL (mm)	FOS (mm)	FOX (mm)	CTX (mm)	GMN (mm)	CIP (mm)	AMC (mm)	AMX (mm)	CZN (mm)	OFX (mm)	COT (mm)
<i>E. cloacae</i>	20	32	13	13	23	0	35	19	34	0	0	0	28	30

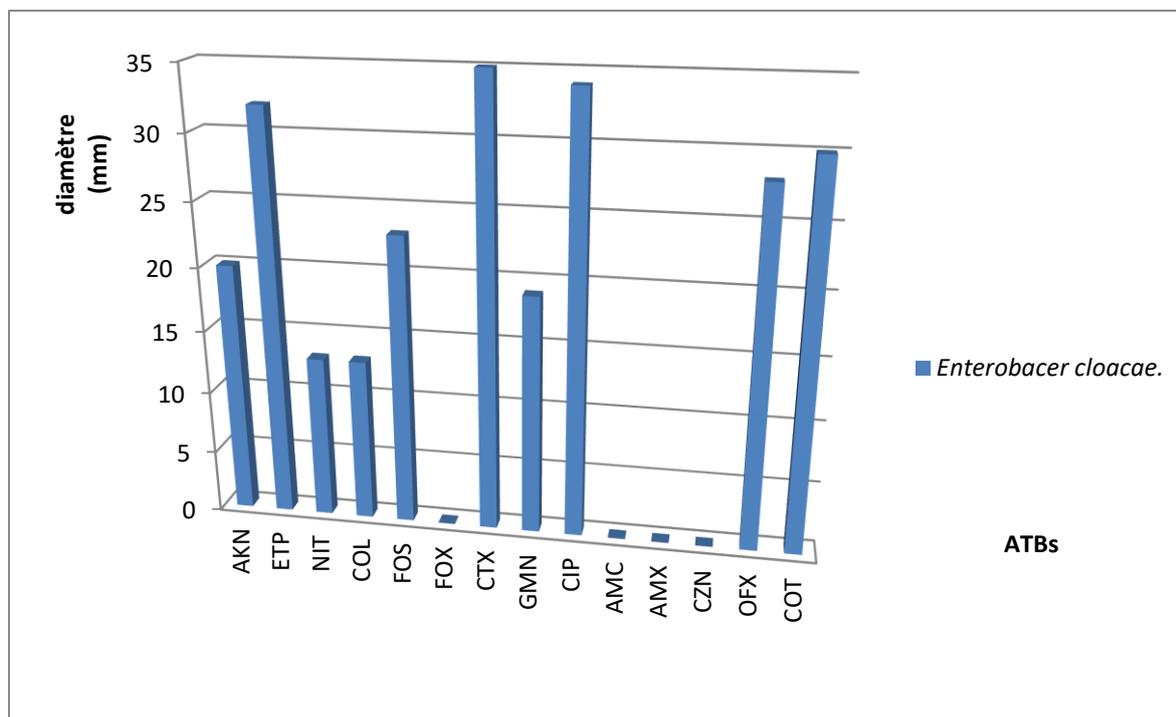
**Figure 26:** Représentation graphique des résultats de l'antibiogramme appliqué à*Enterobacter cloacae*.

Tableau 14 : Résultat de l'antibiogramme de *Pseudomonas* spp. (suite)

	AKN (mm)	COL (mm)	FSF (mm)	GMN (mm)	CIP (mm)	IPM (mm)	PIP (mm)	TOB (mm)	LVX (mm)	ATM (mm)	CAZ (mm)	TIC (mm)	TCC (mm)
<i>Pseudomonas</i> <i>spp</i>	24	13	14	19	30	28	22	22	22	19	10	0	0

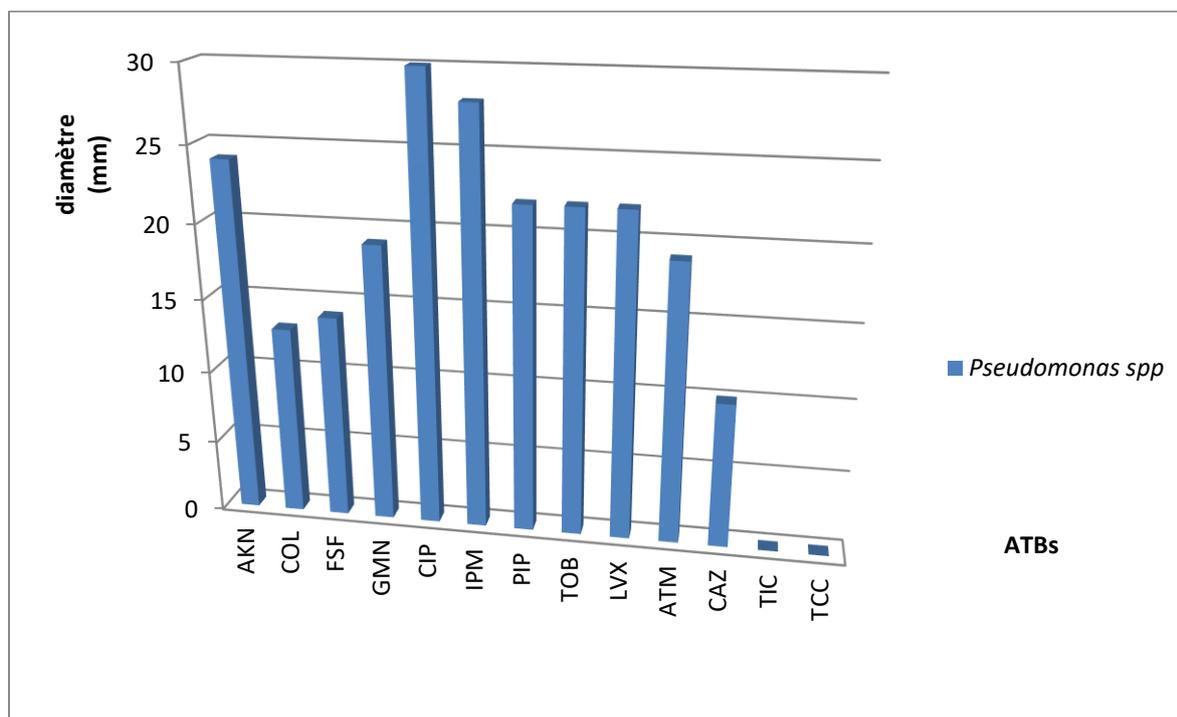
**Figure 27:** Représentation graphique des résultats de l'antibiogramme appliqué au *Pseudomonas* spp.

Tableau 25 : Résultat de l'antibiogramme de *Staphylococcus*. (suite)

	FSF	GMN	CIP	TEC	VA	RIF	FC	LE	FOX	PEN	OXC	L	ERY	TET	TOB	KNN
<i>Staph</i>	26	18	26	20	25	22	26	21	0	0	0	0	0	0	14	0

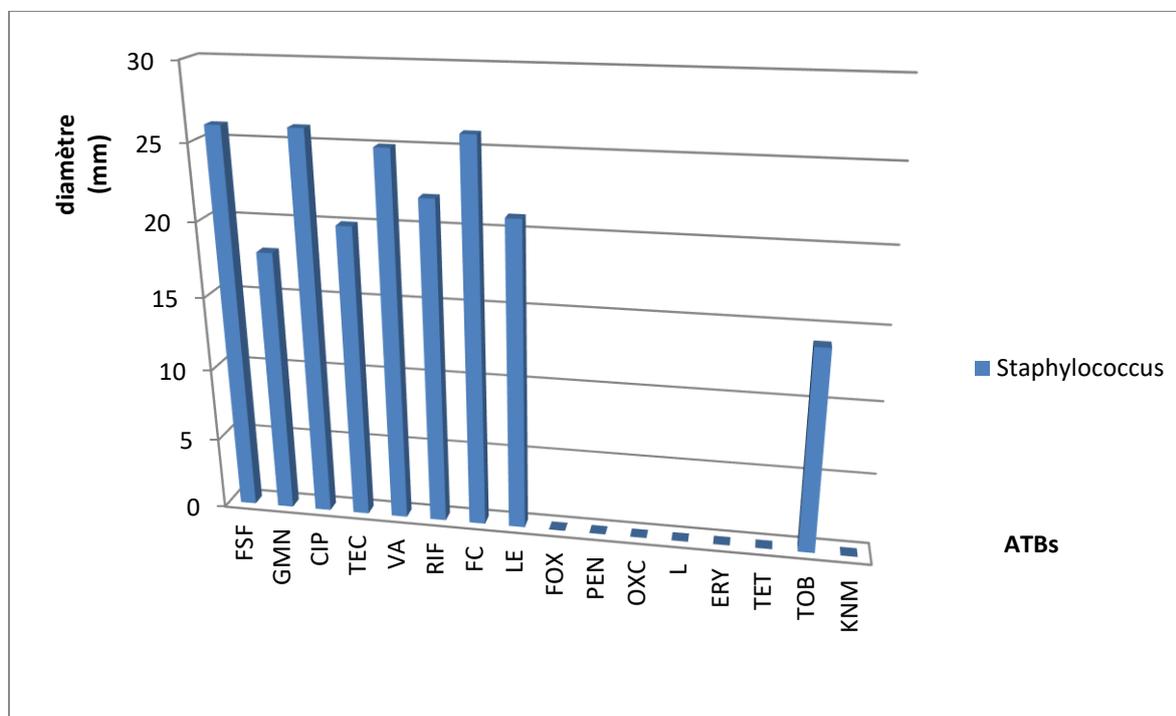


Figure 28: Représentation graphique des résultats de l'antibiogramme appliqué au *Staphylococcus*.

3. Discussion :

Durant notre stage réalisé au niveau du laboratoire de bactériologie de l'hôpital Ibn Zohr (Guelma) 128 prélèvements des patients présentant une symptomatologie urinaire (brulures mictionnelles, douleurs lombaires, insuffisance rénale...etc.) ont été réalisés. L'âge de ces patients est compris entre 11 à 71 ans. 15 prélèvements seulement ont été trouvés positifs. Tous les prélèvements des urines ont été soumis à l'examen cyto bactériologique des urines (ECBU) pour détecter une éventuelle infection urinaire.

Cette étude commence par des observations macroscopiques des urines pour détecter les différentes anomalies de l'aspect général des urines. Ainsi, nous avons remarqué que cet aspect peut être clair, légèrement trouble ou trouble selon et ceci en fonction l'état des patient :

- L'aspect clair des urines est dû à une hydratation signifiant que le patient est en bonne santé.
- L'aspect trouble des urines suggère une infection urinaire, mais n'est cependant pas spécifique. Il peut être lié à la présence de cristaux ou de médicaments.

La lecture microscopique permet de détecter la présence des leucocytes, des hématies, des cellules épithéliales, des cristaux et des germes bactériens :

- La présence des cristaux ne correspond pas à un état pathologique, elle peut être liée à la prise de certains médicaments.
 - La présence des cellules épithéliales en faibles quantités provenant de l'urètre ou du vagin qui signifie une contamination et entraîne le rejet de l'examen.
 - La présence de bactéries sous formes de bâtonnets et de cocci soit isolée ou regroupés.
 - Pour les globules rouges et les globules blancs, le dénombrement est important pour déterminer l'infection.
 - Le nombre normal de globules rouges est inférieurs à 10^3 / ml. Ils sont le témoin d'un saignement.
 - Pour les leucocytes le nombre normal est inférieur à 10^4 L/ ml. Il est souvent synonyme d'une absence d'infection urinaire.
 - Une leucocyturie supérieure ou égale à 10^4 L/ ml est compatible avec une infection urinaire et témoignent de la mobilisation des défenses de l'organisme contre l'agent infectieux.
-
- L'absence de leucocyturie et de bactériurie à une excellente valeur prédictive négative pour exclure une infection urinaire.
 - Si l'examen révèle la présence d'une bactérie mais que le taux de globules blancs est normal, cela peut indiquer une contamination de l'échantillon par une bactérie hors du l'appareil urinaire.
 - Si l'examen révèle la présence de leucocyturie $\geq 10^4$ L1/ml, mais une absence de bactériurie, cela peut indiquer la présence d'un autre germe non bactérien.

L'examen Bactériologique est réalisé par une culture sur différents milieux utilisés (gélose nutritive, gélose Mac Conkey, gélose Hektoen, gélose au sang frais, Chapman, gélose Sabouraud) et incubés à 37°C pendant 24h. Après incubation :

- Nous dénombrons les colonies trouvés sur les boites de Pétri gélosé (GN). Ces résultats sont exposés en nombre de germes par ml d'urine. L'interprétation des cultures obtenue est comme suivant :
 - Une Bactériurie $< 10^3$ UFC/ml signifie que l'examen est négatif donc absence d'infection.
 - Une Bactériurie $> 10^5$ UFC/ml signifie que l'infection est probable.
 - Une Bactériurie entre 10^3 et 10^4 signifie une zone d'incertitude (valeurs à contrôler si besoin).
 - A partir des cultures obtenues, nous observons :
 - Dés boites négatives : aucun développement bactérien, cela veut dire que l'ECBU est négatif et absence d'infection.
 - Dés boites contaminées : développement de plusieurs types des microorganismes indiquant que l'urine est contaminée.
 - Des boites positives : développement d'un seul type de microorganisme avec un nombre supérieur à 10^5 UFC/ml d'urine indiquant la présence d'infection urinaire.
 - Les caractéristiques macroscopiques des colonies des bactéries isolées sur les différents milieux gélosés ont aussi été déterminées :
 - Parmi les colonies qui ont été isolées sur la GN a partir des différents échantillons d'urine, les plus fréquemment observées sont des colonies de forme ronde avec un contour lisse ou rugueux, une surface bombées ou plate, un aspect muqueux ou crémeux, de couleur blanchâtre ou opaque et de taille variable (petite ou grande).
- Les observations microscopiques (à l'état frais et après coloration de Gram) des différentes souches isolées ont révélés les résultats suivants :
 - Des bacilles à Gram négatif isolés des boites de gélose Mac Conkey.
 - Des cocci regroupées en grappes de raisins à Gram positifs isolés des boites de gélose Chapman.
 - Des cocci regroupées en chaînette à Gram positif isolés des boites de gélose au sang frais.

Tableau 26 : Interprétation des résultats de leucocyturie, de bactériurie et de la culture.

Leucocyturie Nombre/ml	Bactériurie Nombre/ml	Culture	Interprétation
< 10 ⁴	< 10 ⁵	-	Absence d'infection urinaire
> 10 ⁴	> 10 ⁵	+	Infection urinaire certaine
> 10 ⁴	10 ³ -10 ⁵	+	Infection possible Contamination intrinsèque possible ECBU à refaire
> 10 ⁴	< 10 ⁵	+	Espèces exigeantes ou une cause non bactérienne

L'identification bactérienne se poursuit par des tests préliminaires et par une identification biochimique de toutes souches isolées. Ces caractères biochimiques obtenus suite à l'utilisation des galeries d'identification AP20 (API 20 E, API 20 NE, API STAPH) nous ont révélés la présence de six espèces bactériennes isolées. Elles sont la cause principale des cas d'identification urinaires chez les 15 patients concernés par notre étude.

- Les Entérobactéries sont les plus présentées dans la gélose Mac Conkey, (*E. Coli*, *Klebseilla pneumoniae*, *Proteus mirabillis*, *Enterobacer cloacae*) avec les *Pseudomonas* spp.
- La dominance des *E.coli*, *Klebseilla pneumoniae*, *proteus mirabillis* est à remarquer.
- Les *Staphylococcus* ont été isolés dans les boites contenant le milieu Chapman.

Les principales caractéristiques biochimiques d'identification de ces Entérobactéries sont comme suit :

- *E. Coli* est Lactose (+), VP (-), Indole (+), Urée (-) et TDA (-).
- *Klebseilla pneumoniae* est Lactose (+), VP (+), Indole(-), Urée (+) et TDA (-).
- *Enterobacer cloacae* est Lactose (+), VP(+), Indole (-), Urée (-), TDA (-), ADH (+), ODC (+) et SOR (+).
- *Proteus mirabillis* est Lactose (-), Indole (-) et TDA (+).
- *Pseudomonas* : sont des Lactose (-) et OX (+).

La dernière étape de la caractérisation bactériologique des différentes souches isolées est l'étude de leur sensibilité et de leur pouvoir résistance aux antibiotiques commercialisés. Il en ressort que la majorité des bactéries isolées affichent une sensibilité marquée aux antibiotiques suivants (Amikacine, Gentamicine, Fosfomycine, Ertapenam, Cifoxitine). Les diamètres des zones d'inhibition mesurés sont supérieurs à 15 mm. Une résistance à été notée pour les antibiotiques suivants : Amoxicilline, Peniciline, Ofloxacine et un résultat intermédiaire a été obtenu pour l'Ampicilline, Ainsi et d'une manière générale, il en ressort

d'après non résultats que les souches testées exhibent des comportements différents en fonction des molécules d'antibiotiques utilisées :

➤ *E. coli* est résistante à la moitié des antibiotiques utilisés (Amoxicilline, Ampicilline, Cefazoline, Ciprofloxacine, Ofloxacine) est sensible pour les autres antibiotiques (Amikacine, Etrapénème, Nitrofurantoin, fosfomycine, cifoxitine, colistine, Gentamycine, Cefotaxime), sauf pour les *E. coli* (BLSE +) on a constaté une résistance vis-à-vis de Gentamicine et de le Cfotaxime.

➤ *Klesseilla pneumoniae* est résistante à la majorité des antibiotiques utilisés, sauf pour la colistine, la Fosfomycine et le Nitrofurantoin qui sont très actifs.

➤ *Proteus mirabilis* est résistante à l'Amoxicilline, la Cefazoline, le Nitrofurantoin et affiche à une résistance intermédiaire pour l'Amikacine. Il est cependant sensible pour le reste des antibiotiques utilisés.

➤ *Enterobacter cloacae* a montré une résistance à l'Amoxicilline, à la cifoxitine, à l'Ampicilline et à la céfazoline, et une sensibilité pour la majorité des antibiotiques utilisés.

➤ *Pseudomonas* spp. à montrés une sensibilité presque pour tous les antibiotiques utilisés.

➤ *Staphylococcus* est résistante à la majorité des antibiotiques utilisés, tels que la pénicilline ce qui est certainement dû à la production d'une pénicillinase. Les macrolides utilisés sont très actifs ainsi que l'Acide Fusidique, la Rifampicine et la Fosfomycine.

- Certaines bactéries sont naturellement résistantes à des agents antimicrobiens, plus préoccupante, la résistance acquise concerne l'apparition d'une résistance à un ou plusieurs antibiotiques chez une bactérie auparavant sensible. Ces résistances peuvent survenir de plusieurs facteurs :

- Des facteurs propres aux cellules bactériennes ou à des facteurs génétiques expliquant l'apparition de bactéries résistantes à un ou plusieurs antibiotiques (Phénomènes rares).

- Des facteurs favorisant la sélection et la diffusion de souches bactériennes résistantes, ils tiennent essentiellement de nos habitudes thérapeutiques et à un mauvais usage de l'antibiotique.

La résistance génétique ou clinique est souvent la cause de :

- Une modification du site récepteur de la cellule bactérienne qui constitue la cible de l'antibiotique.

- La production d'enzymes capable d'inactiver la molécule de l'antibiotique dans le milieu environnant.

- En fin, d'après les résultats de notre étude statique, nous avons remarqués que sur 128 prélèvements réalisés seuls 15 répondaient aux critères d'infection urinaire soit 12% du total des prélèvements.

- Aussi, nous avons trouvé que les femmes sont plus exposées à ce type d'infection (60%) que les hommes.

- La tranche d'âge la plus touchée par l'infection urinaire est comprise entre 41 et 56 ans. Elle constitue 40% des cas dans la plupart sont du sexe féminin.

Elle est suivie par la tranche d'âge de [56-71] par 33,33% des cas dans la plupart sont du sexe masculin.

Les femmes sont les plus touchées par l'infection l'urinaire parce que l'urètre de la femme est plus court que celui de l'homme et que les bactéries ont moins distance à parcourir pour atteindre la vessie. De plus, chez la femme, l'urètre est situé près de l'anus. Toutefois, les hommes âgés dont la prostate a augmenté de volume sont plus sensibles aux infections urinaires. Nous avons aussi observés que les bacilles à Gram négatifs sont prédominant. Ils sont représentés par l'espèce *E. coli* avec 53% qui affiche la fréquence la plus élevé. Elle est suivie par *Klebseilla pneumoniae* et *Proteus mirabillis* avec un pourcentage de 13 % puis des autres germes avec 7%.

CONCLUSION

CONCLUSION

L'examen cyto bactériologique des urines (ECBU) est l'examen de référence qui permet d'affirmer la présence d'une infection urinaire, De ce fait, c'est l'examen bactériologique le plus réalisé au sein du service Bactériologie du laboratoire d'Ibn Zohr. Au premier abord. Cet examen paraît facile à réaliser, néanmoins, la qualité de son interprétation requiert, en amont des règles de prélèvements rigoureuses ainsi que des conditions de conservation et de transport adéquats, qui sont souvent négligés les erreurs rencontrées lors de la phase analytique sont moins fréquentes.

Mon travail a permis d'identifier les germes les plus abondants qui responsables des infections urinaires et de tester leur résistance et sensibilité aux antibiotiques.

A la lumière des résultats obtenus :

- Une prédominance des IU avec ECBU positif chez le sexe féminin avec un pourcentage de (60%), comparées aux hommes (40%)
- Les personnes âgées ainsi que les immunodéprimés sont fortement exposés aux infections urinaires et représentent une tranche non négligeable.
- L'ECBU a démontré une prédominance *Escherichia coli* (53%), suivie de *Klebsiella pneumoniae* et *proteus mirabilis* avec 13%, et autres germes.
- Le diagnostic de l'infection urinaire repose sur la bonne interprétation de l'ECBU.

En conclusion une meilleure identification des facteurs favorisant l'infection urinaire et la prévention qui pourrait permettre de réduire d'une façon significative le taux de ces infections, car la prévention demeure le meilleur moyen de lutte.

Au terme de mon étude je peux formuler ces quelques perspectives :

- Buvez suffisamment de l'eau.
- Uriner plusieurs fois par jour, pour éviter la stagnation des urines dans la vessie.
- Vider complètement la vessie à chaque miction, pour évacuer tous les germes pathogènes.
- Eviter de transporter les germes pathogènes de l'anus vers l'urètre.
- Urinez immédiatement après chaque relation sexuelle.
- Eviter la constipation.
- Pratiquer une toilette vulvaire au savon à pH adapté.

Références Bibliographiques

BIBLIOGRAPHIE

- **ABALIKUMWE. F, (2004).** *Investigation sur les Bactéries responsables des infections urinaires et leur diagnostic par l'étude comparative* ,Bachelor Degree en sciences médicale, kigali-Rwanda .
- **BEN RAIS. N et GHFIR. I, (2002).** *Anatomie et physiologie de l'appareil urinaire*, 12 :5-10.
- **BENOIT. G, GIULIANO. F, (1991).** *Anatomie chirurgicale et voies d'abord de la vessie. Service d'urologie, laboratoire d'anatomie, hôpital de Bicêtre, CHU paris-sud.* Edition Elsevier, Paris.
- **BERCHE. A, GAILLARD. J, SIMONT. F, (1991).** Bactériologie, Les bactéries des infections humaines. Editeur Flammarion. Médecine et sciences, p : 660-661.
- **BERNICHON. T, (2003).** *L'antibiogramme : la détermination des sensibilités aux antibiotiques, des bactériologies.* P : 10.
- **BERROD. T, (2016).** *Les superpouvoirs de l'urine (Film documentaire).*ARTE France : Mona Lisa Production.
- **BERTHÉLÉMY. S, (2016).** *L'examen cyto bactériologique des urines. Actualités pharmaceutiques*, vol 55, p : 57-59.
- **BIANCHI. V, NICOLAS. B, EL ANBASSI. S, (2003).** *Bactériologie-virologie.* Éd : paris, 41 :27 ,101.
- **BONACORSI. S , (2011).** « *Bactériologie médicale Technique usuelles* », 2^{ème} édition, Masson, Paris, Examen cyto bactériologique des urines(ECBU), chapitre 18 :180, 186.
- **BOUVET. E, (2010).** *Cours de bactériologie générale.* « *Streptocoques-Entérocoques* ».Centre national de référence des streptocoques ; Université paris VI.
- **BRIQUET. Y, (2016).** *Infection urinaire de l'adulte : Prise en charge les médecins généralistes en Guyana Française*, Thèse en Médecine Générale, Université de Picardie Jules Verne, France, 82p.
- **BRUNNER L.S, BARE.B, SMELTZER. R, (2011) :** *Soins infirmiers en médecine et chirurgie : Fonction rénale et reproductrice*, 5^{ème} édition, chapitre 47, 1714p.
- **CARON. F, (1999).** *Bases pharmacologique de l'antibiothérapie d'une infection urinaire.* Antibiotique, 1, 27-31.
- **CARON.F,(2003).** *Physiopathologie des infections urinaires nosocomiales. Médecine et maladies infectieuses* 33. Elsevier, 443p.
- **CHAUFFREY.L, (2012).** *Colonisation et infections urinaires à entérocoque chez l'homme : Analyse Clinico-microbiologie de 173 patients.* Médecine humaine et pathologie. Thèse de doctorat, Faculté de médecine et pharmacie de ROUEN, France. 233p.
- **CHEKROUD. R, (2017).** *Étude du Profil bactériologique et de la sensibilité aux antibiotiques des Entérobactéries responsables des Infection urinaires.* Mémoire de Master en Hygiène Hospitalière et santé, Université des Frères Mentouri Constantine, Algérie. 77p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **CHERRADI. A, (2015).** *Infection urinaire*. Mémoire de Master en Science Biologique Appliqué et santé, Université sidi Mohamed Ben Abdellah de Fès, p : 38.
- **CLAUDE N, (2015).** *Le Grand Larousse Illustré* ; Dictionnaire Encyclopédies. Edition paris, P : 986.
- **COLASSON. A, DARRACQ. C et PARIES JP, (1981).** *Les risques fœtaux et maternels dans l'infection urinaire gravidique*. Rev Fr. Gynécol. Obstet, 76, pp. 269-278.
- **CTINILS. B, (2007).** *Comité technique des infections nosocomiales et des infections liées aux soins. Actualisation de la définition des infections nosocomiales*. 6p.
- **DELARRAS. C, (2014).** *Pratique en microbiologie de laboratoire. Recherche de bactéries et de levure-moisissures*. 2^{ème} édition Lavoisier, p : 633, 634.
- **DJENNANE. L, MOHAMMEDI. E, TIOUT-RAHAL. B, (2009).** *Examen cytot bactériologiques des urines (E.C.B.U)*. Institut pasteur d'Algérie, Techniques Microbiologiques. P : 36.
- **EDDI. A, (2010).** *Composition des urines, docteur clic un service santé assistance (en ligne)*.
- **EL MANNI. H, MEZIANE. M, TAHA. B, ABOUTAIEB. E, (2004).** *L'examen des urines pour le diagnostique de l'infection urinaire* ; Esperance médicale, 22:15-16.
- **ELAINE. N et MARIEB. B, (2008).** *Biologie humaine principes d'anatomie et de physiologie*. 8^{ème} édition-paris. 124p.
- **FLANDROIS J-P et CHOMORAT. G, (1988)** : *L'examen cytot bactériologique des urines* . In *Bactériologie médicale et pratique*, MEDSI/ Mc GRAW –HILL, Paris. 207p.
- **FRANÇOIS. G, BRANDSTATTER. JP, BRÉCHET. T et HUTTNER. D, (2013).** *Infection urinaire*, HUG. 44p.
- **FRANÇOIS. A, BRANDSTATTER. H, BRÉCHET. A-C, HUTTNER. A, (2013).** *Infections urinaires, Service de médecine de premier recours*. Genève, 7-10.
- **GRAFFAR. E, (1948).** Méthodes modernes d'isolement et de différenciation rapide des entérobactéries pathogènes. Travaux de laboratoire. *International journal of clinical laboratory medicine*. 75 :182-185.
- **GUILLINEAU. B, VALLANCIEN. G, (1999).** *Urologie. (Collection Inter Med)* . Paris, France : Doin édition. 237p.
- **GUIRAUD. J-P et ROSEC. J-P, (2004).** *Pratique des normes en microbiologie alimentaire*, éd : Paris, France : AFNOR. 253p.
- **GUY ALBERT. H, (2008).** *Bactériologique des infections urinaires au centre pasteur du Cameroun (Mémoire de maîtrise)*, univertités de yaoundé 1, 111p.
- **ISNARD. C, (2015).** Infection du tractus urinaire à pathogènes. *Journal des Anti – infectieux* , 17, 152-161.doi : 10.1016/j.antinf.2015.10.002
- **JAHEL. H, CHABAUD. J et GRILLON. D, (2015).** L'antibiogramme : diamètre ou CMI. *Journal des Anti-infectieux* 17: 125, 126.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **KAMINA. P, (2005).** *Précis d'anatomie cliniques.* Editions Maloïne. Paris. Tome 4, 394p.
- **KAMINA. P, (2006).** *Système Endocrine. Organes urinaires et génitaux pelvis coupes du tronc.* 2^{ème} Editions Maloïne. Paris. Tome 4, 38p.
- **KARI. N. S, (2013).** *Etude de la résistance aux Antibiotiques chez les Bacilles à Gram négatif isolés à partir des Effluents de deux Hôpitaux de la Wilaya de Bejaia.* Mémoire de Master en Microbiologie Moléculaire et Médicale, Université Abderrahmane MIRA de Bejaia, Algérie. 82p.
- **LANOTTE. P, MEREGHETTI. L, QUENTIN. R, (2011).** *Bactériologie médicale Technique usuelles ,* 2^{ème} édition, Masson, Paris, Démarche de l'examen bactériologique, 158p.
- **LOBEL. F et SOUSSY. N, (2007).** *Les infections urinaires.* Edition : Springer, Paris, P : 3-5.
- **LUCE. P et PELISSIER-SIMARD, M.D, (2006).** *épidémiologie, Chaire Lucie et André Chagnon pour l'enseignement d'une approche intégrée en prévention.* Université de sherbrooke. Révision médicale janvier.
- **MOREDDU. F, (2007).** *Le conseil associé à une demande spontanée,* Tome 2, 4^{ème} éd, Vol 2-France.144p.
- **MOULIN. B et PERALDI. M-N, (2018).** *(Collège Universitaire Des Enseignants De Néphrologie). Néphrologie.* 8^{ème} édition Ellipses. 343p.
- **OUTTARA. M. Z ., (2013).** *Profil antibiotique de cinq (5) principaux germes isolés dans 250 Echantillons d'urines au laboratoire Biotech de Bamako.* Thèse de Doctorat : pharmacie, Université de Médecine et d'odonto-stomatologie. 133p.
- **PAVESE. P, (2003).** *Infection urinaires nosocomiales, Médecine et maladies infectieuses,* 33, 266-274s.Doï : 10.1016/S0399-077X(03)00159-8.
- **PIERRE. E et MARIE. J, (2003).** *Bactériologie,* Faculté de médecine. 122p.
- **PRESCOTT. A, HERLEY. N, KLEIM. B et WILEY. M, (2010).** *Microbiologie,* De Boek Supérieur, 3^{ème} édition, 908p.
- **RIEGEL. R, (2003).** *Médecine et maladies infectieuses,* Edition Flammarion Médecine Sciences.33: 255-265.
- **SPILF, K (2015) :** *Mise au point sur diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires de l'adulte,* p : 7-8.
- **TALHA. H, (2018) :** *Infection bactériennes des voies urinaires,* University of Ri Mverside School of Medicine, Édition professionnelle du Manuel MSD. 44p.
- **VILDE et al, (2010).** *Contribution à l'étude de quelques bactéries responsables d'infection urinaire,* Mémoire de Master en Microbiologie, Université de Tlemcen, Algérie. 45p.

SITOGRAPHIE :

[1] : *Encyclopédie Larousse médicale en ligne.* Disponible sur :

<https://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/urine/16815>. Consulté le 10 juin 2020.

ANNEXES

Annexe 1 : Composition des milieux de cultures.

Ces milieux de culture permettent de favoriser une croissance bactérienne à partir de prélèvement polymicrobiens.

Tableau 21 : La composition des milieux de cultures (Lanotte et al, 2011).

Milieu	Produits	Composition (g/l)
Gélose nutritive	Extrait de viande de bœuf Extrait de levure Peptone Chlorure de sodium Agar PH : 7,4 +/- 0,2	1 2 5 5 15
Gélose Mueller-Hinton	Infusion de viande de bœuf Hydrolysate de caséine Amidon Agar pH : 7,4 +/- 0,2	300 17,5 1,5 17
Gélose Mac Conkey	Peptone Lactose Sels Biliaires Cristal violet Rouge Neutre Chlorure de sodium Agar PH : 7,1	20 10 1,5 0,001 0,05 5 15
Gélose Chapman	Peptone Extrait de viande de bœuf Chlorure de sodium Mannitol Rouge de phénol Agar-agar Eau distillé PH : 7,4	

ANNEXES

Gélose Columbia (+ 5% du sang)	Polypeptones Peptone pancréatique de cœur Amidon Chlorure de sodium Extraits de levure Agar PH : 7,3 +/- 0,2	17 3 1 5 3 13,5
Gélose Sabouraud Chloramphénicol	Peptone Glucose massé Agar Eau distillée Chloramphénicol Vitamine et facteurs de croissance. PH : 6,0	10 35 15 1 0,5

Préparation des milieux de culture :

Gélose nutritive :

- Verser 28 g dans un litre d'eau distillée stérile.
- Ajuster le PH à 7.4.
- Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.

Gélose Chapman :

- Une base nutritive ordinaire.
- Une teneur élevée en NaCl qui permet la sélection des bactéries halophiles (comme les *Staphylococcus*) et inhibe la grande majorité des autres bactéries.
- Un critère de différenciation : la fermentation du mannitol révélé grâce au virage de l'indicateur coloré de pH : le rouge de phénol qui permet une orientation vers certaines espèces (comme l'espèce *Staphylococcus aureus*).

Gélose Mac Conkey :

- Mettre en suspension 50,0 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée stérile.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et le maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.

- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

Gélose au sang frais :

Ce sont des géloses qui permettent la croissance des bactéries exigeantes, grâce à la présence de facteurs de croissance contenus dans le sang.

- Liquéfier la base au bain-marie bouillant.
- Attendre son refroidissement à 45°C (milieu en surfusion).
- Ajouter stérilement, à l'aide d'une pipette Pasteur, la quantité de sang nécessaire pour obtenir une concentration finale en sang de 5%.
- Homogénéiser en faisant rouler le tube entre les mains, en évitant la formation de bulles.
- Couler en boîte de Pétri en évitant la formation de bulles.

Gélose Sabouraud - Chloramphénicol :

- Mettre en suspension 45,5 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée stérile.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et le maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes

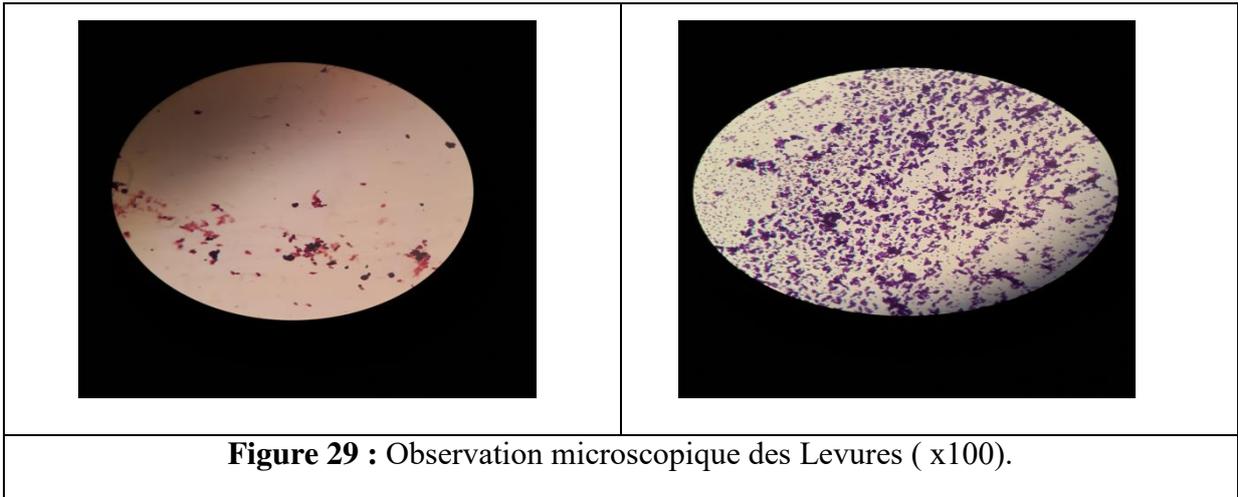
ANNEXES

Annexe 2 : Les principaux caractéristiques pour l'identification des Entérobactéries.

Tableau 22 : Clé d'identification des Entérobactéries (Selon laboratoire de l'hôpital Ibn Zohr).

Lactose (+)	VP (-)	<i>E. coli</i>	Cit (-)	LDC (+)	ODC (+/-)	Urée (-)		Indole (+)		
		<i>Citrobacter</i>	Cit (+)	LDC (-)	ODC (+)	Indole (+)	H2S (-)		<i>C. diversus</i>	
						Indole (-)	H2S (+)		<i>C. freundii</i>	
	VP (+)	<i>Klebsielles</i>	Cit (+)	LDC (+)	Urée (+)	<u>Dégrade Touts les sucres</u>	Indole (+)		<i>K. oxytoca</i>	
							Indole (-)		<i>K. pneumoniae</i>	
		<i>Enterobacter</i>	Cit (+)	Indole (-)	ADH	LDC	ODC	FOX	SOR	
						+	+	R		<i>E. aerogenas</i>
					+		+	R	+	<i>E. cloacae</i>
		+		+	S	-	<i>E. sakazaki</i>			
	<i>Serratia</i>	Cit (+)	Indole (-)	LDC (+)	ODC (+)	<u>Gel (+)</u>	ARA (+)		<i>S. liquefasciens</i>	
ARA (-)							<i>S. marcesens</i>			
Cs en Cocarde										
Lactose (-)	TDA (+)	<i>Proteus</i>	Urée (+)	Indole	H2S	ODC	Cit			
				-	+/-	+		<i>P. mirabilis</i>		
				+	+/-	-		<i>P. vulgaris</i>		
				+	-	-	+	<i>Providencia rettgeri</i>		
		+	-	+	-	<i>Morganella morganii</i>				
	TDA (-)	<i>Salmonelles</i>	Urée (-)	H2S	Gaz	LDC	ODC			
				+	-	+	-	<i>S. typhi</i>		
-				+	-	+	<i>S. para A</i>			
	+	+	+	+	<i>S. para B</i>					
	<i>Shigelles</i>	<u>Galerie inerte</u>								

Annexe 3 : Observation microscopique des levures après coloration de Gram.



Résumé :

Le diagnostic des infections urinaire repose essentiellement sur l'examen cyto bactériologique des urines (ECBU). Il consiste à réaliser un examen cytologique suivi d'un isolement bactériologique, l'identification du germe en cause et l'étude de sa sensibilité et/ou de sa résistance aux antibiotiques. Les résultats des 128 ECBU traités indiquent que 11,72% répondaient aux critères d'infection urinaire avec une fréquence qui demeure toujours aussi élevé chez les femmes (60%), que les hommes. Cette étude nous a permis aussi de confirmer la prédominance des Entérobactéries avec *E. coli* (53%), suivie de *Klebsiella pneumoniae* et *Proteus mirabilis* comme germes dominants. Nous avons aussi isolé d'autre germes tels que : *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas* spp, *Staphylococcus*.

L'étude de la résistance des bactéries isolées aux différents antibiotiques a montré une variabilité selon les souches. L'antibiogramme a indiqué que *E. coli* est sensible à la moitié des antibiotiques testés, par contre nous avons remarqué que *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus* présentait une importante résistance aux antibiotiques utilisés.

Mot clés : Infection urinaire, Cytobacteriological examination of urine, Isolement, Antibiogramme, Entérobactéries, Bâtonnet, Cocci.

Abstract :

The diagnosis of urinary tract infections is essentially based on the cyto bacteriological examination of urine (ECBU). It involves performing a cytological examination followed by bacteriological isolation ,the identification of the germ in question and the study of its sensitivity and/or resistance to antibiotics. The results of 128 ECBU treated indicate that 11,72% met the criteria for urinary tract infection with a frequency that remains as high in women (60%), than in men. This study also allowed us to confirm the predominance of Enterobacteria with *E. coli* (53%), followed by *Klebsiella pneumoniae* and *Proteus mirabilis* as dominant germs. We also isolated other germs such as: *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas* spp, *Staphylococcus*.

The study of the resistance of the isolated bacteria to the different antibiotics showed variability according to the strains. The antibiogram indicated that *E. coli* is sensitive to half of the antibiotics tested, besides, we have noticed that *Klebsiella pneumoniae* and *Staphylococcus* showed an important sensitivity to the antibiotics used.

Key words : Urinary tract infection, ECBU, Isolation, Antibiogram, Enterobacteria, Stick, Cocci.

ملخص:

يستند تشخيص التهابات المسالك البولية أساسا على الفحص البكتريولوجي البولي، وهو عبارة على فحص خلوي متبوع بعزل، تحديد هوية الجراثيم المعنية ودراسة حساسيتها و/أو مقاومتها للمضادات الحيوية. تشير نتائج المائة و الثمانية و العشرون عينة بول المدروسة إلى أن 11,72 % استوفوا معايير عدوى المسالك البولية مع نسبة مرتفعة عند النساء (60%) مقارنة مع الرجال. كما سمحت لنا هذه الدراسة بالتأكد غلبة البكتيريا المعوية مع بكتيريا القولون بنسبة (53%)، تليها *Klebsiella pneumoniae* و *Proteus mirabilis* كجراثيم السائدة. كما قمنا بعزل جراثيم أخرى مثل: *Staphylococcus*, *Pseudomonas* spp, *Enterobacter cloacae*.

عند دراسة مقاومة البكتيريا المعزولة وتعريضها لعدة مضادات حيوية تبين أن مقاومتها تختلف حسب السلالة. تشير الدراسة بالمضادات الحيوية إلى أن بكتيريا القولون حساسة لنصف المضادات الحيوية المختبرة، من جهة أخرى لاحظنا أن *Klebsiella pneumoniae* و *Staphylococcus* أظهرتا مقاومة قوية للمضادات الحيوية المستعملة.

الكلمات المفتاحية: عدوى المسالك البولية، الاختبار الخلوي البكتريولوجي للبول، أنتيبيوغرام، البكتيريا المعوية، الجرثومة العصوية، الجرثومة الكروية.