

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
**MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**



Université SAAD DAHLAB Blida -1-

Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : SNV

Filière : sciences biologiques

Spécialité : Biotechnologie microbienne

Thème

Etude Microbiologique des Infections Urinaires

Présenté par : Larbi Fatiha

JURY :

Présidente : Dr.Ammad	Maître de conférences A	U Blida1
Examinatrice : Dr.Ait saadi	Maître de conférences B	U Blida1
Promotrice : Mme.Benchabane	Maitre -assistante A	U Blida1
Co-promoteur: Mr.Gouguam	Médecin assistant principale spécialiste	Externe

2019/2020

Remerciements

Tout d'abord je tiens à rendre grâce à Allah pour m'avoir accordé la Santé, le moral et sa bénédiction le courage afin de me permettre d'élaborer ce modeste travail. Merci pour tous ces bienfaits autour de moi et pour la direction de ma vie.

*Je tiens avant tout à exprimer mes remerciements les plus sincères à Ma promotrice Mme **Benchabane Dalila**, pour avoir accepté de diriger ce Travail, pour ses précieux conseils, son aide, ses suggestions sur la rédaction De ce mémoire ainsi que la confiance qu'elle nous a témoigné tout au long de Cette étude.*

*Mes sincères remerciements à mon Co-promoteur, Mr **Gouguam Reda**, Médecin assistant principale spécialiste en parasitologie, au niveau de laboratoire centrale de l'hôpital DR Fares Yahia de koléa- Wilaya de Tipaza, d'avoir accepté de diriger mes travaux, avec beaucoup de patience. Il m'a toujours accordé un encadrement attentionné.*

*Je remercie Mme **Ammad F.** de m'avoir fait L'honneur de présider le jury*

*Me remerciements s'adressent à Mme **Ait saadi N.** d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.*

Je remercie également Mr Aouni Dj ; coordinateur des activités paramédicales dans le service de l'hôpital Fares Yahia de koléa- Wilaya de Tipaza Pour son encadrement,

Je tiens à remercier vivement chaleureusement mes enseignants de département biotechnologie pour votre aide et patience, m'avoir transmis votre précieux et a enrichi ma carrière.

Dédicaces

Je dédie ce mémoire

A mes très chers parents

Aucune dédicace ne serait être assez éloquente pour exprimer la profondeur Des sentiments d'affection, d'estime et de respect que je vous porte, pour L'amour dont vous m'avez toujours comblé, l'éducation et le bien être que Vous m'assurez, pour votre soutien, vos sacrifices et vos prières

A ma Très chère grand-mère

Que je demande à Dieu de prolonger sa vie et la garder pour en bonne santé

A mes chers frères Belaid et Amir pour tout l'affection qu'ils m'ont donnée et pour leur précieux encouragement.

A mes chères tentes wahiba, wassila, nassima, hasna, chamia et dalila

Je vous exprime toute ma gratitude reconnaissance de votre amour votre soutien moral. Vos conseils avisés m'ont conduit jusqu'au bout.

A mes chers cousins et cousines qui m'ont beaucoup aidée surtout ma chère rania rabia, khadidja et rafik pour votre aide, soutien et courage

A ma chère kahina qui ma aider du début jusqu'à la fin de réalisation de ce travail mille merci pour ton amour ton soutien ta sincérité tes conseils.

A mes chers amis : Malek, Shahla, Ouiem, Nabila, Yazid et taher je ne vous remercierai jamais assez pour vos encouragements.

A toute la promotion de biotechnologie microbienne 2019/2020

SOMMAIRE

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Résumé	
Introduction	

Partie bibliographique

CHAPITRE I : les infections urinaires

1. Généralités sur les infections urinaires :	2
1.1. L'appareil urinaire :	2
1.2. L'urine :	3
1.3. Les infections urinaires :	4
1.3.1. Classifications des infections urinaires selon leur localisation :	4
1.3.2. Physiopathologie des infections urinaire :	5
1.3.3. Facteurs causant les infections urinaires	5
1.3.4. Les symptômes des infections urinaires	6
1.3.5. Les mécanismes de défense contre les agents responsables des infections urinaires.....	7
1.4. Les principaux micro-organismes impliqués dans les infections urinaires	7
1.4.1. La flore bactérienne	8
1.4.2. La flore fongique	13

CHAPITRE II : diagnostique des infections urinaires

1. Les étapes de diagnostic	15
1.1. Prélèvement	15
1.2. Examen cyto bactériologique des urines	17
1.1.2. Examen ytologique.....	17
1.3.2. Identification biochimique.....	21

CHAPITRE III : la lutte contre les infections urinaires

1. lutte préventive	23
2. lutte curatif.....	23

2.1. Les antibiotiques	24
2.2. Historique.....	24
2.3. Différentes familles d'antibiotique	25
2.4. Mécanisme d'action	26
2.4.1. Inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne	26
2.4.2. Inhibiteurs de la synthèse de la membrane plasmique	26
2.4.3. Inhibiteurs de la synthèse des protéines	26
2.4.4. Inhibiteurs de la synthèse de l'acide nucléique	26
2.5. Résistance bactérienne aux antibiotiques	27
2.5.1. La résistance naturelle	27
2.5.2. La résistance acquise	27
2.5.3. Le fonctionnement de cette résistance.....	27
3. Antibiogramme par diffusion des disques	28
3.1. Lecture	28
3.2. Principaux erreurs techniques d'antibiogramme	29
4. Antifongigramme	29

Partie matériel et méthode

CHAPITRE I : matériel et méthode

1. Lieu et période de stage	31
2. la collecte de prélèvement	31
2.1. Matériels utilisés.....	31
2.1.1. Matériel biologique	31
2.1.2. Matériel non biologique	31
2.2. Méthodes	32
2.2.1. Les prélèvements des urines et Acheminement.....	32
2.2.2. Examen cytot bactériologique des urines	33
2.2.3. Examen microbiologique.....	35

CHAPITRE II : résultat et discussion

1. Analyse macroscopique des échantillons	49
2. Examen cytologique	49
3. Les résultats de différents caractères cultureux.....	50
4. Les résultats de la coloration de Gram	51

5. Les résultats de la galerie Api E20 teste.....	51
6. Résultat de test de blastése sous microscope.....	52
7. Résultat de réalisation de la galerie Auxacolor 2	53
8. Les résultats de l'antibiogramme.....	53
1. Répartition des résultats	55

Discussion général

Conclusion

Référence bibliographique

Annexe

Liste des figures :

Figure01	Appareil urinaire féminin et masculin	02
Figure02	<i>Escherichia coli</i>	09
Figure03	<i>Klebsiella</i>	10
Figure04	Proteus	11
Figure05	<i>Staphylocoque</i>	12
Figure06	Eléments composant une cellule pour analyse quantitative	18
Figure07	les mécanismes de résistance à un antibiotique par la bactérie	28
Figure08	la détermination des CMI des Polyènes	30
Figure09	Les différents aspects et couleur des urines	33
Figure10	Remplissage de cellule Malassez	34
Figure11	les milieux utilisées gélose nutritive, Hektoen, Chapman	35
Figure12	Galerie APIE20 avant ensemencement	39
Figure13	Les étapes de préparation de la galerie	40
Figure15	Additionnement des tests PV, TDA, IND	41
Figure16	Aspect crémeux des candidas	42
Figure17	Préparation de la microplaque AUXACOLOR TM 2	43
Figure18	Application des disques d'antibiotiques	46
Figure19	Aspect des colonies sur gélose nutritive et gélose Hektoen	49
Figure20	Bacille Gram-	49
Figure21	Identification biochimique d' <i>E.coli</i>	50
Figure22	Identification biochimique de <i>K.pneumoniae</i>	50
Figure23	Aspect microscopique de filamentation de candidas	51
Figure24	identification biochimique de <i>Candida albicans</i>	51
Figure25	Les différents résultats d'antibiogramme	52

Liste des tableaux

Tableau 1. Les principaux constituant de l'urine.....	03
Tableau 2. Représentation des caractères biochimique chez E.coli.....	09
Tableau 3. Les modes de prélèvement des urines.....	15
Tableau 4. Interprétation des résultats d'ECBU.....	20
Tableau 5. Principaux erreur technique d'antibiogramme	29
Tableau 6. L'origine des échantillon des différents service	31
Tableau 7. Matériel non biologique	32
Tableau 8. Les étapes de coloration de gram.....	37
Tableau 9. Le guide de codage pour l'orientation des candidas	44
Tableau 10. Les éléments retrouver lors de la cytologie sous microscopie.....	47

Liste des abréviations

AM : amoxicilline.

AMC : amoxicilline+ acide clavulanique.

ATB : Antibiogramme.

BGN : Bacilles à gram négatif.

BU : Bandelette Urinaire.

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute.

CN : céfalexine.

CTX : céfotaxime.

CZ : céfazoline.

COT : cotrimoxazole.

CO₂ : dioxyde de carbone.

CGP : Cocci Gram positif.

CMI : concentration minimale inhibitrice.

C° : Degré Celsius.

ECBU : Examen cyto bactériologique des urines.

FOX : céfaxitine.

GEN : gentamycine.

GN : Gélose nutritive.

Glu : Glucose.

H₂S : Sulfure d'hydrogène.

H₂O₂ : Eau oxygénée.

IMP : imipinème

IU : Infection urinaire.

ITU : Infections du Tractus Urinaires.

Lac: Lactose.

MF: Mac Farland.

Mm: millimètre.

Mn: Minute.

ONPG: Ortho-nitrophényl- β -galactoside.

PH : potentiel Hydrogène.

PN : Pyélonéphrite.

UFC : unités formant colonies.

% : pourcentage.

> : Le signe supérieure.

< : Le signe inférieur

Résumé

Les infections urinaires constituent un véritable problème de santé publique tant par leur fréquence que par leur difficulté de traitement. Il existe trois types d'infection urinaire : La cystite, urétrite, pyélonéphrite. C'est dans cette optique que nous avons entrepris une étude microbiologique dont l'objectif est d'isoler des microorganismes (bactéries et champignon) qui peuvent être responsables de l'infection urinaire, et dévaluer la sensibilités des bactéries isolées a certains antibiotiques pour préconiser un traitement efficace à cette infection .

Il s'agit d'une étude effectuée au niveau du Laboratoire de Microbiologie de l'hôpital de Koléa Wilaya de Tipaza, elle a été mené sur 100 échantillons, dont 60% des malades non hospitalisés et 40% des malades hospitalisés. Pour le diagnostic on a utilisé les méthodes classiques comportant un examen cyto bactériologique des urines (ECBU) et une identification biochimique complète en utilisant des galeries Api pour les bactéries et les galeries Auxacolor pour les levures, et enfin on a évalué la sensibilité et la résistance des souches identifié à divers antibiotiques en utilisant des antibiogrammes.

Sur les 100 échantillons analysés nous avons diagnostiqué 34% cas positif avec la dominance des patients externe 20% ; on a remarqué la dominance de sexe féminin 66% par rapport au sexe masculin 34%. L'analyse cyto bactériologique et l'identification biochimique à révéler la dominance des bactéries de groupe des Entérobactéries 80,64% particulièrement : *Eschirichia.coli* 68%, *Klebsiella pneumoniae*20%, et *Klebsiella oxytoca*12% par rapport au levure13% dont : *Candida albicans*.

Les antibiogrammes étudiés ont indiqué des profils variables. Les souches identifiées sont sensibles aux ATB testés de la famille des β - lactamines (imipinème 89%, Gentamicine 88%) donc ces derniers peuvent être sélectionné dont le traitement des infections urinaire causées par ces germes. d'autre part on doit signaler que la totalité des germes isolées à partir des échantillons positif présenter une résistance importante vis-à-vis de l'Augmentin.

Mots clés : infection urinaire, ECBU, Entérobactéries, levure, Antibiogramme.

Sommry

Microbiological study of urinary tract infections

Urinary tract infections constitute a real public health problem both in terms of their frequency and their difficulty of treatment. There are three types of urinary tract infection: Cystitis, urethritis, pyelonephritis. It is with this in mind that we have undertaken a microbiological study whose objective is to isolate microorganisms (bacteria and fungus) which may be responsible for urinary tract infection, and to assess the sensitivity of the bacteria isolated to certain antibiotics in order to recommend effective treatment for this infection.

This is a study carried out at the Microbiology Laboratory of the Koléa Wilaya Hospital in Tipaza, it was carried out on 100 samples, of which 60% were non-hospitalized patients and 40% were hospitalized patients. For the diagnosis we used the classical methods comprising a cytobacteriological examination of the urine (ECBU) and a complete biochemical identification using Api galleries for bacteria and Auxacolor galleries for yeasts, and finally we evaluated the sensitivity and resistance of the bacteria. Strains identified with various antibiotics using antibiograms.

Of the 100 samples analyzed, we diagnosed 34% positive cases with the dominance of 20% outpatients; 66% female dominance was noted over 34% male. Cytobacteriological analysis and biochemical identification revealed the dominance of bacteria from the *Enterobacteriaceae* group 80.64% in particular: *Eschirichia.coli* 68%, *Klebsiella pneumonia* 20%, and *Klebsiella oxytocal* 12% compared to yeast 13% including: *Candida albicans*.

The antibiograms studied indicated variable profiles. The strains identified are sensitive to the ATBs tested from the β -lactam family (imipinem 89%, Gentamicin 88%) so the latter can be selected including the treatment of urinary tract infections caused by these germs. On the other hand, it should be noted that all of the germs isolated from the positive samples show significant resistance to Augmentin.

Keywords: urinary tract infection, ECBU, Enterobacteriaceae, yeast, Antibiogram.

المخلص

دراسة ميكروبيولوجية لالتهابات المسالك البولية

تشكل التهابات المسالك البولية مشكلة صحية عامة حقيقية من حيث تواترها وصعوبة علاجها. هناك ثلاثة أنواع من عدوى المسالك البولية: التهاب المثانة، التهاب الإحليل، التهاب الحويضة والكلية. ومن هذا المنطلق، أجرينا دراسة ميكروبيولوجية هدفها عزل الكائنات الدقيقة (البكتيريا والفطريات) التي قد تكون مسؤولة عن عدوى المسالك البولية، ولتقييم حساسية البكتيريا المعزولة لبعض المضادات الحيوية من أجل التوصية بعلاج فعال لهذه العدوى.

أجريت هذه الدراسة في مختبر الأحياء الدقيقة بمستشفى القليعة ولاية تيارزة على 100 عينة، 60% منها مرضى خارج المستشفى و40% من المرضى المقيمين في المستشفى. بالنسبة للتشخيص، استعملنا الطرق الكلاسيكية التي تشمل على فحص الجراثيم الخلوية للبول، وتحديد التركيبة البيو كيميائية الكاملة باستخدام جهاز التعرف البيو كيميائي للبكتيريا ولوحة بيو كيميائية لتحديد الخمائر

وأخيراً قمنا بتقييم حساسية ومقاومة البكتيريا المتعرف عليها بالنسبة لمضادات حيوية مختلفة

من بين 100 عينة تم تحليلها، شخّصنا 34% حالات إيجابية مع هيمنة 20% من المرضى الخارجيين ولاحظنا سيادة الإناث على الذكور بنسبتي 66% و34% على التسلسل.

كشف التحليل الخلوي والتعرف البيو كيميائي عن هيمنة *Enterobacteriaceae* وعة بنسبة 80,64% تحديداً *E. coli* نسبة 68%، *Klebsiella pneumoniae* 20%، و 12% بالنسبة

Candida albicans ل *Klebsiella oxytoca* اما بالنسبة للخمائر 13% بالتحديد:

أشارت المضادات الحيوية التي تمت دراستها إلى ملامح متغيرة. السلالات المختبرة التي تم تحديدها حساسة لعائلة بيتا-لاكتام (إيميبينيم 89%، جنتاميسين 88%) بذلك يمكن اختيار هذين الأخيرين كعلاج مناسب لالتهابات المسالك البولية التي تسببها هذه الجراثيم. من ناحية أخرى، تجدر الإشارة إلى أن جميع الجراثيم المعزولة من العينات الإيجابية تظهر مقاومة قوية لأوجمنتين.

الكلمات المفتاحية: عدوة المسالك البولية، الخميرة، مضاد Entérobactéries, ECBU

INTRODUCTION

De nombreuses pathologies humaines sont provoqué par des micro-organismes pathogène tel que les bactéries, les champignons et les virus, qui colonisent et se développent sur un tissu ou un organe ce qui provoquera des infections symptomatologiques qui peuvent entrainer des complications assez grave chez les sujets atteints.

Depuis des années les infections urinaires constituent un problème de santé publique en considérant leurs cout au traitement et leurs diagnostique, ils font partie des maladies les plus fréquentes (150 million de cas par an) (**Garba AA et al., 2005**), après les infections respiratoires. Cette infection correspond à l'agression du tissu urinaire par des micro-organismes qui sont soit d'origine bactérien tel que : le genre *Escherichia coli* qui est responsable de près de 70% des IU, le genre *Klebsiella* dans 7-8% des cas. *Et le genre Proteus*, (**FRANÇOIS et al., 2013**), soit la flore fongique particulièrement les levures avec la dominance du genre : *Candida*.

Le diagnostic Le moins invasif et le plus réalisé pour traiter l'infection urinaire, porte sur L'examen cytot bactériologique des urines (ECBU). Il se caractérise par une analyse quantitative (leucocyturie), associée à une analyse qualitative de la culture de l'urine infectée, (**Courcol R, 2010 ; Mohamed H, 2016**)

Grâce à l'étude microbiologique on a la possibilité d'isoler et d'identifier les agents responsables de l'infection urinaire qui seront l'objet à leur tour d'une antibiothérapie adaptée, afin d'éviter l'aggravation ou la rechute de sujet infecter ; pour cela on va réaliser un antibiogramme qui permettra de déterminer la gamme d'antibiotiques à qui le micro-organisme identifié est sensible pour un éventuelle traitement.

L'objectif de notre travail est de procéder à l'identification (macroscopique, microscopique et microbiologique) des micro-organismes isolées et responsables des infections urinaires, puis essayer grâce à l'antibiogramme d'étudier la sensibilité ou la résistance de ces souches a fin de prescrire une bonne antibiothérapie approprié.

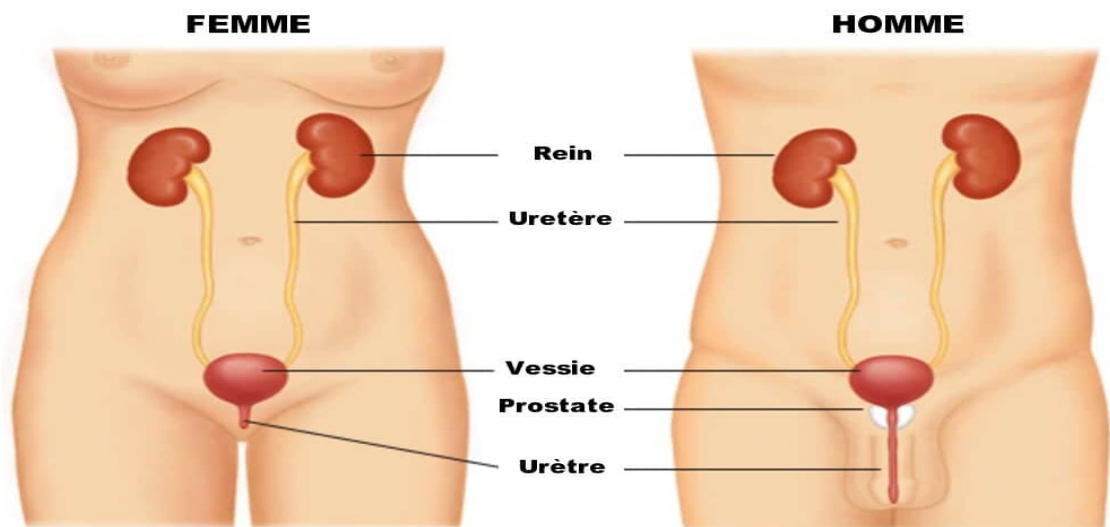
Partie

BIBLIOGRAPHIQUE

1. Généralités sur les infections urinaires :

1.1. L'appareil urinaire :

Selon (Chantal. K ,2011), l'appareil urinaire est responsable du maintien, de l'équilibre hydro-électrolytique de l'organisme et de l'élimination des déchets, il est composé de : deux reins, Une vessie, Deux uretères Et un urètre (**FIGURE N°1**)



FigureN°1 : Appareil urinaire féminin et masculin (**Anonyme, 2016**)

• Les reins

Les reins se situent de chaque côté de la colonne vertébrale, sous le diaphragme et ils sont vascularisés par les artères rénales droite et gauche. Ils Assurent la filtration du sang et permettent l'élimination des déchets, ils jouent également un rôle important dans la régulation des liquides corporels et de la pression sanguine. (**KENKOUO Guy A, 2008**).

•La vessie

Est un organe musculaire creux, très extensible, ce qui lui permet de stocker l'urine entre les mictions (**Leroy V, Mariani-Kurkdjian P., 2004**).

•Les uretères et l'urètre

Ils permettent le passage de l'urine respectivement des reins à la vessie, puis de la vessie à l'extérieur du corps. (**KENKOUO Guy A, 2008**).

1.2. L'urine :

D'après (GUILLONNEAU, VALLANCIEN, 1999), L'urine est stérile, il ne contient pas de microbe.

C'est Un liquide organique, odorant, transparent, de couleur jaune ambré qui est sécréter par le rein après filtration du sang puis éliminé vers l'extérieur en passant par les voies urinaire (uretère, vessie, urètre) qui ont pour fonction principale est l'élimination des déchets de l'organisme.

Une personne saine produit entre **1** et **1.5l** d'urine par 24h ; Les principaux constituants de l'urine sont mentionnés dans le **tableau N°1** :

Tableau N°1 : les principaux constituants d'urine. (Anonyme, 2018)

Principaux constituants d'urine	Volume habituelle g/l
Eau	950
Chlorure	11
Phosphate	3
Sulfate	12
L'urée	25
Acide urique	0,8
Ammoniaque	1
Phosphatase	2

1.3. Les infections urinaires :

L'IU correspond à la prolifération des microorganismes dans l'urine en présence d'une symptomatologie **compatible** ; elles peuvent être localisées dans les voies urinaires basses (cystite, urétrite) ou hautes (pyélonéphrite). (**A. François et al, 2013**)

1.3.1. Classifications des infections urinaires selon leur localisation :

► La cystite

La cystite est la pathologie la plus courante dans les infections urinaire ; Elle correspond à l'inflammation de la vessie généralement provoqué par les bactéries de la flore intestinale ; tel que le groupe des Entérobactéries particulièrement : *Escherichia coli*. (**KENKOUO Guy, 2008**)

► L'urétrite

Si l'infection touche uniquement l'urètre, il s'agit souvent d'infection sexuellement transmissible courante chez les hommes et les femmes. Les germes misent en cause : la chlamydia et le gonocoque. (**Anglaret et Mortier, 2003**)

► La pyélonéphrite

Elle est plus grave c'est une inflammation du bassinet (la cavité du rein collectant les urines) et du rein celle-ci résulte d'une infection bactérienne Due à une complication d'une cystite non ou mal traitée qui permet la prolifération des bactéries de la vessie vers les reins. La pyélonéphrite aiguë survient surtout chez la femme, et particulièrement la femme enceinte (**KENKOUO Guy, 2008**)

► Prostatite

C'est une inflammation particulière à l'homme qui peut être due soit à l'hyperplasie de la prostate ou la contamination de cette dernière par les agents infectieux comme *E.coli* qui peut est-elle engendrée des fièvres avec frissons et même syndrome septique d'intensité variable. (**Bare. 2011**)

1.3.2. Physiopathologie des infections urinaire :

L'appareil urinaire est un système stérile ; Seuls les derniers centimètres de l'urètre qui correspondent à l'ouverture de l'évacuation des urines et qui peut être colonisé par une flore multiple d'origine variable (digestive, cutanée et génitale) qui pourront éventuellement provoquer des infections urinaires ; Cette dernière résulte d'une interaction entre la virulence des germes et les moyens de défense de la muqueuse et de l'hôte. (**vorkauffer, 2011 ; Albert, 2009**)

❖ La voie ascendante :

La pénétration des germes se fait le plus souvent par voie ascendante canalaire. L'urètre est colonisé par une flore multiple, est le 1^{er} obstacle à l'inoculation des bactéries intra vésicale. Les germes vont donc remonter jusqu'à dans la vessie puis dans le haut de l'appareil urinaire. (**vorkauffer, 2011 ; lobel 2007**)

Chez les femmes la prédominance des infections du tractus urinaire résulte de la longueur (court) de l'urètre, par contre chez les hommes, la longueur de l'urètre et les sécrétions prostatique acide ayant un pouvoir bactéricide ; protégé ces derniers des infections du tractus urinaires. (**lobel et al ; 2007**)

❖ La voie hématogène :

Elle est rare et correspond à la présence des germes dans le sang qui survient suite à une septicémie, ou d'une bactériémie. Due à une flore spécifique telle que *Staphylococcus aureus*, *mycobacterium tuberculosis*. (**vorkauffer, 2011 ; chartier 2002**)

1.3.3. Facteurs causant les infections urinaires :

Le sexe est l'un des facteurs les plus importants favorisant une infection urinaire. Effectivement Les femmes sont les plus à risque de développer une infection urinaire. (**Daniel J. G. Thirion, 2003**) et cela en raison de :

-L'anatomie de leurs appareil ; effectivement leurs urètre court permet aux germes pathogène d'atteindre la vessie et de s'y développer. (**Daniel J. G. Thirion, 2003 ; Lobel et Soussy, 2007**)

-L'activité sexuelle peut induire les contaminations et le développement des germes Les femmes qui sont sexuellement active. (**Lobel et Soussy, 2007**)

-L'état de grossesse peut également du fait de la pression exercée par le bébé et les changements hormonaux favorisant cette pathologie. (**KENKOUO Guy, 2008**)

-Chez les femmes ménopausées on a une modification du pH et une croissance bactérienne importante vu la modification du pH de la flore vaginale. (**Chafai, 2008**)

-Chez Les hommes sont moins attrapé par les infections urinaires grâce à leur appareil urinaire (la longueur de l'urètre). À partir de **50ans**, ces derniers atteignent la prostate ou d'une prostatite, Lorsqu'elle augmente de taille la prostate comprime l'urètre, ce qui ralentit l'évacuation de l'urine. (**KENKOUO Guy, 2008 ; VORKAUFER, 2011**)

- Les anomalies anatomiques structuraux des voies urinaires impose un obstacle présent sur les voies Urinaires : lithiase, tumeurs, infections chroniques (tuberculose) ; et aussi les anomalies fonctionnelles, les urines contenant des petites quantités de sucre représentent un excellent milieu de culture pour les bactéries. Ce qui explique les complications infectieuses urinaires chez les personnes diabétiques. (**Drusano, 1991**)

- La stase urinaire est un facteur qui favorise la croissance bactérienne et la colonisation. En cas de boisson insuffisante, les mictions seront insuffisantes et ne permettront pas d'éliminer les bactéries grâce au flux mictionnel. (**Leroy et Tattevin, 2012**)

-Les personnes qui sont introduit par une sonde qui ne peuvent pas uriner qui sont inconscientes ou gravement malade ; les bactéries se servent dans la surface de tube pour infecter le tractus urinaire. (**KENKOUO Guy, 2008**)

1.3.4. Les symptômes des infections urinaires :

Il arrive que les infections urinaires se présentent sans symptôme. Néanmoins, la plupart du temps, elles se manifestent par des signes différents selon la localisation de l'infection.

► Dysurie ou fièvre > **37,9°C**, urgence mictionnelle, pollakiurie, hématurie macroscopique, douleurs de la fosse lombaire ou douleur sus pubienne, incontinence urinaire. (**Gupta.K et al., 2010**)

CHAPITRE I

les infections urinaires

► Une pyurie : est définie par la présence de pus dans les urines ; c'est-à-dire de nombreux leucocytes altérés. Elle est en général contemporaine d'une pathologie infectieuse de l'arbre urinaire. (Gupta.K et al., 2010)

1.3.5. Les mécanismes de défense contre les agents responsables des infections urinaires

❖ Les facteurs anatomiques de l'appareil urinaire :

-L'urètre est le 1^{er} obstacle à l'invasion des bactéries son sphincter limite la colonisation. L'avantage chez le sexe masculin dû à sa longueur plus grande explique la moindre fréquence des infections urinaires.

-le système anti reflux entre le rein et la vessie limite la progression des bactéries vers le haut de l'appareil. (vorkauffer, 2011)

❖ Les facteurs physico-chimiques :

-Le pH acide et la concentration en urée (c'est des mécanismes liés à l'urine)

-les facteurs biologiques : la sécrétion des anticorps et les mécanismes d'inhibition d'adhérence des germes. (vorkauffer, 2011).

❖ Le facteur mécanique :

Une vidange complète de 2 à 4 fois par jour aide à lutter contre les infections urinaires et aussi élimination des bactéries dans le flux urinaire. (vorkauffer, 2011)

1.4. Les principaux micro-organismes impliqués dans les infections urinaires :

Dans les urines d'un sujet normal on rencontre une charge microbienne de moins de 10^3 bactéries/ml ; après une contamination mictionnelle lors d'une infection urinaire, ce nombre va augmenter et dépasser les 10^5 à 10^9 bactérie/ml. (Rémic, 2010)

-les voies urinaires lors d'une infection sont infectées par de multiples agents pathogènes dont :

-la flore bactérienne particulièrement les bactéries à Gram négatif dont les *Entérobactéries* qui regroupent plusieurs genres tel que : *E. coli* qui est majoritaire (70-95%),

CHAPITRE I

les infections urinaires

suivie des *Klebsiella*, *Proteus*, *Serratia* *Entérobacter* et les bactéries à Gram positif les *micrococcaceae* tel que *Staphylocoque* (5%).(Vincent.M.,2012)

- la flore fongique représentée par Les levures (le genre *Candida*) est responsables des infections

Urinaires particulièrement chez les patients immunodéprimés et les malades sondés.

(Lobel et Soussy. 2007)

1.4.1. La flore bactérienne

❖ Les bactéries à Gram négatifs : Les Entérobactéries

Ce sont des Bacilles à Gram négatif, mobiles avec ciliature péritriche ou immobiles, poussant sur le milieu de culture ordinaire, aérobies - anaérobies facultatifs, catalase positif, oxydase négatif fermentant le glucose avec ou sans production de gaz, et réduisant les nitrates en nitrites. (Vincent.M., 2012)

Les entérobactéries sont composé de plusieurs genre renfermant des espèces saprophytes et ou pathogènes. (Vincent.M., 2012)

- La distinction entre les genres se fait par l'étude des caractères biochimique.

► Genre *Escherichia coli* :

Ce sont des Bacille non sporulent à Gram négatif, Mobile, aéro-anaérobie facultatif catalase positif, oxydase négatif capable de fermenter le lactose et de produire de l'indole. *E.coli* est un commensal du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux, *E.coli* est responsable des trois-quarts des infections urinaires spontanées en pratique de ville.(AVRIL et al, 1992 ; PECHERE et al., 1991)

Les hôtes normaux de l'intestin, ils possèdent un potentiel pathogène se distinguent par des facteurs de virulence spécifique (Bouvenot. 2012).Elles colonisent une muqueuse, Puis elles se multiplient et causent des dommages à l'hôte, la pathogénicité des souches sont dues à l'insertion de matériel génétique, que ce soit sous forme d'îlot de pathogénicité, de transposon, de bactériophage ou de plasmide. Ce matériel génétique incorporé peut contenir des gènes impliqués dans la virulence (Kaper, Nataro et al. 2004).



Figure N°2: *Escherichia coli* (Anonyme, 2018)

***E. coli* pathogènes intestinaux :** Les *E. coli* entérotoxigènes (ETEC), Les *E. coli* entéro-pathogènes (EPEC), Les *E. coli* entéro-invasives (EIEC), Les *E. coli* adhérentes invasives (AIEC)

● **pénétration par voie urétrale ascendante :** dans l'arbre urinaire, à l'origine de cystite et de pyélonéphrite. La pénétration des *E.coli* dans l'arbre urinaire est favorisée chez la femme par la brièveté de l'urètre. Leur persistance est favorisée par la présence de pili ou fimbriae (adhésine) à la surface des bactéries pour lesquels il existe des récepteurs à la surface des cellules épithéliales urinaires et toute anomalie fonctionnelle de l'arbre urinaire (stase, obstacle, reflux...). (Vincent.M.,2012)

Tableau N°2 : représentation des caractères biochimiques chez *E.coli*

	ONPG	MANITOL	INDOL	LCD	ODC	CITRAT	VP	Urée	TDA
E.coli	+	+	+	+	+	-	-	-	-

(Berche et al., 1988)

► **Genre *Klebsiella* :**

C'est un bacille à Gram négatif. Capsulé, Immobile est commensale de l'intestin humain, composé d'une capsule et fermentant de nombreux glucides. Elles ne possèdent ni ADH, ni ODC, ni tryptophane désaminase (TDA), ni lipase et absence de production d' H₂ S.



Figure N°3 : *Klebsiella* (Anonyme, 2018)

Les espèces pathogènes impliquées dans les infections urinaires :

Klebsiella pneumoniae, *K.oxytoca* est une bactérie opportuniste à l'origine d'infections nosocomiales (contractées en milieu hospitalier) telles que des cystites, des pneumopathies et des septicémies. (Avril et al., 2000).

L'uréase, sécrétée par *Klebsiella pneumoniae*, est une enzyme qui transforme l'urée en dioxyde de carbone et ammoniac, alcalinisant ainsi les urines. (Bouvenot. 2012).

► **Genre Proteus :**

Ce sont des bacilles à Gram Négatif très mobiles, aéro-anaérobies, formes longues et filamenteuses ou petits bacilles droits ; oxydase négatifs, nitrate positifs et qui fermentent le glucose. Commensaux de tube digestif en nombre généralement restreint, ONP négative, TDA positive. Ils se multiplient rapidement dans les aliments commensaux. Ils sont responsables d'un taux à 10% des infections urinaires. (Avril et al., 2000 Sougakoff et trystram , 2003).

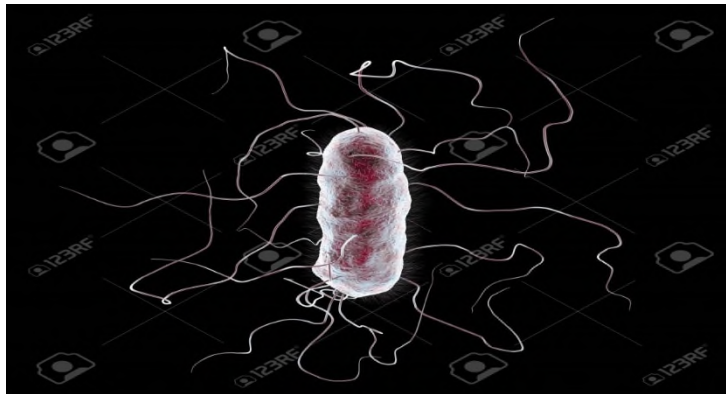


Figure N° 4 : *Proteus* (Anonyme, 2018)

Plus précisément : *P. mirabilis* est de loin l'espèce la plus souvent isolée dans les urines. Cette espèce possède une uréase très active, ce qui conduit à une augmentation des concentrations en ammoniums, phosphates et carbonates et à urine alcaline. Ce pH élevé prédispose le patient à la formation de calculs urinaires (urolithiases) (PECHERE *et al.*, 1991). Les flagelles chez *Proteus mirabilis*, plus longs et moins nombreux que les adhésines, sont responsables de la mobilité de la bactérie dans le tractus urinaire.

► Les genres Entérobactéries, Serratia :

Ce sont essentiellement *Enterobacter* mobiles et non capsulé habituellement, sauf certaines souches d'aérogènes ; Ce genre comprend l'espèce *Enterobacter aerogenes*.

Le genre *Serratia* particulièrement l'espèce de *Serratia marcescens* est mobile, ubiquitaire et la seule qui a un pouvoir pathogène opportuniste. Les deux genres des entérobactéries dénuées de pouvoir pathogène propre, elles jouent surtout le rôle de bactéries opportunistes lors d'infections nosocomiales (urologie, réanimation). (Vincent.M.,2012)

Les bactéries à Gram positif : Les micrococcaceae

Ce sont des cocci à Gram positif immobile aérobie à métabolisme oxydatif, possédant une catalase, positif. Les genres étroitement apparentés généralement contaminent, les muqueuses ; cependant, elles peuvent être des pathogènes opportunistes chez les personnes immunodéprimées. Ces bactéries ont été associées à diverses infections, y compris des

Bactériémies, des péritonites avec dialyse péritonéale ambulatoire continue, et à des cathéters veineux centraux. (AVRIL *et al*, 1992 ; PECHERE *et al*, 1991)

► **Le genre de staphylocoque :**

Ce sont des coques à Gram positif, immobiles, non sporulés, catalase positive et oxydase négative, aéro-anaérobies facultatif, précisément les espèces : *S.saprophyticus*, *S.aureus* : (AVRIL *et al*, 1992 ; PECHERE *et al*, 1991).

le caractère ubiquitaire du germe, l'abaissement des défenses locales et générales des malades soumis à des soins intensifs, des interventions chirurgicales graves, et la fréquente résistance aux antibiotiques du staphylocoque, notamment du staphylocoque hospitalier (Vincent.M.,2012)

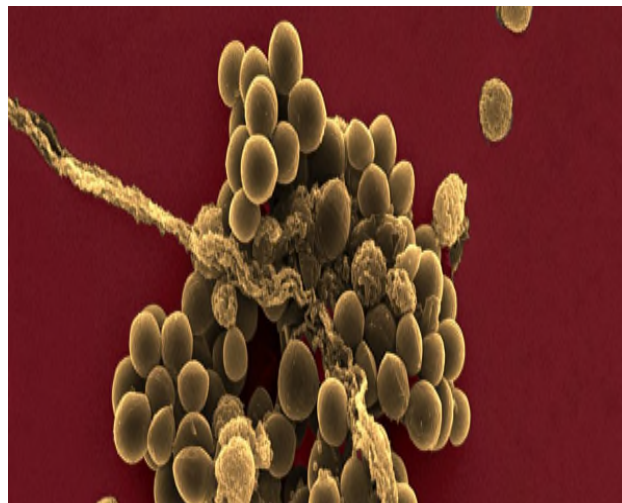


Figure N°5 : *Staphylocoque* (Anonyme, 2018)

● ***S.aureus*** : Elle est distinguée par ses colonies dorées, les résultats positifs de coagulase, la fermentation de mannitol.

● ***S.saprophyticus*** : Est une bactérie pathogène responsable de 5 à 10% des infections urinaires chez la femme, ce germe apte à adhérer à l'épithélium urinaire (AVRIL *et al*, 1992 ; PECHERE *et al*, 1991).

1.4.2. La flore fongique :

❖ Les levures

Les candidoses sont des mycoses provoquées par le développement dans les tissus, de levures appartenant au genre *Candida*, la provocation Superficielle Fréquente : bénignes Muqueuses, Peau, Ongles. D'autre part on a ce qui est Profonde et Grave : se développent sur des terrains particuliers avec présence de facteurs Favorisants → Infections opportunistes. (Anofel, 2014)

Candida albicans et *Candida glabrata* font partie des Endosaprophytes naturels du tube digestif et l'appareil génitale de l'homme.

➤ Morphologie du candida :

Levures uni Cellulaires (2 - 4 μ), Se multiplient par bourgeonnement, Produisant un vraie ou pseudomycélium portant des blastospores. (Anofel, 2014)

➤ Source et mode de contamination :

● **Contamination endogène** : vois urinaire Vagin fréquente chez la femme enceinte ;
Voie sexuelle.

● **Extra humaine** : air, matériel souillé (pose de cathéter, sonde, solution de perfusion...)

Stades de l'infection candidosique :

- Le saprophytisme (commensalisme) :

La levure → normalement présente dans le site, en faible quantité, en équilibre avec la flore locale

- La colonisation :

La levure → multiplie → quand les conditions locales le permettent (terrain)

- **L'infection** : proprement dite = candidose

CHAPITRE I

les infections urinaires

La levure se multiplie → devient pathogène : forme filamenteuse (forme de résistance à la lyse par les PNN) → capable d'adhérence et d'envahissement tissulaire responsables de symptômes observés. (Anofel et al., 2018)

Les Candidats ont la possibilité d'exprimer des facteurs de virulences qui favorisent la colonisation et l'invasion tissulaires en sécrétant des protéases et des phospholipases.

De nombreux facteurs de risque de candidurie ont été décrits : diabète, présence de sonde ou cathéter urinaire, anomalies fonctionnelles ou anatomique de l'appareil urinaire, stase urinaire, immunodépression, acte chirurgical urologique, sexe féminin grossesse. (HELENE et al., 2007)

Les candidats communautaires sont rare (0,2 à 6% de la population générale), En revanche, les candiduries sont fréquentes en milieu hospitalier (8 à 26%), en particulier chez les patients de réanimation.

Les espèces les plus fréquemment isolées sont :

C. albicans (60%) ; *C.glabrata* (14-22%) ; *C.tropicalis* (8) (Anofel et al., 2018)

Le tractus urinaire est stérile. Cependant, dans les derniers centimètres de l'urètre distal, il existe une flore polymorphe d'origine digestive, cutanée et génitale. qui peuvent agresser le tissu de l'arbre urinaire ce qui va induire une réponse inflammatoire et des symptômes de nature et d'intensité variables favorisant une induisant une infection urinaire pour réaliser le diagnostic on doit faire un examen cyto bactériologique des urines (ECBU) qui est l'un des examens biologiques les moins invasifs dont l'étape pré-analytique est l'une des plus critiques en microbiologie. (Courcol R., 2010)

1. Les étapes de diagnostic :

1.1. Prélèvement :

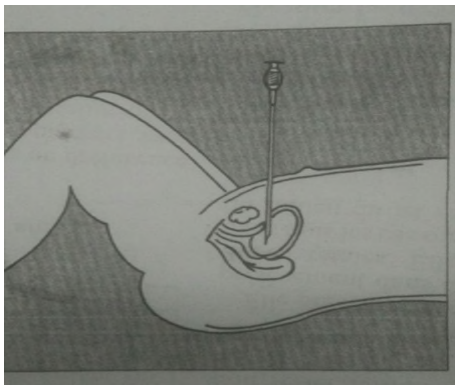
C'est un prélèvement facile, naturel, et doit être fait avec beaucoup de soin, en évitant sa contamination lors de la miction par la flore commensale qui colonise l'urètre, les conditions de prélèvement jouent un rôle essentiel dans la fiabilité des résultats de l'ECBU, elles varient avec l'âge et le sexe du malade. (François.D., 2016)

Tableau N°3 : Les modes de prélèvement des urines. (François.D.,2016)

Sujet coopératif	de préférence le matin, Après lavage soigneux avec un savon doux, on rince le méat à l'eau. On élimine le 1 ^{er} jet (20ml) pour recueillir le milieu du jet (20 a30ml) dans un flacon stérile.
Sujet non coopératif	Le sondage vésicale, généralement exclu chez les sujets coopératifs, est réservé aux grabataires, comateux, oliguriques ou en rétention aigue. Il est pratiqué avec une sonde stérile, le manipulateur étant muni de gants stériles.
Chez le petit enfant	On pratique un nettoyage soigneux de la région périnéale. Puis on fixe le sac plastique collecteur au moyen d'un adhésif. Ce sac ne doit pas être laissé plus de 30 mn.

CHAPITRE II

Diagnostic des infections urinaires

	en on place un nouveau sac après avoir recommencé le nettoyage.
Chez les porteurs de sonde a demeure	On clampe le tuyau d'évacuation pendant 10mn afin de laisser l'urine s'accumuler en amont, puis on ponctionne la tubulure après désinfection a l'alcool iodé. Il ne faut pas déconnecter le système de drainage qui doit rester fermé.
Ponction sus-pubienne 	Elle doit être utilisée dans tous les cas où le recueil de l'urine du milieu du jet est impossible. Ponction. La vessie doit être pleine et repérable (la dernière miction doit remonter (4a5 heure), on utilise une aiguille type ponction lombaire. Après désinfection de la région sus-pubienne, l'aiguille est introduite au-dessus de la symphyse, dans un plan média. L'aiguille est dirigée vers le bas.
Chez une femme	une toilette intime soigneuse, la femme passe un tampon d'ouate imbibé de Dakin, d'avant en arrière, puis s'essuie avec une compresse. élimine le premier jet, recueille les urines milieu du jet

❖ Conservation-transport :

Les urines recueillies dans un flacon stérile doivent être acheminées rapidement au laboratoire. Elles ne doivent jamais être conservées plus de **2h** à température ambiante avant la mise en culture, dans ce cas un flacon d'urine sera placé dans un récipient contenant de la glace (le stockage a + **4C°** ralentit la multiplication bactérienne mais ne permet pas une bonne conservation des cellules).(**François.D, 2016**)

❖ La fiche de renseignement :

Pour chaque patient une fiche de renseignement a été établie, ou y figure les données appropriées pour plus de détails consulté (l'annexe N°2)

1.2. Examen cyto bactériologique des urines :

A l'arrivée des urines au laboratoire ces derniers doivent être analysés sans retard. L'ECBU est l'analyse microbiologique le plus fréquemment réalisée au laboratoire, il permet de confirmer l'infection urinaire et d'identifier l'agent responsable. En effet, les signes cliniques peuvent être atypiques ou absents. Les tests rapides de dépistage n'ont qu'une valeur présomptive et peuvent être pris en défaut. (courcol .R, 2010).

1.1.2. Examen cytologique :

❖ Examen macroscopique :

Porte sur observations macroscopique de l'état des urines des échantillons recueillies.

▶ Etat normal d'un sujet sain :

Couleur jaune clair, de viscosité légèrement supérieur à celle de l'eau, pH de **5 à 8**

▶ Etat pathologique d'un sujet malade :

-l'aspect peut être limpide, trouble, clair.

-la couleur jaune pâle, acajou, ambrée, sanglant.

- l'urine peut contenir des filaments, un dépôt, le pH augmenté (acidifié diminuée) dans les insuffisances rénales.

❖ Examen microscopique :

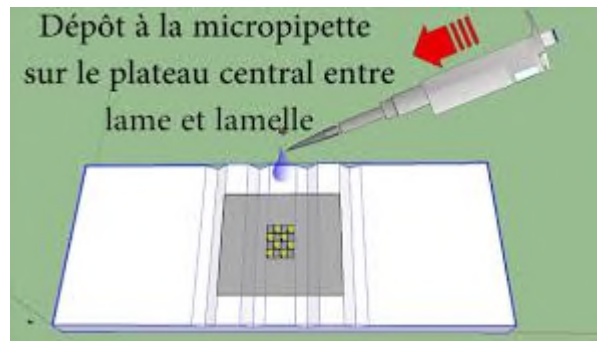
La 1^{er} étape de l'examen microscopique est typiquement cytologique (cyturie), S'effectue dans les deux heures qui suivent le prélèvement afin d'éviter le risquer l'altération des éléments cellulaires ; pour être réaliser On prélevant quelque goutte de l'échantillon (l'urine) à l'état frais, effectuée sur la cellule de **Malassez**. Il permet de détecter les éléments figurants dans

CHAPITRE II

Diagnostic des infections urinaires

l'échantillon d'urine tel que : les leucocytes, les hématies, les cellules épithéliales, les cristaux, les cylindres, les germes, les levures, et les parasites. C'est une analyse quantitative le nombre

Des éléments présents est rapporté en millimètre cube, microlitre ou millilitre (figurant dans le tableau N°3) (**Janvier et al, 2008**).



FigureN°6 : Eléments composant une cellule pour analyse quantitative.

(ANONYME)

► Leucocytes :

L'urine normale peut contenir moins de 10^4 leucocytes par ml, les leucocytes sont pratiquement rencontrés en grand nombre ($\geq 10^4$ leucocytes/ml), en cas d'une infections urinaire ; pour cela face à cette infection la multiplication bactérienne est accompagnée par la mise en œuvre des défenses immunitaires. (**Bonacorsi, 2007**)

► Cellules épithéliales :

Proviennent de l'épithélium excréto-urinaire ou rénale Elles peuvent être :

- Squameuse : voix excrétrice

- Ronde : origine rénal

► Hématies :

Leurs nombre doit être normalement $\leq 10^4$ /ml sous microscope elles peuvent présenter plusieurs aspect : intacts, en oursins ou aspect fantomatique. dans un contexte infectieux peut se rencontrer au cours d'infection du tractus urinaire à bactéries lithogènes (*Proteus mirabilis, Kleibsiella spp, ou corynebacterium urealyticum*). (**Bonacorsi, 2007**).

► Les cylindres :

Le cylindre pathologique contient des hématies et/ou leucocytes (cylindres hématiques et/ou leucocytaires), leur présence permet d'identifier le rein comme la source de l'hématurie et/ou de

La leucocyturie (inflammation des reins), Ils peuvent être hyalins, ces cylindres sont physiologiques. (**Bonacorsi, 2007**).

► Les cristaux :

-Selon les cas ils peuvent être pathogènes ou pas. Ils ne sont pas pathologiques quand ils sont constitués de substances normalement présentes dans l'urine (acide oxalique, sels de calcium, acide urique), les cristaux médicamenteux (oxalate de calcium).

- Seuls les cristaux de phosphoammoniac-magnésien qui ont un intérêt dans le diagnostic car ils sont en faveur d'infection liées à une bactérie productrice d'uréase (*Proteus mirabilis*, *Corynebacterium urealyticum*) (**Bonacorsi, 2007**).

1.2.2. L'analyse microbiologique :

Cet examen est un important, il permet d'isoler dénombrer et d'identifier les agents responsables de l'infection urinaire. (**Kassa et al., 2002**)

L'isolement le dénombrement (tableau N°4) et la purification sont réalisés sur le milieu (GN), vu que la majorité des bactéries responsables de l'infection urinaire ne sont pas exigeantes. D'autre part il existe les milieux sélectifs tels que (MacConkey, gélose de Chapman et gélose de Hektoen. Mueller Hinton) qui sont utilisés pour d'autre étape de diagnostic (identification et antibiogramme)

➤ Mise en culture :

Elle a pour but de quantifier et isoler les micro-organismes responsables d'infection urinaire représentés sous forme de colonies bien distinct

➤ **Lecture de l'ECBU****Tableau N°4** : Interprétation du résultat de l'ECBU : (APPIT, 1995)

cyturie / ml	Bactéries / ml	Uroculture	Interprétation
$\leq 10^4$	$< 10^3$	Négative	Urine normale
$> 10^4$	$\geq 10^5$	Positive	Infection urinaire certaine
$> 10^4$	$\geq 10^3$ et $< 10^5$	Positive	Infection urinaire possible
$> 10^4$	$\leq 10^3$	Négative	Infection urinaire décapitée par antibiotique.
$\leq 10^4$	$\geq 10^3$	Positive	Souillure, infection possible. Contrôler en présence de signes clinique

❖ **Examen direct après coloration :**

On peut étudier l'appréciation des levures et aussi les affinités tinctoriales des cellules et la morphologie des bactéries, voir leurs formes, voir leurs groupements, voir leurs rapports avec les cellules (dans/sur des cellules) il existe deux types de coloration :

➤ **Coloration simple au bleu de méthylène :**

La coloration au Bleu de méthylène très simple et rapide à effectuer, qu'elle colore toutes les bactéries à l'exception des mycobactéries, qu'elle permet d'observer la forme et les arrangements des cellules. (Yves.G, 2015).

➤ **Coloration double : La coloration de Gram**

Cette coloration est basée sur la composition biochimique de la paroi bactérienne et permet de différencier entre les bactéries Gram+ violet (leurs parois contiennent le peptidoglycane épais à 90%) et des bactéries Gram – rose (ne contiennent que 10% de peptidoglycane dans leurs parois), l'efficacité de cette coloration peut nous aider par la suite à l'identification biochimique des bactéries isolées.

1.3.2. Identification biochimique :

-C'est un examen qualitatif qui vient après la caractérisation macromorphologiques des colonies (aspects de colonies) suite à la purification des souches isolées ; et des caractères biochimiques (Tchendjou, 2002).

Examen d'orientation :

Après avoir réalisé la Coloration de Gram on doit passer par des tests comme :

✓ Test catalase :

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), produit toxique du métabolisme aérobie de nombreuses bactéries, ce teste est à la base réaliser pour différencier entre les *Staphylococques* et les *Stréptocoques* dans les infections urinaires (Macfaddine, J. F, 2011)

✓ Test d'oxydase :

Le terme d oxydases ne désigne pas une enzyme particulière, mais la capacité que possède la bactérie à oxyder le N-diméthyle réduite et incolore, en un dérivé semi-quinonique, rose-violacé.(Macfaddine, J. F, 2011)

✓ Identification des bactéries par la galerie Api E20 :

C'est une technique qui permet la recherche de 20 caractères biochimiques par des réactions enzymatiques. Les réactions produites au cours de l'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par addition de réactifs (Mikael, 1993).

✓ Identification des candidats :

Le genre *Candida* est caractérisé par la filamentation et la production de blastospores. On obtient cette morphologie dans les cultures âgées sur milieu de Sabouraud ou après repiquage sur milieu PCB, Rice cream et Basé aussi sur la production de Clamydospores sur ces milieux :

●La culture obtenue sur milieu de sabouraud est repiquée sur milieu PCB ; quelques stries dans le fond du tube, puis une strie longitudinale légèrement en profondeur (27 à 28°C).

CHAPITRE II

Diagnostic des infections urinaires

Après 24h à 48h, prélever un fragment de gélose dans les zones filamenteuse développée légèrement en profondeur dans le milieu, écraser entre lame et lamelle et observer au microscope. **(Benmezzad A. et al., 2012)**

● **Repiquage sur Rice cream** : Ce milieu se représente en boîte de pétri : on réalise une suspension dont on verse quelques gouttes à la surface et à l'aide d'un râteau on étale la surface, placer 2 à 3 lamelle, fermer la boîte sous microscope au niveau des lamelles :

Présence de mycélium ou pseudomycélium+ Chlamydozoïdes → *C. albicans*

● **Filamentation dans le sérum (test de blastèse)** :

C'est un bon procédé d'identification de *C. albicans* basée sur la rapide germination des levures et formation d'un filament (tube germinatif) dans du sérum animal ou humain à 37°C et en 4h (0,5ml de sérum + quelques gouttes d'une suspension de levures). **(Benmezzad.A et al., 2012)**.

❖ **Identification des candidats par la galerie d'AUXACOLOR :**

La galerie AUXACOLOR TM² est un système d'identification dont le principe repose sur l'assimilation des sucres. La croissance des levures est visualisée par le virage d'un indicateur de pH. La galerie comporte également 3 tests enzymatiques dont un test de détection de l'activité phénoloxidasique de *Cryptococcus neoformans*. **(Benmezzad.A et al., 2012)**.

1. lutte préventive :

Des nombreuses recommandations pour la prévention de l'infection urinaire ont été publiées, mais leur application en établissement de soins chroniques nécessite une adaptation.

Nous présentons ci-dessous les mesures reconnues de prévention, d'abord générales puis spécifiques. (Lajoso.S, *et al*, 2018)

- De boire plus de 1,5 litre d'eau par jour.
- De ne pas retenir plus longtemps l'envie d'urine.
- Les femmes doivent pratiquer une toilette vulvaire au savon à un pH adapté et de s'essuyer toujours de l'avant vers l'arrière avec le papier hygiénique après avoir uriner ou après être allé à la salle.
- Chez la femme enceinte, il est indispensable de détecter au plus vite les infections urinaires, car cela provoquer un risque de septicémie et mort de l'enfant in utero.
- D'éviter de porter des sous- vêtements en fibre synthétique ou des pantalons trop serrés.
- D'uriner immédiatement après un rapport sexuel.
- L'entretien de l'environnement hospitalier (locaux, matériels médical) demeurent les principaux règles à prendre en considération
- La prévention de la constipation (prescription de laxatifs, évacuation des fécalomes) évite la compression de l'urètre dans le petit bassin et favorise la bonne vidange de la vessie.

Remarque : Le Fluconazole (400mg / j) il est utilisé comme traitement préventif chez les malades atteints une infections urinaire d'origine fongique (actif sur *C. albicans*), Mais il est contre indiquer pour les malades (Neutropéniques, ATB à large spectre et prolongée, hémodialisés...)(Anoufel.,*et al*., 2018)

2. lutte curatif :

Le traitement des infections urinaires repose sur la prescription d'antibiotiques adaptés, le choix d'un antibiotique sera fait après avoir réalisé l'antibiogramme c'est-à-dire : l'utilisation d'une gamme d'antibiotique (antibiothérapie) pour voir la sensibilité des souches isolées et identifié a fin de prescrire un antibiotique efficace et pour les levures c'est l'utilisation d'un antifongigramme.

2.1. Définition

On appelle antibiotique toute substance, naturelle d'origine biologique élaboré par un organisme vivant. Chimique, synthétique ou semi-synthétique (obtenu par une modification chimique d'une molécule naturelle ayant les propriétés suivantes : activité antibactérienne, bactériostatique, bactéricide, activité en milieu organique, une bonne diffusion dans l'organisme. (Xavier. N, 2019)

2.2. Historique :

En 1889, **Paul Vuillemin** introduit le terme "*antibiose*" pour décrire le principe actif d'un organisme vivant qui détruit la vie des autres pour protéger sa propre vie. En 1897, **Ernest Duchesne** envisagea de faire une activité de moisissures à des fins thérapeutiques, mais son idée ne se mettra en place qu'au XX^{ème} siècle à la suite de la découverte de **Sir Alexander Fleming**. En 1929, il remarque qu'une de ses cultures de staphylocoques est en partie décimée : les bactéries ont été contaminées par la moisissure *Penicillium notatum*. Il constate aussi qu'elles ne se développent plus là où la moisissure prolifère. Il formule alors l'hypothèse que cette dernière synthétise une substance, la pénicilline, qui bloque le développement de la bactérie. Il essaye alors d'extraire le principe actif des moisissures ; Entre temps, une autre classe d'antibiotiques, les sulfamides, dont l'action fut mise en évidence par des pasteuriens fut largement utilisée et sauva des milliers de vies pendant la seconde guerre mondiale Dix ans plus tard, le biochimiste américain René Dubos isole le premier antibiotique : la gramicidine Celle-ci, produite par des bactéries du sol, tue les pneumocoques. Pourtant, ce premier antibiotique reste extrêmement difficile à purifier et hautement toxique. Pourtant, le premier antibiotique synthétisé a été créé par Gerhard Domagk, un biochimiste allemand. En 1932, il a découvert qu'un colorant, le sulfamidochrysoïdine avait un effet sur les streptocoques. Il l'a alors tout de suite breveté sous le nom de Prontosil. Il a d'ailleurs reçu le Prix Nobel pour sa découverte en 1939. En découvrant l'**hémisynthèse**, il a ouvert la voie à l'antibiothérapie moderne. (Berthet.J, 2012)

2.3. Différentes familles d'antibiotique :

Les β -lactamines sont parmi les antibiotiques les plus utilisés dans le traitement des infections causées par les Enterobacteriaceae. Ce sont des antibiotiques caractérisés par la structure de base : le noyau β -lactame.

❖ **Les β -lactamines** : agissent sur la synthèse de la paroi bactérienne, le cycle β -lactame se lie de manière covalente et irréversible au site actif de l'enzyme qui est responsable de la synthèse et du remodelage du peptidoglycane et causé son inactivation, elles sont subdivisées en 4 groupes majeurs :

➤ **Les pénames** : principalement les pénicillines (ampicilline et dérivés, Ticarcilline, ...), et Oxapénames (Acide clavulanique + Amoxicilline, Acide clavulanique + Ticarcilline).

➤ **Les céphèmes** : comprennent principalement les céphalosporines, qui sont classés en 4 générations (C1G, C2G, C3G et C4G)

➤ **Les pénèmes** : Carbapénèmes (Imipénème) sont des ATBs à large spectre.

❖ **Les β -lactamines monobactames** : Monobactames et Aztéréonams actifs particulièrement sur *Pseudomonas aeruginosa*. (**Petignat ,2005**)

❖ **Les Aminosides** : Sont habituellement actifs sur les bacilles à Gram négatif, les *Staphylocoques* Méti-S et les Cocci à Gram négatif. (**Petignat ,2005**)

❖ **Les Macrolides** : sont actifs sur les Cocci à Gram positif (à l'exception des *Staphylocoques* Méti-R et de 40% de pneumocoques). (**Di Giambattista et al., 1989**).

❖ **Les quinolones** : Les quinolones sont des antibiotiques synthétiques possédant un noyau quinolone, ils agissent en bloquant les réplifications d'ADN par inhibition de la synthèse d'ADN bactérien.

Elles sont beaucoup utilisées actuellement :

-1^{er} génération ou Quinolones urinaires : elles sont efficaces sur les bacilles a Gram- de la famille des entérobactéries (*Eshirichia coli*, *Proteus vulgaris*) (**Charalabopoulos,2003**)

2.4. Mécanisme d'action :**2.4.1. Inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne :**

Elles agissent en se liant de façon covalente aux protéines enzymatiques PLP qui catalysent l'étape finale du peptidoglycane ce qui a pour conséquence l'inhibition de la synthèse de ce dernier et donc l'arrêt de la croissance bactérienne (**Cavallo et al., 2004**)

2.4.2. Inhibiteurs de la synthèse de la membrane plasmique :

Les antibiotiques sont des détergents qui désorganisent les lipides de la membrane plasmique ; en formant des pores au niveau de la membrane ce qui permet la fuite des composés cellulaires (**Merens et Servonnet, 2010**)

2.4.3. Inhibiteurs de la synthèse des protéines :

Blocage de la traduction de l'ARN ils ciblent les ribosomes (l'ARN ribosomal) ils agissent sur l'action des facteurs de traduction associés aux ribosomes ; principalement sur l'ARNt ce qui va induire la synthèse de protéines non fonctionnelles et causant ainsi la mort cellulaire (**Wright, 2002**).

2.4.4. Inhibiteurs de la synthèse de l'acide nucléique :

-Blocage de la transcription, action sur l'ARN polymérase

- blocage du surenroulement de l'ADN, action sur l'ADN gyrase : topoisomérase classe II

-blocage de la réplication de l'ADN bactérien grâce au pontage qui se fixent au niveau des brins de l'ADN ; une déformation de l'ADN (absence de la fourche de réplication, action enzymatique endommagée). (**Merens et Servonnet, 2010**)

2.5. Résistance bactérienne aux antibiotiques :

-La résistance bactérienne aux antibiotiques est un facteur majeur compliquant la chimiothérapie antibactérienne, elle se caractérise par son caractère naturel, son mécanisme et son support génétique (**Andreu et mainardi, 2003**)

La dissémination de l'antibiorésistance peut s'expliquer par la combinaison de plusieurs phénomènes : une utilisation massive des antibiotiques en santé humaine, un mésusage des médicaments (mauvais choix de molécule, dose et durée inadaptées...), et la capacité des bactéries à se transmettre du matériel génétique qui peut contenir des gènes de résistance. Tant que nous utiliserons des antibiotiques, le phénomène d'antibiorésistance existera. (**Xavier.N, 2019**).

2.5.1. La résistance naturelle :

Elles correspondent à la résistance de toutes les souches d'une même espèce bactérienne. Les bactéries utilisent, cette résistance naturelle (chromosomique) est stable transmise à la descendance, mais elle n'est pas ou peu transmissible sur un mode horizontal (d'une bactérie à l'autre au sein d'une même espèce ou entre espèces différentes) ou elles sont due d'une mutation génétique (**Bennet, 2008 ; LOZNIIEWSKI A, 2010**).

Cette dernière donne à la bactérie les capacités de contourner l'effet néfaste de l'antibiotique ; comme les *Escherichia coli* résistant à la vancomycine, ou *Pseudomonas aeruginosa*, cause de graves infections nosocomiales, à l'ampicilline. (**Bréchet.C, 2014**)

2.5.2. La résistance acquise :

Elle ne concerne que quelque souche d'une même espèce, normalement sensible à un ATB donné, cette résistance est caractérisé par l'intermédiaire de plasmides, de transposons, d'intégrons (**Bennet, 2008**), par l'acquisition de fragments d'ADN porteurs d'un ou plusieurs gènes de résistance, en provenance d'une autre bactérie. (**Bréchet.C, 2014**).

2.5.3. Le fonctionnement de cette résistance :

La bactérie peut produire un enzyme qui inactive l'antibiotique comme le cas de b-lactamase a spectre étendu (BLSE). Chez d'autres, la membrane bactérienne s'imperméabilise (EFFLUX). D'autres encore modifient la cible de l'antibiotique. Certaines sont équipées de

véritables pompes insérées dans leurs membranes afin d'éjecter les molécules d'antibiotique vers l'extérieur. (Bréchet.C, 2014)

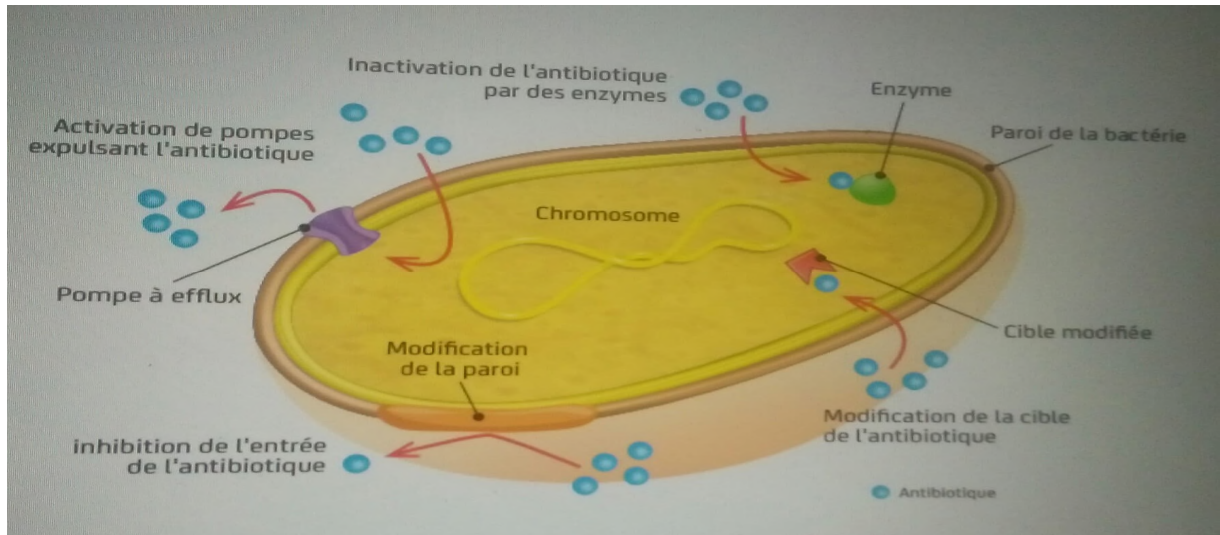


Figure N°7 : les mécanismes de résistance à un antibiotique par la bactérie. (Bréchet.C , 2014)

3. Antibiogramme par diffusion des disques :

Est un examen permettant de tester sensibilisation et/ou résistance de toutes les souches isolées. La réalisation d'un antibiogramme pour les bactéries isolées à partir des urines représente une étape clé pour les patients. Ce test est capital, il permet de choisir un antibiotique adéquat pour le traitement. (Vuke-weledji, 2014).

3.1. Lecture : (Standardisation d'antibiogramme en médecine humaine, 2005)

-Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique à l'extérieur de la boîte fermée.

- Pour la bactérie testée sur Mueller-Hinton au sang, les mesures de diamètre de zones d'inhibition seront prises, boîte de pétri ouvert et bien éclairée.

- Comparaison des résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes.

-Classer la bactérie dans l’une des catégories : Sensible (S), Intermédiaire (I), Résistance (R).

3.2. Principaux erreurs techniques d’antibiogramme :

Tableau N°5 : Principaux erreurs techniques d’antibiogramme

Méthodes manuelles	<p>Milieu de culture</p> <ul style="list-style-type: none"> -Autres que milieu de Mueller –Hinton. -croissance défectueuse. -Mauvaise conservation (dessiccation). -Volume non respecté (gélose trop mince ou trop épaisse). -Milieu non horizontal.
	<p>Disque</p> <ul style="list-style-type: none"> -Mauvaise conservation en absence de dessiccateur (B-lactamines). -Date de péremption dépassée -Nombre de disque trop élevés -Ensemencement non homogène
Toutes méthodes	<ul style="list-style-type: none"> -souche non pure -colonie prélevées sur milieu inhibiteur -Durée d’incubation (trop court ou trop longue). -Température d’incubation (trop basse ou trop haute) -Atmosphère d’incubation (CO²) -Erreurs de lecture. /- Erreurs de transcription.

(Weber, 2003)

4. Antifongigramme :

On peut travailler à partir de prélèvement commun des urines (les mêmes conditions)

Le but de notre étude est de déterminer les caractéristiques épidémiologiques cliniques et permet de détecter in vitro l’existence d’une éventuelle résistance aux antifongiques ainsi que déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI). (Sobel JD et al., 2011)

Mais, il est difficile d’établir de bonnes corrélations entre une valeur de CMI in vitro et la réponse clinique au traitement. La méthode **E test** est la meilleure technique car Elle utilise des bandelettes imprégnées d’un gradient d’antifongique, qui permet de déterminer les CMI des Polyènes, 5FC, Triazolés. (Anoufel,et al., 2018)

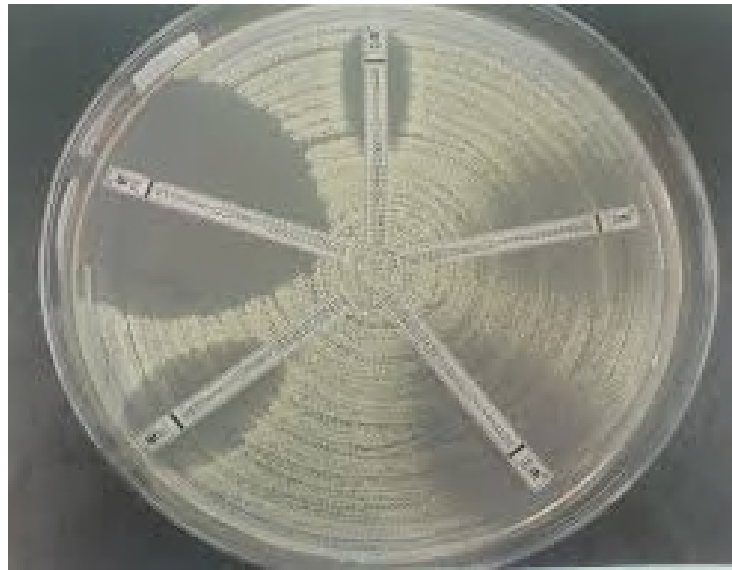


Figure N°8 : la détermination des CMI des Polyènes (anonyme, 2018)

Partie

Matériel et méthode

1. Lieu et période de stage :

Notre travail a été réalisé au sein du laboratoire central de l'hôpital Dr FARES YAHIA de KOLEA-TIPAZA, sur une période de stage de 10 jours (du 8 au 18 mars 2020) en raison de la situation sanitaire liée à l'épidémie du covid 19. Il est à signaler qu'on n'a pas pu réaliser une étude exhaustive, car toutes les stages pratiques ont été suspendus.

2. la collecte de prélèvement :

Durant la période de stage nous avons recueilli 100 échantillons d'urine provenant de malade externe et hospitalisé pour faire des ECBU.

Tableau N°6 : origine des échantillons des différents services

L'origine des malades	Milieu interne				Milieu Externe	Total
	Les services					
	MI	Nph	Ped	CH		
Homme	05	00	00	01	09	15
Femme	14	05	00	02	16	37
Enfant	00	00	23	00	26	49

MI : médecine interne, **Nph :** néphrologie, **Ped :** pédiatrie. **CH :** chirurgie

Les échantillons des urines collectés ont fait l'objet de deux examens Fondamentaux suivants :

- ▶ Un examen cytologique : qui consiste à l'examen macro-microscopique des urines
- ▶ Un examen microbiologique : comportant l'Uroculture et identification biochimique par la galerie biochimique par la galerie Api E20 suivie d'une identification des candidats par la galerie Auxacolor et un antibiogramme du germe identifié comme étant responsable de l'I.U.

2.1. Matériels utilisés :

2.1.1. Matériel biologique :

L'urine est l'échantillon à examiner pour confirmer avec certitude la présence ou l'absence d'I.U.

2.1.2. Matériel non biologique

Matériel non biologique représenté par l'appareillage, la verrerie, les réactifs, les milieux de cultures et les antibiotiques.

Tableau N°7 : matériel non biologique

Appareillage	Instrument et verrerie
<p>Le gros appareillage :</p> <ul style="list-style-type: none"> -Réfrigérateur -Etuve (37°C) -sécheuse <p>Le Petit appareillage :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Microscope optiques Gx100 ; Gx40. -l'agitateur vortex 	<ul style="list-style-type: none"> -Pipette pasteur. -Lames et lamelles. -Cellules de Malassez. -Boîtes pétri. -Les écouvillons. -Compresses stériles. -Portoir/plateau /Micropipette /Pince métallique. -Micropipette. Les embouts - Bec benzène
Milieux de cultures	Réactifs et solutions
<ul style="list-style-type: none"> -Gélose nutritive (GN) ; -Gélose Muller-Hinton (MH) ; -Gélose Chapman ; -Gélose Hektoen ; -Gélose au sang frais (SF) ; -Gélose sabouraud+ATB 	<ul style="list-style-type: none"> -Eau distillée - alcool -Violet de gentiane, lugol, Fuschine. /-Galerie Api E20 -galerie Auxacolor - Disques d'antibiotiques. -Huile de vaseline, l'huile d'immersion -Eau oxygénée à 10V (H2O2). -Disque ONPG. -Disque oxydase. -Réactif de kovacs -Réactif VP I, VP II. -Réactif (TDA).

2.2. Méthodes :

2.2.1. Les prélèvements des urines et Acheminement :

-De préférence le matin, Après lavage soigneux avec un savon doux, on rince le méat à l'eau. On élimine le 1er jet (20ml) pour recueillir le milieu du jet (20 a30ml) dans un flacon stérile. (Pour les autre cas tels que les bébés les gens sondé (voir tel page 16)

- Les urines recueillies dans un flacon stérile doivent être acheminées rapidement au laboratoire. Elles ne doivent jamais être conservées plus de 2h à température ambiante avant leurs analyses.

2.2.2. Examen cyto bactériologique des urines :

❖ analyse macroscopique des échantillons d'urine:

On procède à l'Observation à l'œil nu, après avoir bien homogénéisé l'urine manuellement ou par agitation mécanique pour noter la couleur l'aspect (Figure N°9

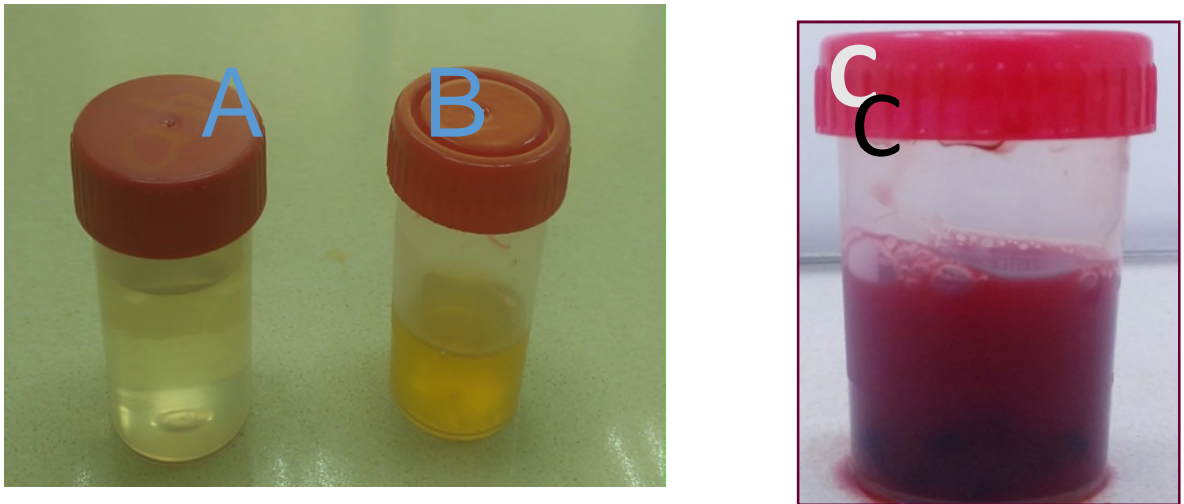


Figure N°9 : Les différents aspects et couleurs des urines : A : claire, B : trouble, et C : hématurie.

❖ Analyse microscopique :

-Elle comporte l'examen cytologique à l'état frais, elle permet de voir les éléments figurants tel que les hématies, les leucocytes, les cellules épithéliales, et les cristaux, et éventuellement les micro-organismes, cet examen doit être effectué dans les deux heures juste après le prélèvement pour éviter l'altération des éléments cellulaires. (Le tableau N°9)

-cet examen est réaliser grâce à la cellule de Malassez ; c'est une lame de verre spécifique comportant un quadrillage au milieu permettant le comptage cellulaire sous microscope.

► Mode opératoire

-Après homogénéisation. L'examen consiste à prélever un volume d'urine à l'aide d'une micropipette dont le point est placé à la partie centrale de la cellule Malassez (**FigureN°7**) la préparation est ensuite placée sur la platine du microscope optique ; la lecture est faite à l'objectif $\times 40$.



Figure N°10 : Remplissage de la Cellule de Malassez

○ **Le comptage cellulaire au microscope :**

Le principe :

La cellule de Malassez est gravée de 100 rectangles eux même recoupés en 25 rectangles qui sont subdivisés en 20 petits carrés pour faciliter le comptage. Le volume correspondant au quadrillage total est égal à 1 μ l. En comptant 10 rectangles, il suffit alors de multiplier le résultat par 10 000 pour obtenir le nombre de cellules par ml.

Pour les globules rouges et les globules blancs, le dénombrement est important pour déterminer l'infection. Le nombre normal des globules rouges est inférieur à 50000/ml, au-dessus, ils sont le témoin d'un saignement. Pour les globules blancs, le nombre normal est inférieur à 10^4 /ml, au-dessus, ils sont le témoin d'une infection probable. L'infection urinaire se caractérise le plus souvent par la présence de plus de 50 000 leucocytes par ml.

2.2.3. Examen microbiologique :

❖ Examen bactériologique

Uroculture est une étape très importante dans l'examen qualitatif et quantitatif à la fois et elle permet d'isoler et de dénombrer les bactéries responsables de l'I.U.

Choix de milieux de culture :

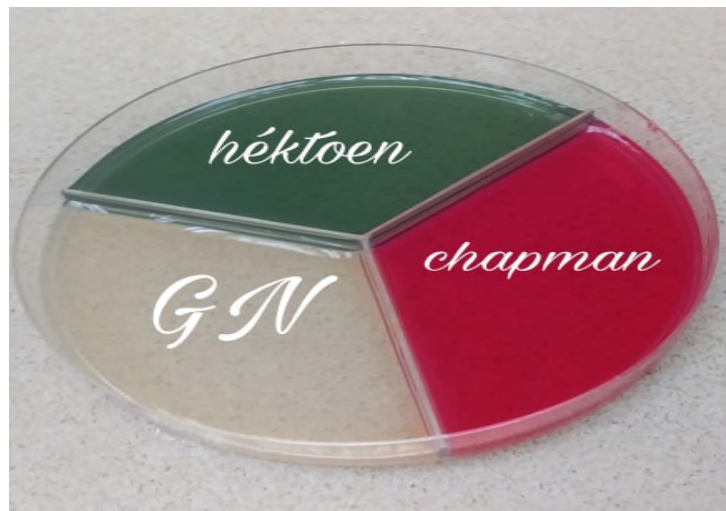


Figure N°11 : les milieux utilisées gélose nutritive, Hektoen, Chapman

❖ L'étape d'isolement

✓ Préparation de suspension de dilution :

On prélève (0.1ml) d'urine fraîche à l'aide d'une pipette pasteur stérile et l'ajouter à 9.9ml d'eau physiologique ou de l'eau distillé stérile pour obtenir une dilution 1/100.

Cette étape est importante pour faciliter le comptage des colonies contenus dans la boîte de pétri.

✓ **La mise en culture :**

-Cette étape sert à réaliser l'isolement et la numération des colonies bactériennes renfermer dans notre échantillon des urines.

●Après avoir porté le numéro d'identification du patient sur la boîte de pétri et homogénéiser l'urine par agitation, Immerger la pipette pasteur après stérilisation dans l'urine en la tenant verticalement ; à proximité du bec bunsen et à l'aide d'une pipette pasteur stérile prélever 0.1ml de la dilution 10^{-2} qu'on va déposer sur la surface de la GN. Puis un râteau stériliser on va étale sur toute la surface de la boîte.

Et à la fin incubation à 37°C dans l'étuve pendant 24H.

Après incubation si on a l'apparition des colonies donc on va procéder au comptage macromorphologie et à la purification, si les boîtes sont stériles on va conclure qu'il n'y a pas d'infection urinaire.

► **Lecture :**

Après l'apparition des colonies, les boîtes vont subir un comptage pour déterminer le nombre de colonies, si ce dernier est entre 30 et 300 par une méthode de calcul on va déterminer la concentration microbienne de notre échantillon.

Trois types de résultat peuvent être observés :

- Si N est $<10^3$ /ml → pas d'infection urinaires.
- Si N est $>10^5$ /ml → présence d'infection urinaires.
- Si N est compris entre 10^4 et 10^5 , l'interprétation est douteuse et difficile, (il faut refaire le prélèvement)

✓ **Examen macromorphologique:**

Après incubation on va obtenir des boîtes homogènes ou hétérogènes pour ces derniers il vont subir la purification (repiquage successive sur un milieu vierge) on se basant sur les critères macromorphologiques qui sont : la taille, la forme, et la couleur : on retrouve D'après **Joffin et Leyral**, les éléments d'identification macroscopiques sont:

- la forme des colonies : rondes, irrégulières, ...etc.,

CHAPITRE I

matériel et méthode

- la taille des colonies par la mesure du diamètre,
- la couleur de la colonie,
- l'élévation : convexe, concave, plate,
- l'opacité : opaque, translucide ou transparente,
- la surface : lisse, rugueuse, sèche, dentelée.

❖ L'examen micro morphologique :

► Coloration de Gram :

C'est une double coloration qui permet de sélection de deux grands groupe des bactéries les Gram+ et les Gram-.

✓ Préparation du frotti et sa fixation :

On dépose une goutte d'eau distilé au mileux de la lame, ensuite sur cette goutte en ajoute une crème bactérienne jeune et pure. bien mélangé puis on fait séchit on realise un frotti a ce dernier on ajoute quelques gouttes d'alcool et on flambe (c'est la fixation).

✓ la coloration :

Tableau N°8: Les étapes de coloration de Gram.

Les étapes	Mode opératoire
La coloration primaire (couleur basique)	La lame est plongée dans la coloration au violet de gentiane pendant 1mn, puis rincer a l'eau
La fixation au lugol	Etaler le lugol et laisser agir pendant 1mn, rincer a l'eau, cette étape permet de stabiliser la coloration violette.
Décoloration a l'alcool La plus crucial	Verser goutte a goutte un jet de l'alcool (dépassé 70°) sur le frotti jusqu'à la disparition de la couleur violette , le filet doit etre clair a la fin de la décoloration , rincer a l'eau (l'alcool pénètre dans la bactérie)
La coloration secondaire	Recouvrir la lame par le colorant secondaire (la fushine) laisser agirr 1mn ,rincer a l'eau puis faire sécher la lame

CHAPITRE I

matériel et méthode

-l'observation va se faire sous microscope photonique à l'objectif x100 en ajoutant l'huile d'immersion sur la lame.

✓ **Lecture :**

- Bactéries colorées en violet foncé →bactéries à Gram positif
- Bactéries colorées en rose →bactéries à Gram négatif.

✓ **Test d'orientation :**

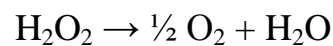
Après coloration de Gram on procède au repiquage des souches sur les milieux sélectifs :

- pour les bactéries a Gram (-) un ensemencement est fait par la méthode de stries sur une gélose Hektoen (un milieu sélectif pour les entérobactéries)
- pour les cocci a Gram (+) on a procéder en 1^{er} le test de catalase (test d'orientation) pour différencier entre les *streptocoques* et les *staphylocoques*

○ **Test catalase :**

La recherche de cette enzyme est utilisée pour différencier entre des bactéries à Gram positif, plus précisément entre les streptocoques et le staphylocoque.

- ON Dépose au centre d'une lame propre une goutte d'eau oxygénée et à l'aide d'une pipette on prélève 1 à 2 colonies, on les dépose sur la goutte en remarque avant 60mn s'il y a la formation Des bulles. L'action directe de la catalase est mise en évidence par un dégagement gazeux immédiat résultant de la décomposition de l'eau oxygénée en une molécule d'eau et une demi-molécule d'oxygène.



➤ **La lecture :**

- Catalase + : les cocci a Gram+ sont repiqués sur gélose Chapman (un milieu spécifique pour les *staphylocoques*) (**figureN°10**)
- Catalase - : les cocci à Gram+ sont repiqués sur gélose au sang frais (un milieu spécifique pour les *Streptocoques*) (**Figure N°10**)

CHAPITRE I

matériel et méthode

Sur le milieu sélectif Hektoen on a obtenu des colonies macro morphologiquement différentes et qui peuvent êtres soit :

- Colonies arrondies, grandes et blanchâtres : *entérobactéries*.
- des petites colonies bombées identiques jaunes avec virage de couleur vers le rouge : *E.coli*.
- Petite colonies arrondies bombé, très grandes blanchâtres et muqueuses : *klebsiella*.

- En ce qui concerne les cocci a Gram + catalase positif négatif transférer dans les milieux Chapman ou sans frai on n'a pas u l'apparition des colonies donc ils ne vont pas subir l'identification biochimique.

- Seuls les souches les bacilles à Gram (-) ayant une croissance sur milieu Hektoen avec des colonies macromorphologie variables ont subi une caractérisation biochimique avec la galerie Api E20.

❖ Identification biochimique des bactéries par la galerie d'Api E20 :

En fonction de l'aspect macroscopique des colonies bactériennes, de la morphologie des bactéries après coloration, etc... On s'oriente vers une famille bactérienne ou un genre bactérien en particulier.

La galerie API 20E est un système standardisé pour l'identification des Enterobacteriaceae et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux. Elle comporte 20 micros tubes contenant des substrats déshydratés. Les micros tubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests ; les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactif.

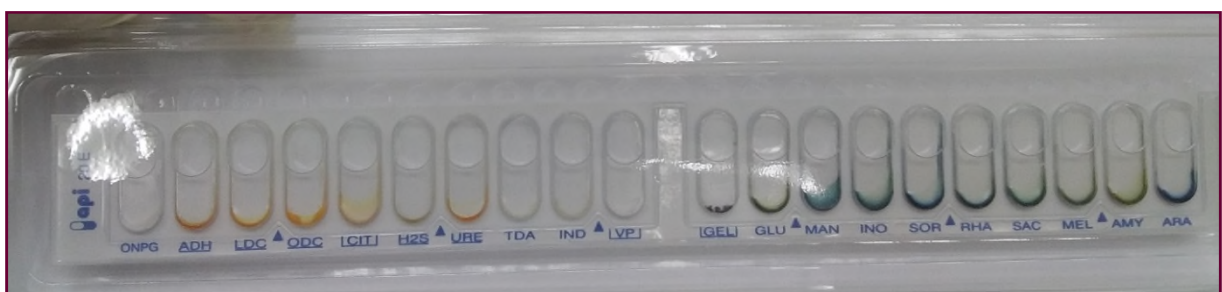


Figure N°12 : Galerie Api E20 avant ensemencement

✓ Préparation de la galerie :

-On prend la chambre d'incubation et on remplit son fond environ 10ml d'eau distillé pour réaliser un environnement d'incubation humide

-On dépose ensuite la galerie d'API stérile dans la chambre d'incubation

-inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.

✓ Inoculation de la galerie :

-On pipette la solution bactérienne après avoir la réalisé à partir d'eau physiologique + une colonie bien isolée avec une pipette pasteur stérile

-Puis on remplit chacune des cupules de la galerie d'Api, en laissant couler doucement la suspension dans la cupule. Tenir la boîte légèrement inclinée pour éviter la formation de bulles.

-Pour un test souligner ou non (exemple : ONPG ou ADH), on va remplir uniquement le microtube.

-remplir totalement les cupules et les micros tubes des tests encadré : CIT ; VP et Gel avec la suspension bactérienne.

-créer une anaérobiose dans les tests soulignés : ADH ; LDC ; ODC, Urée, H₂S en remplissant leurs cupules d'huile de vaseline stérile.

- refermer la boîte et la placer dans l'étuve à 37° C pour une incubation de 18 à 24 heures.

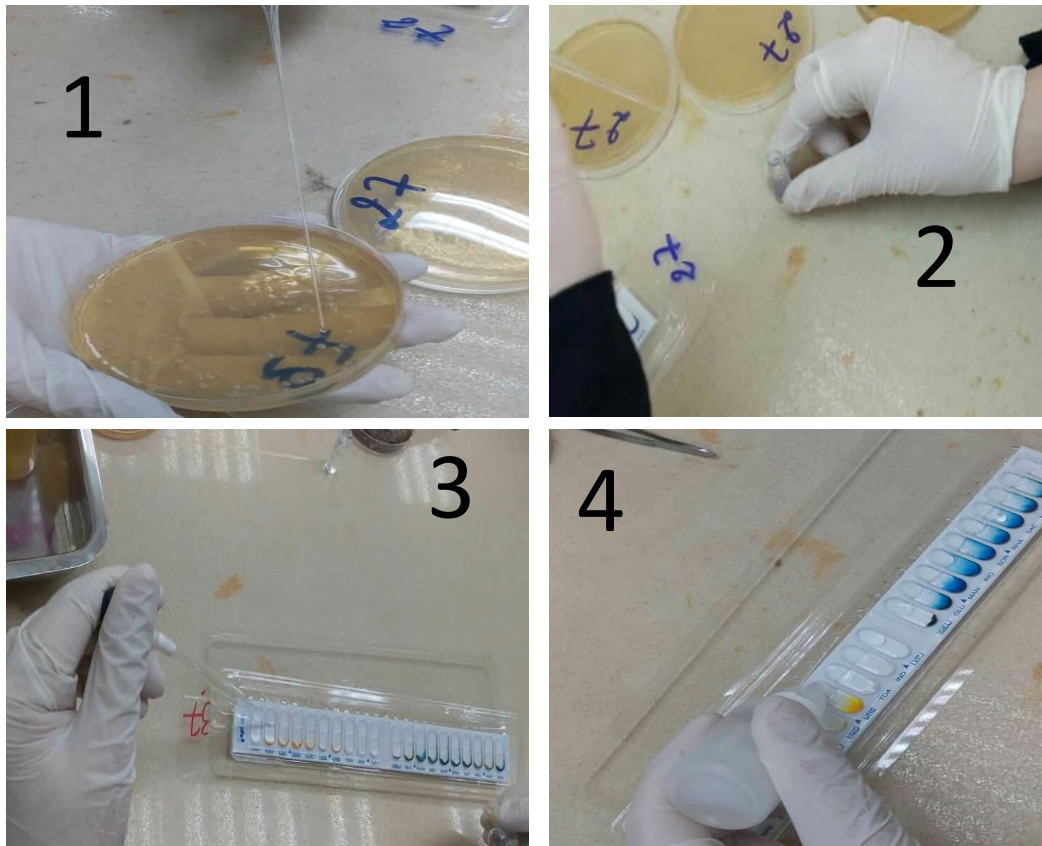


Figure 13 : les étapes de préparation de la galerie Api E20

► Lecture en 2ème jour après incubation :

-Addition par une goutte pour chacun des réactifs appropriés aux tests suivant : VP, TDA, IND.



Figure N°14 : Additionnement des Test VP, TDA, IND.

- La lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture (**annexe N°7**).

Sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupes de trois de gauche à droite. Si le test est positif, la valeur indiquée est attribuée dans la case (1, 2 ou 4), mais si le test est négatif, la valeur "0" est attribuée. Il faut ensuite additionner les trois valeurs obtenues pour obtenir le code du triplet. Un code à sept chiffres est obtenu par lecture des codes des triplets de gauche à droite. Ce code, comparé à ceux référencés dans la base de données gérée par le fabricant, permet l'identification de la bactérie.

❖ **L'examen des candidoses :**

▶ **Diagnostic biologique :**

Il repose sur l'examen direct, la culture et l'étude des réactions immunologique de l'hôte.

○ **La mise en culture :**

Après avoir réalisé la cytologie Malassez au microscope optique, en remarque la présence des levures ; on prépare la culture sur le milieu sabouraud + ATB

-A l'aide d'une pipette pasteur on prélève une goutte d'urine et on la dépose au milieu au fond de la gélose, puis incubation de ce tube dans l'incubateur à 37°C de 24 à 48h

-dans cette période d'incubation les candidats vont bien pousser et donner cet aspect crémeux c la croissance des levures



Figure N°15 : Aspect crémeux des candidats.

❖ **Filamentation dans le sérum (test de blastèse) :**

Un bon procédé d'identification de *C.albicans* basée sur :

La rapide germination des levures et formation d'un filament (tube germinatif) dans du sérum animal ou humain à 37°C et en 4h (0,5 ml de sérum + qlq gttes d'une suspension de levures).

-Au microscope Les Chlamydospores de *C.albicans* = spores terminales ou latérales, rondes ou ovales, ≈ 6 à 12μ de Θ à paroi épaisse, à double contour et des filaments porteurs de blastospores spécifique de l'espèce *candida albicans*.

CHAPITRE I

matériel et méthode

► Identification biochimique des candidats par la galerie d'Auxacolor :

○ Mode opératoire :

▪ Les étapes :

Amener les réactifs à température ambiante avant utilisation

● Inoculation de la microplaque

- Préparer l'inoculum à partir d'une culture de 24 à 48h réalisée sur milieu de Sabouraud (+/-antibiotiques). Dans des conditions stériles,

- ensemencer le milieu de suspension avec des colonies de souche pure de 1 à 5 colonies identiques pour obtenir une opacité équivalente au témoin (opacité égale à 1,5 McFarland)

-Homogénéiser la suspension à l'aide d'un vortex, puis prélever et distribuer, à l'aide d'une pipette, 100 µl de l'inoculum dans chacune des cupules de la microplaque.

-Recouvrir la microplaque (R1) avec l'adhésif en s'assurant que l'adhésion est parfaitement uniforme. Puis incubation de 48h (72h si nécessaire) à 30°C

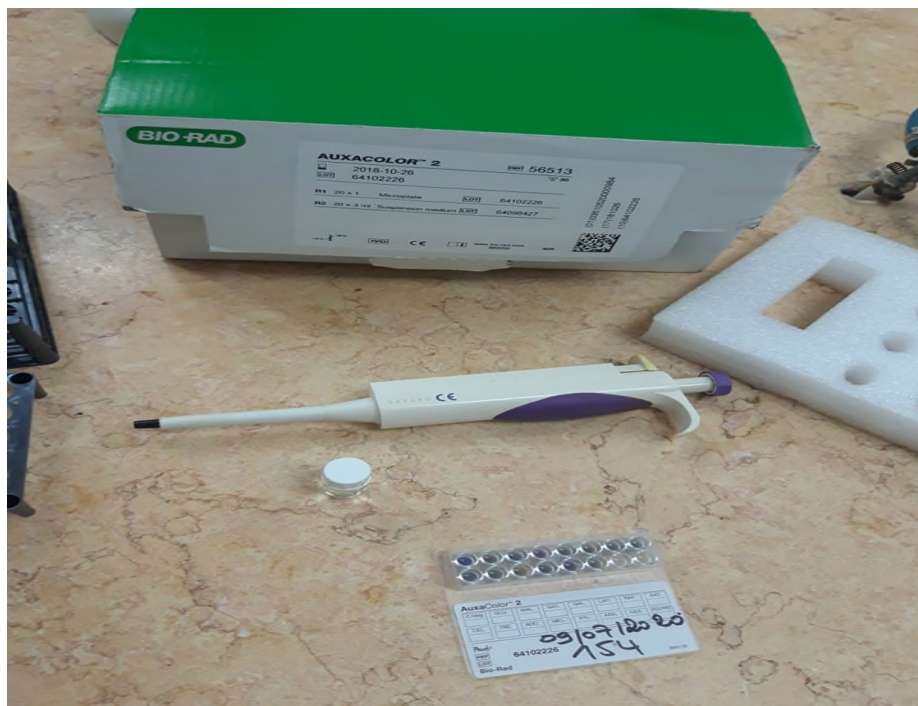


Figure N°16 : Préparation de la microplaque AUXACOLOR TM 2

○ **Lecture des résultats :**

La lecture définitive doit s'effectuer à 48h, En cas de suspicion d'infection à crypto coque, la lecture définitive s'effectuera à 72H, étant donné la croissance lente de ces microorganismes.

✓ **Interprétation**

Guide d'interprétation des réactions colorées (Annexe N° : 9)

● **Méthodologie pour le codage :**

Les 16 caractères biochimiques, répartis dans 15 cupules (les tests POX. Et PRO. Étant associés dans une même cupule), sont utilisés pour l'identification.

- Un profil numérique à 5 chiffres est obtenu en regroupant par 3 les valeurs des 15 tests suivants

Tableau N°9 : Le guide de codage pour l'orientation des candidats.

1 ^{er} chiffre	Glucose	Maltose	Saccharose
2 ^{ème} chiffre	Galactose	Lactose	Raffinose
3 ^{ème} chiffre	Inositol	Cellobiose	Trehalose
4 ^{ème} chiffre	Adonitol	Melezitose	Xylose
5 ^{ème} chiffre	Arabinose	Hexosaminidase	Phenoloxidase

-On attribue à chaque réaction négative la valeur zéro et à chaque réaction positive une valeur en rapport avec sa position dans le triplet. Pratiquement c'est le même principe que l'identification des bactéries (la galerie d'Api 20E).

Dans ce triplet on compte 1 pour la position 1, 2 pour la position 2, et 4 pour la position 3.

❖ **Antibiogramme**

Un antibiogramme consiste à mettre en contact un antibiotique (disque pré-imprégné d'une dose connue d'antibiotique) avec des colonies de bactéries isolées.

Ensemencement par écouvillonnage selon les recommandations CLSI :

✓ Préparation d'un inoculum :

-À partir d'une culture pure de 18 heures sur milieu gélosé, on prélève à l'aide d'une anse 3 colonies bien isolées et identique.

- On décharge l'anse stérile dans 5 ml de l'eau physiologique stérile et bien homogénéisé la Suspension bactérienne pour obtenir suspension de 0,5 Mcf.

-on doitensemencer l'inoculum bactérien dans les 15 minutes qui suivent sa préparation de suspension.

✓ Ensemencement par stries :

- on trompe notre écouvillon stérile dans l'inoculum, dans notre boite de pétri qui contient la gélose (Muller-Hinton) on fait des stries serrés sur la gélose de gauche à droite jusqu'à la moitié de pétri, tourner ensuite la boite à 90° et répéter la striation jusqu'au centre, tourner ensuite la boite à 90° et répéter la manœuvre jusqu'à la réalisation d'un tapis cellulaire sur toute la gélose.

- Il faut recharger l'écouvillon à chaque fois Dans le cas où on ensemence plusieurs boites de Pétri.

✓ Application des disques et incubation :

Tout en restant dans le champ stérile, on dépose 6 disques d'antibiotique sur une boite de 90°mm de diamètre ; à l'aide d'une pince en flambant à chaque disposition d'un disque d'ATB en appuyant légèrement pour qu'il colle dans la gélose. La distance entre les disques d'environ 2 à 3cm de bord.

✓ Ces boîtes sont incubées de 18 à 24h à 37°C

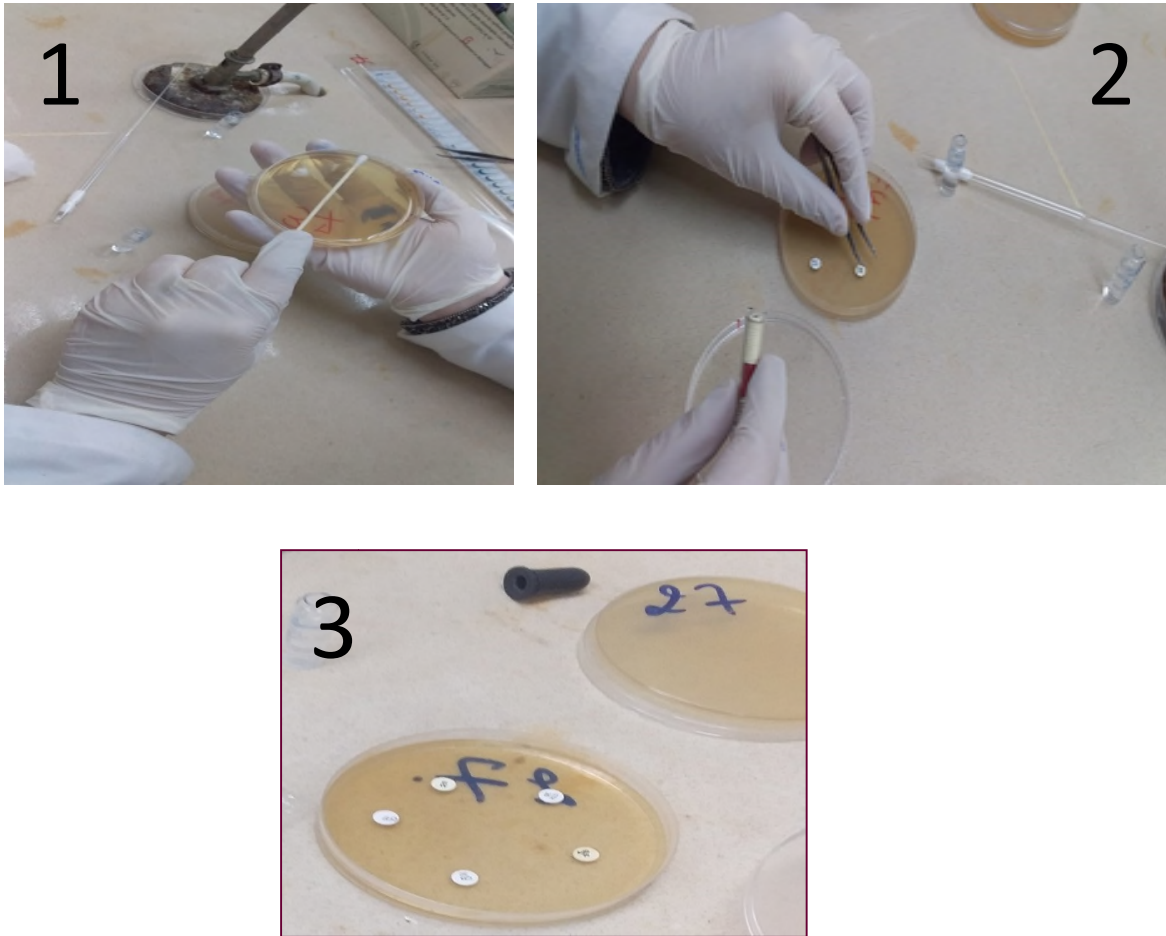


Figure N°17 : Application des disques d'antibiotiques.

► **Interprétation**

-Après incubation, les diamètres de la zone d'inhibition (en mm) sont mesurés à l'aide d'un pied à coulisse métallique. Ces diamètres permettent donc de classer la bactérie dans l'une des trois catégories (Sensible, Résistante, ou bien Intermédiaire) (**annexe N° : 11**).

●le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur ou égal au diamètre de la zone d'inhibition marquée à l'échelle de concordance → une bactérie sensible.

- le diamètre est inférieur ou égal au diamètre de la zone d'inhibition marqué sur l'échelle de concordance spécifique pour chaque antibiotique → une bactérie sensible intermédiaire.

- pas de zone d'inhibition → une bactérie résistante.


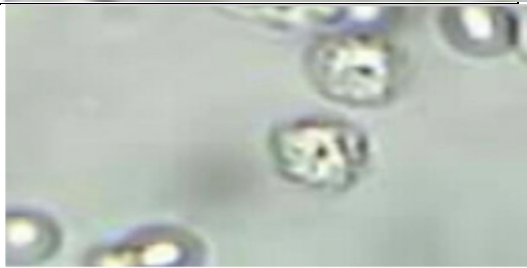

1. Analyse macroscopique des échantillons :


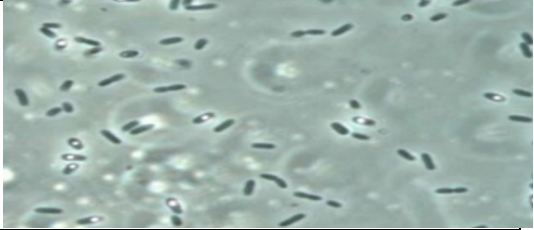

L'aspect macroscopique permet de donner une idée préliminaire sur l'existence d'une infection urinaire. Sur les échantillons analysés trois types d'aspects macroscopique ont été détectés : claire, trouble, hématurie. **(Figure N°9).**

2. Examen cytologique :

D'après l'analyse des échantillons, nous avons constaté la présence significative des hématies, leucocytes, de cellules épithéliales, et de microorganismes (tableau N°9), la présence de cristaux pourrait être liée à la prise de certains médicaments ou à la nature de l'alimentation.

Tableau N°10 : les éléments retrouvés lors de la cytologie sous microscope

Les éléments recherchés	Les figures
Les hématies	
Leucocytes	
Les cristaux	

Les cellules épithéliales	
Les bactéries	
Les levures	

3. Les résultats de différents caractères cultureux :

Les isolements et dénombrements réalisés sur la gélose nutritive a montrés que certaines souches bactériennes en cause de l'infection urinaire, la coloration de gram nous a montré la présence des bacilles à gram négatif, ses derniers sont ré-isolé sur milieu Hektoen. Les résultats obtenus montrent des petites colonies bombées identiques jaunes avec virage de couleur vers le rouge due à la fermentation du lactose ; ces caractères correspondent aux caractères d'*E.coli*.

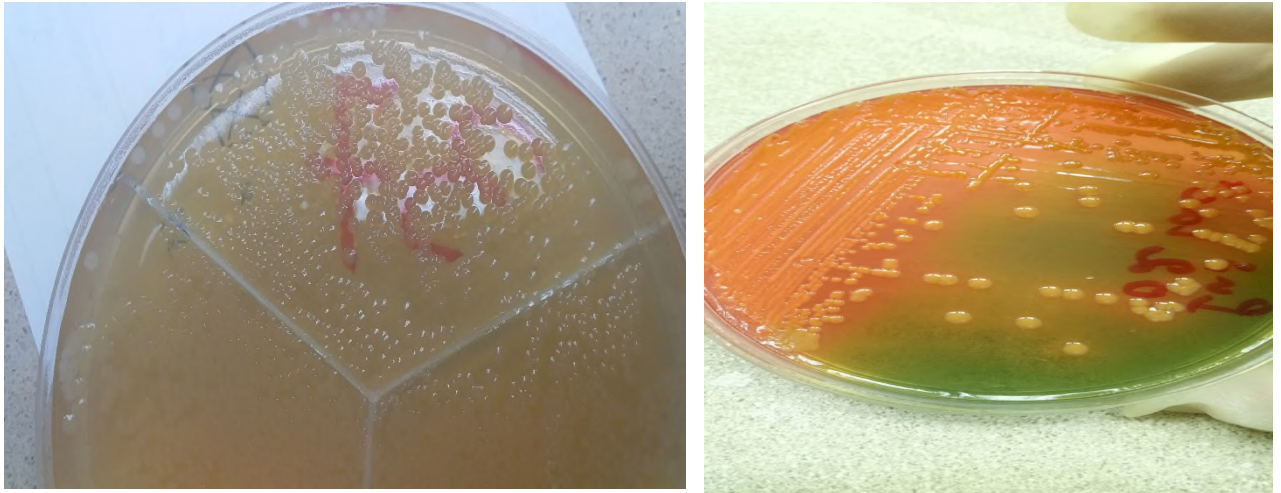


Figure N°18 : Aspect des colonies sur gélose nutritive et la gélose Héктоen.

4. Les résultats de la coloration de Gram :

La coloration de Gram nous a permis d'identifier : les bacilles Gram négatif

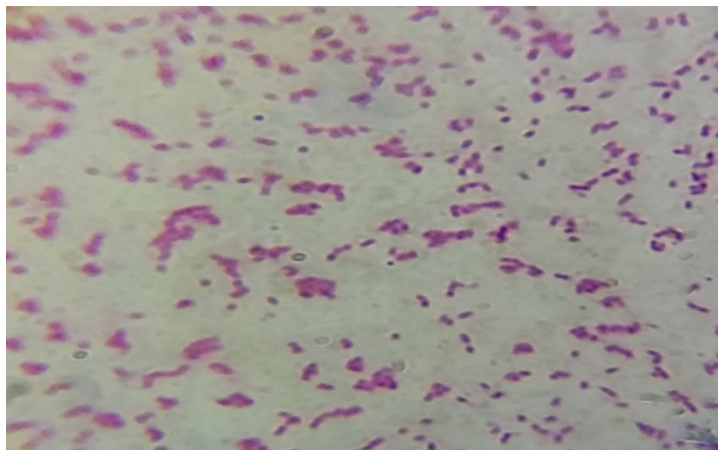


Figure N°19 : Bacille a Gram-

5. Les résultats de la galerie Api E20 teste :

L'identification des entérobactéries s'est reposée sur l'étude des caractères biochimiques en utilisant la galerie Api E20 le virage des couleurs nous a permet d'identifier 2 genre bactériens appartenant à la famille des entérobactéries tels que : *E. coli et klebsiella*



Figure N°20 : Identification biochimique d'*E.coli*.



Figure N°21 : Identification biochimique de *Klebsiella pneumoniae*.

6. Résultat de test de blastèse sous microscope :

Filaments porteurs de blastospores ce sont des spores asexuelles nées par bourgeonnement et chlamydozoïdes sont des spores globuleuses à paroi épaisse spécifique à l'espèce *Candida albicans*.

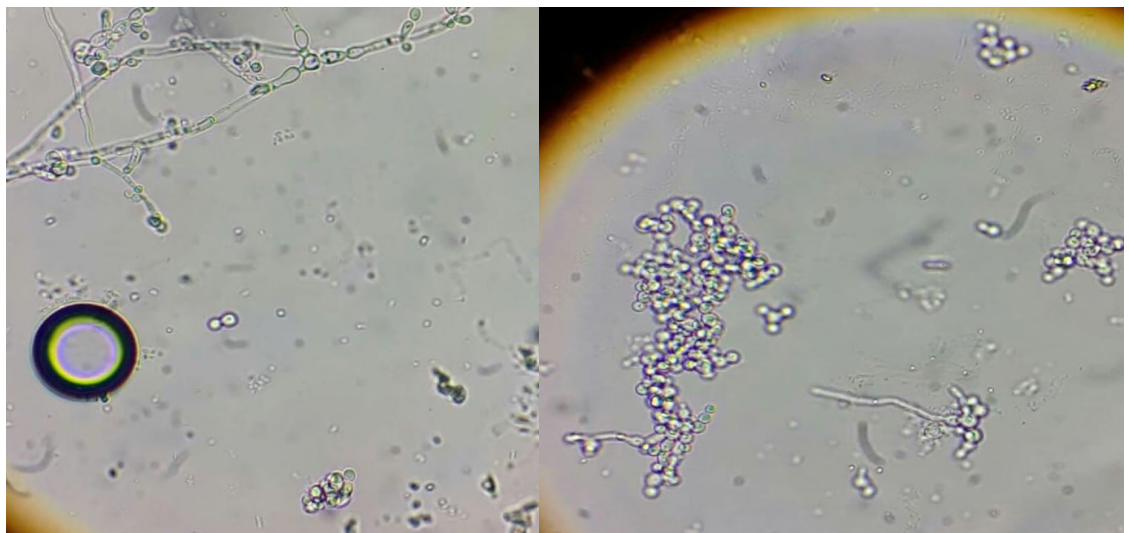


Figure N°22 : Aspect microscopique de filamentation des candidas

7. Résultat de réalisation de la galerie Auxacolor 2 :

L'identification finale repose sur l'association des tests biochimiques et des caractères complémentaires (morphologiques et métaboliques) et selon le catalogue d'orientation détermine l'apparition de l'espèce : *C.albicans*.

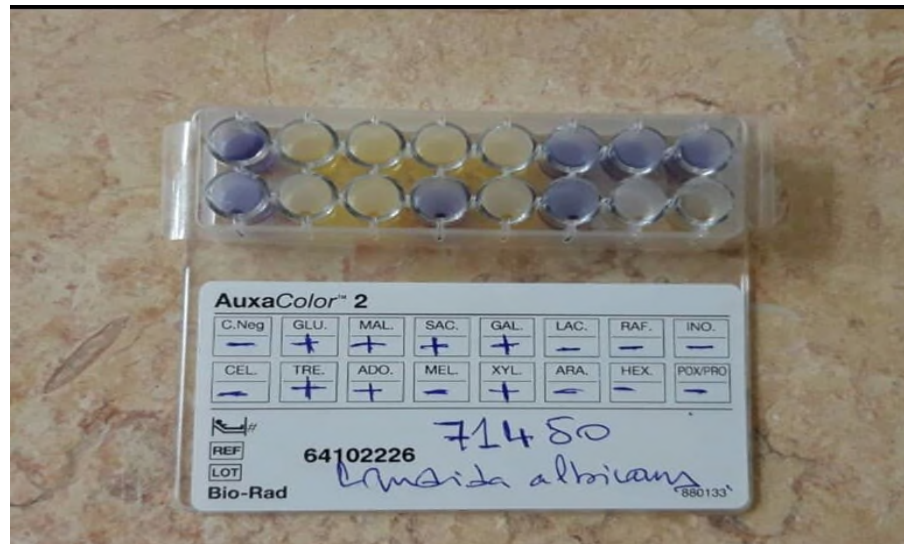


Figure N°23 : identification biochimique de *Candida albicans*

8. Les résultats de l'antibiogramme :

Les souches bactériennes trouvées appartenant à la famille des Entérobactéries sont testé par une gamme d'antibiotiques spécifiques comme les Béta-lactamines.

Le diamètre de la zone d'inhibition est mesuré et comparé aux diamètres critiques conformément aux normes CLSI (annexe 11) pour déterminer si la bactérie isolée est sensible, intermédiaire ou résistante aux antibiotiques testés.

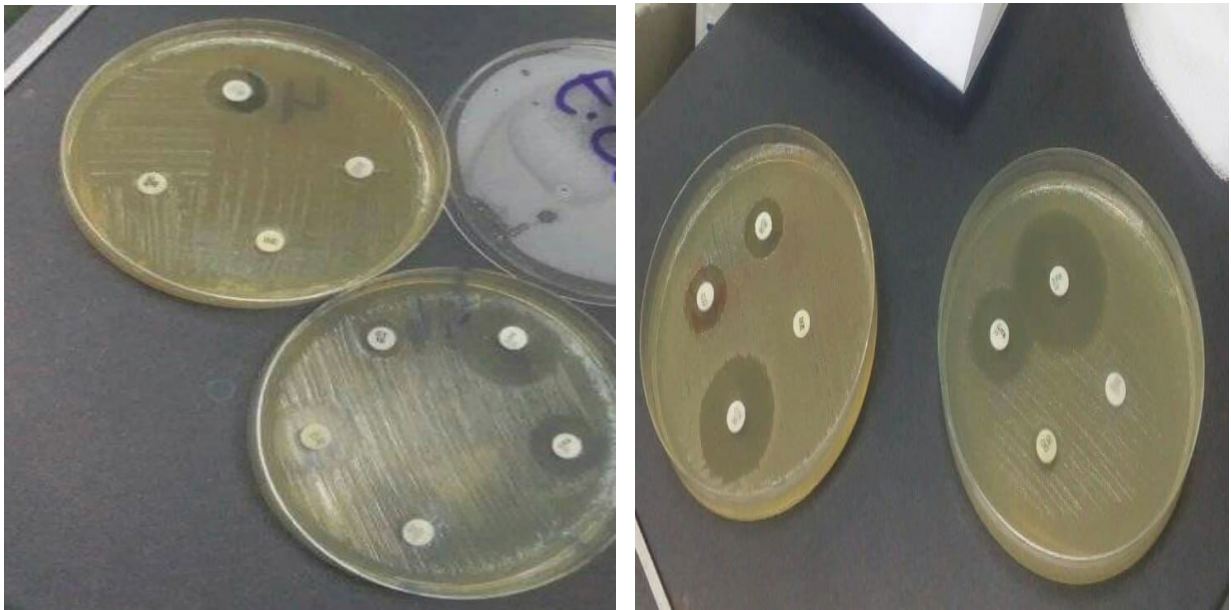


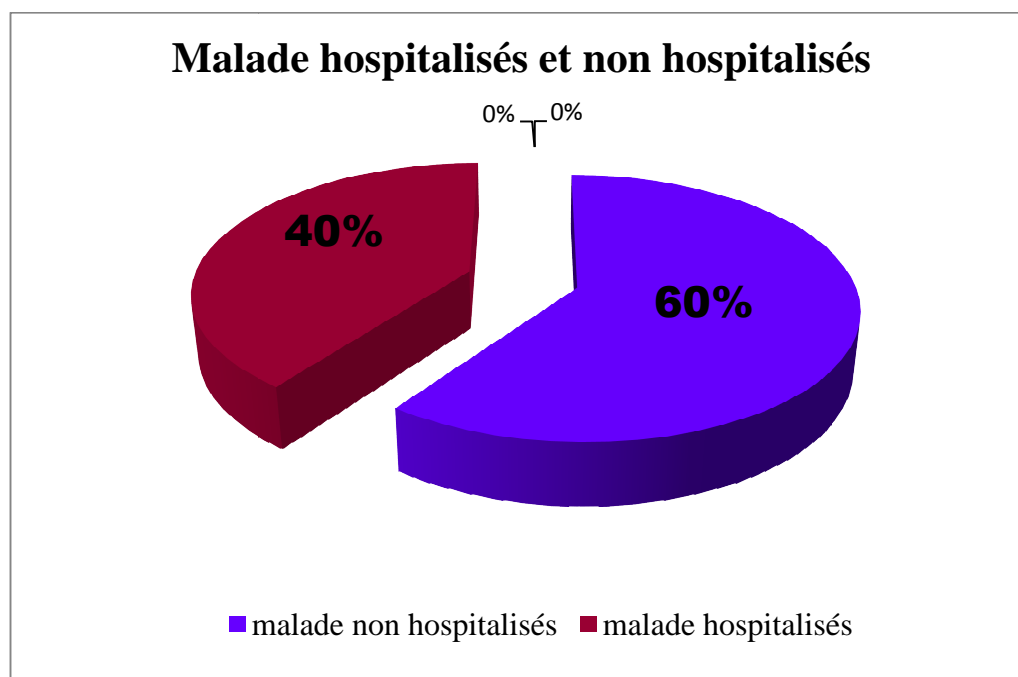
Figure N°24 : Différents résultats de l'antibiogramme.

1. Répartition des résultats :

1.1. Répartition des ECBU identifiées hospitalisés et non hospitalisés :

Tableau N°1 :

Cas des ECBU	Nombre	Pourcentage
Malade non hospitalisés	60	60%
Malade hospitalisés	40	40%
Total	100	100%

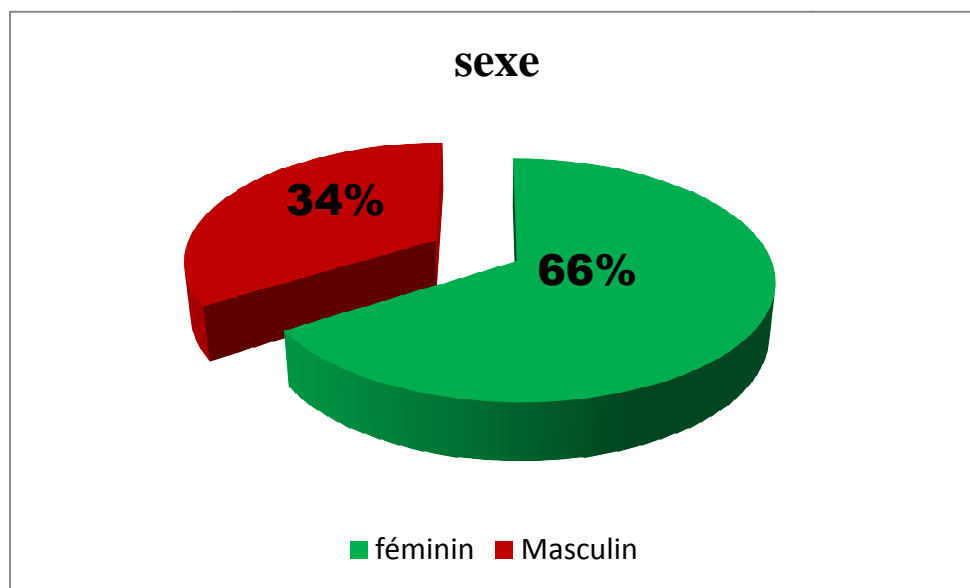


Selon ces statistiques, on peut dire que les ECBU des malades non hospitalisés occupaient la première place avec un taux de 60%, suivie des ECBU des malades hospitalisés avec un taux de 40%. Les infections urinaires communautaires se sont eux les plus fréquentes par rapport aux IU nosocomiale

2. Répartition de la catégorie la plus touchée par les infections urinaires selon le sexe :

Tableau N°2 :

Sexe	Nombre	Pourcentage
Masculin	34	34%
Féminin	66	66%
Total	100	100%



On remarque que les femmes représentent 66% des infections urinaires alors que les hommes ne représentent que 34%. On constate que la catégorie des femmes est la plus touchées par les infections urinaires, en raison de la différence de l'anatomie de l'appareil urinaire féminin et masculin.

3. Réparation des ECBU des malades hospitaliser et non hospitaliser

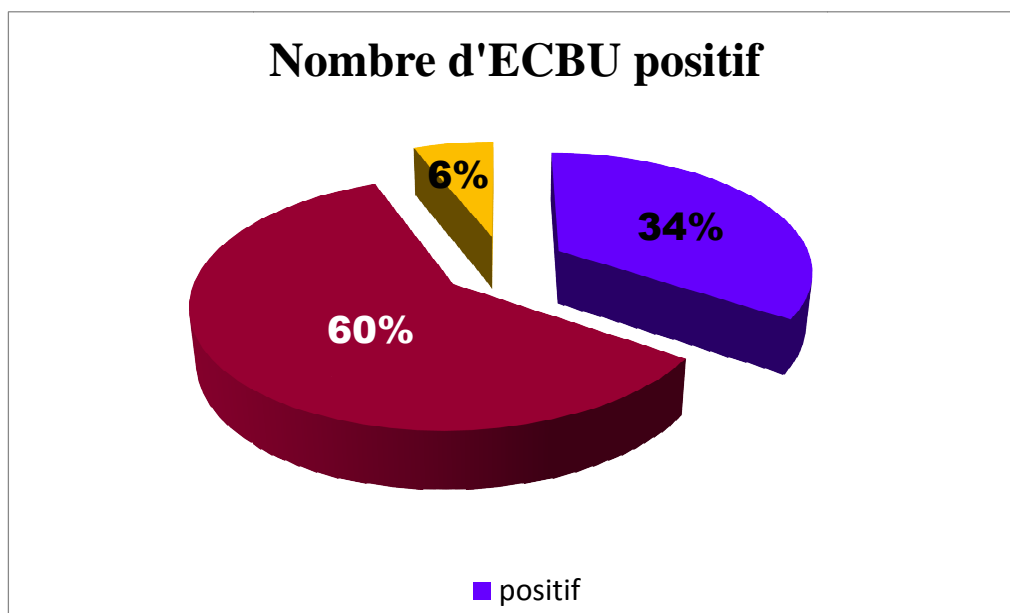
(dans le cas positifs, négatifs)

Tableau N°3 :

Prélèvement	Nombre	Pourcentage
Positif	34	34%
Négatif	60	60%
Prélèvement à refaire	06	06%
Total	100	100%

Tableau N°4 :

Prélèvement	Malade hospitalisé	Malade non hospitalisé
Positifs	14	20
Négatifs	24	36



-34% des patients présentant un ECBU positifs.

-les prélèvements contaminés comportent 6% de la totalité.

-les résultats d'analyse négatifs représentent 60% du total de prélèvement.

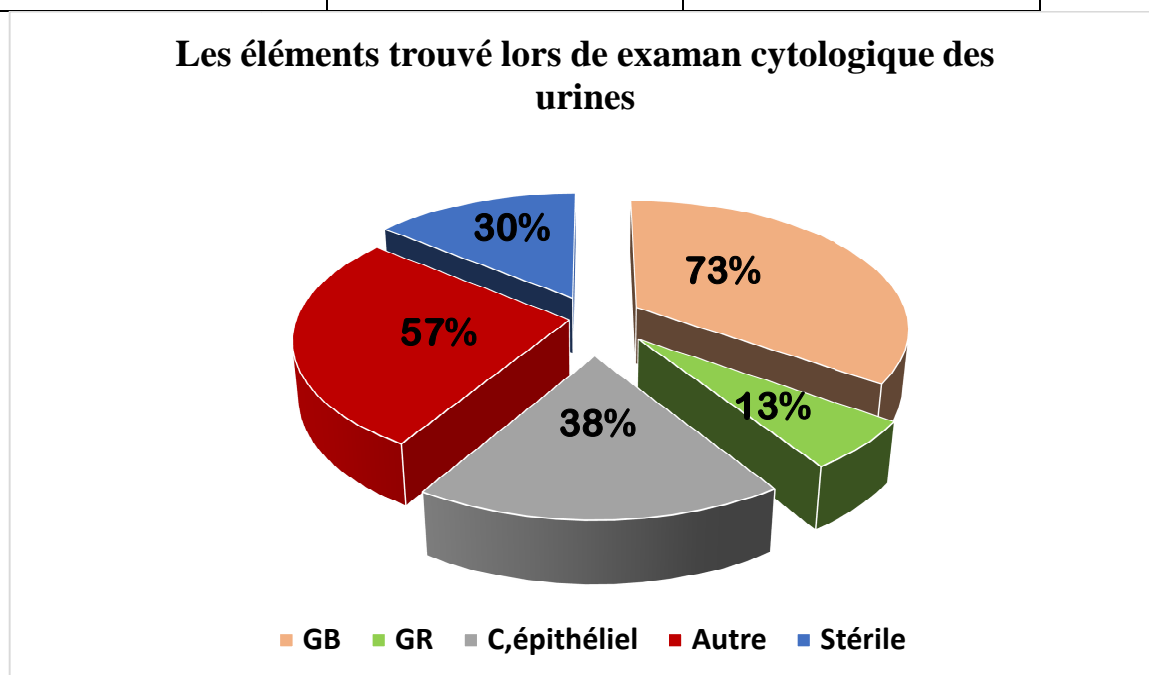
Les résultats ont montré une prédominance du nombre d'ECBU négatifs par rapport au nombre d'ECBU positif.

On constate que le nombre d'ECBU positif chez les malades non hospitalisés est plus élevé par rapport au nombre d'ECBU positif des malades hospitalisés.

4. Répartition des éléments trouvés lors d'examen cytologique dans les 100 échantillons d'urines :

Tableau N°5 :

Eléments trouvés	Nombre	Pourcentage
Globule blanc	73	73%
Globule rouge	13	13%
Cellule épithéliale	38	38%
Autre (cristaux, cylindre ,levure...)	57	57%
Stérile	30	30%



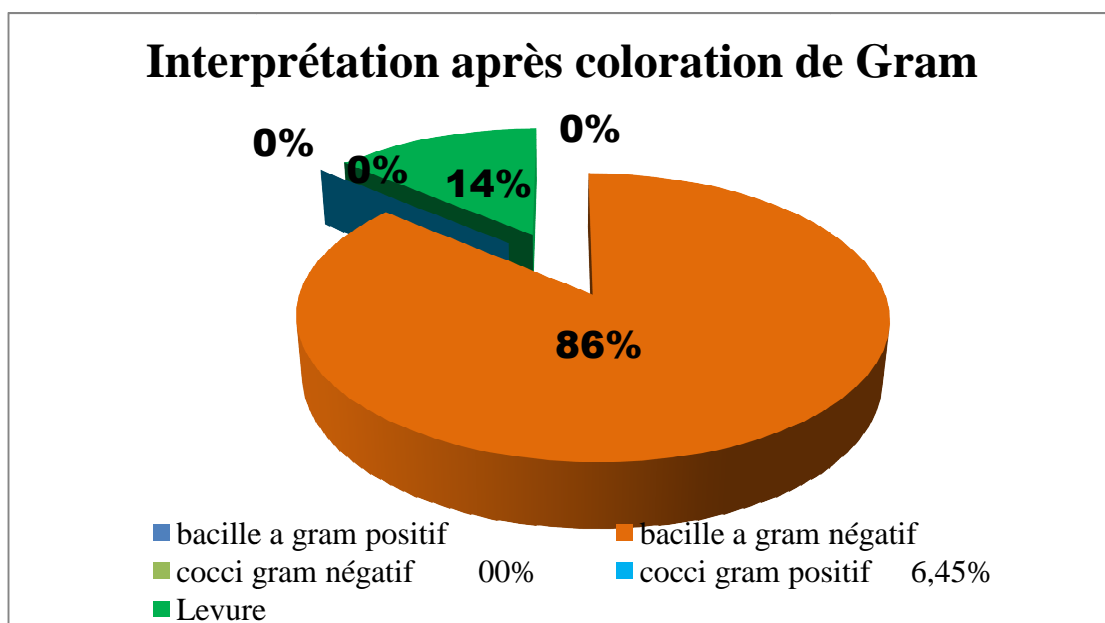
L'examen cyto bactériologique des urines représente 73% des GB, 13% des GR, Cellule épithéliale 38%, stérile 30%, et d'autres éléments cylindres cristaux bacille 57%.

A partir des résultats trouvés on confirme que les GB se sont eux les plus fréquents par rapport aux autres éléments dans l'examen microscopique des urines.

6. Répartition d'interprétation après coloration de Gram à partir de la culture :

Tableau N°6 :

Micro-organismes	Nombre	Pourcentage
Bacille Gram positif	00	00%
Bacille Gram négatif	29	86%
Cocci Gram négatif	00	00%
Cocci Gram positif	00	00%
Levure	04	14%
Total	34	100%



CHAPITRE II

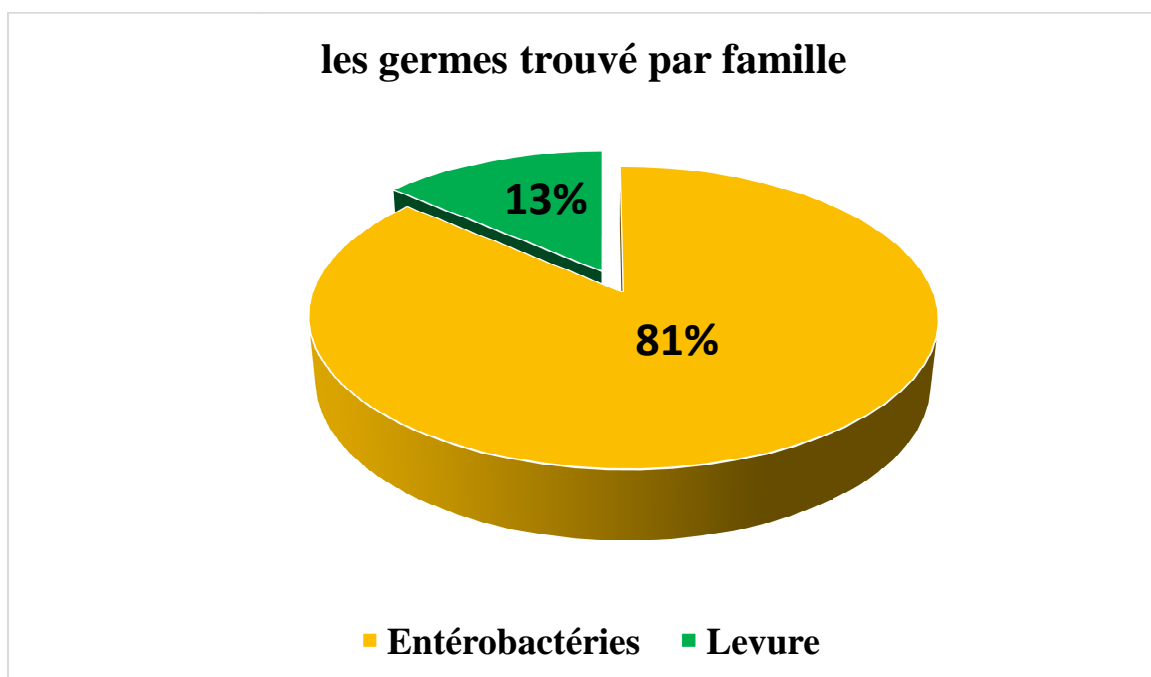
résultat et discussion

Selon ces résultats on remarque que le taux des bacilles à Gram négatif est de 86%, et les levures 14%, mise à part les bacilles à Gram positif, cocci à Gram négatif 0%. D'après l'analyse on constate que presque tous les germes retrouvés appartiennent aux bacilles à Gram négatif.

7. Répartition des germes retrouvés par famille :

Tableau N°7 :

Micro-organismes	Nombre	Pourcentage
Entérobactéries	29	86%
levure	04	14%
Total	34	100%

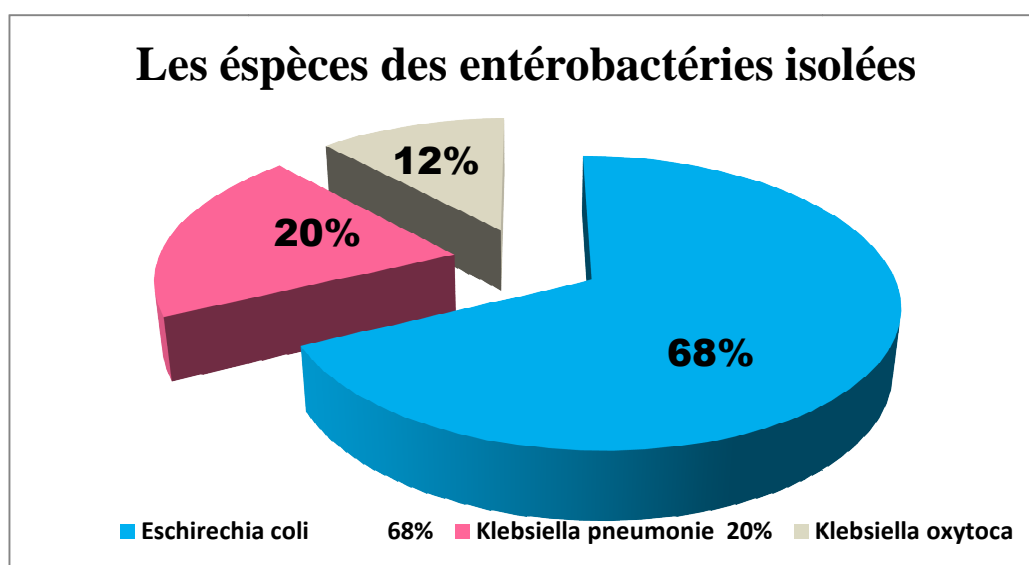


Ces statistiques montrent que 86% des germes appartiennent à la famille des Entérobactéries et les levures représentent 14%. L'étude valide que les entérobactéries sont les germes les plus fréquents et impliqués dans les infections urinaires vu que ce sont des hôtes normaux de l'intestin ce qui aide à leur propagation dans l'appareil urinaire.

8. Répartition des espèces au sein des Entérobactéries :

Tableau N°8 :

Espèces isolées	Nombre	Pourcentage
<i>Escherichia coli</i>	21	68%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	05	20%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	03	12%
Total	29	100%

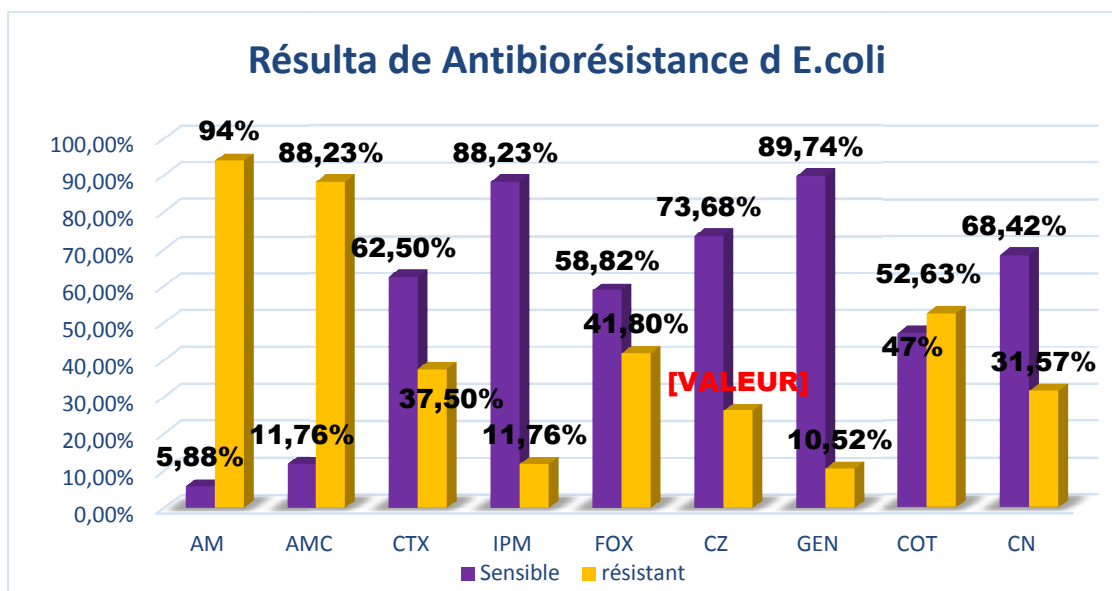


D'après les résultats on constate qu'*E.coli* est présente à 68% tandis que *Klebsiella pneumoniae* est de 20% et *Klebsiella oxytoca* à 12%. Les analyses prouvent qu'*Escherichia coli* est l'espèce la plus répandue dans les infections urinaire, cela pourrait être expliqué par le fait que les souches d'*E.coli* sont partie de la flore digestive de l'homme.

9. Antibiorésistance

Tableau N°9 : résultats de l'antibiorésistance des souches *Escherichia coli* isolée.

	E.coli			
	S		R	
	Nombre	%	Nombre	%
AM	01	5,88%	16	94,11%
AMC	02	11,76%	15	88,23%
CTX	10	62,5%	06	37,5%
IPM	15	88,23%	02	11,76%
FOX	10	58,82%	07	41,8%
CZ	14	73,68%	05	26,31%
GEN	17	89,47%	02	10,52%
COT	09	47,36%	10	52,63%
CN	13	68,42%	06	32,57%



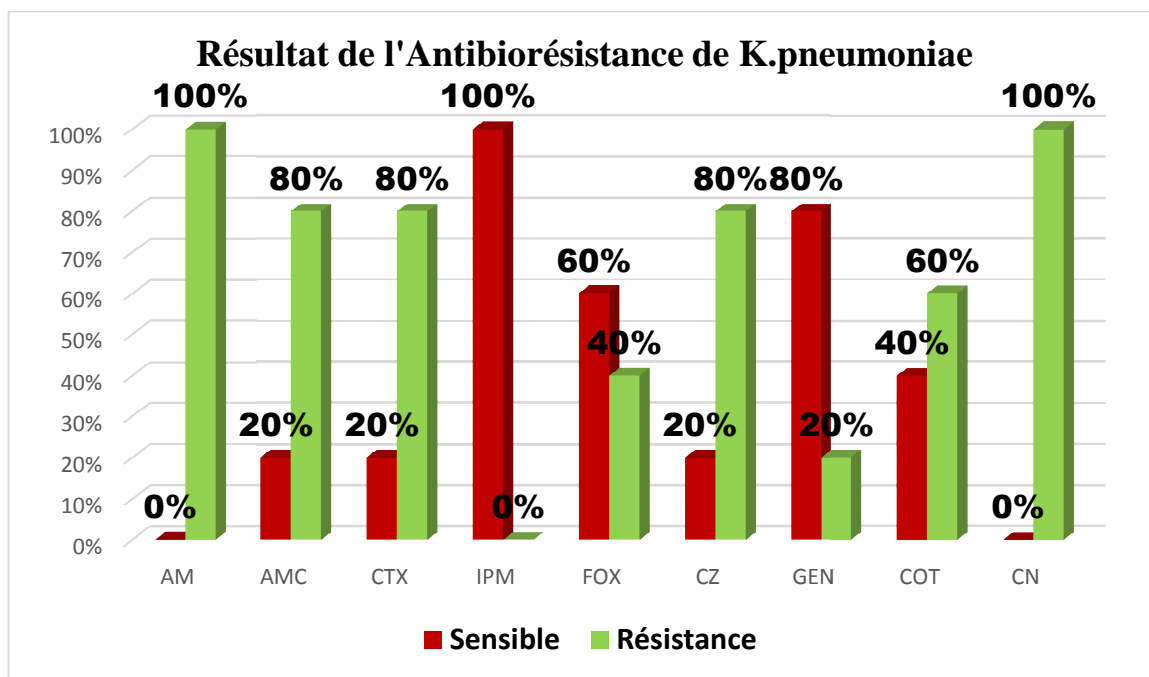
D'après avoir réalisé l'antibiogramme et calculer les fréquences de sensibilité et résistances des souches d'*Escherichia coli*, on remarque que ces souches isolées présentent une résistance élevée de 94,11% pour l'ampicilline (AM), suivie de 88,23% pour l'amoxicilline + acide clavulanique alors que cette dernière est plus ou moins faible pour la céfazoline (CZ) 26,31% , céfalexine (CN) 32,57%, et pour la céfotaxime (CTX) 37,5% ; mais la résistance de ces souches à l'imipénème (IPM) est 11,73

On constate que :

- ▶ Les souches d'*E.coli* sont résistantes à l'Augmentin (AMC).
- ▶ Les souches d'*E.coli* sont sensibles à imipénème (IPM) à 88,23% et gentamicine (GEN) à 89,47%.

Tableau N°10 : résultats de l'antibiorésistance des souches *Klebsiella pneumoniae* isolées :

	<i>K.pneumoniae</i>			
	S		R	
	Nombre	%	Nombre	%
AM	00	00%	05	100%
AMC	01	20%	04	80%
CTX	01	20%	04	80%
IPM	05	100%	00	00%
FOX	03	60%	02	40%
CZ	01	20%	04	80%
GEN	04	80%	01	20%
COT	02	40%	03	60%
CN	00	00%	05	100%

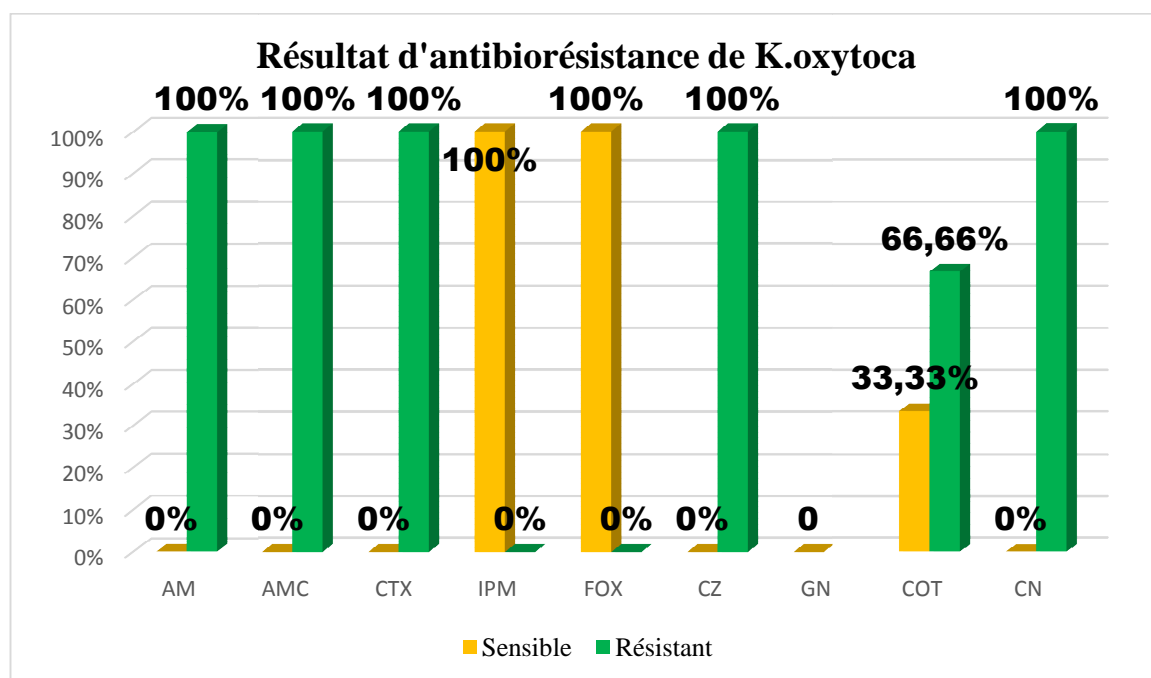


D'après les statistiques mentionnées les 05 souches de *K.pneumoniae* sont résistantes à l'ampicilline (AM) 100%, cependant les taux de résistance vis-à-vis de la céfazoline (CZ) céfotaxime (CTX) et l amoxicilline + acide clavulanique (AMC) 80%, mais ces souches ne présentent aucune résistance pour l'imipénème (IPM) sensible à 100%.

- ▶ Les quasi-totalités des souches de *K.pneumoniae* sont résistantes à l'Augmentin (AMC).
- ▶ Les souches de *K. pneumoniae* sont sensibles à imipénème (IPM).

Tableau N°11 : résultats de l'antibiorésistance des souches *Klebsiella oxytoca* isolées

	K.oxytoca			
	S		R	
	Nombre	%	Nombre	%
AM	00	00%	03	100%
AMC	00	00%	03	100%
CTX	00	00%	03	100%
IPM	03	100%	00	00%
FOX	03	100%	00	00%
CZ	00	00%	03	100%
GEN	02	66,66 %	01	33,33%
COT	01	33,33%	02	66,66%
CN	00	00%	03	100%



A partir de nos résultats obtenus, on remarque que les trois souches de *K.oxytoca* sont résistantes à l'ampicilline(AM), amoxicilline + acide clavulanique(AMC) et céfotaxime (CTX) est de 100%, par contre ces souches présente une sensibilité à 100% pour céfoxitine (FOX) et l'imipenème (IPM).

- ▶ Presque toutes les souches des *K.oxytoca* sont résistantes à l'Augmentin (AMC).
- ▶ Les 3 souches isolées sont sensibles à imipenème (IPM).

Discussion général

Au cours de notre stage nous avons étudié les étapes microbiologiques des infections urinaires, afin de voir l'évolution de ces infections urinaires, cette étude est basée sur les résultats des études cytobactériologiques des urines.

D'après les résultats de l'ECBU, le faible pourcentage de positivité (34%) par rapport à la négativité trop élevée (60%) peut être dû probablement à une antibiothérapie préalable. Par ailleurs, il s'agit dans certains cas d'un ECBU de contrôle. D'après les résultats la fréquence des IU est très élevée chez les patients externes (20%) par rapport aux patients interne (14%) ; ces résultats nous permet d'affirmé que les patients externe sont moins résistant par rapport aux patients internes, car ces malades internes sont sous traitement, ce qui favorise la sensibilité des germes aux antibiotiques (**Corsia et al., 1999**)

Par ailleurs la répartition selon le sexe montre que les femmes sont les plus atteintes que les hommes par ce type d'infection (**Woolf et al., 2003**), généralement est à cause des raisons anatomiques : chez les femmes l'urètre court qui permet aux bactéries pathogène d'atteindre facilement la vessie ,Ya-t-il d'autre facteurs favorisant l'infection chez la femme : les femmes sexuellement active, la grossesse, certaines habitudes d'hygiène (toilette intime avec des produits qui déséquilibre la flore bactérienne habituelle du vagin) qui favorisent la colonisation des bactéries d'origine digestive, et aussi la modification de l'acidité vaginale par diminution normale des hormones (œstrogène) (**Chafai, 2008**). Par contre l'homme est beaucoup moins sensible aux infections des voies urinaires grâce à la longueur de l'urètre et la présence des substances bactéricides dans le liquide de la prostate, l'incidence augmente à 50ans avec l'apparition des problèmes prostatiques.

Les fréquences des microorganismes mise en cause dans les infections urinaires sont dues essentiellement aux Entérobactéries notamment les bacilles à Gram négatifs et particulièrement *Escherichia coli* (68%) suivie de *Klebsiella* (32%). La physiopathologie de l'IU qui est en générale ascendante, il existe une forte colonisation du périnée par les entérobactéries d'origine digestive, et en particulier *E. coli* possède des adhésines, capables de lier la bactérie à l'épithélium urinaire. De plus, la présence des levures (13%) de genre candidas particulièrement *candidas albicans*, les Candidats ont la possibilité d'exprimer des facteurs de virulences qui favorisent la colonisation et l'invasion tissulaires en sécrétant des protéases et des phospholipases, les facteurs responsables du passage l'état saprophytique à l'état pathogène

Discussion général

Diabète, présence de sonde ou cathéter urinaire, anomalies fonctionnelles ou anatomique de l'appareil urinaire, stase urinaire, immunodépression, acte chirurgical urologique, sexe féminin grossesse. (HELENE et al., 2007)

L'étude relative à l'antibiogramme, la répartition des fréquences de sensibilité et de résistance des différents germes impliqués dans l'infection urinaire aux antibiotiques spécifique testés. Les 3 souches isolées et identifier qui font partie des entérobactéries tel que : *E.coli*, *K.pneumoniae*, et *K.oxytoca* elles sont sensibles a les ATB testés de la famille des β - lactamines : imipinème (IPM) et Gentamicine (GEN), donc ces derniers ATB peuvent t'être considéré comme un traitement efficace contre les germes isolées présentent dans les IU. En revanche les souches isolées sont résistants à l'Augmentin (AMC) ne peut pas être un traitement de choix.

Les principaux facteurs de risque révélés des bactéries multi-résistantes : une prise antérieure d'antibiotique de type amoxicilline, C2G, fluoroquinolones, L'âge > 60ans, Sexe féminin, Diabète, IU récidivantes. (Vorkauffer.S, 2011).

Une bactérie résistante a un ATB deviens souvent résistante a plusieurs. Deux phénomènes contribuent à la multi-résistance aux ATB sont : soit la résistance croisée, qui permet au bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE) présentes chez les bactéries à Gram négatifs d'avoir une résistance et d'être pas inhibé par l'acide clavulanique, le sulbactam ou le tazobactam. (Giguere et al., 2007), ou la co-résistance, ces gènes de résistance à différents classes d'ATB sont souvent portés sur le même plasmide comme *E.coli*, un seul plasmide régule la sensibilité aux céphalosporines, pénicillines, tétracycline et fluoroquinolone. Ainsi l'acquisition d'une résistance à l'une de ces molécules, entraine une résistance aux autres familles. (Giguere et al., 2007)

Le développement De nouvelle approche thérapeutique de Certaines entreprises de biotechnologies, placent leurs espoirs dans les phages, ces virus capables de s'attaquer spécifiquement à des bactéries. Des essais cliniques sont d'ailleurs en cours pour évaluer leur intérêt pour traiter les différentes infections possibles. D'autres équipes songent à développer des anti virulents, c'est-à- dire des molécules qui ne tuent pas la bactérie mais qui inactivent les facteurs de virulence qui la rendent dangereuse pour l'Homme. (Xavier.N, 2019)

Conclusion

L'infection urinaire demeure une pathologie très fréquente, elle peut aussi avoir des conséquences pathologiques sévères et entraînent des complications graves, notamment des atteintes de la fonction rénale.

A la lumière des résultats obtenus de cette étude au cours de notre période de stage, on a noté : Une prédominance des IU avec un ECBU positif chez le sexe féminin que le sexe masculin.

L'examen cytologique nous a permis de mettre en évidence la présence de leucocytes, d'hématies, de cristaux, bactéries et les levures.

Un examen microbiologique pour leur dénombrement a montré qu'on isole surtout *les Entérobactéries* (81%) et en particulier *E.coli* (68%), et les levures (13%) qui dépendent de l'ECBU et identification grâce à des galeries biochimiques on a pu identifier trois espèce appartenant à la famille des entérobactéries comme : *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *klebsiella oxytoca* et un seul type de candida : *C.albicans.*, Ainsi qu'un antibiogramme pour voir leur sensibilité ou résistance aux certains antibiotiques, nous avons constaté :

Les 3 souches isolées et identifier sont sensibles a les ATB testés de la famille des β -lactamines : imipinème (IPM) 89%, suivie de Gentamicine (GEN) 88%, donc ces derniers ATB peuvent être un traitement adéquat contre ces germes isolées présentent dans les IU.

Une grande résistance des entérobactéries vis-à-vis de l'AM avec 94,11% suivie de l'AMC avec 88%, la résistance pour C3G est de 70%.

En conclusion Le diagnostic de l'IU repose sur la bonne interprétation de l'ECBU et l'antibiothérapie doit être adaptée à l'antibiogramme bien réalisé, et la prévention pourrait permettre de réduire d'une façon significative le taux de ces infections.

Référence bibliographique

- A. François1, H. Brandstätter1, A.-C. Bréchet1, A. Huttner.,2013**_Infectons urinaires. D. Vuille et H. Stalder, geneve
- Anofel, Sandrine Houzé, Françoise Botterel-chartier.,2018**–parasitologie et mycologie médical_Guide analyses et des pratiques diagnostiques, Elsevier Masson.,520 page.
- **APPIT** (Association des Professeurs de Pathologie Infectieuse et Tropicale). Maladies infectieuses. (1995). 4ème édition. LE POPI. pp. 5, 16, 17
- Andreu .M et Mainardi J-L,2003** : Que doit –on connaitre de la microbiologie pour prescrire un antibiotique ?. la revue de praticien N° 53.
- Albert .S , Jean. P., 2009**-Physiopathologie des Infections urinaires. A. SOTTO & JP. LAVIGNE,montpellier
- Avril, J-L., Dabernat, H., Denis, F., Monteil, H. (1992)**. Bactériologie clinique. 2^{ème} Édition. Paris : ellipses-marketing
- **Avril J- L, Dabernat H, denis F et monteil H Bactériologie** clinique 3eme edition paris : Ellipses : 2000
- **Benmezdad.A.**Candida et candidose.laboratoire de parasitologie et mycologie. Faculté de médecine-université de constantine
- **Bréchet.C , 2014**- Antibiotiques :quand les bactéries font de la résistance.la lettre de l'institut de pasteur.
- Bernard.cl.1860, None,p.148** ; céline, voyage, 1932,p.524
- **Berthet.J ,2012**- Définition très complète du mot antibiotique .dictionnaire de la biologie
- Bourouda. N , 2010**- PLACE DE L'ANTIFONGIGRAMME DANS LA PRISE EN CHARGE DES INFECTIONS FONGIQUES(en ligne).thèse de doctorat en pharmacie.université de rabat.202P.
- Bidet P., Bingen E (2007)**. Bacilles à Gram négatif aéro-anaérobies. In : Denis F., Ploy M.,Martin C., Bingen E., Quentin R. (Eds). Bactériologie Médicale.Techniques usuelles.Paris. pp293-296.
- **Berche P, Gaillard (J.L) et simonet M** bactériologie les infections humaines paris : Flammarion médecine sciences, 1er édition, 1988 : 660 p.

- **Bennett P.M. (2008).** Plasmid encoded antibiotic resistance: acquisition and transfer of antibiotic resistance genes in bacteria. *British Journal of pharmacology*; 153: 347-357
- **Bonacorsi S. (2007).** Examen cyto-bactériologique des urines (ECBU). In : Denis F., Ploy M.C., Martin C., Bingen E. et Quentin R. *Bactériologie médicale: Techniques usuelles*. Ed. Elsevier Masson, Paris, 180-183 p.
- **Chafai N. (2008).** Les infections urinaires à l'hôpital Militaire Avicenne de Marrakech. Thèse de doctorat, faculté de médecine et de pharmacie. Université Mohamed V, Rabat, 160 p
- **Courcol R. (2010).** Rémic, Référentiel en microbiologie médicale. Société Française de Microbiologie-SFM, 4e édition.
- **Denis .F., Ploy M.C., Martin C., Bingen E. et Quentin R.** *Bactériologie médicale: Techniques usuelles*. Ed. Elsevier Masson, Paris, 180-183 p.
- **Daniel J. G. Thirion, M.Sc., Pharm.D., BCPS,** est professeur adjoint de clinique à l'Université de Montréal et pharmacien à l'Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal.
- **François D, Marie C, Christin M, Edouard B, Roland Q. (2012).** *Bactériologie médicale, techniques usuelles, infections urinaires*. Elsevier Masson, 2012.2, révisée.
- **François, H., Brandstätter, A., Bréchet, C., Huttner, A. (2013).** *Infections Urinaire*. HUGDMCPRU- Service de médecine de premier recours.
- **François.D -Bactériologie médicale Techniques usuelles,** éditeur ELSEVIER / MASSON, livre neuf année 2016, isbn 9782294746161
- **Guillonnet, B., Vallancien, G. (1999).** *Urologie*. Collection Inter Med, Doin ed., Paris
- **Gupta K, Hooton TM, Naber KG, Wullt B, Colgan R, Miller LG, et al.** International Clinical Practice Guidelines for the Treatment of Acute Uncomplicated Cystitis and Pyelonephritis in Women: A 2010 Update By the Infectious Diseases Society of America and the European Society for Microbiology and Infectious Diseases. *Clin Infect Dis* 2011 Feb 2;52(5):e103–20.
- **Hélène, D., Hélène, M., Nathalie, B., Sylvie, M-C. (2007).** Diagnostic et suivi des infections urinaires le bon usage de l'examen cyto-bactériologique des urines. Faculté de Montpellier - Nîmes, pp.6

- **Janvier F., Mbongo K. E., Mérens A., Cavallo J.D. (2008).** Les difficultés d'interprétation de l'examen cyto bactériologique des urines. Francophone du laboratoire. 406 : 51-59.
- **Kassa A., Wolde M. et kibret B. (2002).** Urinalysis. Polycopie. For Medical Laboratory Technology Students, Ethiopia, 127 p.
- **KENKOUO Guy .A.,2008**-Yaoundé -ÉTUDE BACTÉRIOLOGIQUE DES INFECTIONS URINAIRES AU CENTRE PASTEUR du Cameroun, cameroun.
- **Krieg R et J.G. Holt :** Bergey's manual of systematic bacteriology , vol. 1, The Williams a wilkins Co, Baltimore, 1984.
- **Laprent JP :** introductionna lannouvelle classification bactériens. Chez TEC et DOC. 2000
- **Leroy V, Mariani-Kurkdjian P.** Épidémiologie et diagnostic des infections urinaires. Médecine thérapeutique / Pédiatrie. Volume 7, Numéro 3, 173-9, mai-juin 2004.
- **Lobel B. et Soussy C. (2007).** Les infections urinaires. Ed. Springer, Paris,238p.
- **LOZNIEWSKI .A, 2010**-résistance bactérienne aux antibiotiques. Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux – Infections associées aux soins.
- **MACFADDIN, J. F.,2011**- Oxidase test, Biochemical test for Identification of Medical Bacteria, 154-162.
- **Mérens A., Servonnet A. (2010).** Mécanisme et épidémiologie de la résistance aux fluoroquinolones en 2012. Revue Francophone des Laboratoires ; 33 (422) : 33-41
- **Mohamed H. (2016).** Epidémiologie des infections nosocomiales : A propos de 70 cas. La Tunisie Médicale, 401-406.
- **parrat.D.,2017**-urétrit. Service de médecine de premier recours – DMCPRU – HUG , genève,12.
- **Pechere, J.C., Acar, j., Armengaud, M., Grenier, B., Moellering, R., Sande, M., Waldvogel, F., Zinner, S. (1991).** Les infections (chapitre 20 : infections urinaires).3éme édition. Paris : edisem, pp 334-338.

- **Rahal.K , Belouni.R, Benslimani.A , Tali-Maamar.H , Missoum.M.F.K , Boudouane.M , Aboun.A , 2005**-standardisation de l'Antibiogramme Humaine A l'Echelle Nationale. 4ème édition.95p.

-**Stéphanie V, (2011)**. Thèse de doctorat -Les infections urinaires communautaires bactériennes de l'adulte : prise en charge diagnostique et thérapeutique. Résultats de deux tours d'un audit clinique réalisé par 66 médecins généralistes lorrains. Hal.unver-lourrains.fr.hal-01733536.

- **Sobel. JD et al., 2011**-Candida urinary tract infections-epidemiology. Clin infect dis, S433-6

- **Sougakoff W et Trystram D, 2003** : résistances aux beta-lactamines. Université paris-VI pierre et Marie Curie Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière Service de Bactériologie-Hygiène du CHU pitié- Salpêtrière.

-**Vincent.M,2012** -Faculté de Médecine Pierre et Marie Curie, site Pitié-Salpêtrière, 91 boulevard de l'Hôpital, 75013 Paris, France.

-**Vorkauffer,S.,2011**-Les infections urinaires communautaires bactériennes de l'adulte : prise en charge diagnostique et thérapeutique.th.doctorat : troisième cycle de médecine générale. Université henri Poincaré, Nancy 1, pp. 25-27-35.

-**Weber.M ,2003**- les pièges de l'antibiogramme.

- **Woolf S.H., Batissta R.N. et Angerson G.M. (2003)**. New grades for recommendations from the Canadian Task Force on Preventive Health Care. *CMAJ*. 169: 8-207.

Les sites web consultés :

<https://microbiologiemedicale.fr/anatomie-appareil-urinaire/>

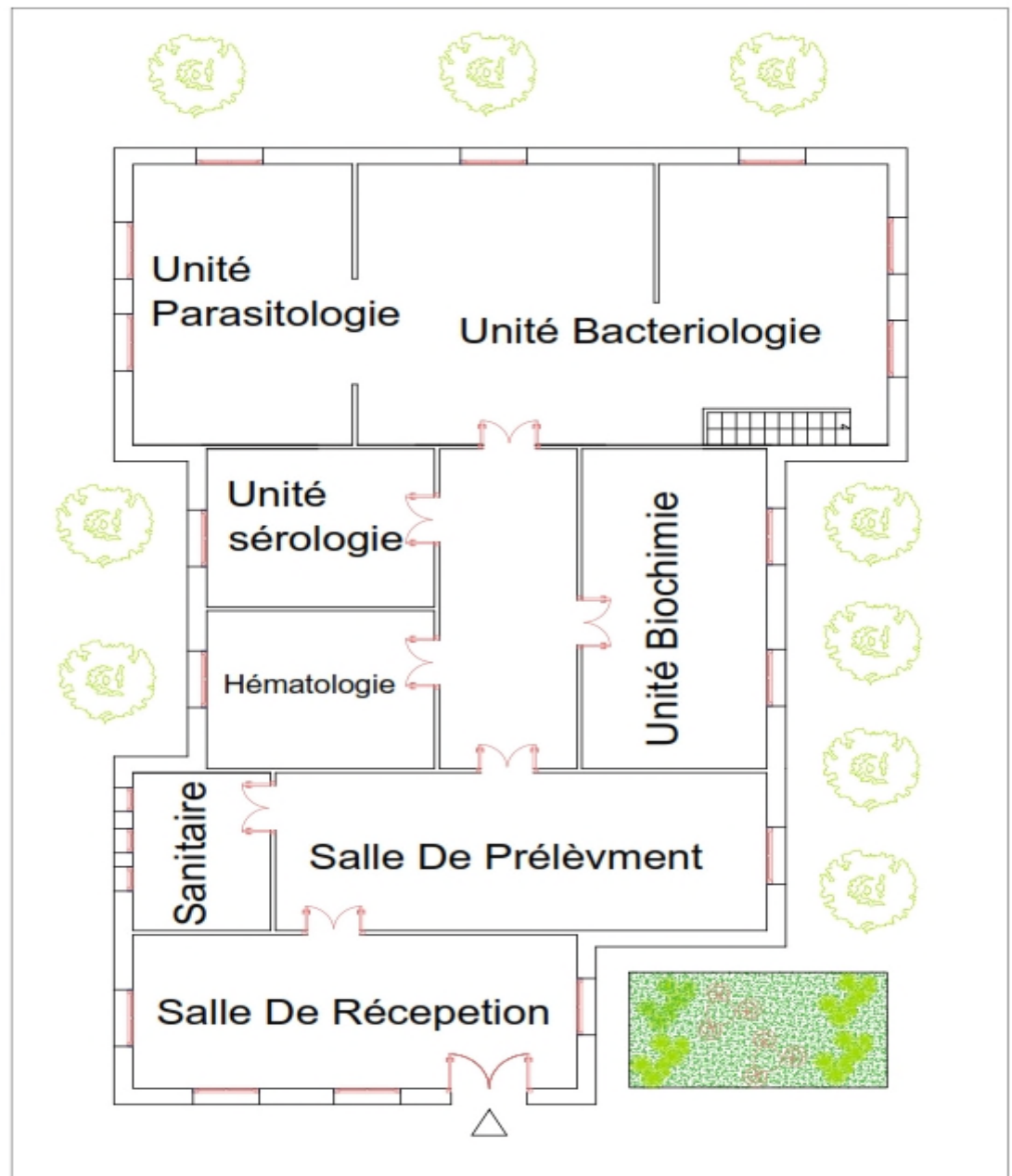
<https://www.antibiotique.eu/deacutefinition--histoire.html>

<https://www.cnrtl.fr/definition/urine>

Annexe

Annexe N°1 :

Description de laboratoire central de l'E.P.H.Kolea :



Annexe N°2 :

SECTEUR SANITAIRE DE KOLEA

مستشفى القلبعة

HOPITAL DE KOLEA

LABORATOIRE CENTRAL

DEMANDE D'ANALYSE

Docteur:.....

Nom et Prénom du malade :.....

Age :..... Sexe:.....

Service :..... Salle :..... Lit N° :.....

Nature du prélèvement :..... Dossier N° :.....

Date :..... Heure :.....

Exam en demandés :.....

Diagnostic :.....

Traitement éventuel :.....

Signature du médecin,

Figure : exemple de fiche de renseignement

Annexe N°3 :

Tableau : représente les caractères biochimiques des principaux genres d'entérobactéries causants des infections :

	Glue	Lact	ON PG	Indole	VP	Citrate	Mobilité	Urée	TDA	H ₂ S
<i>Escheichia</i>	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-
<i>Citrobacter</i>	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+/-
<i>Enterobacter</i>	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-
<i>Klebsiella</i>	+	+	+	+/-	+	+	-	+	-	-
<i>Serratia</i>	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-
<i>Salmonella</i>	+	-	-	-	-	+/-	+	-	-	+
<i>Shigella</i>	+	-	+/-	+/-	-	-	-	-	-	-
<i>Proteus</i>	+	-	-	+/-	-	+/-	+	+	+	+/-
<i>Providencia</i>	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-
<i>Yersinia</i>	+	-	+	+/-	+	-	+	+	-	-

(Krieg et Holt, 1984)

Annexe N°4 :

Tableau : Interprétation de l'ECBU

Leucosurie	Bactériurie	Numération B/ml	Interprétation et conduire à tenir
Absence de leucocytes	Absence de germe	$Nm \leq 10^3$ b/ml	Urine normale, non infectée
Nombreux leucocytes de 20 à 30/champ	Nombreux ou très nombreux germes plus de 30 germes /champ	$Nm \geq 10^5$ b/ml	Infection urinaire habituellement monomicrobienne. La présence de plusieurs espèces bactériennes signifie la présence d'une contamination
Absence de leucocytes	Nombreux ou très nombreux germes plus de 30 germes /champ	$Nm \geq 10^5$ b/ml	La discordance entre l'absence des réactions cellulaires et l'importante bactériurie fait évoquer plusieurs hypothèses : *infection débutante *contamination due au prélèvement avec mise en culture tardive. *infection sur terrain particulier (femme enceinte immunodéprimé). Un nouveau prélèvement est nécessaire.
Quelques leucocytes	Assez nombreux germes de 10 à 15 germes/champ	$Nm \geq 10^5$ b/ml	Contamination par prélèvement incorrect probablement, mais l'origine infectieuse ne peut pas être écartée Un nouveau prélèvement nécessaire
Nombreux leucocytes de 20 à 30 /champ	Absence de germes	$Nm \leq 10^3$ b/ml	La leucocyturie sans germes évoque la possibilité d'une infection par espèce bactérienne nécessitant une recherche spéciale qu'il faut entreprendre, essentiellement les bacilles de Koch, mais il peut s'agir d'une infection traitée par antibiotiques ou d'une cause non bactérienne
Quelques leucocytes	Quelques germes	$10^4 \leq Nm \leq 10^5$ b/ml	Prélèvement douteux à refaire.

Annexe N°5 :

Tableau : les caractères étudiés dans la galerie classique.

Caractère étudiés	Milieux	Technique d'ensemencement	Résultat		Interprétation physico-chimique
			Négatif	Positif	
Source de carbone	Citrate de Simmons solidifié en position inclinée	Une strie unique	Vert	Bleu	Dégradation de l'acide citrique.
Catabolisme des glucides	TSI en position inclinée, culot de 3cm	Stries serrées et pique centrale	Rouge-orange	Jaune	Acidification et catabolisme de glucose, lactose, saccharose.
Production d'hydrogène sulfuré	TSI	Stries serrées et pique centrale	Absence de dépôt noire	Dépôt noire	L'hydrogène sulfureux produit à partir de thiosulfate et réagit avec les sels de fer
Gaz	TSI	Stries serrées et pique centrale	Absence de bulles	Des bulles dans le culot	Production de gaz
Enzyme intracellulaire B-galactosidase et certaines bactéries capables de diviser le lactose en glucose +galactose	Disque ONPG prêt à l'emploi	Dépôt du disque dans suspension bactérienne	Incolore	Jaune	L'ONPG scinder par l'enzyme Beta-galactosidase libérant l'orthonitrophényle composé jaune. Cette enzyme est possédée chez les entérobactéries qui fermentent le lactose
Dérivé de l'acide pyruvique : production d'acétoïne.	CLARK et LUBS	Déposer quelque goutte de la suspension bactérienne	Addition de VP1+VP2		L'acide pyruvique est transformé en acétone
			Négatif	Positif	
			Incolore	Rose Rouge	

Métapilisme des protides : 1. Uréase	Urée-indole	Mettre 3à4 gouttes de la suspension bactérienne	Jaune	Rouge	Libération de NH₃ et CO₂ à partir de l'urée cela provoque le virage de l'indicateur de Ph du jaune au rouge, qui est due à l'alcalinisation du milieu
2. TDA		Après lecture de l'uréase mettre dans le même milieu une goutte de perchlorure de fer (TDA)	Pas de virage	Marron foncé	Le TDA agit sur le tryptophane en donnant l'acide indole pyruvique qui en présence de perchlorure vde fer donne un précipité brun.
3. indole		Après lecture de l'uréase et TDA mettre dans le même milieu une goutte du réactif de KVACS.	Pas de virage	Anneau rouge	Le métabolisme du tryptophane aboutit à la formation d'indole qui forme un complexe coloré avec le réactif.
4. Décarboxylase	Moller flokow renferme acide aminé a recherche Ornithine Lysine Argénine sans acide aminé	Mettre 2 à 3 gouttes de la suspension dans les trois milieux ➤ ➤ ➤ ➤ Puis recouvrir avec de l'huile de vaseline	Jaune Jaune Jaune Violet (sans virage)	Violet Violet Violet Jaune	LDC et ODC scindent les acides aminés qui entraînent la formation de l'amine avec le CO ₂ L ABH aboutit à la formation d'une NH ₃ . La présence de ces amines entraîne l'alcalinisation du milieu. Dans un premier temps, les bactéries font fermenter le glucose, ce qui entraîne une baisse suffisante de pH pour favoriser la synthèse de l'enzyme

Annexe N°6



Figure : identification biochimique de *Proteus mirabilis*



Figure : identification biochimique de *Proteus morgani*

Annexe N°7 :

Tableau : lecture de la galerie Api 20 E

Tests	Substrats	Réaction	Résultats	
			Négatif	Positif
ONPG	Ortho-nitro-phényl-galactoside	Réactions/enzymes	Incolore	Jaune(1)
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orange (2)
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orange
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orange(2)
Cit	Citrate de sodium	Utilisation de citrate	Vert pale/jaune	Bleu-vert/vert (3)
H2S	Thiosulfate de sodium	Production de H2S	Incolore/grisâtre	Dépôt noir/fin liseré
Urée	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/orange
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA / immédiat jaune	TDA/ immédiat marron foncé
IND	Indole	Production d indole	kovacs / 2mn jaune	kovacs / 2 mn anneau rouge
VP	Pyruvate de sodium	Production d acétoïne	VP1+VP2 / 10 mn incolore	VP1+VP2 / 10 mn rose-rouge
Gel	Gelatine de kohn	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
Glu	Glucose	Fermentation Oxydation (4)	Bleu/bleu-vert	jaune
MAN	Manose	Fermentation Oxydation (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation Oxydation (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
SOR	Sorbitol	Fermentation Oxydation (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
RHA	Rhamnose	Fermentation Oxydation (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
SAC	Saccharose	Fermentation Oxydation (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
MEL	Melibiose	Fermentation Oxydation (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation Oxydation (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
ARA	Arabinose	Fermentation Oxydation (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune

Annexe N°8 :

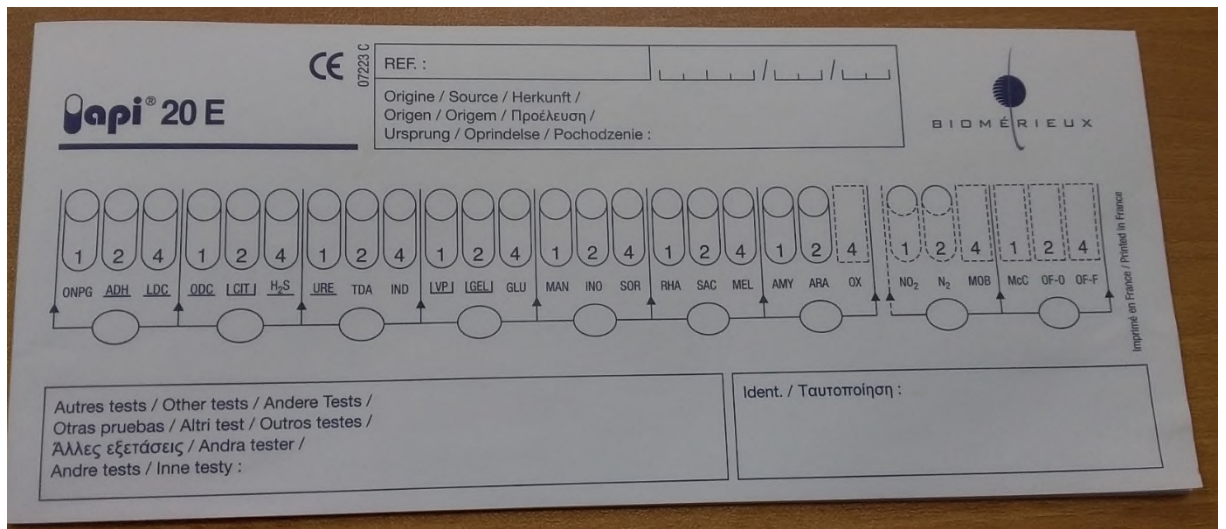


Figure : fiche de lecture de la galerie API20E.

Annexe N°9 : Guide d'interprétation des réactions colorées

	Cupule	Test	Couleur/Interprétation	
Témoin Négatif	C.Neg	Contrôle négatif	Bleu	//////////
			Négatif	Positif
Tests d'assimilation des sucres	GLU	Glucose (Témoin positif)	Bleu (a) ou Vert	Jaune (b) ou Incolore
	MAL	Maltose		
	SAC	Saccharose		
	GAL	Galactose		
	LAC	Lactose		
	RAF	Rafinose		
	INO	Inositol		
	CEL	Cellobiose		
	TRE	Trehalose		
	ADO	Adonitol		
	MEL	Melezitose		
	XYL	Xylose		
	ARA	Arabinose		
Tests enzymatiques	HEX	Détection de l'activité N-acétyl-galactosaminidase (hexosaminidase)	Incolore	Jaune
	Pox/pro	Détection de l'activité phénoloxydase de <i>Cryptococcus neoformans</i> (POX)	Incolore ou Gris ©	Marron
		Détection de l'activité proline-arylamidase (PRO)		Jaune (b)

Annexe N°10 :

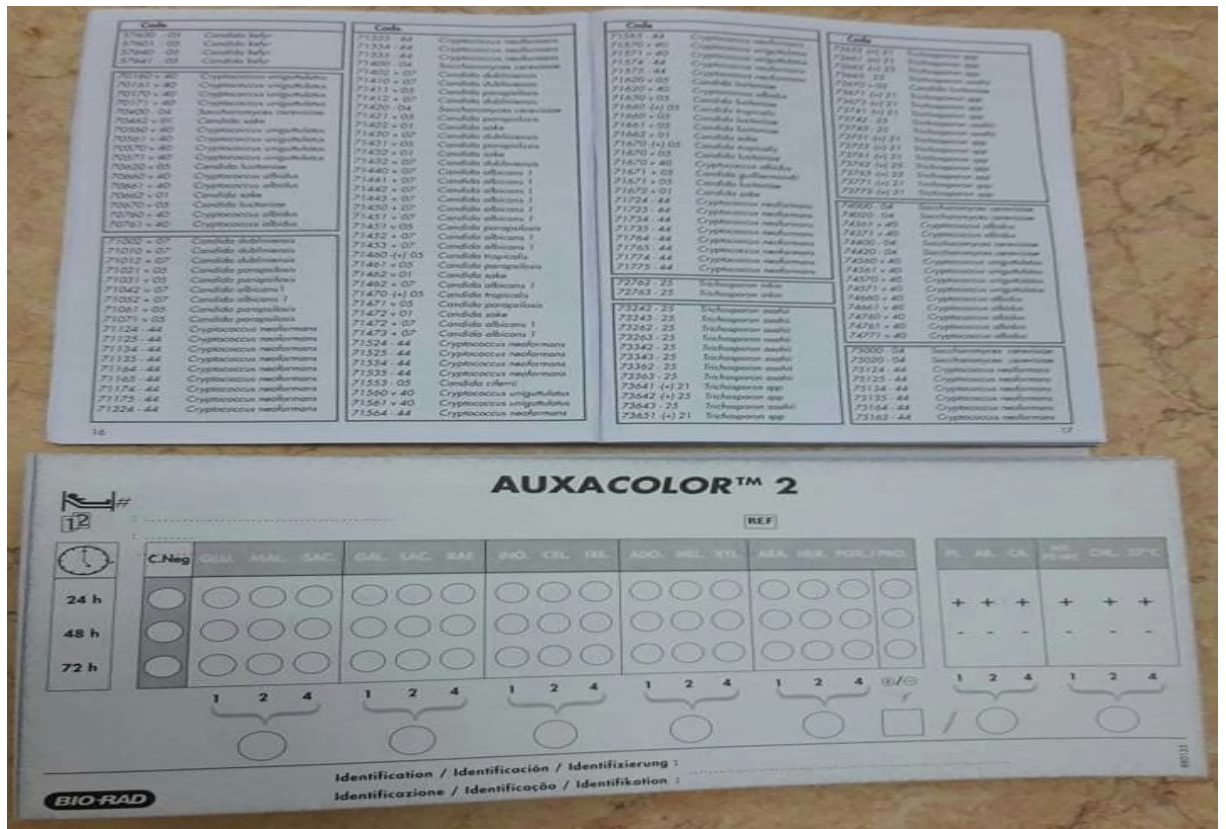


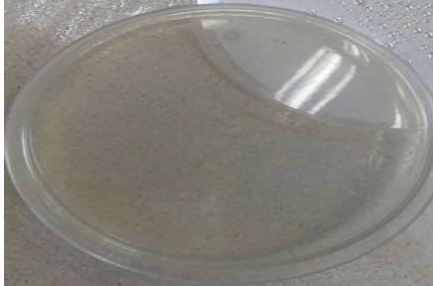
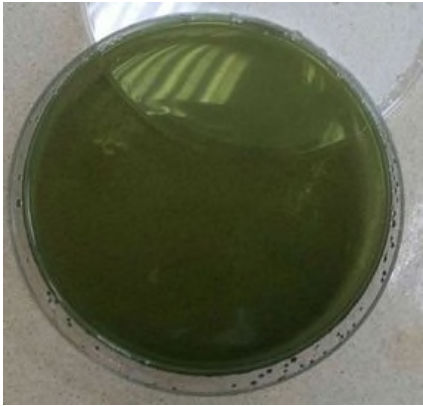
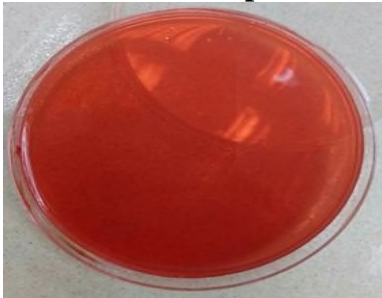
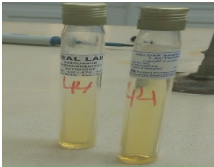
Figure : fiche de lecture de la galerie Auxacolor

Annexe N°11:

Tableau : tableau de lecture de l'antibiogramme des entérobactéries

Antibiotiques testés	Charge des disques	diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)		
		R	I	S	R	I	S
Ampicilline	10µg	≤ 13	14-16	≥ 17	≥ 32	16	≤ 8
Amoxicilline-ac.clavulanique	20/10 µg	≤ 13	14-17	≥ 18	≥32/16	16/8	≤ 8/4
Céfazoline	30 µg	≤ 19	20-22	≥ 23	≥ 8	4	≤ 2
Cefalotine	30 µg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Cefoxitine	30 µg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Cefotaxime	30 µg	≤ 22	23-25	≥ 26	≥ 4	2	≤ 1
Imipenème	10 µg	≤ 19	20-22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1
Amikacine	30 µg	≤ 14	15-16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16
Gentamycine	10 µg	≤ 12	13-14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4
Acide nalidixique	30 µg	≤ 13	14-18	≥ 19	≥ 32	-	≤ 16
Ciprofloxacine	6 µg	≤ 16	16-20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1
Chloramphénicol	30 µg	≤ 12	13-17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Furanes	300 µg	≤ 14	15-16	≥ 17	≥ 128	64	≤ 32
Fosfomycine	200 µg	≤ 12	13-15	≥ 16	≥ 256	128	≤ 64
Cotrimoxazole	1.25/23.75µg	≤ 10	11-15	≥ 16	≥ 4/76	-	≤ 2/38

Annexe N°12 :

Milieux	composition	Utilisation
<p>Gélose nutritive :</p> 	<ul style="list-style-type: none"> -Extrait de viande de bœuf 1g -Extrait de levure.....2g -Peptone..... 5g -Chlorure de sodium.... 5g -Agar..... . 15g <p style="text-align: center;">PH=7,4</p>	<p>Milieu d'isolement des germes non exigeant</p>
<p>Gélose Hektoen</p> 	<ul style="list-style-type: none"> -Extrait de levure..... 3g -Protéase de peptone..... 12g -Lactose..... 12g -Saccharose..... 2g -Salicine..... 2g -Citrate ferrique1,5g -Fuschsine acide 0,1g -Bleu de promothymol ...0,065g -Chlorure de sodium5g -Thiosulfate de sodium..... 5g -Agar 13g 	<p>Isolement des entérobactéries</p>
<p>Gélose chapman</p> 	<ul style="list-style-type: none"> -Peptone.....10g -Extrait de viande de bœuf...1g -Chlorure de sodium....75g -Mannitol.....10g -Rouge de phénol.....0.025g -Agar.....15g <p style="text-align: center;">pH=7.5</p>	<p>Isolement des staphylocoques</p>
<p>Gélose sabouraud+ATB+Actidione</p> 	<ul style="list-style-type: none"> -Peptone.....10g -Glucose massé.....20g -Agar.....15g -vitamines et facteurs de croissances <p style="text-align: center;">pH= 6</p>	<p>Sabouraud pour la croissance des levures Actidione : élimination de la croissance des moisissures ATB : élimination de la croissance des germes</p>