

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE BLIDA -1-
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE CELLULAIRE

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

Option : Microbiologie - Bactériologie

Thème :

**Etude cyto bactériologique de l'urine chez la femme
enceinte au niveau de l'établissement public
hospitalier de Boufarik**

Présenté par :

Date de soutenance : 29 / 06 / 2017

M^{elle} MAIGA Habibatou

Devant les jurys :

Mr BENYAHIA N.	MAA	U. Blida1	Président
Mme KHALDOUN H.	MCB	U. Blida 1	Examinatrice
M ^{me} AIT SAADI N.	MAA	U. Blida 1	Promotrice
Dr LASSAS K.	Med. Biologiste	EPHB	Co-promotrice

Promotion: 2016-2017

Remerciement

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, de m'avoir aidé dans la réalisation de ce travail.

*J'exprime mes profonds remerciements à madame **AIT SAADI. N** pour l'aide compétente qu'elle m'a apporté. Son œil critique m'a été très précieux pour la réalisation de ce travail.*

Je remercie également les membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail en acceptant de l'examiner et de me faire bénéficier de leurs remarques.

Je remercie tous les professeurs qui m'ont enseigné et qui par leurs compétences m'ont soutenu dans la poursuite de mes études.

*Mes vifs remerciements vont au médecin du laboratoire de Boufarik **Dr LASSAS.K** pour m'avoir donné l'opportunité de réaliser ce travail. Encore merci pour votre implication dans ce travail qui m'a été d'un grand secours.*

Je remercie le personnel du laboratoire de Boufarik pour leur aide précieuse.

*A toi ma très chère grand-mère **Mme THERA Dieynaba DIALLO**, au près de qui j'ai appris le sacrifice et la générosité, merci pour ton aide et ton encouragement aux moments opportuns.*

*Je dis merci à tous mes amis pour leur soutien spécialement à **COULIBALY Laurent** qui a su me soutenir et me donner du courage dans les moments difficiles.
Merci pour ton amitié.*

Qu'il me soit permis de remercier toute ma famille pour leur amour et leur soutien constant.

En fin j'adresse mes sincères remerciements à toutes les personnes qui m'ont aidé, soutenu et encouragé tout au long des mes études.

Dédicace

A qui je dois tout aujourd'hui, ma maman **MARIAM**, sans qui je n'aurai probablement pas été à l'école. Chère mère, rien au monde ne vaut l'effort que tu as fournis jour et nuit pour mon bien être et pour que je puisse réussir dans mes études. Veuillez trouver dans ce travail le fruit de ton dévouement et de tes sacrifices ainsi l'expression de ma gratitude et mon profond amour. Puisse Allah te garder et te procurer santé et longue vie.

A maman **ALHOUSNA** qui a toujours été présente pour moi et qui m'a toujours soutenu. Les mots me manquent pour t'exprimer mes sentiments. Je ne peux que te dire merci et encore merci pour tout ce que tu fais pour nous.

A mon cher père qui n'a cessé de me soutenir et de m'encourager tout au long de mes études, qui a cru en moi, qui a toujours répondu présent quand j'ai un besoin et qui n'a jamais cessé de formuler des prières à mon égard pour que je puisse arriver où je suis actuellement. Sache que je suis fière de t'avoir comme Papa. Puisse Dieu le tout puissant t'accorder la santé et une longue vie.

A mon défunt frère **IBRAHIM** et à ma défunte sœur **FATOUMATA** très tôt arrachés de mon affection. Puisse Dieu vous accorder son paradis. Amen !

A la plus adorable des sœurs, ma grande sœur **ADIZATOU** : tu as été et tu seras toujours un exemple pour moi par tes qualités humaines. Ta bonté et ta générosité sont sans limite. Puisse Dieu te protéger et renforcer notre fraternité.

A mon grand frère **MOHAMED**

A la princesse de la famille ma nièce **MARIAMA**

A mes adorables petites sœurs **AISSATA** et **SALAMATA**

A ma cousine chérie **HAMSSATOU**

Et enfin à toute la communauté Malienne de Blida sans oublié mes amis et collègues du lycée et de l'université spécialement ceux de **BLIDA**.

Résumé

Il a été constaté que, niveau de l'Etablissement Public Hospitalier de Boufarik, les infections urinaires deviennent le premier motif d'hospitalisation des femmes enceintes ; raison pour laquelle nous nous sommes engagés dans cette étude. Pendant une période de cinq mois, notre étude basée sur l'examen cyto bactériologique des urines de femmes enceintes nous a permis d'enregistrer 122 échantillons d'urines dont 55 cas d'ECBU positifs avec un taux de 45 % et 67 cas d'ECBU négatifs avec 55 % de négativité. Au total, l'examen a concerné 53 (43%) femmes consultant dont 13 % (7) ont présenté l'infection urinaire et 69 (57%) femmes hospitalisées présentant 39 % de cas positifs.

Les entérobactéries sont les plus fréquemment isolées (93 %) en particulier *Escherichia coli* qui est impliquée dans 60% des cas. Les autres germes impliqués sont *Klebsiella pneumoniae* (27 %), *Streptococcus agalactiae* (5 %), *Proteus mirabilis* (4 %), *Enterobacter* (2 %) et *Staphylococcus ssp.* (2 %).

Chez les entérobactéries, des taux de résistance très élevés ont été enregistrés pour l'amoxicilline (90 %), pour l'amoxicilline+acide clavulanique (78 %) et 33 % pour la céfazoline. Chez les cocci à Gram positif, les streptocoques ont présenté un taux de résistance 33 % pour la clindamycine et la souche de staphylocoque a été résistante seulement à l'oxacilline (OX₁ et OX₅) et à l'acide fusidique. Cependant, le reste des ATB (gentamicine, imipénème, fosfomycine...) demeurent les molécules les plus actives.

Mots clés : Infection urinaire, Femme enceinte, Antibiorésistance, Examen cyto bactériologique, Entérobactéries.

Abstract

In our study based on cytobacteriological examination of urine of pregnant women, 122 urine samples were recorded, 55 of which were positive ECBU with 45 % and 67 cases of negative ECBU with a rate of 55 %. In total, 53 (43 %) were available for consultations, 13% (7) of whom had urinary tract infections, and there were 69 (57 %) women hospitalized, 39 % of whom had positive cases.

Enterobacteriaceae are most frequently isolated (90 %), particularly *E. coli* which is involved in 60 % of the cases. The other germs involved were *K. pneumonia* (27%), *S. agalactiae* (5%), *P. mirabilis* (4 %), *Enterobacter* (2%) and *Staphylococcus ssp.* (2%).

In the enterobacteria, very high levels of resistance were recorded for amoxicillin (90%), amoxicillin+clavulanic acid (78%) and cefazolin (33%). In Gram-positive cocci, streptococci showed a 33% resistance level for clindamycin, and the *Staphylococcus* strain was resistant only to amoxicillin (OX1 and OX2) and to fusidic acid. However, the rest of the ATBs (gentamicin, imipenem, fosfomycin...) remain the most active molecules.

Keywords: Urinary infection, Pregnant woman, Antibiotic, Cytobacteriological examination, Enterobacteria.

ملخص:

لقد تبين علمستو بالمؤسسة الاستشفائية العمومية ببيوفاريك، أن التهابات المسالك البولية أصبحت هي السبب الأول للاستشفاء النساء الحوامل، لهذه الغاية شار كنا في هذا الدراسة . خلال فترة زمنية تقدر بخمسة أشهر، قامت در استنا علنا أساسا اختبار البول للحوامل، لقد سجلنا 122 عينة من البول بما منها 55 حالة من اختبار البول لإيجابية بمعدل 45% و 67 حالة اختبار البول سلبية مع نسبة 55% من السلبية. على العموم، فإن الاختبار تعلق بـ 53 (43%) امرأة استشارية منها 13% (7) تعرضن لدوى التهابات المسالك البولية و 69 (57%) امرأة في المستشفى كانت 39% من نتائج الاختبار حالات إيجابية.

البكتيريا المعوية هي في معظم الأحيان معزولة (93%)، لا سيما *Escherichia coli* التي تشارك في 60% من الحالات، الجرثيمات الأخرى المتورطة هي *Klebsiella pneumoniae* (27%)، *Streptococcus agalactiae* (5%)، *Proteus mirabilis* (4%)، *Enterohacter* (2%) و *Staphylococcus ssp* (2%).

عند البكتيريا المعوية، سجلت مستوى مقاومة عالية جدا للاموكسيسيلين (90%)، لأموكسيسيلين + حمض الكاليفلانك (78% و 33% من سيفازولين. فيمكورات إيجابية الجرام، أظهرت العقديات معدل مقاومة 33% للكينيداميسينو كانت سلالة المكورات العنقودية مقاومة فقط لأوكساسيلين (OX₁ و OX₂) ولحمض الفوسيديك. ومع ذلك فإن بقية المضادات الحيوية (جنتاميسين، الإيميبينيم، فوسفوميسين ...) تبقى الجزئيا أكثر نشاطا.

الكلمات المفتاحية: التهابات المسالك البولية، المرأة الحامل، مقاومة المضادات الحيوية، اختبار الخلايا البكتيرية، البكتيريا المعوية.

SOMMAIRE

Introduction.....	1
CHAPITRE I : Synthèse bibliographique	
I.1. INFECTIONS URINAIRES.....	4
I.1.1. Généralité.....	4
I.1.2. Classifications et formes cliniques des infections urinaires.....	4
I.1.3. Etiologie.....	5
I.1.4. Epidémiologie.....	6
I.1.5. Facteurs de risque potentiel.....	7
I.2. INFECTION URINAIRE CHEZ LA FEMME ENCEINTE.....	8
I.2.1. Physiopathologie de l'infection urinaire de la femme enceinte.....	8
I.2.1.1. Rappel anatomique et physiologique de l'appareil urinaire.....	9
I.2.1.2. Vies d'inoculation des germes uropathogènes.....	10
I.2.1.3. Modifications qui surviennent pendant la grossesse.....	10
I.2.2. Complications des infections urinaires chez la femme enceinte.....	10
I.3. GERMES RESPONSABLES ET ANTIBIORESISTANCE.....	11
I.3.1. Germes responsables.....	11
I.3.2. Antibiorésistance.....	14
CHAPITRE II : Matériel et Méthodes	
II.1. MATERIEL BIOLOGIQUE.....	24
II.2. MATERIEL NON BIOLOGIQUE.....	25
II.3. METHODES.....	25
II.3.1 Prélèvement des urines.....	25
II.3.2. conservation et de transport.....	25
II.3.3. Examen cyto bactériologique des urines (ECBU).....	26
II.3.4. Antibio gramme.....	37
Chapitre III : Résultats et discussion	
III.1. RESULTATS DE LA CYTOLOGIE.....	44
III.2. RESULTATS DE L'UROCULTURE ET DE LA COLORATION DE GRAM.....	47
III.3. RESULTATS DES TESTS BIOCHIMIQUES DES GERMES ISOLEES.....	53

III.4. RESULTATS DES TESTS DE SENSIBILITE DES GERMES ISOLES	68
Conclusion	76
Référence bibliographique	

Liste des figures

N° de Figures	Titres	N° pages
Figure 1	Système urinaire	9
Figure 2	Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques	19
Figure 3	Résistance Extrachromosomique	20
Figure 4	Prélèvements d'urine.	24
Figure 5	Ensemencement de l'inoculum sur la galerie API 20 Strep.	31
Figure 6	Tests biochimiques de la galerie API 20 E (avant incubation)	37
Figure 7	Méthode d'ensemencement par écouvillonnage.	40
Figure 8	Test de confirmation de production de BLSE.	41
Figures 9	Représentation graphique des résultats de la cytologie.	44
Figure 10	Répartition graphique des résultats de la cytologie des cas présentant des leucocytes et bactéries.	46
Figure 11	Répartition graphique de la leucocyturie et de la bactériurie selon la cytologie	47
Figure 12	Observation macroscopique de la culture d'un ECBU positif.	48
Figure 13	Observation macroscopique d'un ECBU contaminé et d'un ECBU négatif	49
Figure 14	Représentation graphique des résultats de l'uroculture en fonction de la cytologie	50
Figure 15	Aspect microscopique des germes après coloration de Gram.	52
Figure 16	Fréquence de germes isolés selon la coloration de Gram.	53
Figure 17	Expression de quelques tests de la galerie classique	54
Figure 18	Expression des tests biochimiques de la galerie API 20 E.	55
Figure 19	Répartition graphique des souches d'entérobactéries isolées selon la galerie classique et la galerie API 20 E.	56
Figure 20	Expression des tests de catalase et de coagulase	58
Figure 21	Expression des tests de la galerie API 20 Strep pour l'identification des streptocoques.	59
Figure 22	Fréquence des résultats des ECBU.	60

(Suite de la liste des figures)

N° de figures	Titres	Pages
Figure 23	Répartition des germes isolés selon l'ECBU	61
Figure 24	Représentation graphique des germes isolés en fonction de la présence de bactéries dans les urines.	63
Figure 25	Répartition des ECBU en fonction de leur provenance	64
Figure 26	Répartition des résultats de l'ECBU en fonction de l'âge des patientes.	65
Figure 27	Répartition des infections urinaires en fonction des périodes de grossesse par trimestre	66
Figure 28	Répartition des cas positifs en fonction des périodes de grossesse par mois	67
Figure 29	Répartition graphique des germes isolés en fonction de l'âge gestationnel.	68
Figure 30	Résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques des souches d' <i>Escherichia coli</i> isolées lors des ECBU	69
Figure 31	Résultat du test de BLSE	71
Figure 32	Résultats des tests de sensibilité des souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i> .	72
Figure33	Tests de sensibilité des souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	73
Figure 34	Représentation graphique des tests de sensibilité des souches de <i>Proteus mirabilis</i> et d' <i>Enterobacter</i> .	74
Figure 35	Profils de sensibilité et de résistance de certaines Souches d'entérobactérie au CTX, à l'AMC, à l'IPM, à la CZ et à au NA	75
Figure 36	Représentation graphique de la sensibilité des souches de streptocoque aux ATB	75
Figure 37	Représentation graphique de la sensibilité des souches de staphylocoque aux antibiotiques	76
Figure 38	Liste des antibiotiques	Annexe III
Figure 39	Procédures suivis par le personnel du laboratoire de Boufarik pour l'examen cyto bactériologique des urines.	Annexe III
Figure 40	Fiche d'orientation utilisée pour l'identification des entérobactéries.	Annexe III

Liste des tableaux

	Numéro de page
1. Bactéries commensales des voies génitales.....	8
2. Complications materno-fœtales survenant dans les infections urinaires chez la femme enceinte.....	11
3. Classification des antibiotiques selon la famille et selon le mode d'action.....	15
4. Condition de conservation de l'urine.....	25
5. Table de lecture du milieu urée- indole.....	33
6. Aspect macroscopique des germes isolés.....	48
7. Résultats des tests biochimiques de la galerie classique.....	54
8. Répartition des codes d'identification en fonction de l'espèce correspondante.....	55
	Numéro d'annexe
9. Appareillage et verreries.....	I
10. Réactifs et solutions utilisés.....	I
11. Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibitions et des CMI, pour <i>Streptococcus spp.</i> Groupe viridans (Autres que <i>S. pneumoniae</i>).....	III
12. Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibitions et des CMI pour les entérobactéries.....	III
13. Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibitions et des CMI pour les staphylocoques.....	III
14. Méthode d'interprétation de la cytologie.....	III
15. Taux de bactériurie pouvant justifier l'identification et l'antibiogramme des germes isolés en fonction du mode de prélèvement, des critères de Kass et du nombre d'espèces isolées.....	III
16. Répartition de l'ECBU selon la cytologie.....	III
17. Répartition de la bactériurie et de la leucocyturie selon la cytologie.....	III
18. Répartition des cas de bactériurie et de leucocyturie significatives ou non significatives....	III
19. Résultats de l'uroculture en fonction de la cytologie.....	III
20. Répartition des germes isolés selon la coloration de Gram.....	III
21. Répartition des germes isolés selon l'ECBU.....	III
22. Fréquence des germes isolés en fonction de la bactériurie.....	III
23. Fréquences des échantillons en fonction de la provenance.....	III
24. Répartition des résultats de l'ECBU en fonction de l'âge des patientes.....	III
25. Répartition des germes isolés en fonction de l'âge gestationnel.....	III
26. Fréquence de la sensibilité aux antibiotiques des souches <i>d'Escherichia coli</i>	III

27. Fréquence de la sensibilité aux antibiotiques des souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	III
28. Résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques des souches de <i>Proteus mirabilis</i> et d' <i>Enterobacter</i> isolées.....	III
29. Résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques des souches de streptocoques.....	III
30. Résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques des souches de Staphylocoque.....	III
31. Résultat des tests de sensibilité des entérobactéries.....	III
32. Table de lecture de la galerie API 20 E.....	III
33. Table de lecture de la galerie API 20 Strep.....	III
34. Résultats de la cytologie des urines positives.....	III

Liste des abréviations

ADH : Arginine déshydrogénase

AM : Amoxicilline

AMC : Amoxicilline +acide clavulanique

AMP : Ampicilline

AN : Amikacine

API20E : Analytical profile index 20E (E= Entérobactéries)

API 20 Strep : Analytical profile index 20 Strep (Strep= Streptocoques)

ATB : Antibiotique

Bact : Bactéries

BLSE : β -lactamase à spectre étendu

C : Chloramphénicol

C1G : Céphalosporine de première génération

C2G : Céphalosporine de deuxième génération

C3G : Céphalosporine de troisième génération

CD : Clindamycine

CIT : Citrate

Cip : Ciprofloxacine

CMI : Concentration minimale inhibitrice

CN : Gentamicine

Coag : coagulase

CT : colistine

CTX: Céfotaxime

CZ : Céfazoline

D.O: Densité optique

E : Erythromycine

ECBU : Examen cytbactériologique des urines

E .Coli : *Escherichia coli*

Enter : *Enterobacter*

FA : Acide Fusidique

FOX: Céfoxitine

GEN : Gentamycine

GN: Gélose nutritive

GSC: Gélose au sang cuit

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

H₂S: Hydrogène sulfide

IPM: Imipénème

IU : Infection urinaire

IUC : Infection urinaire communautaire

Ka : Kanamycine

K. pneumoniae= **K.p** : *Klebsiella pneumoniae*

Lac : lactose

LDC : Lysine décarboxylase

Leuc : Leucocytes

MH : Mueller-Hinton

NA : Acide Nalidixique

Na+: Sodium ions

NaCl: Sodium chloride

Norf: Norfloxacin

OF: Ofloxacin

P. mirabilis : *Proteus mirabilis*

PNA : Pyélonéphrite aigue

Sac : Saccharose

Str : Streptomycine

S. agalactiae : *Streptococcus agalactiae*

TDA : tryptophane désaminase

TE : Tétracycline

TEC : Teicoplanine

TSI : Triple Sugar Iron

VA : Vancomycine

VP : Réaction de Vogues-Proskarver

GLOSSAIRE

Age gestationnel : Semaine gestationnelle (nombre de semaines depuis la fécondation de l'ovule)

Bactériurie : présence de bactéries dans les urines.

Bactériurie asymptomatique : présence, à l'examen cyto bactériologique, d'une bactériurie significative en absence de tout symptôme.

Calcul : concrétion pierreuse qui se forme par précipitation de certains composants de la bile ou de l'urine.

Cervico-vaginite : Inflammation de la paroi vaginale.

Cystite : Atteinte infectieuse de la paroi vésicale.

Dysurie : Miction lente douloureuse.

Hématurie : Présence de sang dans l'urine.

Hypotrophie : Développement insuffisant d'un organe.

Lithiase : Maladie caractérisée par la présence de calculs dans un organe ou dans son canal excréteur.

Méat : Orifice externe de l'urètre.

Miction : Emission naturelle d'urine par évacuation de la vessie.

Mort périnatale = Mortalité périnatale : Nombre de mortinaissances (décès d'un fœtus après 28 semaines de gestation) et de décès néonataux précoces (décès d'enfants de moins d'une semaine).

Nécrose : Mort et décomposition des cellules et tissus dans une zone précise.

Neuropathie : Ensemble des affections du système nerveux périphérique.

Néphrite : Inflammation du rein.

Périnée : Région anatomique située entre l'anus et les parties génitales.

Péristaltisme : Ensemble des contractions musculaires.

Pesanteur pelvienne : une impression de poids des organes génitaux qui pèsent sur le périnée.

Pollakiurie : Augmentation anormale du nombre de mictions.

Prodrome : Symptôme de début d'une maladie.

Pyélonéphrite aiguë: Atteinte rénale par les germes suite à des complications de l'infection urinaire (cystite).

Pyonéphrose : Infection grave du rein qui associe une rétention de pus dans les voies excrétrices intra rénales à une inflammation du parenchyme rénal avec suppuration et réaction inflammatoire des tissus cellulo-graisseux péri-rénaux.

Reflux vésico-urétrale : Remontée des urines de la vessie vers le rein.

Stase : Ralentissement ou arrêt de la circulation normale d'un liquide tel que le sang ou l'urine.

Utérus gravide : Utérus contenant une grossesse (placenta, cordon ombilical, membranes amniotiques et liquide amniotique dans lequel baigne et se développe le fœtus).

Vulvo-périnéale : Relatif à la vulve et au périnée (région anatomique située entre l'anus et les parties génitales).

INTRODUCTION

Il y a des maladies qui sont dues à des « erreurs » dans la biochimie du corps, mais beaucoup d'autres résultent des activités de certains micro-organismes sur le corps ou à l'intérieur du corps. Quelques uns de ces micro-organismes sont à l'origine des infections urinaires notamment chez la femme enceinte et sont très souvent considérées comme banales et bénignes. L'espèce *Escherichia coli* est la bactérie la plus fréquemment isolée dans l'infection urinaire et le premier responsable d'infection urinaire chez la femme (**Lahlou, 2009**).

Les infections urinaires (IU) sont un motif très fréquent de consultation et de prescription médicale en pratique courante, elles viennent en deuxième position des maladies infectieuses contractées par l'Homme dans la communauté après les maladies respiratoires et représentent les infections bactériennes les plus fréquentes chez la femme, surtout au cours de la grossesse, du fait de la conformation de l'appareil urogénital féminin (**Gravey et al, 2017**).

Selon **Taale et al., (2016)**, en moyenne 10 à 20 % des femmes risquent d'être atteintes d'infection urinaire. La fréquence de l'infection urinaire diffère d'un endroit à un autre par exemple, en 2002 les travaux menés au Burkina Faso ont donné un taux de 18.5 %, 16.4 % en Tanzanie, 23.9 % au Nigéria.

Les situations possibles d'infections de l'appareil urinaire de la femme sont désignées par les termes suivants: infection aiguë simple de la femme, infection à risque (ou compliquée), bactériurie asymptomatique. En dehors de tout terrain particulier (facteur de risque), l'infection urinaire est simple. Les facteurs de risque sont: l'âge (moins de 15 ans, plus de 65 ans), la présence d'une uropathie malformative, le diabète, la grossesse qui mérite une attention particulière (**Aouinati et Lessard, 2011**)

Au cours de la grossesse de nombreux changements anatomiques et physiologiques touchent l'ensemble de l'appareil urinaire exposant la femme enceinte aux risques d'infections urinaires (IU) basses ou hautes. Ces modifications sont susceptibles d'entraîner différentes pathologies urologiques, d'altérer la fonction rénale et de menacer la vie du fœtus et de la mère (**EL Bouamri et al., 2014**).

De ce fait, l'examen cyto bactériologique des urines est l'examen microbiologique de certitude qui permet d'affirmer le diagnostic en isolant le micro-organisme responsable et en déterminant la sensibilité de ces micro-organismes aux antibiotiques.

Au niveau de l'hôpital de Boufarik précisément dans le service traitant les infections chez la femme, les infections urinaires chez la femme enceinte deviennent le premier motif d'hospitalisation. Cependant, nous nous sommes engagé dans l'étude cyto bactériologique des urines chez les femmes enceintes à fin de :

- déterminer la fréquence de l'infection urinaire chez les femmes enceintes au sein du centre hospitalier public de Boufarik pendant les 5 mois d'étude,
- identifier les germes responsables,
- déterminer la sensibilité des germes isolés aux antibiotiques.

I.1. INFECTIONS URINAIRES

I.1.1 Généralité

Dans certaines conditions la relation hôte-bactérie peut prendre la tournure d'un conflit, où l'hôte lutte pour sa survie, qui se traduit par une maladie infectieuse. De ce fait on peut opposer deux situations (**Berche et al., 1991**) :

➤ D'une part, l'infection résulte d'un affaiblissement des défenses immunitaires de l'hôte, et ce sont souvent les bactéries de la flore commensale qui envahissent les tissus (bactéries opportunistes).

➤ D'autre part, l'infection peut résulter de la rencontre fortuite de l'hôte immunocompétent avec la bactérie virulente.

L'infection peut être définie comme étant le résultat de l'entrée d'un agent infectieux (bactérie, virus, champignon ou parasite) dans un organisme hôte. Cependant, les infections sont classées selon les organes atteints. Nous parlons donc d'infections urinaires, cutanées, des voies respiratoires et digestives. D'autres bactéries sont capables de se multiplier dans le flux sanguin ; on parle de bactériémie. Souvent, la présence de bactérie viable ou de leur toxine est appelée septicémie (**Levinson, 2014**).

Une infection urinaire se caractérise par la multiplication de micro-organismes au sein de l'arbre urinaire (bactériurie) s'accompagnant d'une réaction inflammatoire avec afflux de leucocytes dans l'urine ou leucocyturie (**Denis, 2007**).

I.1.2. Classifications

I.1.2.1 Classifications des infections urinaires

Il existe actuellement deux classifications des infections urinaires. La première les divise en infections urinaires simples et infections urinaires compliquées. La seconde les classe en infections urinaires basses et hautes. En effet, une infection urinaire « basse » peut être considérée à tort comme une infection facile à traiter. Cependant, parmi les infections urinaires « basses » il existe des cas survenant chez des patients ayant un ou plusieurs facteurs de risque de complication (**BASSI, 2013**).

I.1.2.1.1. Infections urinaires simples ou compliquées

Les infections urinaires simples sont des infections urinaires survenant chez des patients qui ne présentent pas de facteurs de risque de complication. En pratique, elles ne concernent que la femme jeune sans terrain particulier et sans comorbidité. Les infections urinaires simples comprennent les cystites aiguës simples et les pyélonéphrites aiguës simples (**Ducel et al., 2008**).

Les infections urinaires compliquées sont celles survenant chez des patients ayant au moins un facteur de risque pouvant rendre l'infection plus grave et le traitement plus complexe. Elles regroupent les cystites compliquées, les pyélonéphrites aiguës compliquées et les prostatites (**Ducel et al., 2008**).

I.1.2.1.2. Infections urinaires basses ou hautes

Les infections urinaires hautes sont celles où il existe une atteinte parenchymateuse. Comme exemples, nous avons les pyélonéphrites aiguës et compliquées.

Les infections urinaires basses sont des infections urinaires sans atteinte parenchymateuse. Elles se caractérisent par les cystites simples, les cystites compliquées, les cystites récidivantes et les prostatites (**François et al., 2013**).

I.1.3. Etiologie

I.1.3.1. Infection urinaire communautaire

Pour les infections urinaires communautaires (IUC), les germes responsables reflètent à la fois la flore digestive (entérobactéries, streptocoques, anaérobies), la flore cutanée (staphylocoques à coagulase négative, corynébactéries) et la flore génitale (lactobacilles chez la femme) (**Bruyère et al., 2008**).

Enfin des microorganismes autres que les bactéries peuvent être responsables d'IUC comme les parasites (comme exemple *Schistosoma haematobium*) et les champignons (exemple *Candida spp*). Ces germes sont impliqués dans une faible proportion de l'infection et sont surtout retrouvés chez l'immunodéprimé et/ou le diabétique.

I.1.3.2. Infection urinaire nosocomiale

Les infections nosocomiales se définissent comme les accidents infectieux contractés par le malade au cours de l'hospitalisation (**Berche et al., 1991**). En outre, l'infection nosocomiale est une infection qui n'est pas présente ou en incubation lors de l'admission. Par convention, on admet qu'une infection survenant plus de 48 heures après l'admission, ou directement liée à un acte de soins (quelque soit sa date de survenu) est nosocomiale (**Brun-Buisson, 2005**).

Cependant, pour les infections urinaires nosocomiales, il existe une plus grande disparité des germes qu'en ambulatoire.

La gravité de ces infections est accentuée par la nature des bactéries rencontrées (*Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia*, *Enterobacter*,...), souvent résistantes à de multiples antibiotiques (Berche *et al.*, 1991).

I.1.4. Epidémiologie

Les infections urinaires sont un motif de recours fréquent dans les services d'accueil et d'urgence car il s'agit du second site d'infection bactérienne communautaire après l'appareil respiratoire (Bianchi *et al.*, 2013). Cependant, l'épidémiologie de cette pathologie, souvent traitée en ambulatoire, demeure mal connue (Le Conte *et al.*, 2004). La prévalence diffère selon l'âge et le sexe.

❖ Selon le sexe :

Les infections urinaires affectent plus souvent la femme que l'homme. Pour une même tranche d'âge, de 15 à 65 ans, l'incidence est en moyenne dix fois plus élevée chez la femme que chez l'homme pour des raisons anatomiques (distance urètre-anus chez la femme) (Vaubourdolle, 2013). L'urètre étant plus court chez la femme que chez l'homme, il est plus facile pour le germe d'atteindre la vessie et de s'y développer (Bianchi *et al.*, 2013).

❖ Selon l'âge :

• Chez la femme et la jeune fille : elles sont particulièrement fréquentes en raison d'un urètre court, s'ouvrant à la vulve au voisinage du vagin et cette fréquence augmente avec l'âge ; l'un au début de l'activité sexuelle et l'autre en période postménopausique (Singleton *et Dusart*, 1999). La bactériurie asymptomatique existe dans la majorité des cas dès le début de la grossesse et n'apparaît en cours de grossesse que chez 1 % à 3,5 % des femmes. Le risque maximal de survenue de bactériurie asymptomatique se situe entre la 9^{ème} et la 17^{ème} semaine de grossesse. Les Pyélonéphrites aiguës (PNA) surviennent dans 20 % à 40 % des cas bactériuries asymptomatiques non traités qui diminue de 2,5 % à 3 % lorsque les bactériuries sont traitées. Le risque de PNA en dehors du contexte de bactériurie asymptomatique n'est que 1 % (Singleton *et Dusart*, 1999).

• Chez l'enfant : elles atteignent 1 à 3 % des enfants avant l'âge de 11 ans avec une prépondérance féminine globale (Anglaret *et Mortier*, 2002) et témoignent souvent d'une malformation de l'appareil urinaire (surtout chez les garçons).

• Chez l'homme : Elles sont rares chez le jeune mais la fréquence augmente après 50ans en relation avec la pathologie prostatique (Vaubourdolle, 2013).

I.1.5. Facteurs de risque potentiel

I.1.5.1. Facteurs liés à l'hôte

a) facteurs généraux

Selon **Bianchi et al., (2013)**, les facteurs généraux qui influencent l'infection urinaire chez l'hôte regroupent le sexe féminin, l'âge, la grossesse, l'activité sexuelle, l'utilisation de spermicides, les troubles du comportement mictionnel (mictions rares, retenues ou incomplètes), la déshydratation, les troubles du transit (constipation chronique), le volume résiduel de la vessie supérieur à 400 ml.

b) Facteurs liés à la pathologie

Parmi les différentes pathologies favorisant le développement des IU, nous avons comme exemples, le diabète déséquilibré et /ou compliqué (cause de neuropathie vésicale), l'insuffisance rénale et l'immunodépression.

c) Autres facteurs de risque importants

Selon **Binder Foucard (2012)** il existe d'autres facteurs de risque, qui sont :

- Anomalie organique ou fonctionnelle du tractus urinaire: lithiase, lésions congénitales, tumeurs, infections chroniques (tuberculose, bilharziose), lésion inflammatoire de l'urètre, hypertrophie bénigne de la prostate,
- Hygiène périnéale déficiente,
- Vessie neurologique.

I.1.5.2. Facteurs liés à une cause iatrogène

La cause iatrogène majeure des infections urinaires est le geste invasif urologique. Parmi ces gestes invasifs, on distingue trois sous-groupes (**Binder Foucard, 2012**) :

- Les simples procédures diagnostiques : cystoscopie, bilan urodynamique et cystographie.
- Les procédures chirurgicales par voie endoscopique : résection transurétrale de la prostate et lithotripsie.
- Le sondage : sondage vésical ou cathétérisme sus pubien, le sondage intermittent, le drainage continu par voie naturelle ou supra pubien.

Pour un sondage à demeure en système clos, l'incidence journalière d'acquisition d'une infection urinaire nosocomiale varie selon les situations de 3 à 10 % par jour de sondage, avec un risque cumulé de 100 % après 30 jours de sondage.

Le sondage intermittent est une bonne alternative au sondage à demeure car il permet un drainage des urines tout en ayant un risque d'acquisition d'IU plus faible.

I.1.53. Facteurs liés à l'agent pathogène

Toutes les espèces de bactéries ne sont pas identiques sur leur capacité d'induire l'infection. Cette capacité dépend de facteurs liés à l'hôte et de facteurs liés à la bactérie (virulence) (Bruyère et al., 2008). Quand les défenses naturelles de l'organisme sont diminuées, il n'est pas nécessaire que la souche soit virulente pour déclencher l'infection.

Certaines souches de bactéries, dans une même espèce possèdent des facteurs virulents permettant leur ascension à partir de la flore fécale, le milieu vaginal, ou l'espace péri-urétral, jusqu'à l'urètre et la vessie, ou moins fréquemment, jusqu'aux reins, induisant ainsi une inflammation systémique. Différents types de *E. coli* possèdent ces facteurs virulents (Denis, 2002).

I.2. INFECTION URINAIRE HEZ LA FEMME ENCEINTE

I.2.1. Physiopathologie de l'infection urinaire de la femme enceinte

L'arbre urinaire est normalement stérile, à l'exception de la flore des derniers centimètres de l'urètre distal colonisé par les microorganismes d'origine digestive (entérobactéries, streptocoques, anaérobies), cutanée (staphylocoques à coagulase négative, corynébactéries) ou la flore génitale (Tableau I) (lactobacilles chez la femme) (Bianchi et al., 2013).

Cependant l'urine est contaminé physiologiquement lors de son émission par les germes du méat et du tiers inférieur de l'urètre ou du périnée ; et la présence de bactéries dans l'urine suffirait donc à définir l'infection urinaire (Singleton et Dusart, 1999)

Tableau 1: les bactéries commensales des voies génitales

Micro-organismes sans pouvoir pathogène connu sur le tractus génital	<i>Lactobacillus</i> spp., <i>Corynebacterium</i> spp., <i>Neisseria</i> spp., <i>Staphylococcus non aureus</i> .
Micro-organismes commensaux éventuellement associés à des manifestations pathologiques	<i>Candida albicans</i> , <i>Mycoplasma hominis</i> et <i>genitalium</i> , <i>Streptococcus</i> spp, <i>Staphylococcus aureus</i> , bactéries anaérobies, entérobactéries. <i>Gardnerella vaginalis</i> , <i>Mobilincus</i> spp.

Janvier et al., (2008)

I.2.1.1. Rappel anatomique et physiologique de l'appareil urinaire

I.2.1.1.1. Urine

L'urine est un liquide jaune clair, transparent, sécrété par les reins et éliminé par les voies urinaires, qui constitue le principal véhicule d'élimination des déchets de l'organisme (**Damart et Bourneuf, 1994**).

I.2.1.1.2. Voies urinaires

L'appareil urinaire est formé de deux parties : le haut appareil urinaire (constitué des deux reins et les deux uretères) et le bas appareil urinaire (qui est composé par la vessie et l'urètre).

Les reins sont des organes de la taille d'un poing, situés sous les dernières côtes. Chaque rein reçoit, de l'artère rénale, du sang à partir duquel l'urine est produite (**Figure 1**). L'urine est drainée dans chaque rein vers un uretère, qui la conduit jusqu'à la vessie. De la vessie, l'urine sort de l'organisme par l'urètre (**Corsin, 1999; Raven et al., 2014**).

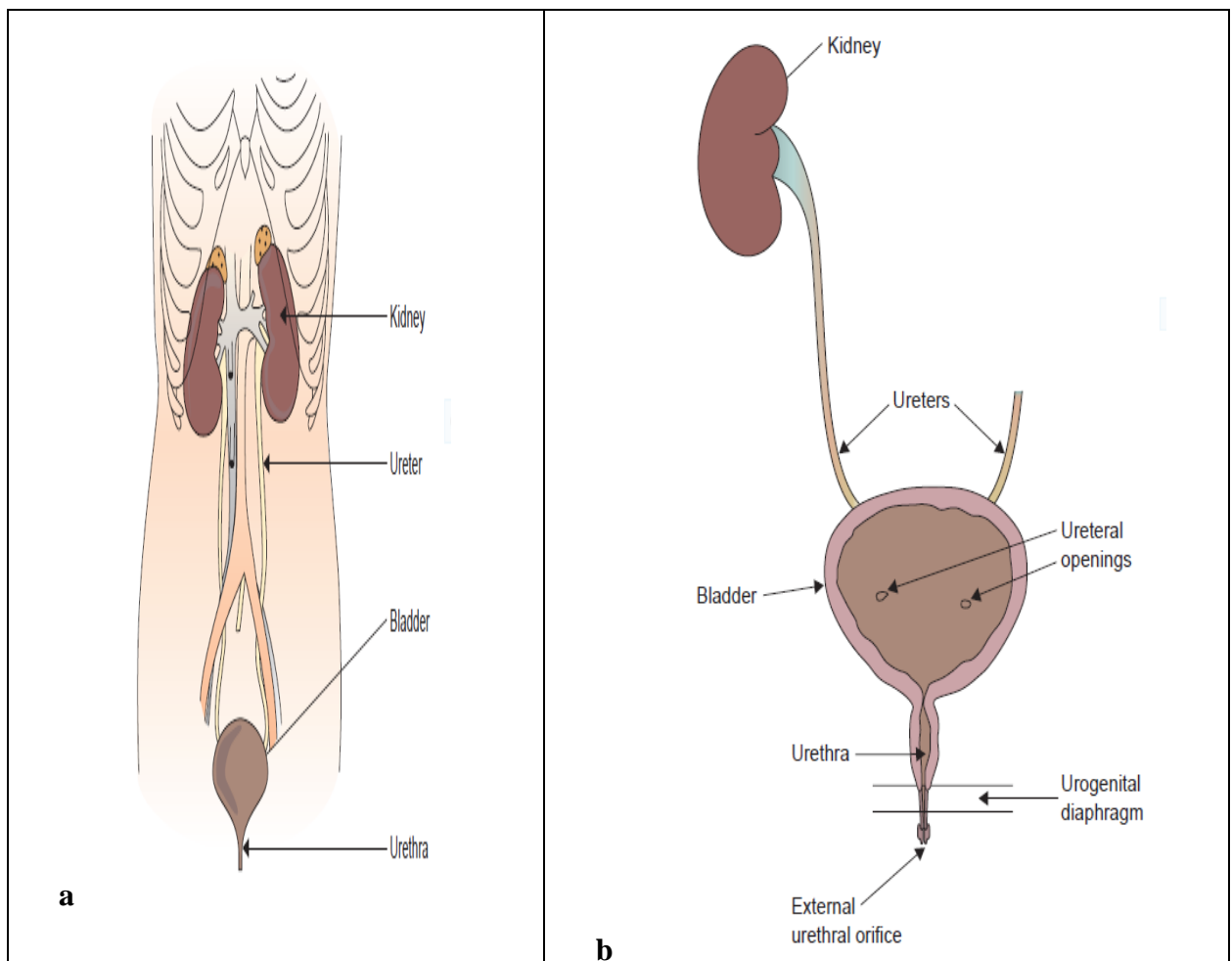


Figure 1 : Système urinaire : a) système urinaire; b) système urinaire de la femme (Wilson, 2008).

I.2.1.2. Voies d'inoculation des germes uropathogènes

Les principales voies d'inoculation sont la voie ascendante et la voie descendante

I.2.1.2.1. Voie ascendante :

Selon **Vaubourdolle (2013)**, elle semble constituer la voie prépondérante dans l'installation de l'infection soit par reflux vésico-urétéral pour le rein soit par cheminement urétral pour le bas appareil. Elle consiste le passage du (ou des) germe(s) par l'urètre jusqu'à la vessie et fait intervenir deux modes de contamination :

► **Contamination spontanée** : La flore fécale étant la source habituelle des germes. Celles-ci colonisent la région périnéale, la cavité vaginale et la partie distale de l'urètre. Cette voie d'ascension est plus fréquente chez la femme que chez l'homme à cause de la brièveté de l'urètre féminin (**Tang et al., 2015**).

► **Contamination provoquée** : Les manœuvres instrumentales, cystoscopie, dilatation urétrale, sondage vésicale, urétéropyélographie sont des causes majeures de l'IU suite à une contamination provoquée (**Perrot, 2002**).

I.2.1.2.2. Voie descendante ou voie hématogène

Cette voie est moins fréquente, l'agent infectieux présent dans le sang (septicémie) peut se retrouver localisé au niveau rénal, passer dans l'arbre urinaire et entraîner au final une infection urinaire (**Perrot, 2002**).

I.2.1.3. Modifications qui surviennent pendant la grossesse

Les infections urinaires sont relativement fréquentes au cours de la grossesse avec une prévalence de 5 à 10 % suivant les auteurs. La femme enceinte est à risque de développer des infections urinaires hautes ou basses, en particulier à cause de l'immunosuppression physiologique de la grossesse ainsi que de la stase vésicale hormonale et mécanique (**François et al., 2013**).

I.2.2. Complications des infections urinaires chez la femme enceinte

Les infections urinaires représentent la complication médicale la plus fréquente au cours de la grossesse, qu'elle soit initialement simple ou compliquée, et son risque potentiel sur la mère et sur l'enfant est important.

L'atteinte rénale est une des complications de l'infection urinaire. Dans ces atteintes on retrouve comme origine les infections urinaires basses s'étant aggravées et ayant évolué en pyélonéphrites. Lorsque celui-ci devient grave « pyélonéphrite gravidique », elle expose au risque de prématurité et de mortalité périnatale et à des accidents graves chez la mère (**tableau 2**) (Mauroy *et al.*, 1996).

Tableau 2 : Complications materno-fœtales survenant dans les infections urinaires chez la femme enceinte.

Complications maternelles	Complications fœtales
<p>✓ Septicémie Elle est plus fréquente et causée essentiellement par les bacilles à Gram négatif (choc septique ou toxique).</p>	<p>✓ Accouchement prématuré dans 10 à 20% des cas (PNA) Surtout si l'infection est accompagnée de fièvre même en cas d'IU asymptomatique</p>
<p>✓ Pyélonéphrite gravido-toxique Altération de l'état général grave, malaise, vertige et ictère...</p>	<p>✓ Mort périnatale (mort in Utero) Cas d'infection haute ou tardivement traitée</p>
<p>✓ Récidives Parle même germe ou réinfection par un autre germe.</p>	<p>✓ Infection néonatale</p>
<p>✓ Autres complications Abscess rénal, insuffisance rénale, anémie, transitoire, néphrite chronique, pyonéphrose hépatonéphrite, nécrose papillaire...</p>	<p>✓ Hypotrophie Cas d'une infection chronique asymptomatique.</p>

Anonyme, (2005)

I.3. GERMES RESPONSABLES ET ANTIBIORESISTANCE

I.3.1. Germes responsables

La pathologie infectieuse urinaire est fréquente aussi bien en milieu communautaire qu'hospitalier. *Escherichia coli* est la bactérie prédominante dans l'infection urinaire et le premier responsable d'IU chez la femme (Lahlou, 2009).

Les IU sont essentiellement bactériennes, dues à des bactéries d'origines digestives et principalement monomicrobiennes. Les entérobactéries représentent la grande majorité des agents d'IU.

I.3.1.1. Bacilles à Gram négatif :

I.3.1.1.1. Entérobactéries :

Les entérobactéries correspondent à un groupe relativement homogène au niveau phylogénétique parmi les gamma-protéobactéries. Au niveau phénotypique, ce sont des bacilles non sporulés, Gram négatif, aérobies facultatifs, immobiles ou mobiles par flagelles péritriches.

Les entérobactéries sont oxydase négative, catalase positive, capable de dégrader le nitrate en nitrite et fermentent le glucose.

A. *Escherichia coli* :

Escherichia coli est l'une des espèces bactériennes les plus souvent rencontrées en pathologie humaine. Les bactéries appartenant à l'espèce *E. coli* constituent la majeure partie de la flore microbienne aérobie du tube digestif de l'homme. Certaines souches sont de banal commensaux et d'autres sont virulentes, capables de déclencher spécifiquement des infections spontanées des voies urinaires ou digestives ou encore des méningites néo-natales (**Boissonet et al., 1987; Sfakianos, 2006**).

Les souches uropathogènes et surtout responsable de pyélonéphrite possèdent, plus souvent que les souches commensales, une hémolysine, une capsule de type K1 et des fimbriae reconnaissant le groupe sanguin P (fimbriae P) (**Nauciel et Vildé, 2005**).

B. *Klebsiella* :

Les espèces du genre *Klebsiella* ont la particularité d'être immobile et fixateur d'azote (une propriété absente chez les autres entérobactéries) ; ils possèdent une volumineuse capsule de nature polysaccharidique et fermentent de nombreux glucides (**Avril et al., 2000**). Elles font partie du groupe des KES (*Klebsiella, Enterobacter et Serratia*). Ce sont des bactéries pathogènes opportunistes qui possèdent une réaction de Voges-Proskauer (VP) positive.

Souvent présentes dans le tube digestif, elles sont isolées à partir des selles d'individus n'ayant aucune pathologie digestive dans 30 % des cas. Longtemps considéré comme commensale, et actuellement responsable d'un grand nombre de complications infectieuses en milieu hospitalier. Le genre *Klebsiella* possède une importante capacité de résistance à de multiples ATB (**Avril et al., 2000**).

C. *Proteus* :

Les *Proteus* sont caractérisés par une mobilité importante (péritriches) et par la production d'uréase. Ils sont polymorphes pouvant apparaître en forme très court (2-3 μ de long) dans les produits pathologiques, ou au contraire pouvant se différencier en formes très longues (20-80 μ) dans certaines conditions de culture. Le genre *Proteus* est une cause fréquente d'infections de l'appareil urinaire à cause de sa capacité à dégrader l'urée (**Madigan et Martinko, 2007**).

D. *Enterobacter* :

Du même groupe que les genres *Klebsiella* et *Serratia* (KES), habituellement des germes commensaux du tube digestif, le genre *Enterobacter* est mobile et peut être à l'origine de septicémies ou de méningites et occasionnellement d'infection urinaire (Avril et al., 2000).

E. *Citrobacter* :

C'est une entérobactérie commensale du tube digestif de l'homme et des animaux, mais aussi saprophyte de l'environnement. Le portage digestif serait plus fréquent chez les nourrissons que chez l'adulte (Denis et al., 2007).

F. *Serratia* :

Ces germes mobiles donnant parfois des colonies pigmentées en rouge peuvent être isolés de l'eau et même du tube digestif de divers insectes et vertébrés ainsi qu'occasionnellement d'intestins humains. A la différence des Klebsielles, le genre *Serratia* ne possède pas de capsule visible. Cependant la présence d'enzymes protéolytiques et de nombreuses autres exoenzymes pourraient jouer un rôle dans sa virulence (Cheesbrough, 2006).

I.3.1.1.2. Autre bacilles à Gram négatif (*Pseudomonas*) :

C'est une bactérie ubiquiste qui vit normalement à l'état saprophyte dans l'eau et le sol humide ou sur les végétaux. Cette bactérie peut vivre en commensale dans le tube digestif de l'homme. Elle est considérée comme une bactérie pathogène opportuniste particulièrement responsable dans les infections nosocomiales (Madigan et Martinko, 2007; Bougnicourt, 1995).

I.3.1.2. Cocci à Gram positif :**A) Streptocoques, Entérocoques :**

Les espèces des familles des enterococcaceae (*Enterococcus*) et des streptococcaceae (*Streptococcus*, *Lactococcus*) sont des cocci Gram positif anaérobies facultatives, non sporulés se disposant parfois en chaînettes plus ou moins longues ou sous forme de cocci agencés formant des diplocoques. Elles ne possèdent ni catalase (à la différence des staphylocoques) et ni oxydase (à la différence de *Neisseria*). (Willey et al., 2008).

On y distingue une large variété d'espèces vivant dans des environnements très variés et représentant une importance pour l'homme du fait de leurs activités métaboliques. Certaines espèces peuvent être considérées comme pathogènes pour l'homme et les animaux.

Suite au développement des techniques de la biologie Moléculaire, les streptococci ont été séparées en quatre divisions composées de *Lactococcus* (bactéries lactières), d'*Enterococcus* (streptocoques d'origine fécale), les streptocoques pyogènes et les streptocoques viridans), basée sur les caractères physiologiques (Tang et al., 2015).

Contrairement aux streptocoques, les entérocoques sont d'importants agents de transfert horizontal de la résistance aux ATB.(Willey et al., 2008).

B) Staphylocoques :

Les staphylocoques sont des bactéries possédant un métabolisme respiratoire normal et une catalase. Ce sont des bactéries commensales et parasites pour l'homme et les animaux .Certaines espèces peuvent être pathogènes. Chez l'homme, deux espèces sont particulièrement recherchées : *Staphylococcus epidermidis*, espèce non pigmentée, non pathogène et fréquemment retrouvée sur la peau et dans les muqueuses et *Staphylococcus aureus*, pigmentée en jaune, reconnue comme une espèce pathogène (Nauciel, 2000).

I.3.2. Antibiorésistance

I.3.2.1. Définition d'un antibiotique

Selon Elliott et al, (2011), un ATB est une substance capable d'inhiber la croissance de la bactérie ou de tuer la bactérie. Les antibiotiques au sens strict, sont des produits élaborés par des micro-organismes, mais on inclut généralement parmi eux les dérivés semisynthétiques et les produits entièrement synthétiques (Nauciel, 2000; Joffin et Leyral, 2001).

I.3.2.2. Principales familles d'antibiotiques et leur mode d'action :

Les antibiotiques apparentés sont classés selon leur structure chimique et leur mode d'action. La plupart agissent sur les bactéries par inhibition des voies métaboliques (Tableau I II) (Pilly, 2010).

Tableau 3: Classification des antibiotiques selon la famille et selon le mode d'action

Familles		Antibiotiques	Mode et spectre d'action
Bêta-Lactamines	Pénicillines	Pénicilline G Ampicilline Ticarcilline Methicilline	-inhibition de la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane. -agissent sur les bactéries à Gram positif « spectre étroit (Met)' ; et quelque bactéries
	Céphalosporines	C1G : Céfazoline C2G : céfoxitine C3G :ceftazidime, céfotaxime	à Gram négatif « Spectre large (CT, CTX, AM) ».
Vancomycine		Vancomycine	Action sur la synthèse du peptido-glycane des bactéries à Gram positif (spectre étroit).
Aminosides		Gentamycine, Kanamycine Streptomycine	-perturbent la synthèse des protéines en agissant sur la sous-unité 30s -agissent sur les bactéries à Gram négatifs, les mycobactéries « Spectre large (GEN/ Ka) » et les à Gram positif aérobies (spectre étroit « Str »).
Tétracyclines		Tétracyclines	Action sur la synthèse des protéines (sous-unité 30s) des bactéries à Gram positif, bactéries à Gram négatifs, chlamydiales et rickettsiales. « spectre large »
phenicolés		chloramphénicol	Inhibition de la synthèse des protéines en agissant sur la sous unité 50s des bactéries à Gram positif et à Gram négatif, des chlamydiales et rickettsiales. ' spectre large '
Macrolides		Erythromycine Clindamycine spiramycine	Inhibition de synthèse des protéines en agissant sur la sous-unité 50s des bactéries à Gram positif aérobies et anaérobies ; quelques bactéries à Gram négatif (spectre large).

(Mouton *et al.*, 2000 ; Goldesten *et al.*, 2006)

(Suite du tableau 3)

Quinolones	Norfloxacin Ciprofloxacine Levofloxacin	Inhibent la synthèse de l'ADN bactérien en se fixant sur le complexe ADN-ADN gyrase empêchant donc la réplication et la transcription de l'ADN bactérien des Gram négatifs et quelque Gram Positif : Spectre étroit (Norf, Cip) ; Spectre large(LEV)
Rifamycine	Rifamycine	Inhibe l'action de l'ARN polymérase bloquant donc la transcription. Agit sur mycobactéries ; quelques bactéries Gram négatif.
Sulfamides	Triméthoprime ; sulfoisoxazole ; sulfacétamide	Ils bloquent l'action de la synthétase chez la majorité des bactéries (spectre large).
Antibiotique non classé	Acide Fusidique	Inhibition de la synthèse des protéines en agissant sur le facteur d'élongation G (EF-G).

(Mouton *et al.*, 2000 ; Goldesten *et al.*, 2006)

En effet depuis l'introduction successive en thérapeutique des différents ATB, la sensibilité des bactéries, à ces drogues, a beaucoup évolué (Duval et Soussy, 1980). Cependant, on constate quotidiennement dans presque tous les laboratoires de bactériologie clinique de nombreuses souches bactériennes deviennent résistantes à l'égard des antibiotiques aux quels elles sont normalement sensibles.

I.3.2.3. Définition de la résistance

Selon Joffin et Leyral, (2001), la résistance bactérienne aux ATB peut être définie de deux façons :

- D'une part, une souche est dite « résistante » à un ATB, lorsqu'elle est capable de se développer en présence d'une concentration d'ATB plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce.

- D'autre part, une souche est résistante si la concentration d'ATB qu'elle est capable de supporter est plus élevée que la concentration qu'on peut atteindre in vivo.

I.3.2.4. Différents types de résistance

Malheureusement, très vite sont survenus des échecs thérapeutiques dus à des souches « devenues » résistantes alors qu'elles sont habituellement sensibles. De plus, sont apparues les polyrésistances, bien plus graves encore car elles limitent considérablement les possibilités de traitement et peuvent être transmises à d'autres bactéries sensibles. La résistance d'une bactérie à un ATB peut être naturelle ou acquise.

❖ Résistance naturelle :

La résistance est naturelle quand elle n'est pas rencontrée dans les souches dites sauvages ; elle est liée au patrimoine génétique (**Joffin et Leyral, 2001**).

❖ Résistance acquise :

La résistance est dite acquise quand elle est rencontrée dans les souches isolées de milieux dans lesquels une pression de sélection s'impose (hôpital par exemple) ; elle résulte d'une modification du patrimoine génétique. Les bactéries peuvent acquérir une résistance aux ATB par mutation ou plus souvent par acquisition de matériel génétique étranger (**Joffin et Leyral, 2001**).

I.3.2.5. Mécanismes de résistances des bactéries aux ATB

Il existe quatre mécanismes importants utilisés par les bactéries pour résister aux ATB.

I.3.2.5.1. Inactivation de l'antibiotique :

Le mécanisme de destruction enzymatique de l'ATB est l'un des mécanismes le plus souvent rencontré. Les différentes enzymes participant à cette destruction sont : (**Willey et al., 2008**).

a) Bêta-lactamases :

Ce sont des enzymes capables d'inactiver les beta-lactamines par ouverture du noyau beta-lactame. Elles sont classées suivant les beta-lactamines qu'elles hydrolysent (par exemple pénicillinase, céphalosporinase), suivant les gènes qui codent pour leur synthèse (chromosomiques ou plasmidiques) ou suivant leur séquences (classe A, C, D et B). (**Joffin et Leyral, 2001**).

Les bêta-lactamases sont inhibées par les inhibiteurs classiques (acide clavulanique, tazobactam, sulbactam). Une grande variabilité est rapportée dans la fréquence de la résistance aux associations β -lactamines et inhibiteur de β -lactamase (**Doit et al., 2010**).

b) Autres enzymes inactivant les antibiotiques :

Parmi les enzymes qui inactivent les antibiotiques, on distingue 3 classes qui agissent sur les aminosides (acétyltransférases, nucléotidyltransférases et les phosphotransférases codées dans les gènes plasmidiques le plus souvent).

Les genres *Streptococcus* et *Enterococcus* ont une résistance naturelle aux aminosides. Le chloramphénicol est inactivé par le chloramphénicol acétyltransférase codée par un gène plasmidique. Plusieurs enzymes peuvent inactiver l'érythromycine, la clindamycine (**Elliott et al, 2011**).

I.3.2.5.2. Modification de la cible :

Une enzyme spécifique effectue une modification chimique covalente de la cible (**Figure 2**), ce qui empêche la fixation de l'antibiotique à son site d'action sans aucune altération du génome. Ce type de mécanisme de résistance est rencontré dans la résistance aux macrolides et aux β -lactamines chez certaine espèce bactérienne comme adopté par *S. aureus* (**Robiczek et al., 2006**).

I.3.2.5.3. Diminution de la perméabilité :

Les porines sont des protéines formant des pores dans la membrane externe des Gram négatif et permettant le passage de certaines molécules hydrophiles. Des mutations peuvent entraîner la perte de ces porines et de ce fait entraver la pénétration de certains ATB (par exemple les pénicillines). De même pour la fosfomycine qui pénètre par l'intermédiaire du système de transport des glycéro-phosphates (**Levinson, 2014**).

I.3.2.5.4. Excrétion de l'ATB par un mécanisme d'Efflux :

Il existe chez les bactéries des systèmes permettant d'excréter certains ATB. Ces systèmes jouent un rôle dans la résistance naturelle. La résistance à la tétracycline est due le plus souvent à l'acquisition d'un gène responsable d'un mécanisme d'efflux (**Ryan et Ray, 2004**).

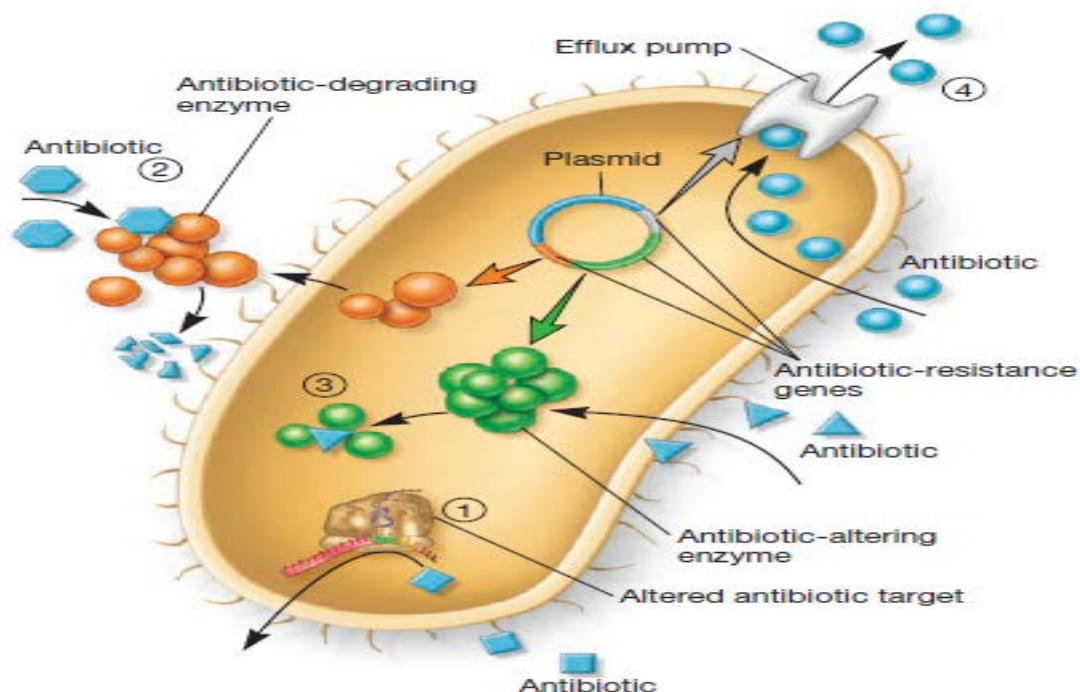


Figure 2 : Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques:1-mécanisme de résistance par inhibition des antibiotiques;2-mécanisme de résistance par modification de la cible de l'antibiotique ;3-mécanisme de résistance par modification et diminution de la perméabilité de l'antibiotique ;4- mécanisme d'expulsion de l'antibiotique(Willey *et al.*, 2008).

I.2.3.5.Mécanismes génétiques de la résistance

Très souvent, la résistance aux ATB est due aux changements de gènes chez la bactérie ; soit par des mutations au niveau du chromosome ou soit par acquisition de gène de résistance plasmidique ou transposon.

I.2.3.5.1. Résistance par mutation chromosomique

La résistance chromosomique est le mécanisme qui fut le premier mis en évidence. La sélection des souches résistantes sous l'effet des ATB était le résultat d'une adaptation, d'une accoutumance à cet ATB. Elle est une variation génétique, héréditaire (transmissible à la descendance) donc stable (Levinson, 2014).

La résistance chromosomique est un événement rare. Comme toute mutation, elle est spontanées (c'est-à-dire qu'elles préexistent à l'utilisation de l'antibiotique), n'est pas provoquée par la présence de l'ATB et elle est spécifique à un seul antibiotique ou à une seule famille d'ATB (Kernbaum, 1990).

I.2.3.5.2. Résistance Extrachromosomique

La résistance par acquisition de gène est la plus fréquente et la plus importante, car peut être transféré d'une espèce à une autre et peut concerner plusieurs ATB, voire plusieurs familles d'ATB, entraînant ainsi une polyrésistance. L'acquisition de gènes dont le support est un plasmide ou un transposon acquis par conjugaison ou par transformation mais très rarement par transduction (Levinson, 2014).

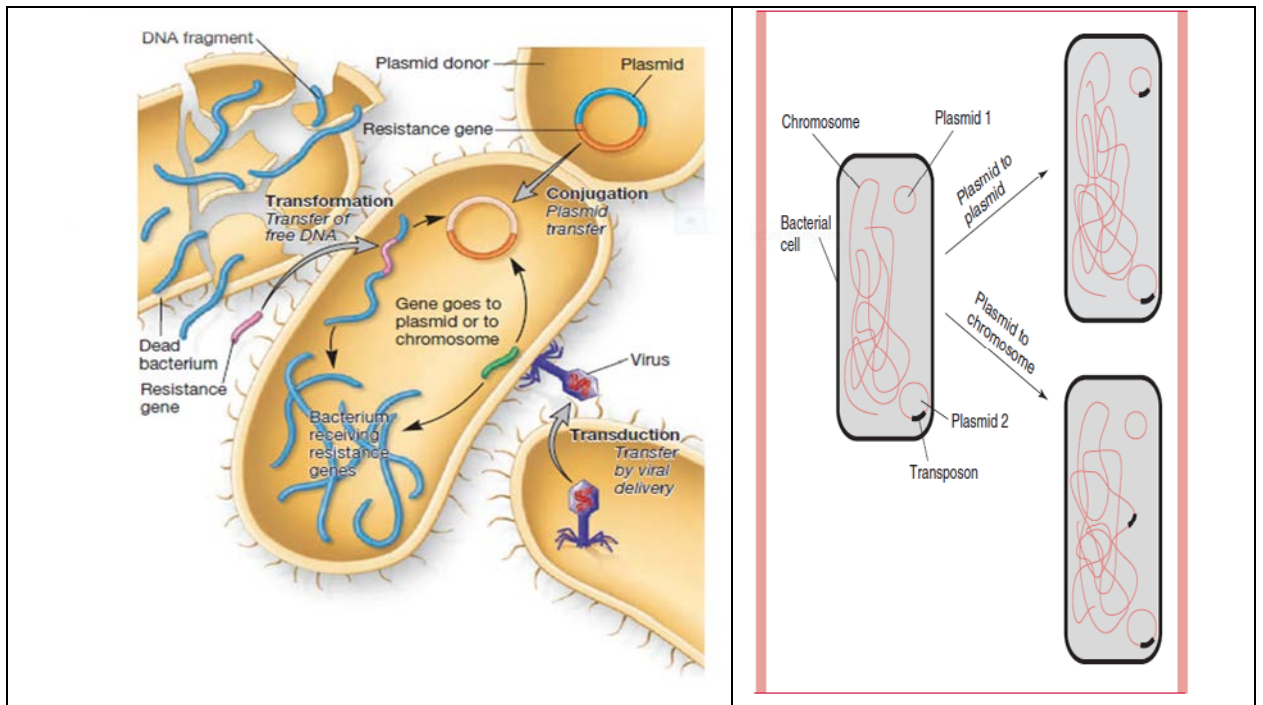


Figure 3 : Résistance Extrachromosomique : Acquisition de gènes de résistance par conjugaison, transformation et par transduction (Willey et al., 2008 ;Tang et al., 2015).

Notre étude a été entretenue au niveau de l'établissement public hospitalier de Boufarik dans le Laboratoire Central-Unité de Bactériologie sur une période de 5 mois (de Janvier 2017 à Mai 2017) afin d'étudier les principales bactéries présentes dans les infections urinaires chez les femmes enceintes.

Les principaux objectifs de notre étude étaient :

- Isolement des bactéries pathogènes à partir des échantillons d'urine de femmes enceintes
- Identification de ces bactéries selon les caractères culturaux, morphologiques, physiologiques et biochimiques
- Evaluation de l'antibiorésistance des souches d'intérêt isolées.

II.1. MATÉRIEL BIOLOGIQUE

Dans cette étude, était inclus un ensemble d'échantillons comportant 122 prélèvements d'urine de patientes hospitalisées au niveau du service infectieux femme « MIF » et des externes (patientes non hospitalisées). Le prélèvement d'urine contenu dans un flacon (ou tube) stérile d'une capacité de 10-20 ml (**figure 5**), est accompagné de fiche de renseignement qui dans laquelle on trouve les informations suivantes: nom et prénom de la patiente, âge de la patiente, service d'hospitalisation, heure et date de prélèvement et l'âge gestationnel. Les prélèvements d'urines sont transportés immédiatement au laboratoire pour l'analyse.



Figure4 (originale) : Prélèvements d'urine.

II.2. MATERIEL NON BIOLOGIQUE

A fin de mener à bien notre étude, nous avons eue à travailler avec des matériels non biologiques qui regroupent les appareillages et verrerie, les milieux de culture, les réactifs, les différents disques d'antibiotiques (**Annexe I,II,III**).

II.3. METHODES

II.3.1 Prélèvement des urines

Le prélèvement est le premier point critique susceptible d'influer sur le résultat de l'ECBU du fait de la présence d'une colonisation de l'urètre et des voies génitales externes par la flore commensale (**Tableau I**).

Objectif est de recueillir l'urine vésicale, normalement stérile, en évitant sa contamination, lors de la miction, par la flore commensale qui colonise l'urètre et la région périnéale.

- **Principe de prélèvement d'urine :**

Selon **Vaubourdolle, (2013)**, généralement le prélèvement doit se faire avant toute antibiothérapie et après lavage des mains et toilette soignée du méat urétral et du prépuce ou du périnée, au savon ou à l'aide d'un antiseptique, suivis d'un rinçage. Les urines émises spontanément sont recueillies dans un flacon stérile après élimination du premier jet qui nettoie au passage l'urètre antérieur. Le prélèvement est fait, si possible, au moins 4 h après la miction précédente pour permettre un temps de stase suffisant dans la vessie.

II.3.2. conservation et de transport

De nombreuses études soulignent depuis longtemps l'importance majeure d'un transport rapide et d'une température de conservation adaptée pour éviter la multiplication des bactéries contaminantes (**tableau 4**).

Tableau 4: condition de conservation de l'urine.

Conservation à T° ambiante	- Déstabilisation de la bactériurie et altération des leucocytes au delà de la 2 ^e h
conservation à +4 °C	- stabilisation de la bactériurie altération des leucocytes jusqu'à 12 h
conservation de l'urine en utilisant de l'acide borique pendant 48 heures à t° ambiante	- stabilisation de la bactériurie de la leucocyturie

(**Cheesbrough ,2006 ; Grosjean et al.; 2011**)

II.3.3. Examen cyto bactériologique des urines (ECBU) :

L'objectif de l'ECBU est de mettre en évidence des signes d'inflammation de l'arbre urinaire (qui se traduit par la leucocyturie), d'identifier, de quantifier le ou les micro-organismes pathogènes et de déterminer leur phénotype de résistance aux antibiotiques.

Chaque urine fait l'objet d'un ECBU de routine comportant les éléments suivants :

- Un examen direct permettant d'apprécier la leucocyturie et les éléments figurés de l'urine (hématies, cristaux, cylindres. . .) ;
- Une uroculture avec dénombrement de germes.

Dans notre étude, l'identification du germe responsable a été faite en suivant une procédure de plusieurs étapes successives, basée sur la recherche et la détermination d'un certain nombre de caractères morphologiques (mobilité, coloration de Gram), culturels (taille, aspect, couleur, consistance, contour, opacité, et la forme des colonies), physiologiques (catalase) et biochimiques (galerie classique et galeries Api 20 E, Api Strep...).

III.3.3.1. Examen macroscopique des urines

L'examen macroscopique est basé sur une observation directe à l'œil nu. Dans un premier temps, elle permet d'apprécier la limpidité et de noter l'existence d'une hématurie de l'urine homogénéisée. Dans un second temps (après culture) elle permet de décrire la taille, l'aspect, la couleur, la consistance, le contour, l'opacité, et la forme des colonies.

II.3.3.2. Examen microscopique des urines

❖ Examen à l'Etat frais (Cytologie) :

Cet examen associe obligatoirement deux étapes (cytologique et bactériologique) qui ont pour but d'apprécier de façon quantitative et qualitative la présence d'éléments figurés (leucocytes, hématies, cellules épithéliales) et de bactéries (morphologie, mobilité des bactéries vivantes).

• Technique

A l'aide d'une pipette pasteur stérile une goutte du prélèvement d'urine préalablement homogénéisée est déposée sur une lame stérile. La lame est ensuite observée au microscope optique au grossissement (x 400) à fin de pouvoir faire la numération des éléments figurés (tels que les globules blancs, les hématies, les cellules épithéliales). Nous avons cherché la présence de Cristaux, Bactéries, Cylindres, levures....

❖ Examen après coloration (Coloration de Gram)

Ce test a été réalisé, après uroculture, dans but de déterminer le type de la paroi bactérienne à Gram positif ou Gram négatif (les bactéries à Gram positif vont être colorées en couleur violette et les bactéries à Gram négatif seront colorées en Rose). En plus du type de paroi, elle permet de déterminer la forme des bactéries (cocci, bâtonnet...), leur taille et leur mode d'agencement.

• Technique :

Nous nous sommes basés sur la technique décrite par **Singleton, (2004)**. La première étape consiste à préparer le frottis en étalant une colonie de la souche bactérienne sur une lame stérile et ensuite fixer le frottis à la chaleur. La seconde étape consiste à faire une coloration du frottis au violet de gentiane pendant 1 min. La lame est rapidement rincée avec de l'eau courante. Après nous avons fixé la coloration du frottis avec la solution du Lugol (solution aqueuse d'iode et d'iodure de potassium) environ 45 secondes. La lame est encore rincée avec de l'eau courante. Le frottis a été soumis à une étape de d'coloration en trempant la lame dans l'alcool (éthanol « 95 % ») jusqu'à décoloration totale et suivis d'un rinçage. En fin, une dernière coloration du frottis a été réalisée en recouvrant la lame avec la solution de fuchsine environ 30 secondes puis on fait un rinçage à l'eau courante. Après séchage de la lame, celle-ci est observée au microscope à l'objectif 100 en utilisant l'huile à immersion.

• Lecture :

Bactéries colorées en bleu violacé = bactéries à Gram positif

Bactéries colorées en rose = bactéries à Gram négatif

II.3.3.3. Mise en culture (isolement et purification des souches bactérienne)

La mise en culture doit répondre à un double objectif : isolement et numération de l'espèce bactérienne.

Cependant, lors de notre étude, l'isolement des bactéries a été effectué systématiquement pour chaque prélèvement. Pour cela, nous avons fait un ensemencement par stries d'une petite goutte d'urine, préalablement homogénéisée, sur le milieu gélose nutritive (GN) avec l'anse selon la méthode de l'anse calibrée décrite par **Denis et al., (2007)**. A la fin les boîtes ont été incubées à une température de 37°C pendant 18h à 24 h.

II.3.3.4. Tests Biochimiques

II.3.3.4.1. Cocci à Gram positif :

II.3.3.4.1.1. Test de catalase

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Dans ce travail, ce test a été utilisé pour déterminer si la souche bactérienne est un staphylocoque (catalase positive) ou un streptocoque (catalase négatif). Cela consiste à mettre en évidence, chez la bactérie, la présence d'une enzyme (catalase) qui empêche en effet l'accumulation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau (H_2O) et en dioxygène (O_2). L'oxygène libéré se dégage sous forme gazeuse (formation de bulles).

❖ Technique

La technique décrite par **Nelly, (1982)** consiste à déposer sur une lame stérile une goutte d'eau oxygénée (H_2O_2) à 10 volumes à l'aide d'une pipette pasteur. Quelques colonies prélevées sur le milieu de culture à étudier sont dissociées directement dans l'eau oxygénée.

❖ Interprétation

- S'il ya effervescence : catalase positives (c'est-à-dire elles possèdent la catalase).
- S'il n'ya pas d'effervescence : catalase négatives (c'est-à-dire elles ne possèdent pas la catalase).

II.3.3.4.1.2. Test de coagulase libre

Ce test consiste à mettre en évidence la coagulase libérée par la bactérie dans le milieu extérieur.

❖ Technique

La technique consiste à mélanger dans 3 tubes à hémolyse 0.5 ml de sérum humain et quelques colonies de la souche à étudier dans le premier tube (souche à tester). Dans le second tube (témoin positif) 0.5 ml de sérum humain a été mélangé avec quelque colonie d'une souche de staphylocoque à coagulase positive. Dans le troisième tube nous avons mélangé 0.5 ml de sérum humain avec une souche de staphylocoque à coagulase négatif (témoin négatif) ensuite les 3 tubes sont placés à l'étuve à 37°C pendant 18-24h.

❖ Lecture

✓ Tube 1 :

- S'il y'a coagulation du sérum : la bactérie est coagulase positive (c'est-à-dire qu'elle possède une coagulase capable de coaguler le sérum).

- S'il n'y a pas de coagulation : la bactérie est coagulase négative
 - ✓ Tube 2 : nous pouvons observer une coagulation du sérum car la souche bactérienne possède une coagulase.
 - ✓ Tube 3 : nous ne pouvons pas observer la coagulation car la bactérie ne possède pas de coagulase

II.3.3.4.1.3. API 20 Strep

Après la détermination préemptive de la présence ou absence de l'enzyme catalase de la souche, une cascade de tests biochimiques est réalisée par la galerie API 20 Strep pour l'identification du genre et de l'espèce de la bactérie.

❖ Principe

La galerie API 20 Strep comporte 20 microtubes contenant les substrats déshydratés pour la mise en évidence d'activités enzymatiques ou de fermentation de sucres.

Les tests enzymatiques sont inoculés avec une suspension dense, réalisée à partir d'une culture pure, qui reconstitue les milieux (**Figure 5**). Les réactions produites pendant la période d'incubation sont mises en évidence par les virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

Les tests de fermentations sont inoculés avec un milieu enrichi (contenant un indicateur de pH) qui réhydrate les sucres. La fermentation des carbohydrates entraîne une acidification se traduisant par un virage spontané de l'indicateur coloré.

La lecture des codes obtenus à l'aide du tableau de lecture est faite à l'aide du Catalogue Analytique ou du logiciel d'identification.

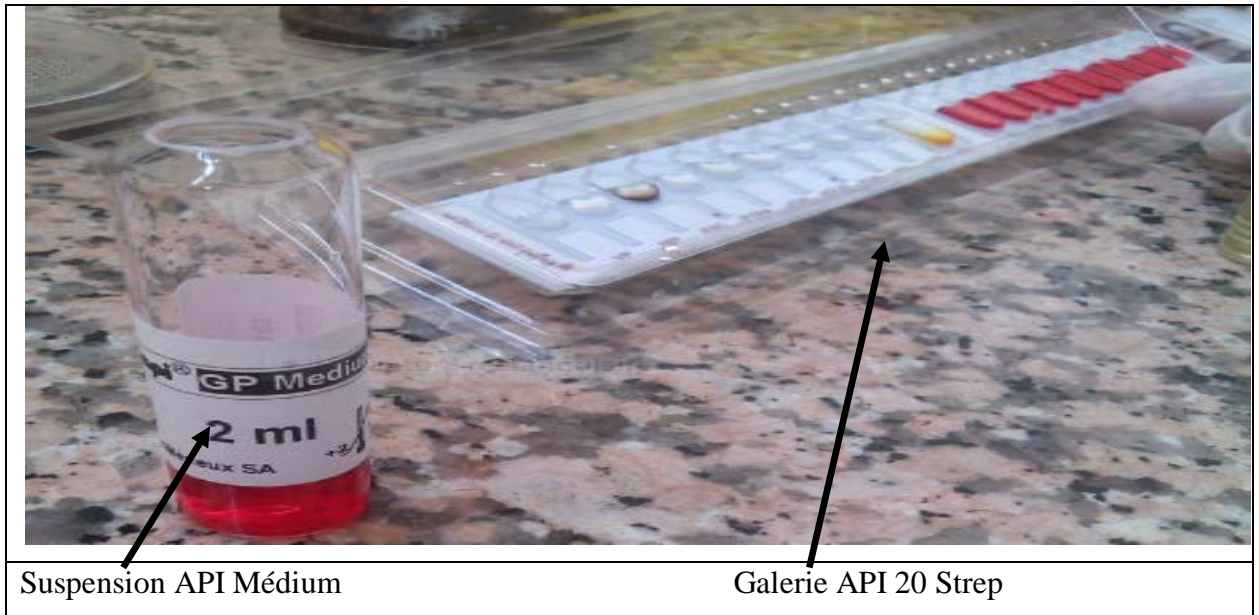
❖ Technique

Après isolement et vérification de l'appartenance de la souche à la famille des *streptococcaceae* (réaction de Gram, catalase) :

- Noter le type d'hémolyse sur la fiche de résultats (21°)
- Prélever une colonie bien isolée et la mettre en suspension dans 0.3 ml d'eau stérile. Bien homogénéiser.
- Inonder une boîte de gélose Columbia au sang de mouton avec cette suspension ou écouvillonner stérilement toute la surface de la gélose.
- Incuber la boîte 24 H (± 2 H) à 36 °C en anaérobiose.

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée [ou tout eau sans additif ou dérivés susceptibles de libérer des gaz (Exemple : Cl_2 , CO_2 ...)] dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
 - Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte. (Ne pas inscrire la référence sur le couvercle, celui-ci pouvant être déplacé lors de la manipulation).
 - Sortir la galerie de son emballage
 - Placer la galerie dans la boîte d'incubation.
 - Placer la galerie dans la boîte d'incubation
 - Ouvrir une ampoule d'API suspension Medium (2ml), ou un tube contenant 2 ml d'eau distillée stérile, sans additif.
 - A l'aide d'un écouvillon, prélever toute la culture préalablement préparée.
 - Réaliser une suspension bactérienne très dense (opacité supérieure à 4 de McFarland) en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu. Cette suspension doit être utilisée extemporanément.
 - Dans la première moitié de la galerie (tests de VP à ADH) répartir la suspension précédente en évitant la formation de bulles :
 - Pour les tests VP à LAP : environ 100µl dans chaque cupule.
 - Pour le test ADH : remplir uniquement le tube.
 - Dans la deuxième moitié de la galerie (tests RIB à GLYG) :
 - Ouvrir une ampoule d'API GP Medium et y transférer le reste de la suspension, soit 0.5 ml au minimum. Bien homogénéiser.
 - Répartir cette nouvelle suspension dans les tubes uniquement.
 - Remplir les cupules des tests soulignés (ADH à GLYG) avec de l'huile de paraffine en formant un ménisque convexe.
 - Refermer la boîte d'incubation.
 - Incuber à $36^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ en aérobiose pendant 4h- 4h30 pour une première lecture et 24 h (± 2 h) pour une seconde lecture si nécessaire.
 - ❖ Lecture et interprétation
- Après incubation :
- Ajouter les réactifs :
 - test VP : 1 goutte de VP1 et VP2
 - test HIP : 2 gouttes de NIN
 - tests PYRA, alpha GAL, beta GUR, beta GAL, PAL, LAP : 1 goutte de ZYM A et ZYM B.

- Attendre 10 minutes, puis lire toutes les réactions en se référant au tableau de lecture (Annexe III).
- L'identification est obtenue à partir du profil numérique.



Suspension API Médium

Galerie API 20 Strep

Figure 5 (originale) : Ensemencement de l'inoculum sur la galerie API 20 Strep.

II.3.3.4.2. Bacilles à Gram négatif :

II.3.3.4.2.1. Galerie classique

Au cours de la réalisation de notre travail, nous avons fait l'identification biochimique des entérobactéries en utilisant les tests de la galerie classique. Ces tests étaient basés sur la recherche du tryptophane désaminase (TDA), recherche de la production d'indole et de la présence d'uréase, la mise en évidence du citrate de Simmons, la mise en évidence des décarboxylases aminés et le test Triple Sugar Iron (TSI).

a) Milieu TSI (Triple Sugar Iron)

Ce test consiste à mettre en évidence l'attaque du glucose, du lactose et du saccharose mais aussi de mettre en évidence la production de gaz (CO_2) et du dihydrogène sulfuré (H_2S).

❖ Technique :

Sur le milieu gélose TSI (milieu semi incliné), 6 à 10 gouttes de la suspension bactérienne à étudier ont été ensemencées. Sur la pente nous avons fait un ensemencement par stries et au niveau du culot un ensemencement par piqure centrale a été réalisé. Les tubes ont été ensuite incubés à 37°C pendant 18 à 24 h.

❖ Lecture

La fermentation des sucres entraîne une acidification du milieu et un virage du rouge phénol au jaune ; la production de gaz s'explique par un léger décollement du culot et la production d' H_2S par un noircissement du milieu.

- Pente

- Coloration jaune : Lac+ (la bactérie est capable de dégrader le lactose) ; Sac+ (la bactérie est capable de dégrader le saccharose).

- Coloration rouge : Lac- (la bactérie n'est pas capable de dégrader le lactose); Sac- (la bactérie n'est pas capable de dégrader le saccharose)

- Culot

- Coloration jaune : glu+ (la bactérie est capable de dégrader le glucose).

- Couleur non changée : glu- (la bactérie n'est pas capable de dégrader le lactose).

- Poche d'air : gaz + (la bactérie est capable de produire du gaz).

- Pas de poche d'air : gaz – (la bactérie ne produit pas de gaz).

- Noircissement du milieu : H_2S + (la bactérie est capable de produire du H_2S).

- Pas de noircissement : H_2S - (la bactérie est capable de produire du H_2S).

b) Recherche du tryptophane désaminase (TDA), de production d'indole et recherche de l'Uréase

Le milieu utilisé pour ces tests est le milieu urée- indole. De couleur jaune orangé, il contient du tryptophane, du carbonate d'ammonium et du rouge de phénol.

Le tryptophane peut subir une désamination oxydative avec transformation en acide indole - pyruvique ultérieurement. La réaction peut se poursuivre par décarboxylation vers l'indole-acétaldéhyde et l'indole acétate (+).

La formation d'ammoniaque suite à l'hydrolyse de l'urée, présence d'Uréase, produit une augmentation du pH qui intensifie la couleur rouge violacé.

❖ Technique

La technique consiste à mettre 6 à 10 gouttes de la suspension bactérienne à étudier dans le milieu urée –indole et l'incuber pendant 18 à 24 h à une température de 37°C.

❖ **Lecture**

L'interprétation fait après incubation est résumé dans le **Tableau 5**.

Tableau 5: Table de lecture du milieu urée- indole.

Tests	Réactifs	Lecture et interprétation
Recherche d'Uréase		Jaune « urée (+) » Rose violet « urée (-) »
Recherche de TDA	- 1 goutte d'acide chlorhydrique - 1 goutte de perchlorure de fer à 33 %	- Rouge « TDA (+) » - Jaune « TDA (-) »
Production d'indole	1 goutte de réactif de Kovacs	Anneau rouge « Indole (+) » Pas d'anneau rouge « Indole (-) »

c) Mise en évidence du citrate de Simmons

Le test consiste à mettre en évidence l'utilisation du citrate comme seule source de carbone et d'énergie par les bactéries sur le milieu incliné de citrate de Simmons.

❖ **Technique**

Nous avonsensemencé notre suspension bactérienne préalablement faite sur la pente du milieu citrate par des stries. L'incubation du milieu a été faite pendant 18 à 24 à une température de 37°C.

❖ **Lecture**

- s'il y a virage du vert au bleu : la bactérie est citrate positif (c'est-à-dire la bactérie utilise le citrate comme source de carbone)
- s'il n'y a pas de virage de couleur : la bactérie est citrate négatif (c'est-à-dire la bactérie n'utilise pas le citrate comme source de carbone)

d) Mise en évidence de la réaction de Vogue Proskarver (VP)

❖ **Technique**

Sur le milieu Clark et Lubs est ajouter 6 à 10 goutte de la suspension bactérienne. Le milieu est incubé pendant 18 à 24 h à 37°C.

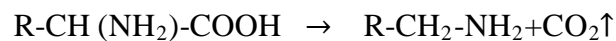
❖ **Lecture**

Après incubation, nous avons ajouté au milieu 5 à 10 gouttes des réactifs (VP1/VP2).

- Apparition d'une coloration rouge : VP+
- Coloration jaune : VP-

e) **Mise en évidence des décarboxylases aminés : ADH, LDC, ODC**

Il s'agit de la mise en évidence d'enzymes induites dont la synthèse est favorisée par un pH acide (pH optimum 3,5 à 5,5) et des conditions d'anaérobiose. Le milieu, Milieu Moeller, est constitué de glucose, d'extrait de levure du bromocrésol pourpre comme indicateur de pH et un seul acide aminé. La fermentation du glucose provoque une baisse de pH favorisant la synthèse de l'enzyme (amine). L'alcalinité due à l'amine entraîne le virage de l'indicateur au violet (pH ≥ 7). Les décarboxylases scindent les acides aminés correspondant en entraînant la formation de l'amine correspondante et la libération de dioxyde de carbone selon la réaction :



LDC : la Lysine-décarboxylase (Lysine → cadavérine)

ODC : l'Ornithine-décarboxylase (Ornithine → putrescine)

ADH : l'arginine-dihydrolase (Arginine → Ornithine).

❖ **Technique :**

Quatre tubes à essais stériles sont utilisés :

- 1 tube pour l'ADH
- 1 tube pour LDC
- 1 tube pour l'ODC
- 1 tube pour le témoin

Dans chaque tube, 2ml du milieu Moeller a été mis avec l'acide aminé à étudier (le témoin est sans acide aminé). Nous avons ensuite ajouté à chaque milieu 5 à 6 gouttes de la suspension bactérienne à étudier préalablement faite et environ 1 ml d'huile de vaseline stérile pour créer l'anaérobiose. A la fin les tubes sont placés à l'étuve à une température de 37 °C pendant 18 à 24 h.

❖ lecture

- Coloration violette (alcalin) : décarboxylase + (la bactérie possède l'enzyme décarboxylase).
- Coloration jaune (acide) : décarboxylase – (la bactérie ne possède pas l'enzyme décarboxylase).
- Témoin : il doit virer au jaune car ne possède pas d'acide aminé.

II.3.3.4.2.2. Galerie API 20 E

La galerie API 20 E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par les virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue Analytique ou du logiciel d'identification.

❖ Technique

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée [ou tout eau sans additif ou dérivés susceptibles de libérer des gaz (Ex : Cl_2 , CO_2 ...)] dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte. (Ne pas inscrire la référence sur le couvercle, celui-ci pouvant être déplacé lors de la manipulation).
- Sortir la galerie de son emballage
- Placer la galerie dans la boîte d'incubation.
- Placer la galerie dans la boîte d'incubation

NOTE : API 20 E doit être utilisé avec des *Enterobacteriaceae* et/ ou des bacilles à Gram négatif non fastidieux. Les microorganismes fastidieux, exigeants et nécessitant des précautions de manipulation particulières (ex. *Brucella* et *Francisella*) ne font pas partie de la base de données API 20 E. Il convient d'utiliser d'autres techniques pour exclure ou confirmer leur présence.

- Ouvrir une ampoule d'API NaCl 0.85 % Medium (5 ml) ou une ampoule d'API suspension Medium (5 ml), ou un tube contenant 5 ml d'eau physiologique stérile ou d'eau distillée stérile, sans additif.

➤ A l'aide d'une pipette, on prélève des colonies bien isolées sur des cultures jeunes (18-24 heures).

➤ Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu. Cette suspension doit être utilisée extemporanément.

➤ Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide de la pipette (pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant) :

- Pour les tests [CIT], [VP] et [GEL], remplir tube et cupule,
- Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non les cupules),
- Pour les tests : ADH, LDC, ODC, H₂S, URE créer une anaérobiose en

remplissant leur cupule d'huile de paraffine

➤ Refermer la boîte d'incubation.

➤ Incuber à 36°C plus ou moins 2°C pendant 18-24 heures.

❖ **Lecture et interprétation**

• Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture (**Annexe III**).

• Si 3 tests ou plus (test de Glu \pm) sont positifs, noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées puis révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs :

- Test TDA : ajouter 1 goutte de réactif TDA. Une couleur marron-rougeâtre indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.

- Test IND : ajouter une goutte de réactif JAMES. Une couleur rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.

- Test VP : ajouter une goutte de réactif VP1 et VP2. Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose ou rouge indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats. Une faible coloration apparaissant après 10 minutes doit être considérée comme négative.

NOTE : Le test de la production d'indole doit être réalisé en dernier, car cette réaction libère des gaz qui risquent d'altérer l'interprétation d'autres tests de la galerie. Ne pas remettre le couvercle d'incubation après l'ajout du réactif.

- Si le nombre de tests positifs avant ajout des réactifs (y compris le test de GLU) est inférieur à 3 :

- Réincuber la galerie 24 heures (+_ 2 H) de plus sans rajouter les réactifs.
- Révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs (voir paragraphe précédent).

- Pour compléter l'identification, il peut être utile de réaliser des tests complémentaires (se reporter au paragraphe Identification).

❖ Identification

L'identification est obtenue à partir du profil numérique.

- Détermination du profil numérique :

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

- L'identification est réalisée à partir de la base de données (V4.1)

*à l'aide du catalogue Analytique, rechercher le profil numérique dans la liste des profils.

*à l'aide du logiciel d'identification API web TM, entrer manuellement au clavier le profil numérique à 7 chiffres.



Figure 6 (originale) : Tests biochimiques de la galerie API 20 E (avant incubation).

II.3.4. Antibiogramme :

Les antibiogrammes ont été effectués par la méthode de diffusion sur gélose à partir de disques chargés en antibiotiques listés dans l'**annexe I**. Au minimum 8 disques ont été testés pour chaque germe isolé au cours de notre étude.

La détermination des résistances a été effectuée selon les recommandations du Comité français de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie (CA-SFM, 2017).

II.3.4.1. Etudes de la sensibilité des souches isolées

Cette étude a pour but de mettre en évidence la résistance des bactéries vis à vis aux différents antibiotiques. C'est un test très important durant le diagnostic des infections et aussi durant les études épidémiologiques.

L'étude de la sensibilité des souches isolées a été effectuée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé Mueller-Hinton à partir des disques d'antibiotiques selon les normes préconisées par le comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM, 2017). La lecture se fait en mesurant avec précision les différents diamètres des zones d'inhibition. Les souches ont été classées en catégorie sensible (S) ou résistante (R) selon les valeurs interprétatives de l'antibiogramme. Les antibiotiques testés pour chaque bactérie sont listés aux **tableaux 17, 18, 19 (annexe I)**.

Les souches productrices de bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE) ont été détectées par le test de synergie entre un disque central d'amoxicilline + acide clavulanique (AMC) distant de 30mm de disque de céfotaxime. La présence de BLSE est suspectée devant un aspect en « bouchon de champagne ».

➤ **Technique d'étude de la sensibilité aux antibiotiques selon les normes de la CA-SFM 2017**

Pour tester la sensibilité, aux antibiotiques, des entérobactéries et celle des staphylocoques le milieu utilisé est le milieu Mueller-Hinton (MH) ; Mais pour le teste de sensibilité des streptocoques, aux antibiotiques, nous avons utilisé le milieu gélose au sang cuit (GSC) qui est le milieu MH additionné à 5 % de sang (de mouton, cheval, humain).

- Ils doivent être coulés dans des boîtes de pétri sur épaisseur de 4mm.
- Les géloses doivent être séchées avant l'emploi (15 min).

❖ **Préparation de l'inoculum**

A partir d'une culture pure de 18 à 24 H sur milieu d'isolement approprié, nous avons prélevé à l'aide d'une anse de platine ou d'une pipette pasteur quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.

Les colonies bactériennes ont été mélangé dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9 % et bien homogénéiser. La suspension bactérienne trouvée avait une opacité équivalente au

standard McFarland 0,5 (~108 UFC/ml) ou une densité optique (D.O) de 0.8 à 0.10 lue sur une longueur d'onde de 625 nm.

❖ **Ensemencement**

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne
- L'essorer en le passant fermement (et en le tournant) la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum l'écouvillon.
 - Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées (**Figure 7**).
 - Répéter l'opération 3-4 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
 - Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque répétition.
 - Placer ensuite les disques d'ATB à tester sur le milieu ensemencé ; au moins 4 disques par boîte sont testés lors de notre études.

Les boîtes seront placées ensuite à l'étuve pendant 18 à 24 H à 37 °C dans une atmosphère ordinaire.

❖ **Lecture**

- Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibitions à l'aide d'un pied à coulisse ou une règle.
- Pour les bactéries testées sur MH simple, les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte.
- Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes. Classer la bactérie dans l'une des catégories :
 - S= sensible
 - R= résistante
 - I= Intermédiaire



Figure 7 (originale) : Méthode d'ensemencement par écouvillonnage.

II.3.4.2. Recherche de la BLSE

a. Définition d'une BLSE :

Les BLSE désignent des enzymes produites par les entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* entraînant une diminution de l'activité des céphalosporines de la 3^{ème} génération (C3G) (tels que céfotaxime, ceftriaxone, ceftazidime) et des monobactams (aztréonam), mais n'ayant aucune activité vis-à-vis des céphamycines (céfoxitine, moxalactam) ni des Carbapénèmes (imipénème).

✓ Quand rechercher une BLSE

On recherchera une BLSE devant un diamètre inférieur à 23 mm pour la céfotaxime (CTX)

b. Méthode de détection d'une BLSE

➤ Test de synergie

Les BLSE dérivées des enzymes de classe A(Ambler) sont inhibées par les inhibiteurs de bêta-lactamases (acide clavulanique, sulbactam et tazobactam).

❖ Technique

La recherche de la BLSE se fait dans la condition standard de l'antibiogramme en déposant un disque d'amoxicilline + acide clavulanique (AMC) à 30 mm (centre à centre) d'un disque de

C3G (céfotaxime). La boîte est ensuite incubée à 37°C pendant 18 à 24 h. Le test est positif s'il apparaît une image de synergie « bouchon de champagne » entre les deux disques.

➤ **Test de confirmation ou technique du double disque**

Ce test devra être fait systématiquement devant l'absence de synergie avec diminution des diamètres de CTX (diamètre inférieur ou égal à 22 mm) **figure 8**.

❖ **Technique**

Dans la condition standard de l'antibiogramme, un disque de CTX est déposé avec un disque d'AMC tout en laissant une distance de 25 mm entre les deux disques. Le disque de l'AMC diffuse pendant une heure à la température ambiante (sur la paillasse). Après une heure, le disque d'AMC est remplacé par un nouveau disque de CTX et ensuite la boîte est incubée pendant 18 à 24 h à 37°C.

❖ **Lecture**

Le test est positif si le diamètre d'inhibition autour du CTX, appliqué après diffusion du disque AMC est supérieur ou égale à 5 mm par rapport au diamètre d'inhibition du disque de CTX déposé préalablement. Cependant la réponse R, I ou S se fait en se référant aux seuils des diamètres mesurés.



Figure 8: Test de confirmation de production de BLSE.

II.3.4.3. Recherche de la résistance inductible à la clindamycine

La résistance inductible à la clindamycine ne peut être détectée qu'en présence d'un macrolide. Devant une souche résistante à l'érythromycine et sensible à la clindamycine, on recherche le caractère inductible de cette résistance mis en évidence par antagonisme entre l'érythromycine et la clindamycine.

❖ Technique

Dans les conditions standards de l'antibiogramme, nous avons placé un disque de clindamycine (CD) à une distance de 25 mm d'un disque d'érythromycine (E) sur le milieu ensemencé. Nous avons ensuite placé la boîte à l'étuve pour une incubation de 18 à 24 h à 37°C.

❖ Lecture

-En l'absence d'induction (absence d'une image d'antagonisme) : la souche est considérée sensible à la clindamycine

-En présence d'induction (présence d'une image d'antagonisme) : on dit que la souche est résistante à l'érythromycine et à la clindamycine

II.3.4.4. Détection de la résistance à la méthicilline des souches de staphylocoque

La résistance des staphylocoques (*Staphylococcus aureus* et des staphylocoques à coagulase négative notamment le *Staphylococcus saprophyticus*) aux isoxazolyl-pénicillines (Oxacilline, cloxacilline) est recherchée à l'aide de test du disque de céfoxitine (30 µg).

Après incubation les souches de staphylocoques résistantes à la céfoxitine après induction par une bêta-lactamine, doivent être interprétées résistantes à toutes les bêta-lactamines (pénicillines associées ou non à un inhibiteur de bêta-lactamase, céphalosporines et carbapénèmes), sauf à la ceftaroline et au ceftobiprole qui possèdent une activité sur les staphylocoques résistants à l'oxacilline mais leur activité doit être testée séparément.

Le présent travail a été mené au niveau du Laboratoire Central « Unité de Bactériologie » de l'établissement public hospitalier de Boufarik. Selon les méthodes d'interprétation de l'ECBU, utilisées par le personnel du laboratoire, que nous avons détaillé dans l'annexe III, notre étude prospective sur l'examen cytobactériologique des urines de femmes enceintes nous a permis de sélectionner, sur les 122 échantillons analysés :

- 55 cas positifs avec un pourcentage de 45 %,
- 67 cas négatifs dont le pourcentage est de 55 %

Ces résultats résultent à la fois des résultats de positivité et de négativité des deux examens (cytologie et bactériologie) des urines que nous allons détailler ci-dessous.

III.1.RESULTATS DE LA CYTOLOGIE DES URINES

❖ Résultats généraux

Nous avons réparti les résultats de la cytologie dans le tableau 16 (Annexe III) à fin de pouvoir étudier la fréquence (Figure 9) de la présence et/ou l'absence des germes et des éléments cellulaires dans les urines.

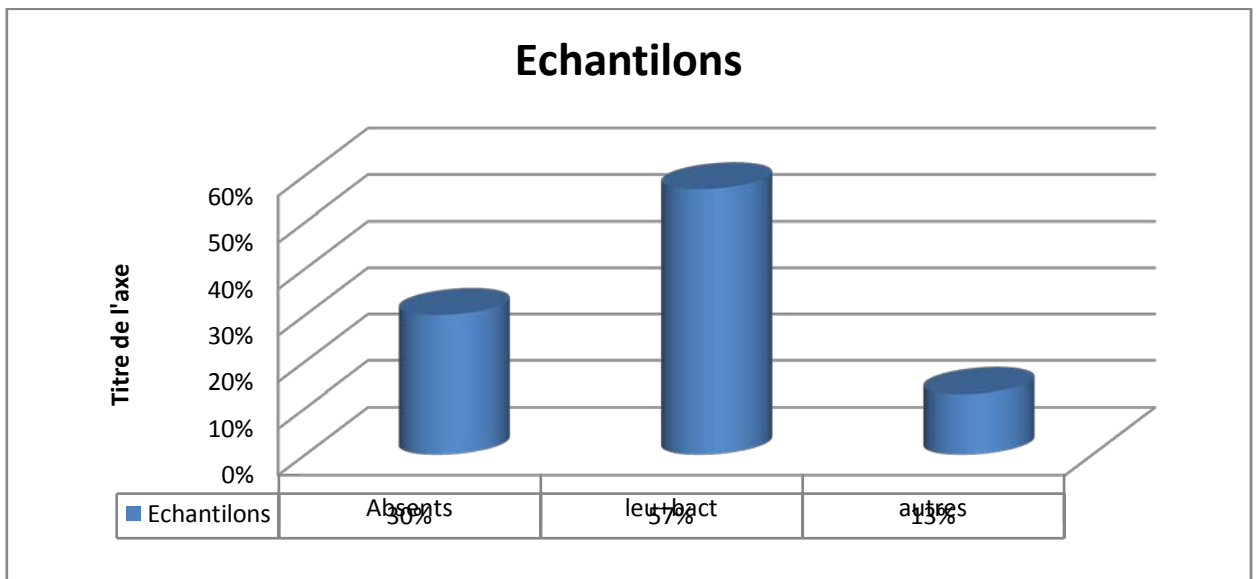


Figure 9: Représentation graphique des résultats de la cytologie.

Sur la figure, nous remarquons que la majorité des échantillons présentent des leucocytes et/ou des bactéries (57 %). Par contre, 30 % ne présentent aucun élément (absents) et de faible taux d'échantillons (13 %) présentent d'autres éléments que les leucocytes et les bactéries tels que les cristaux, les cellules épithéliales et les levures.

A partir de ces résultats (**Figure9**) et sachant que les leucocytes jouent un rôle très important dans la défense contre la colonisation et la prolifération bactérienne dans l'arbre urinaire, nous pouvons déduire que les échantillons présentant des leucocytes et/ou des bactéries (57 %) sont probablement les cas d'ECBU positifs.

De plus, on parle beaucoup dans la littérature (**Pilly, 2010**) que la bactériurie et la leucocyturie sont des critères cyto bactériologiques qui indiquent la présence ou l'absence d'une infection urinaire en générale, ce qui inclue aussi l'infection urinaire chez la femme enceinte.

Cependant, les cas négatifs sont en générale des urines stériles (absence de bactéries) présentant un aspect limpide avec une étude microscopique ne révélant aucun élément (champs vide) soit un taux de 30 %, ou des urines révélant des champs contenant des rares éléments cellulaires (hématies, cellules épithéliales) avec ou sans cristaux soit un taux de 13 %.

La présence de cristaux pourrait être liée à un problème rénal, à la prise de certains médicaments ou à la consommation de certains aliments. Cependant il est rapporté par certains auteurs que la consommation des produits laitiers ou de certains médicaments provoque une précipitation de certains cristaux par exemple les cristaux d'oxalate de calcium (**Grosjean et al., 2011**).

❖ Cas des échantillons avec leucocytes et bactéries

Dans le **tableau 17 (Annexe III)** sont illustrés les résultats de la cytologie des échantillons présentant des leucocytes et des bactéries. **La Figure 10** nous aide à étudier la répartition des leucocytes et des bactéries selon les résultats de la cytologie.

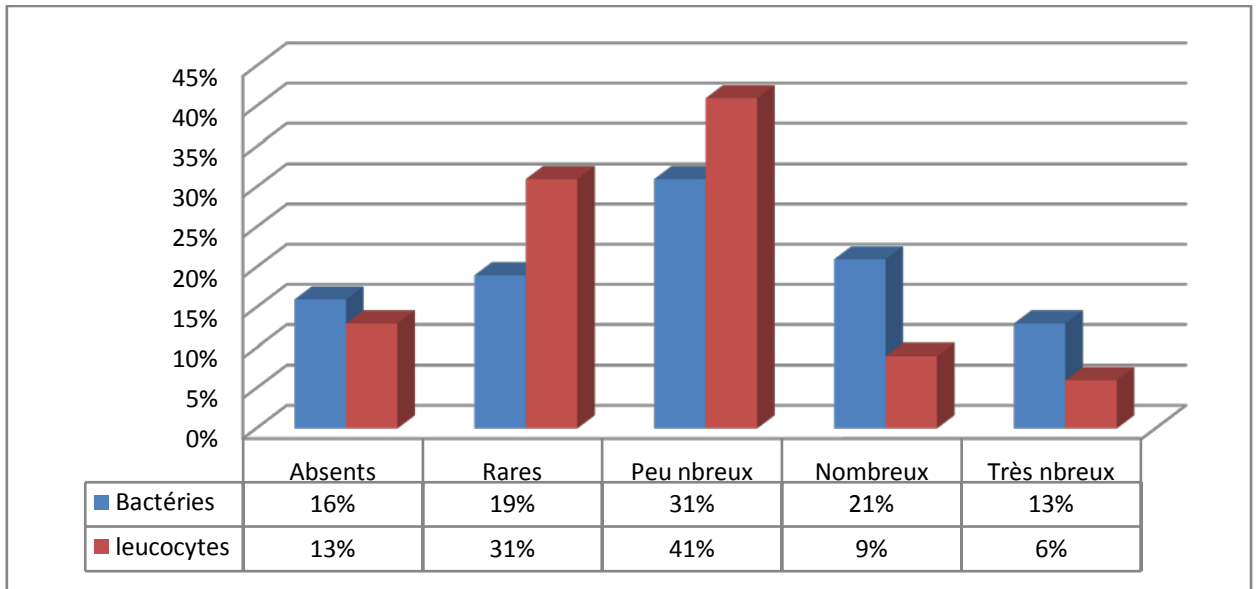


Figure 10 : Répartition graphique des résultats de la cytologie des cas présentant des leucocytes et/ou des bactéries.

Nous constatons sur la figure que parmi les 70 échantillons présentant des leucocytes et/ou des bactéries (**Tableau 17 ; Annexe III**), 16 % (11) ne présentent pas de bactériuries et 13 % (9) ne présentent pas de leucocytes. De rares bactéries et leucocytes ont été observés dans 19 % (13) des cas présentant des bactéries et 31 % (22) des cas de leucocyturie. Peu de bactériuries sont représentées dans 31 % (22) des cas et 41 % (29) des échantillons pour la leucocyturie ; 21 % (15) des échantillons présentent de nombreuses bactériuries par contre un faible taux de leucocyturie nombreuse est présent dans 9 % (6) des cas. Peu d'échantillons présentent de très nombreuses leucocyturie et bactériurie soit un taux de 13 % (9) pour la bactériurie et un taux de 6 % (4) pour la leucocyturie.

Cette étude sur la leucocyturie et la bactériurie nous a permis de déterminer les cas de bactériurie et de leucocyturie significatives ou non significatives (**figure 11 ci-dessous**).

❖ **Cas de bactériurie et de leucocyturie significatives ou non significatives**

La répartition des cas de bactériurie et de leucocyturie significatives ou non significatives est illustrée dans le **tableau 18 (Annexe III)** et représentée par la **figure 11**.

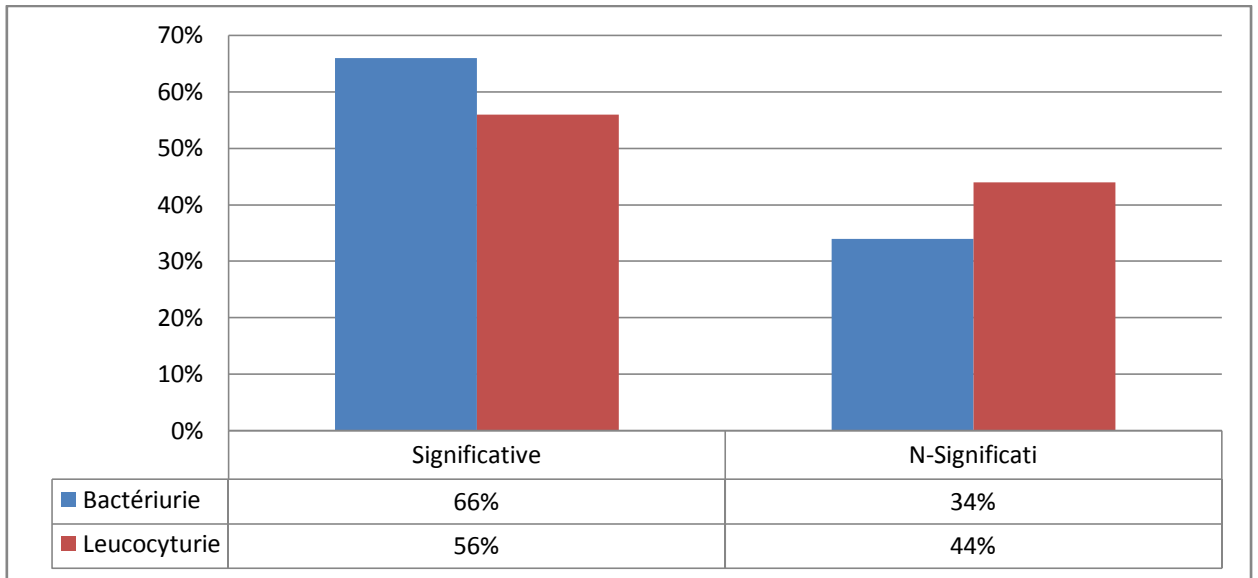


Figure 11 : Répartition graphique des cas de leucocyturie et de bactériurie significatives ou non significatives.

Parmi les 70 cas, de nombreux échantillons présentent une bactériurie et leucocyturie significatives avec un taux de 66 % pour la bactériurie contre 34 % de cas de bactériurie non significative. 56 % des échantillons présentent une leucocyturie significative, par contre 44 % présentent une leucocyturie non significative.

Nous remarquons sur la **figure 11** que la majorité des échantillons présentent de forte leucocyturie et bactériurie (bactériurie et leucocyturie significatives). Il serait possible que ces urines soient les cas d’ECBU positifs mais cette hypothèse sera confirmer par un examen bactériologique (uroculture).

Cette remarque est au fait en relation avec les données de la littérature notamment **Avril, (2000) et Singleton, (2004)** qui rapportent que l’infection urinaire est affirmée par une leucocyturie et une bactériurie $>10^5/ml$ (bactériurie et leucocyturie significatives) lors d'un ECBU réalisé correctement.

III.2.RESULTATS DE L’UROCULTURE ET DE LA COLORATION DE GRAM

❖ Cas des ECBU positifs

Parmi les 122 cultures réalisées, 55 cultures ont été positives. Ces ECBU positifs représentent les cultures n’isolant qu’un seul type de germe et qui présentent une numération suffisante (colonies bactériennes occupant la moitié de la boîte ou plus)**figure 12.**

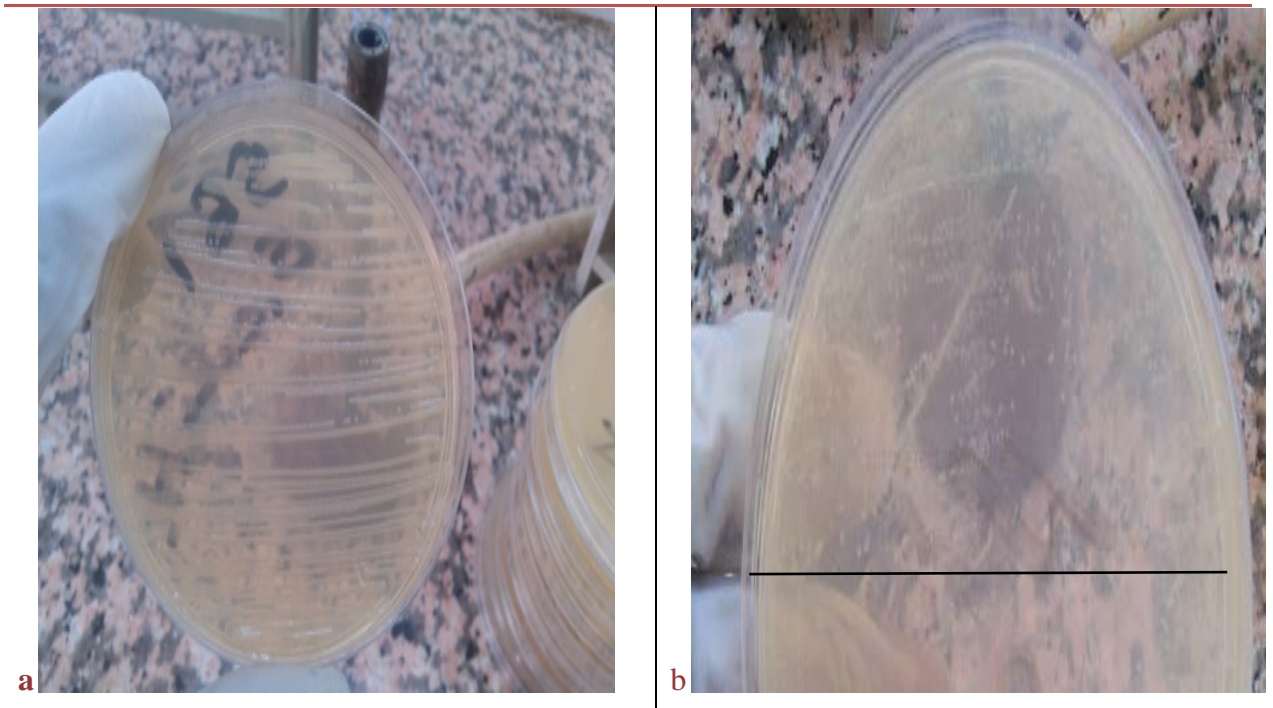


Figure 12 (originale) : Observation macroscopique de la culture d'un ECBU positif : a) culture occupant toute la boîte ; b) culture occupant la moitié de la boîte.

III.2.1. Aspect macroscopique des colonies des germes isolés sur les GN :

L'aspect macroscopique des germes isolés sur la gélose nutritive est représenté dans le tableau 6.

Tableau 6: Aspect macroscopique des germes isolés

Aspect macroscopique des colonies	Interprétation
De courtes colonies assez larges, opaques et blanchâtres	<i>Escherichia coli</i> ?
De larges colonies muqueuses, lisses ou rugueuses et luisantes	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ?
Envahissement de la gélose en voile montrant des vagues successives au tour de la colonie	<i>Proteus mirabilis</i> ?
De grosses colonies généralement bombées, lisses et brillantes	<i>Enterobacter</i> ?
Des colonies plus ou moins grosses, circulaires, opaques et légèrement bombées.	<i>Staphylococcus ssp.</i> ?
Des colonies plus ou moins grandes, bombées et opaques isolées sur la gélose nutritive.	<i>Streptococcus agalactiae</i> ?

❖ Cas des ECBU négatifs

Les cultures des ECBU négatifs présentait soit l'absence totale de colonies bactériennes sur le milieu de culture soit la présence de colonies bactériennes mais en quantité très faible (cultures avec numération insuffisante).

Des cas de cultures contaminées (cultures polymicrobiennes) ont été observés mais celles-ci n'ont pas été enregistrées dans notre travail. Un contrôle sur un nouveau prélèvement réalisé dans des conditions rigoureuses est fait pour les ECBU contaminés. Des exemples de cultures négative et contaminée sont présentés par la **figure 13**.

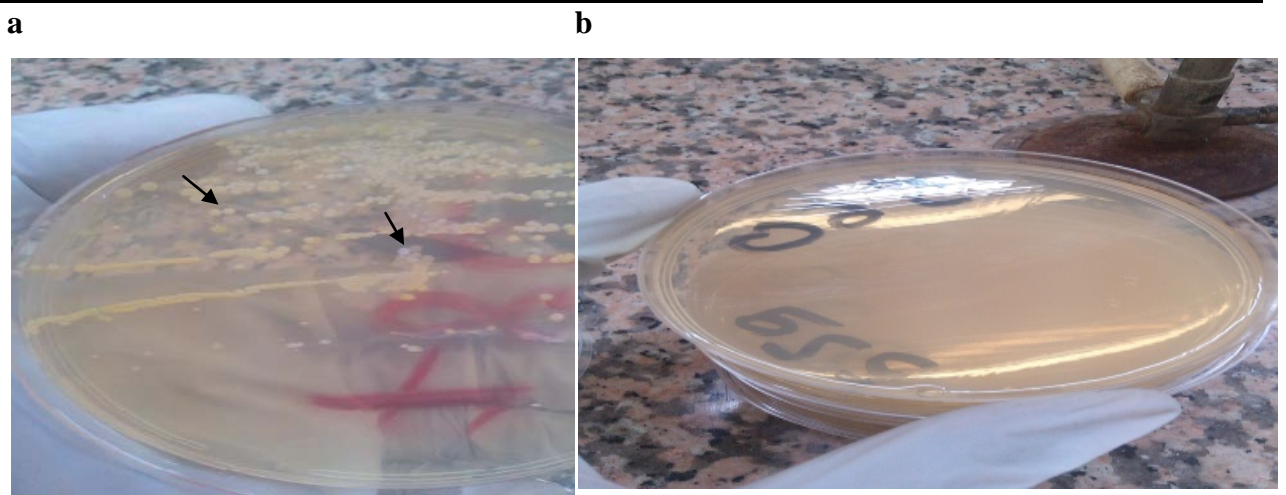


Figure 13 (originale) : Observation macroscopique d'un ECBU contaminé (a) et d'un ECBU négatif (b).

Les résultats de l'uroculture obtenus après incubation du milieu GN, nous permet de confirmer les résultats obtenus lors de l'examen cytologique des urines.

Le **tableau 19 (annexe III)** illustre les résultats de l'uroculture en fonction de la cytologie et la **figure 14** présente la répartition de ces résultats en fonction des résultats de la cytologie.

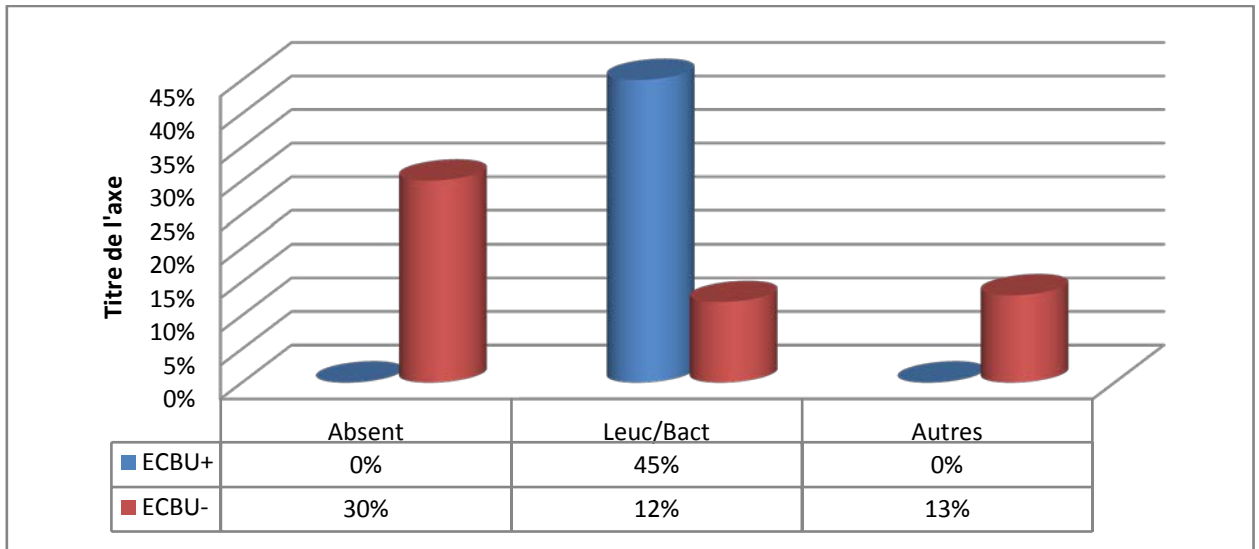


Figure 14: représentation graphique des résultats de l’uroculture en fonction de la cytologie

Nous remarquons sur la **figure14** que les ECBU positifs représentent 45 % (55) des ECBU tous ayant été déclaré positifs lors de la cytologie.

Outre, on constate que les urines qui étaient négatives (urines sans éléments et urines avec des éléments autres que les leucocytes et bactéries) lors de l’examen cytologique des urines présentent la majorité des ECBU négatifs.

Nous enregistrons sur les 122 échantillons 55 % d’ECBU négatifs. Parmi les ECBU négatifs 30 % (36) présentent les urines présentant des champs vides, 13 % (16) pour les urines présentant d’autres éléments que les leucocytes et bactéries et 12 % (15) pour les cas d’urines présentant des leucocytes et/ou des bactéries.

Ces résultats permettent de confirmer l’hypothèse posée au niveau de l’interprétation des résultats de la cytologie, dans la quelle nous supposons que les urines présentant de forte leucocyturie et bactériurie (bactériurie et leucocyturie significatives) seraient les d’ECBU positifs. Mais un faible nombre d’urines présentant une leucocyturie et/ou une bactériurie a présenté les ECBU positifs. Cependant nous pouvons dire que, même en présence de faible bactériurie ou de leucocyturie, un ECBU peut être positif contrairement à ce que rapportent **Avril, (2000) et Singleton, (2004)** « l’infection urinaire est affirmée par une leucocyturie et une bactériurie $>10^5/ml$ (bactériurie et leucocyturie significatives) lors d’un ECBU réalisé correctement ».

Certaines recherches affirment les résultats que nous avons obtenus notamment ceux de **Bruyère et al.,(2008)**. Il est rapporté dans leur recherche, que chez un patient symptomatique sans sonde, l'association d'une bactériurie $\geq 10^3$ ufc/ml à une leucocyturie $\geq 10^4$ /ml est fortement évocatrice d'une infection urinaire. De plus, le caractère pathogène d'un microorganisme et le seuil de bactériurie significative dépend du type de micro-organismes et de leur niveau d'implication dans l'étiologie des infections urinaires.

La fréquence élevée des ECBU négatifs, soit un taux de 55 % dans le cadre de notre étude, est probablement due à cause des examens cyto bactériologiques des urines demandés dans un bilan général pour la surveillance des femmes au cours de la grossesse à fin d'éviter divers risques pouvant atteindre la mère ou le fœtus en cas de complication de l'infection urinaire , ou bien effectués pour un contrôle après une antibiothérapie.

Concernant les cas de leucocyturie sans présence d'infection urinaire, **Denis (2002)**, rapporte que plusieurs situations peuvent y être liées notamment la contamination de l'urine par des leucocytes vaginaux, le traitement antibiotique, la présence d'un corps étranger ou d'un calcul dans les voies urinaires, une néphrite interstitielle, présence de tumeur des voies urinaires, le cas urétrite et/ou cervico-vaginite (endocervicite) ou la présence d'une bactérie ne cultivant pas sur milieux usuels (anaérobies, *Chlamydia*...).

III.2.2. Aspect microscopique des germes isolés sur GN, après coloration de Gram

Grâce à la coloration de Gram des germes isolés sur le GN, deux groupes bactériens ont été observés au microscope. Le premier groupe renferme les bactéries colorées en rose ayant la forme de bâtonnet (bacilles à Gram négatifs) et le second groupe renferme les bactéries rondes ou sphériques colorées en bleu-violacée (cocci à Gram positifs).

La **figure 15** présente les différents groupes bactériens isolés sur le GN selon la coloration de Gram.

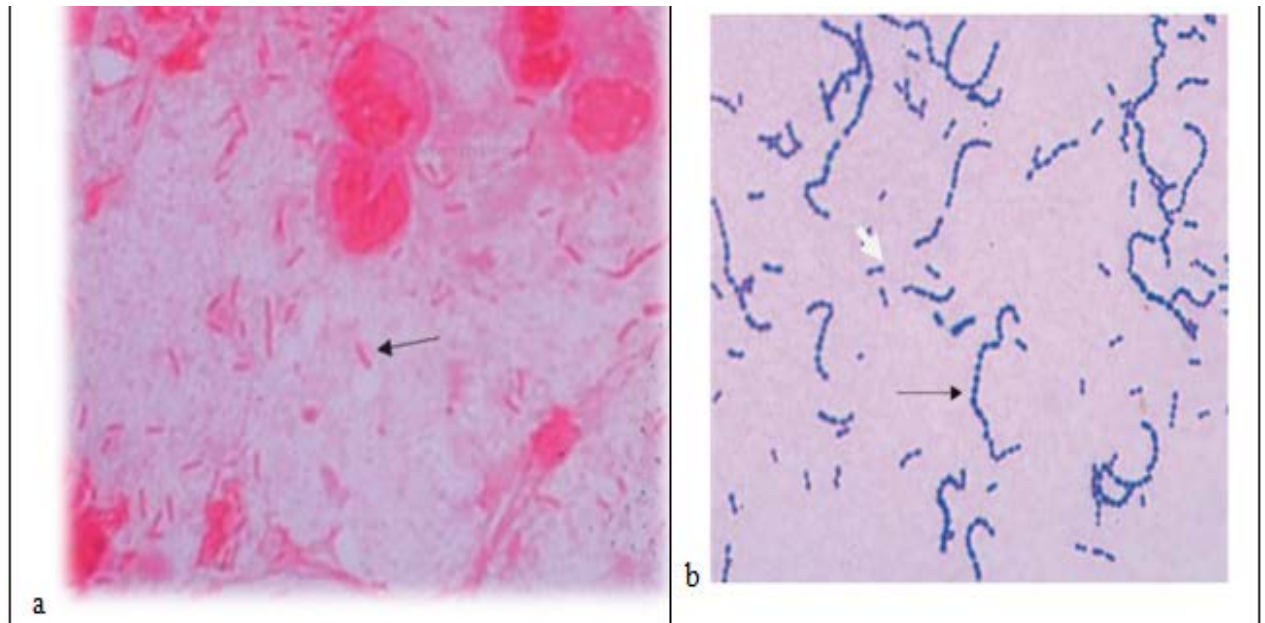


Figure 15: Aspect microscopique des germes après coloration de Gram : a) Bacilles à Gram négatif ; b) Cocci à Gram positif : → diplocoque

→ Streptocoque

III.2.3. Répartition des germes isolés selon la coloration de Gram

La coloration de Gram nous a permis de répartir l'ensemble des germes isolés en deux groupes. Ces résultats sont illustrés dans le **tableau 20 (annexe III)** et représentés par la **figure 16**.

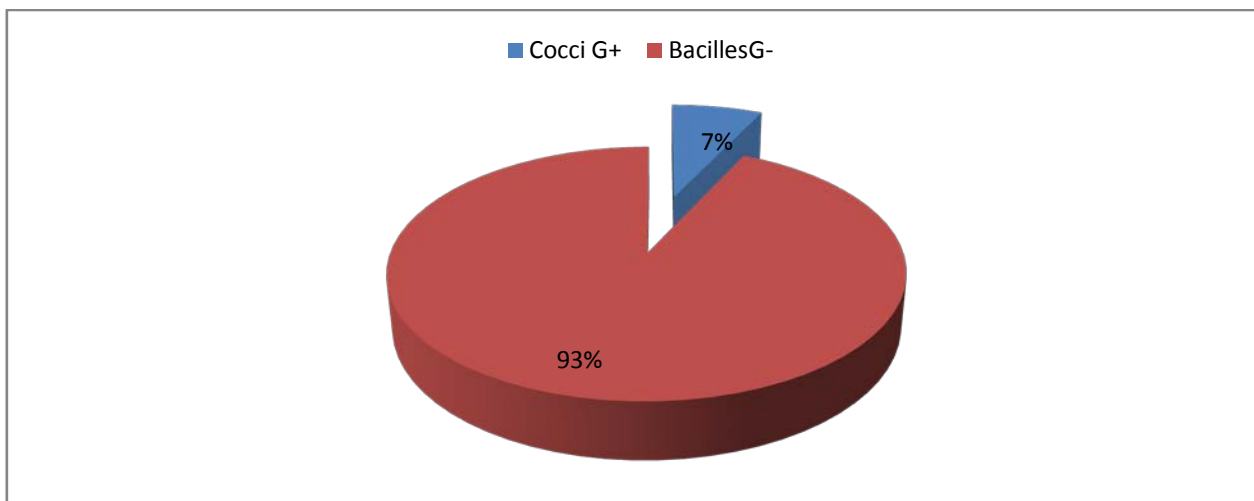


Figure 16: Fréquence de germes isolés selon la coloration de Gram.

Nos résultats obtenus lors de la coloration de Gram des germes isolés révèlent la prédominance des bactéries à Gram négatif avec un taux de 93 % (51), contre un taux de 7 % (4) pour les bacilles à Gram positifs confirmant le constat de la littérature.

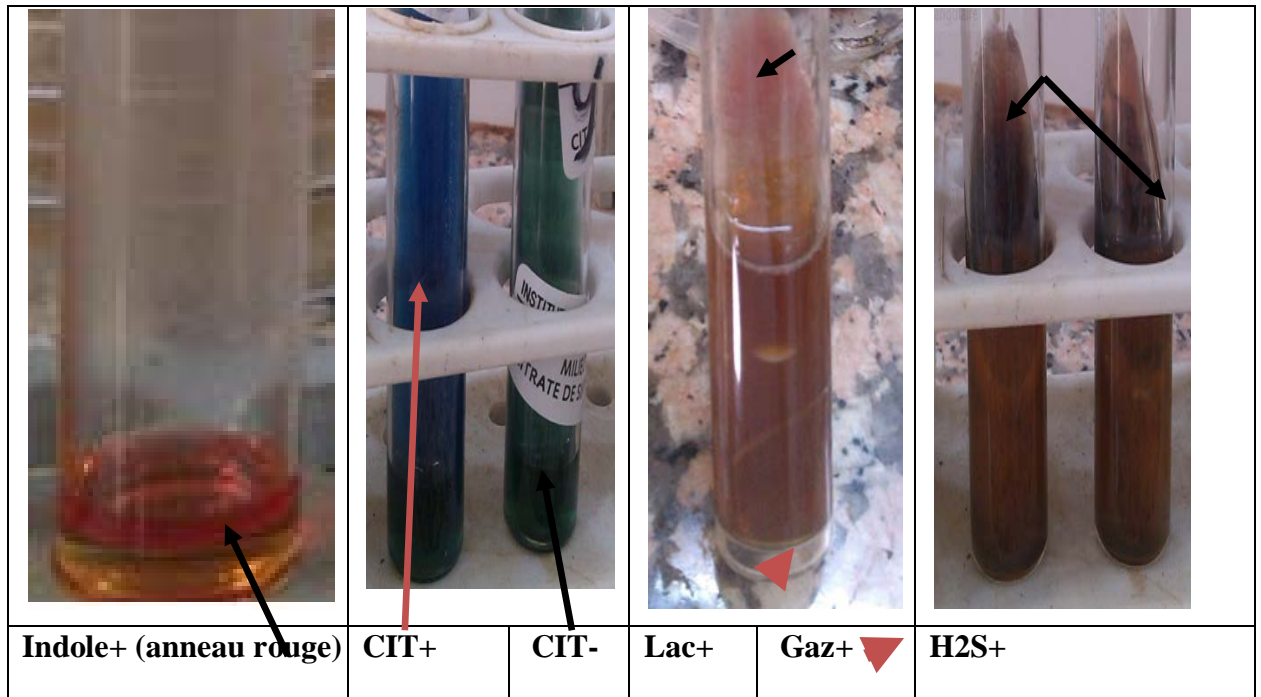
D'après **Eberlin, (1997)**, les infections à bactéries à Gram négatif (notamment les entérobactéries) correspondent à la plus grande partie des infections bactériennes ; et il est estimé qu'elles sont impliquées dans 70 % des cas des infections de la sphère urinaire.

III.3. RESULTATS DES TESTS BIOCHIMIQUES DES BACTERIES ISOLEES

Les tests biochimiques (tests de catalase, de coagulase, de galerie classique et des microgaleries API 20 E et API 20 Strep) ont permis l'affirmation de l'isolément des deux groupes de bactéries sur le milieu GN. Les entérobactéries (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter*) ont été identifiées à partir des tests de la galerie classique et de la galerie API 20 E.

III.3.1. Résultats des tests d'identification des bacilles à Gram négatif

Les **figures 17 et 18** présentent l'expression des résultats des tests de la galerie classique et de la galerie API 20 E. Nous avons répartis ces résultats dans le **tableau 7** ci-dessous.



Figures 17 (originale) : Expression de quelques tests de la galerie classique.

Lors de notre étude, à partir de la galerie classique, nous avons pu identifier 36 espèces bactériennes dont 28 souches appartiennent à l'espèce *Escherichia coli*, 8 de *Klebsiella pneumoniae* et 1 genre *Enterobacter*.

Tableau 7 : Résultats des tests biochimiques de la galerie classique

Tests Germes	Clark Lubs	Citrate de Simmons	Urée-indole			TSI				Recherche d'enzymes		
	VP	Cit	urée	TDA	indole	glu	lac	H2S	gaz	ADH	LDC	ODC
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	+	+	+	-	+	nd	nd	nd
<i>K. p</i>	+	+	+	-	-	+	+	-	+		+	nd
<i>Enterobacter</i>	+	+	-	nd	-	+	+	-	+	+	-	+

+ : positif

- : négatif

nd : non déterminé

Nb : Nous nous sommes basés sur ces caractères biochimiques (en rouge) pour l'identification de ces bactéries.

Suite aux résultats obtenus par les tests biochimiques de la galerie classique, nous avons identifié les souches isolées selon les caractères suivants :

-E. coli : La production d'indole par la bactérie s'est exprimée après l'ajout du réactif de Kovacs par la formation d'un anneau rouge surmontant le milieu de culture (Urée-indole). La dégradation du lactose par la bactérie a été exprimée par un virage de couleur en jaune au niveau de la pente sur le milieu TSI. L'absence de virage de couleur en jaune du milieu urée-indole exprime l'absence de l'uréase chez la bactérie. La réaction de Vogues-Proskarver qui s'exprime par une coloration marron-rouge du milieu après ajout des réactifs VP1 et VP2 n'est pas observée chez la bactérie. La bactérie n'utilise pas le citrate comme source de carbone (CIT-). Cette absence de réaction de citrate de Simmons s'exprime par le non virage du milieu en bleu (**Figure 18**).

-K. pneumoniae : Contrairement à *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ne produit pas d'indole et possède une enzyme Uréase. La présence de la réaction de Vogues-Proskarver (VP+) a été observée chez la bactérie. L'utilisation du citrate par la bactérie (CIT+) a été observée par un virage de couleur du milieu en bleu (**Figure 18**).

-Enterobacter: Cette bactérie est VP et CIT positives mais elle est Urée et indole négative.

A



B



C



Figure 18 (originale) : Expression des tests biochimiques de la galerie API 20 E : **A =*Proteus mirabilis*; B=*Escherichia coli* ; C = *Klebsiella pneumoniae*.**

Les profils numériques (codes) ont été déterminés grâce aux tests biochimiques de la galerie API 20 dont les résultats des tests correspondent aux caractères biochimiques des germes isolés. Nous avons portés les profils numériques dans le **tableau 8** en fonction de l'espèce identifiée.

Tableau 8: Répartition des codes d'identification en fonction de l'espèce correspondante

Genre/ espèces identifié(e)	Codes correspondants		
<i>Proteus mirabilis</i>	0136000	0 736 000	
<i>Escherichia coli</i>	5044572, 5 144 572	5 154 552,7 144 572	5 144 552
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5215773, 1 214 773 1 005 773	5205773, 5 215 773	5215773, 1 005 773

Les profils numériques obtenus ont été recherchés dans le catalogue Analytique a fin d'identifier la souche bactérienne. Cependant, nous avons pu identifier 2 souches bactériennes appartenant à l'espèce *Proteus mirabilis*, 5 espèces d'*Escherichia coli* et 7 souches appartenant à l'espèce *Klebsiella pneumoniae*.

❖ **Répartition des souches d'entérobactéries isolées selon les tests biochimiques.**

L'ensemble des germes isolés appartenant au groupe des entérobactéries sont dans la **figure 19**.

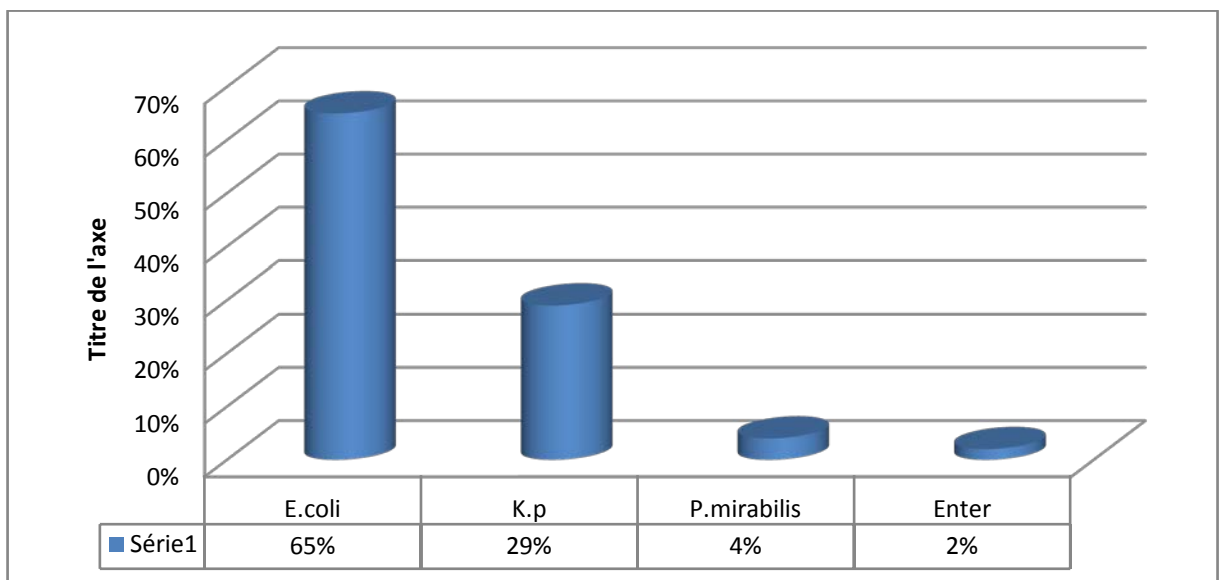


Figure 19: Répartition graphique des souches d'entérobactéries isolées selon la galerie classique et la galerie API 20 E.

Parmi les 55 ECBU positifs, nous avons identifié 51 souches bactériennes appartenant toutes au groupe des entérobactéries (les germes se présentant en bacilles Gram négatifs lors de la coloration de Gram). Cependant, 65 % (33) des souches d'entérobactéries isolées appartenaient à l'espèce *Escherichia coli*, les *Klebsiella pneumoniae* présentaient 29 % (15) ensuite viennent les

souches de *Proteus mirabilis* avec un taux de 4 % (2) et le genre *Enterobacter* avec un taux de 2 % (1).

Les entérobactéries sont été les plus isolées (93 %) sur l'ensemble des bactéries identifiées. La prédominance de ces germes est classique et est rapportée par la plupart des auteurs. Cependant **Fournié et al., (2008)** rapportèrent dans leur recherche que les entérobactéries restent toujours au premier plan et confirment l'origine fécale(digestive) des germes de l'ITU de la femme enceinte.

De plus ces résultats nous permet de déduire que l'espèce *Escherichia coli* est la souche d'entérobactérie la plus fréquente dans les infections urinaires chez la femme enceinte.

Cette fréquence importante d'*Escherichia coli* met en relation nos résultats avec ceux de plusieurs recherches, même avec des données de la littérature, qui montrent la présence de cette bactérie dans la physiologie de l'infection urinaire qui est en général ascendante.

Au cours de son étude, **Mauroy et al., (1996)** rapporte que *Escherichia coli* est en cause dans 75 à 80-90 % des cas. Depuis **1997, Eberlin** affirme, dans son livre, que l'espèce *Escherichia coli* est retrouvée dans 80 % des pathologies urinaires en ville et que les souches impliquées proviennent en grande partie de la flore commensale.

D'après **Singleton (2004)**, les souches d'*Escherichia coli* responsables d'infections de l'appareil urinaire humain codent habituellement pour une cytotoxine, une hémolysine et diverses adhésines dont les plus importantes sont les fimbriae de type I.

Ces fimbriae sont capables de se fixer à certaines protéines situées à la surface des cellules tapissant la vessie (uroépithélium), ce qui permet à la bactérie de résister à l'action de la chasse du flux urinaire d'où sa persistance dans les infections urinaire (**Singleton, 2004**).

Outre, **Sfakianos, (2006)** rapporte qu'il existe une forte colonisation du périnée par les entérobactéries d'origine digestive, et en particulier *Escherichia coli*. Ainsi cette bactérie possède des adhésines, capables de lier la bactérie à l'épithélium urinaire et d'empêcher son élimination par les vidanges vésicales.

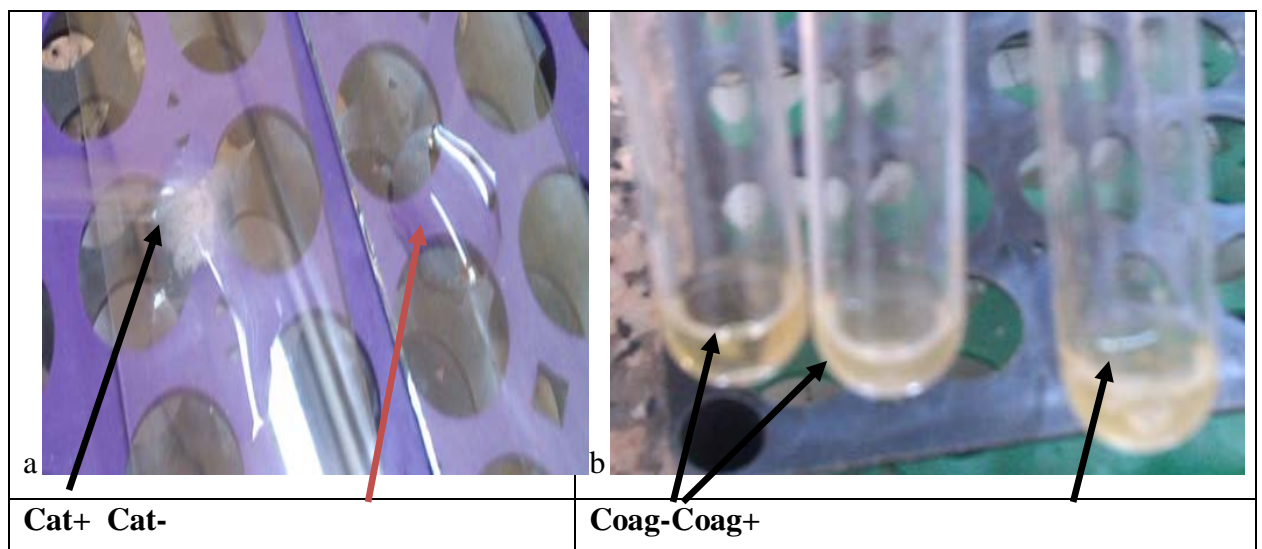
Le rôle pathologique de *Klebsiella pneumoniae* et de *Proteus mirabilis* dans les infections urinaires est rapporté par de nombreux chercheurs, notamment **Berche et al., 1991**, qui nous apportent que les genres *Klebsiella* et *Proteus* secrètent une uréase qui alcalinise l'urine, dont le pH naturellement acide empêche la prolifération des germes, ce qui expliquerait l'implication de ces bactéries dans la pathologie des infection urinaire notamment chez la femme enceinte.

De plus **Martin et al., (2002)** affirment que l'incidence de *Proteus mirabilis* dans les infections urinaires est en relation avec :

- sa grande mobilité qui favorise la diffusion de la bactérie dans l'appareil urinaire ;
- la présence de pili permettant à la bactérie de s'adhérer aux cellules épithéliales ;
- la présence d'autres types d'adhésines qui favorisent la colonisation de l'arbre urinaire : les fimbriaes MR/P (dans le rein et la vessie) et les fimbriaes PMF (dans la vessie).

III.3.2. Résultats des tests d'identification des cocci à Gram positif

Pour le groupe des cocci à Gram positif renfermant les streptocoques (diplocoques ou coques en chaînettes de diamètre inférieur à 2 µm) et les staphylocoques (cocci isolés ou en diocoques, cocci en courtes chainettes voire classiquement en amas) qui contrairement aux streptocoques sont catalases positives. Un test de catalase a été réalisé afin de les distinguer. La **figure 20** présente l'expression des tests de coagulase et de catalase.



Figures 20 (originale): Expression des tests de catalase et de coagulase : a) test de catalase ; b) test de coagulase libre.

Suite aux résultats des tests rapides de catalase et le test de coagulase réalisés sur 4 ECBU, nous avons pu d'identifier 1 souche de staphylocoque à coagulase négative.

De plus, nous avons été orienté par la suite pour l'utilisation d'un test d'API 20 Strep pour l'identification de l'espèce des 3 souches de streptocoques (les cocci testés catalase négative) (figure 10) et l'expression des résultats des tests biochimiques de la galerie API 20 Strep est présentée par la **figure 21** ci-dessous.



Figure 21 (originale): Expression des tests de la galerie API 20 Strep pour l'identification des streptocoques.

Les tests de la galerie API 20 Strep ont permis l'identification de trois souches bactérienne appartenant à l'espèce *Streptococcus agalactiae* suite à la lecture des codes numériques à partir du logiciel d'identification.

D'après **Mauroy et al., (1996)**, les cocci à Gram positif sont les germes les moins isolés par rapport aux autres germes avec un taux de 1- 4% et que le Streptocoque B est en cause dans 1 % des cas.

Selon **Berche et al., (1991)**, les cocci à Gram positif sont isolés dans les infections urinaires. Les streptocoques, principalement du groupe B et les entérocoques sont en général, considérés comme des souillures et seraient impliquées dans moins de 2 % des cas. Les infections urinaires à staphylocoque sont rares. Dans la plupart des cas ; il s'agit de l'espèce *Staphylococcus saprophyticus*.

L'infection urinaire chez la femme est une pathologie qui existe depuis longtemps bien que de nombreuses recherches ont été fait sur la maladie en cause, cette dernière continue de persister.

Selon **François et al., (2013)**, l'infection urinaire touche 5 à 10 % des femmes au cours de la grossesse. Cette fréquence est très élevée. De plus, **Bergogne (2008)** rapporte que l'importance

des infections urinaires chez les femmes peut être expliquée, par des facteurs anatomique et physiologique favorisant spécifiquement l'installation des germes pathogènes (urètre court, grossesse...).

Chez la femme enceinte, les modifications anatomiques et physiologiques (dilatation physiologique de la voie excrétrice, augmentation du secteur interstitiel et du volume vasculaire) peuvent être responsables d'une altération de la fonction rénale. Cependant, l'augmentation du taux de progestérone entraîne une hypotonie vésicale et une augmentation de la capacité vésicale (EL Bouamri et al., 2014).

Outre, Robin,(2014) affirme que dès le premier trimestre de la grossesse, les hormones et les modifications chimiques interviennent sur les voies urinaires en diminuant leurs tonus donc favorisant une baisse de débit urinaire. Cependant les urines agissant sur la paroi vésicale rendent la vessie plus sensible aux agressions des micro-organismes.

III.3.3. Etude de la fréquence des ECBU

Les 55 cas d'infections urinaires dénombrés sur nos 122 échantillons, donnant un pourcentage de positivité de 45%, représentent le nombre de femmes enceintes ayant manifestées l'infection urinaire au cours de la grossesse durant notre étude. Les ECBU négatifs ont présenté 67 échantillons soit un taux de négativité de 55 % (Figure 22).

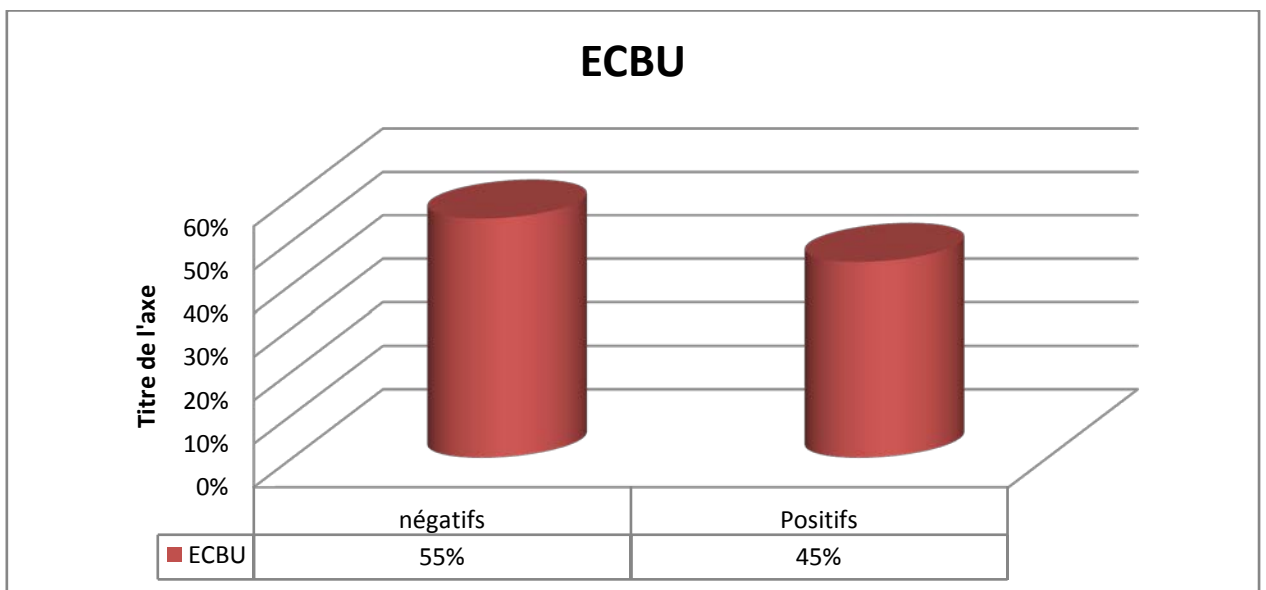


Figure 22 : Fréquence des résultats des ECBU.

Bien qu'il soit difficile de comparer des résultats obtenus d'études effectuées dans des conditions expérimentales différents, ce taux de positivité serait un peu plus comparable au résultat obtenu par **Madi (2014)** qui lors de son étude récolte 48 cas d'infection urinaire sur 160 échantillons avec un pourcentage de positivité de 30 %. Ces résultats sont loin de ceux rapportés par **Coulibaly, (2007)** soit un taux de 90 % de souches d'entérobactéries sur 50 cas d'ECBU positifs. Au cours de leur étude, **Sada et Saida, (2016)** n'ont isolé que des entérobactéries sur 181 échantillons.

III.3.3.1.Fréquence des souches isolées

Le **tableau 21 (Annexe III)** illustre l'ensemble des germes isolés selon l'examen cytot bactériologique des urines et leur fréquence est présentée par la **figure 23** ci-dessous.

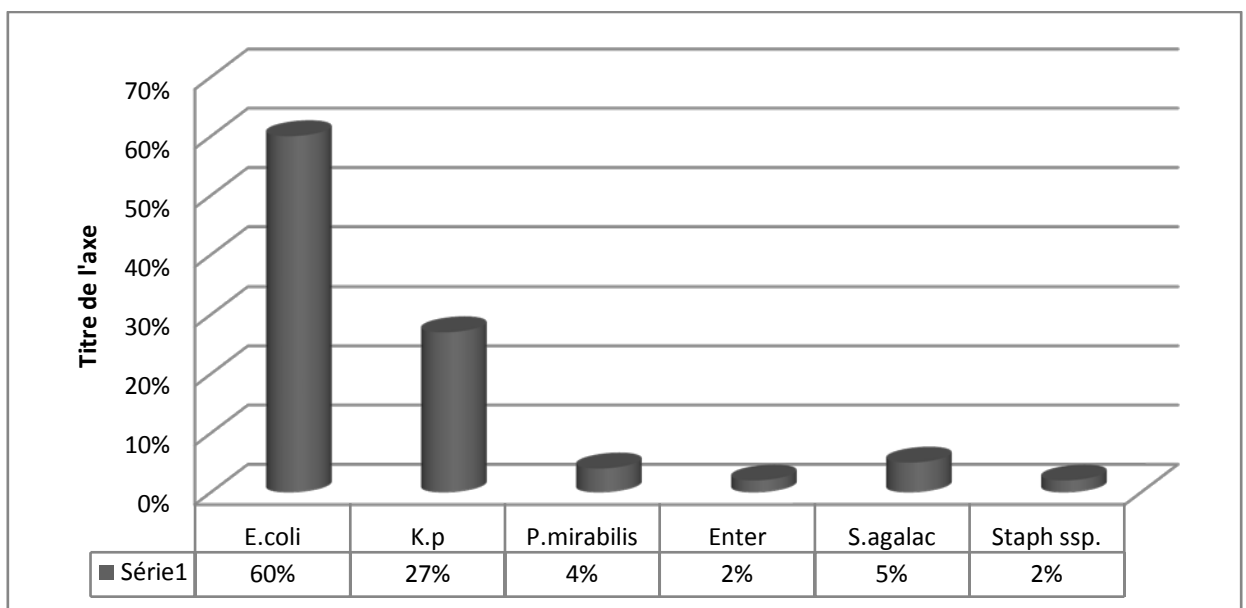


Figure 23 : Répartition des germes isolés selon l'ECBU

Au cours de notre étude sur l'examen cytot bactériologique des urines de femmes enceintes, nous avons pu isoler et identifier, sur 122 échantillons, 55 souches bactériennes répartis entre les espèces et genres suivants :

-33 souches d'*Escherichia coli* ont été identifiées avec un taux de 60 % sur les 55 souches bactériennes.

-15 souches bactériennes du genre *Klebsiella* identifiées avec un taux de 27 %.

- 2 souches du genre *Proteus* et 1 souche du genre *Enterobacter* ont été identifiées avec des taux respectifs de 4 % et de 2% pour *Proteus* et *Enterobacter*.

- Parmi les cocci à Gram positif isolés, 3 souches bactériennes de l'espèce *S. agalactiae* furent identifiées avec taux de 5 % et une souche de *Staphylococcus .spp.* Donnant un taux de 2 % sur les 55 germes isolés.

Nous remarquons que l'espèce bactérienne la plus fréquemment identifiée avec un taux de 60 % est *Escherichia coli* suivie de *Klebsiella pneumoniae* avec une fréquence d'isolément de 27 %. *Proteus mirabilis*, *Enterobacter spp.*, *Streptococcus agalactiae*, et *Staphylococcus spp.* sont présentes en très faible taux d'isolement. Ces résultats concordent avec ceux de **Lemort et al. (2006)**.

Outre, en comparant nos résultats à ceux de **Coulibaly, (2007) ; de Sangaré, (2009)** ainsi qu'à ceux de **Sada et Saida, (2016)** la fréquence d'*E. coli* dans les infections urinaires paraît presque la même. Au cours de leurs études, **Coulibaly, (2007), Sangaré, (2009) et de Sada et Saida, (2016)** trouvent respectivement un taux de 66 %, de 34,9 % et de 66,6 %. Pour *Klebsiella pneumoniae*, **Coulibaly, (2007), Sangaré, (2009) et de Sada et Saida, (2016)** trouvent respectivement un taux d'isolement de 14 %, de 24.5% et de 12% inférieur au taux que nous avons eu lors de notre étude.

Les différences observées entre les études sont dues à la variation des périodes d'étude (durée des études) et de la population d'étude.

III.3.3.2.Fréquence des souches isolées selon la présence de bactéries dans les urines

Le **tableau 22 (Annexe III)** ainsi que les **figures 24** représentent la répartition des germes isolés en fonction de la bactériurie.

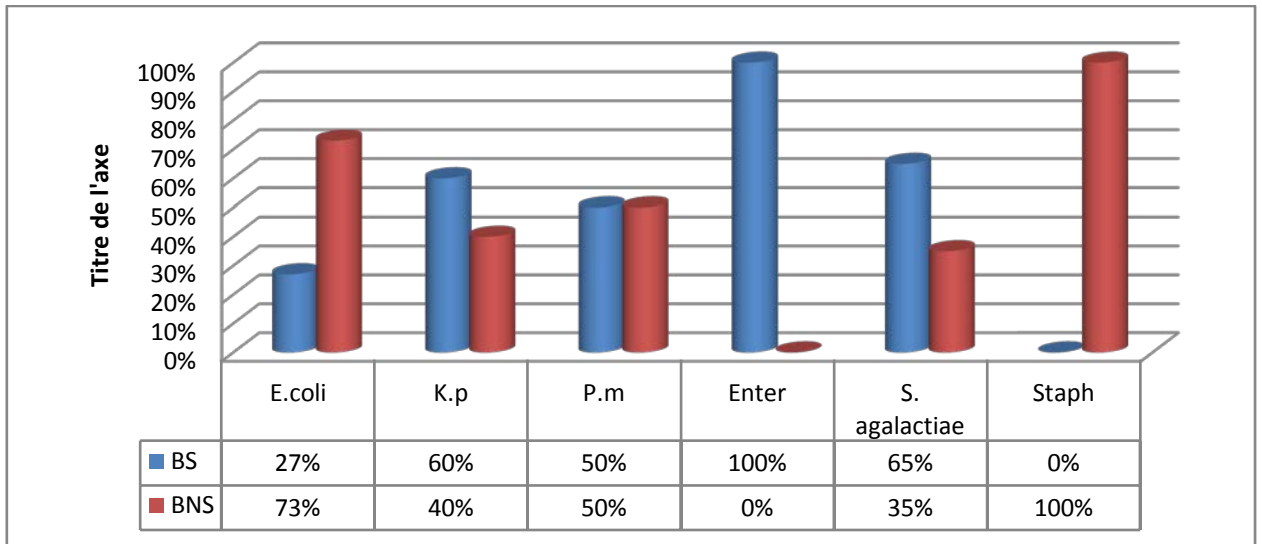


Figure 24: Représentation graphique des germes isolés en fonction de la bactériurie significative ou non significative.

Nous constatons que dans la majorité des bactériuries non significatives *Escherichia coli* est l'espèce fréquemment isolée avec un taux de 73 % sur 33 souches d'*Escherichia coli* isolées et *Staphylococcus spp.*; alors que l'espèce *Klebsiella pneumoniae* est majoritairement isolée dans les cas de bactériuries significatives avec un taux 60 % sur 15 souches de *Klebsiella pneumoniae*. Pour les souches de streptocoques isolées dans les cas de bactériurie significative, nous avons enregistré 2 souches soit un taux de 65 %.

Ces résultats sont confirmés par les données littéraires de **Denis et al, (2007)**. Selon ces auteurs, *Escherichia coli* et *Staphylococcus saprophyticus* peuvent être responsables d'infection urinaire même lorsqu'elles sont présentes en petite quantité. Par contre, les germes comme *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter spp.* et *Enterococcus Spp.*, sont des germes dont l'implication comme pathogène demande un haut niveau de bactériurie ; ce qui pourrait expliquer les résultats obtenues au cours de notre étude.

III.3.3.3. Caractérisation des patientes

A) Fréquences des ECBU en fonction de leur provenance :

La **figure 25** représente les ECBU selon leur provenance et le **tableau 23 (Annexe III)** illustre les ECBU positifs selon la provenance.

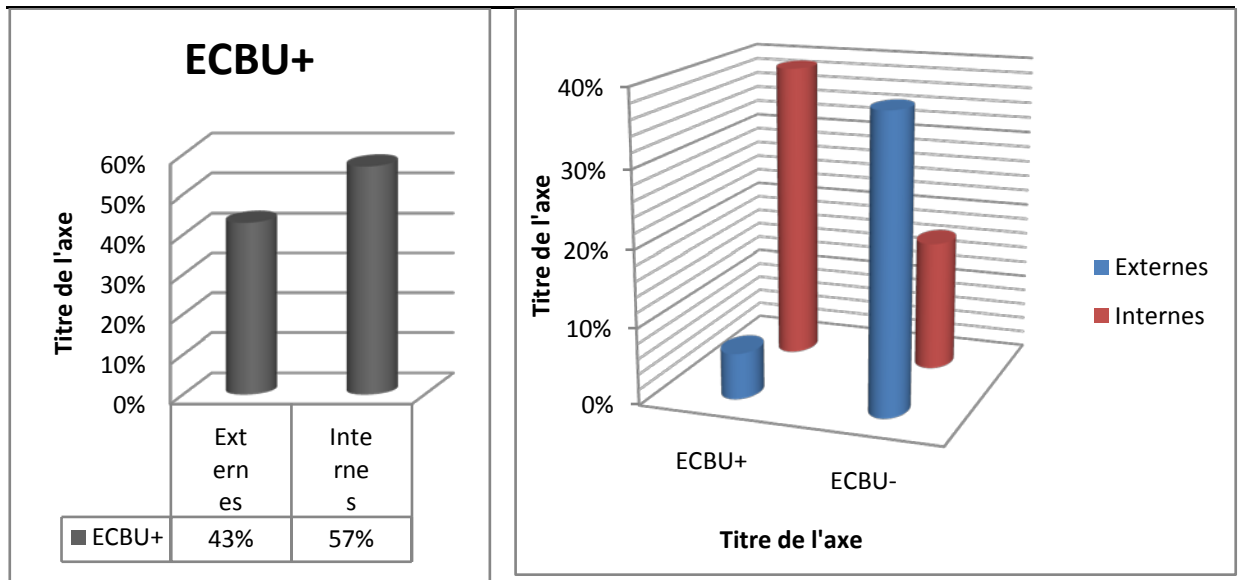


Figure 25: répartition des ECBU en fonction de leur provenance

La majorité des ECBU, avec un taux 57 %, a concerné ceux des femmes enceintes hospitalisées chez qui on suspecte une pyélonéphrite aiguë (compte tenu des complications possibles, son traitement ne se conçoit qu'en hospitalisation). Les femmes consultantes sont les moins concernées avec un taux de 43 %.

Les ECBU positifs présentent 6 % (7) des femmes consultantes et 39 % (48) des femmes hospitalisées. Cependant, nous pouvons déduire que la majorité des femmes présentent une pyélonéphrite aiguë.

B) Fréquence des ECBU positifs selon l'âge des patientes

La répartition des résultats de l'ECBU en fonction de l'âge des patientes est illustrée dans le **tableau 24 (Annexe III)** et présentée par la **figure 26**.

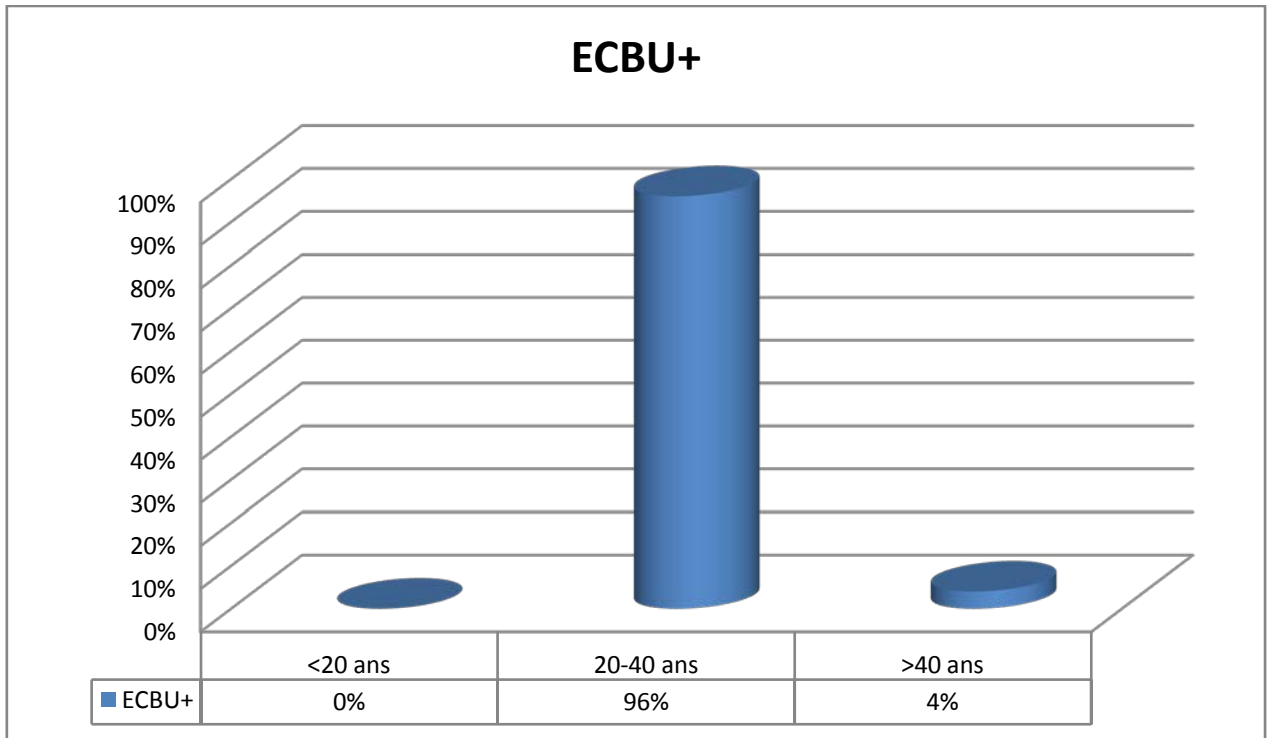


Figure 26: Répartition des résultats de l’ECBU en fonction de l’âge des patientes.

L’infection urinaire touche majoritairement les femmes dont l’âge est compris entre 20 ans et 40 ans avec un taux de 96 % (53) contre un taux de 4 % (2) pour les femmes ayant l’âge supérieur à 40 ans. Nous n’avons pas eu de prélèvements d’urine pour les femmes dont l’âge est inférieur à 20 ans.

Dans notre étude, bien que l’infection soit observée chez toutes les femmes âgées de 20 ans à 40, la majorité des échantillons a concerné les femmes enceintes dont l’âge est compris entre 21-26 ans avec un taux de 40 % et celles âgées de 26-30 ans (27 %).

Les résultats obtenus par **Taale et al., (2016)**, révèle que les infections urinaires touchent les femmes dont l’âge est comprise entre 21-30 ans.

C) Répartition des cas positifs en fonction de l’âge gestationnel

Les **figures 27** et **28** représentent la fréquence des infections urinaires en fonction des périodes de grossesse

❖ Répartition par trimestre

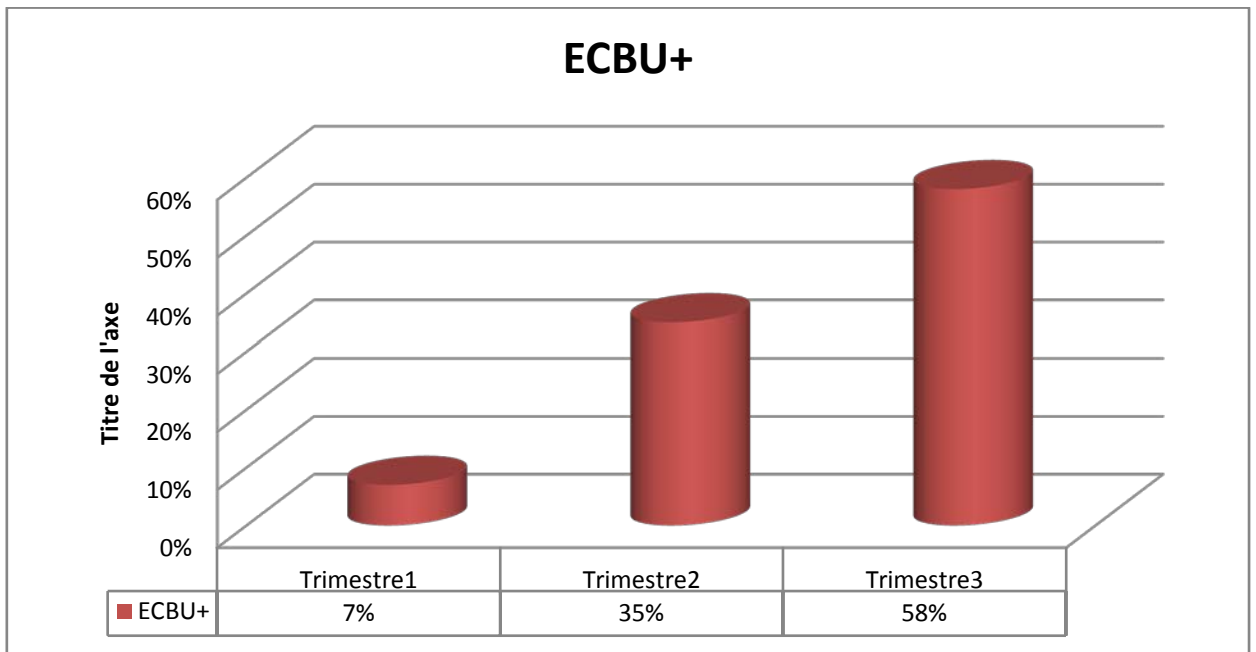


Figure 27 : Répartition des infections urinaires en fonction des périodes de grossesse (par trimestre).

Dans notre étude les IU augmentent en fonction de l'âge gestationnel et sont plus fréquentes au cours du 3^{ème} trimestre. Cette fréquence élevée d'IU au 3^{ème} trimestre serait due au fait que l'utérus gravide au 3^{ème} trimestre par sa taille favorisant une compression des uretères. La grossesse est une période critique pour l'ensemble de l'appareil urinaire.

Ce résultat est proche de celui de **Sada et Saida, (2016)** qui trouvent respectivement des taux de 26 %, 34 % et 39, 6 % pour les cas d'ECBU positifs pendant le premier trimestre, le deuxième et le troisième trimestre de la grossesse.

Selon **Taale et al., 2016**, les infections urinaires touchent le plus souvent les femmes enceintes au cours du deuxième et troisième trimestre de la grossesse.

La prédominance de l'infection urinaire au troisième trimestre est favorisée par la dilatation physiologique de la voie excrétrice qui débute dès le premier trimestre puis s'accroît entre la 22^{ème} et 24^{ème} semaine de la grossesse chez 60 à 95 % des femmes enceintes (**Mauroy, 1996**).

Les risques de Pyélonéphrite sont beaucoup plus élevés au deuxième et troisième trimestre en raison du poids de l’utérus et des mouvements du fœtus (Robin, 2014).

➤ Répartition par mois

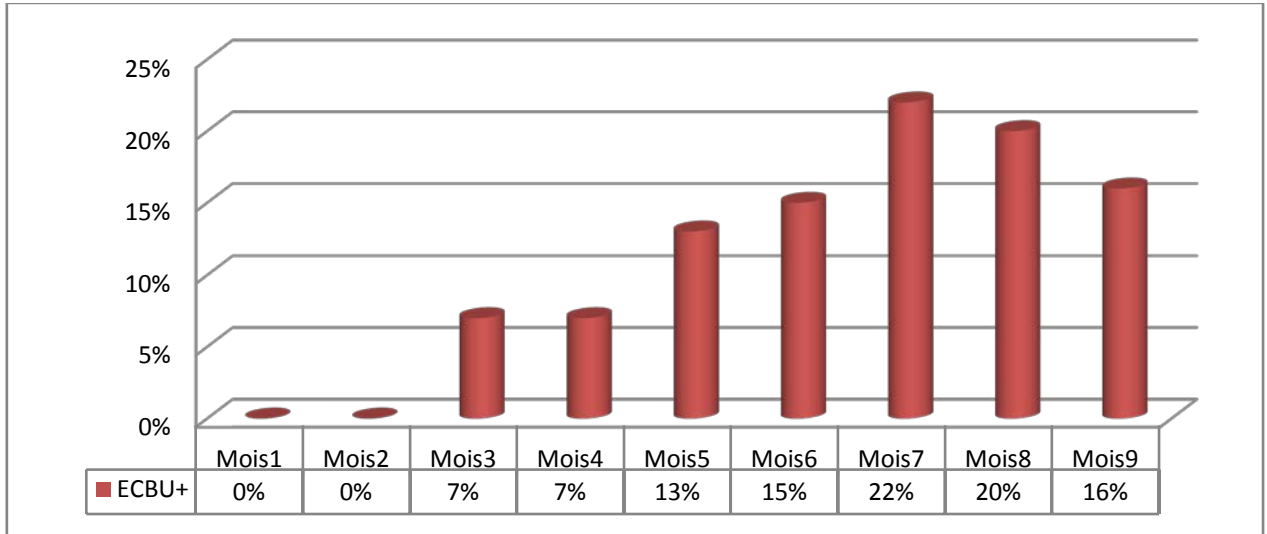


Figure 28 : Répartition des cas positifs en fonction des périodes de grossesse (par mois)

Nous observons un taux élevé de cas d’infection urinaire chez les femmes enceintes au cours du troisième trimestre donnant un taux de 58 % sur les 55 cas positifs. Durant cette période, les femmes enceintes de 7^{ème} à 8^{ème} mois sont les plus touchées avec des taux respectifs de 22 % et 20 % dans le 7^{ème} et 8^{ème} mois. Du 4^{ème} au 6^{ème} mois de la grossesse, nous remarquons 7 % des femmes sont touchées au cours du 4^{ème} mois de grossesse, 13 % présente une infection pendant le 5^{ème} mois et 15 % développent l’infection au cours du 6^{ème} mois. Au premier trimestre, seulement 7 % des femmes ont développé une infection au cours du 3^{ème} mois de grossesse.

Le risque de bactériurie augmente avec l’âge gestationnel (0,8%) à la 12^{ème} semaine, 1,93% enfin de grossesse, avec un risque maximum entre la 9^{ème} et la 17^{ème} semaine. La 16^{ème} semaine d’aménorrhée semble donc le moment optimum pour un dépistage unique (Mauroy 1996; Fournié et al., 2008).

D) Répartition des germes isolés en fonction de l’âge gestationnel

Dans le Tableau 25 (annexe III) est illustrée la répartition des germes isolés en fonction de l’âge gestationnel et est présenté par la figure 29.

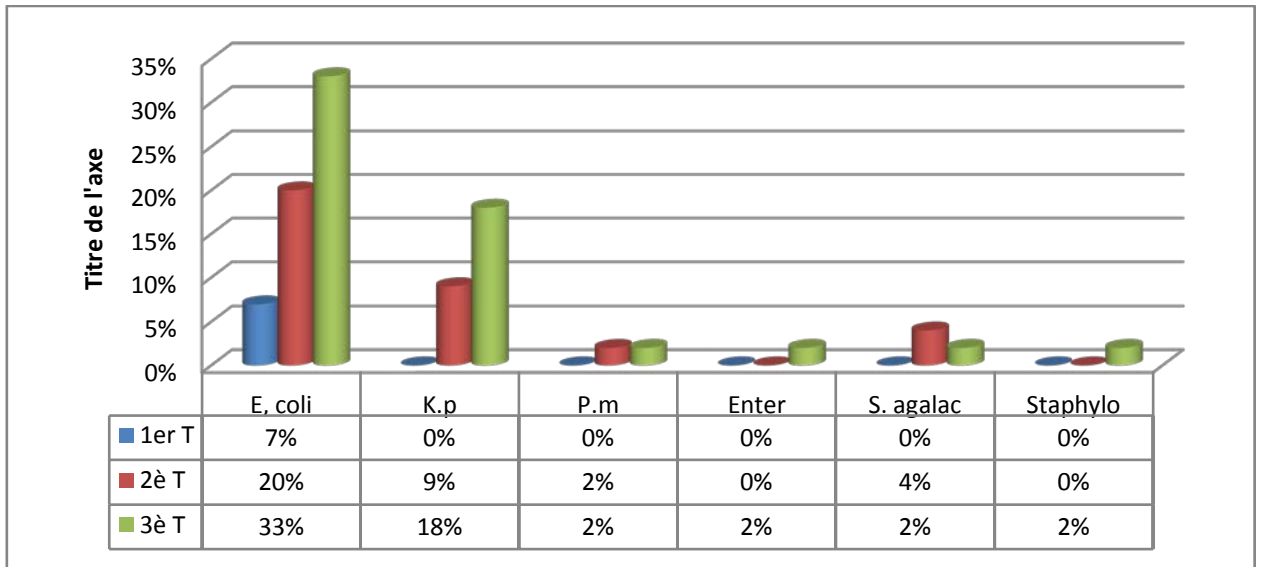


Figure 29 : Répartition graphique des germes isolés en fonction de l'âge gestationnel.

Escherichia coli est le germe responsable des infections urinaires dans 7 % des cas au cours du premier trimestre. Dans la deuxième partie de la grossesse, cette bactérie est responsable de 20 % des cas d'infections urinaires suivie par *Klebsiella pneumoniae* (9%) et *Proteus mirabilis* (2%). La majorité des germes étant isolés lors du troisième trimestre, on compte 33 % pour *Escherichia coli*, 18 % pour *Klebsiella pneumoniae* et 2 % pour chacun des autres germes isolés (*Proteus mirabilis*, *Enterobacter*, *Streptococcus agalactiae* et *Staphylococcus ssp*).

Nos résultats sont en relation avec les données de **Mc Neeley et al., (1987)**. Il rapporte qu'*Escherichia coli* est retrouvée 60-80% des cas d'infections urinaires pendant toute la période de la grossesse, suivie par les autres entérobactéries (*Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter* « 5 à 15 % », *Proteus mirabilis* « 1 à 10 % »). Les cocci à Gram positif sont surtout isolés en deuxième partie de grossesse et en fin de gestation, tels que streptocoques B (1 à 4 %) et *Staphylococcus saprophyticus* (1à 11%).

III.4. RESULTATS DES TESTS DE SENSIBILITE DES SOUCHES ISOLEES

Pour l'étude de la sensibilité des germes isolés, des ATB spécifiques ont été testés pour chacun des 2 groupes bactériens (cocci à Gram positif et bacilles à Gram négatif).

❖ Résultats des tests de sensibilité des souches d'*Escherichia coli* :

Le tableau 26 (annexe III) illustre les résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli*. La fréquence de la sensibilité d'*Escherichia coli* aux antibiotiques est illustrée dans la figure 30.

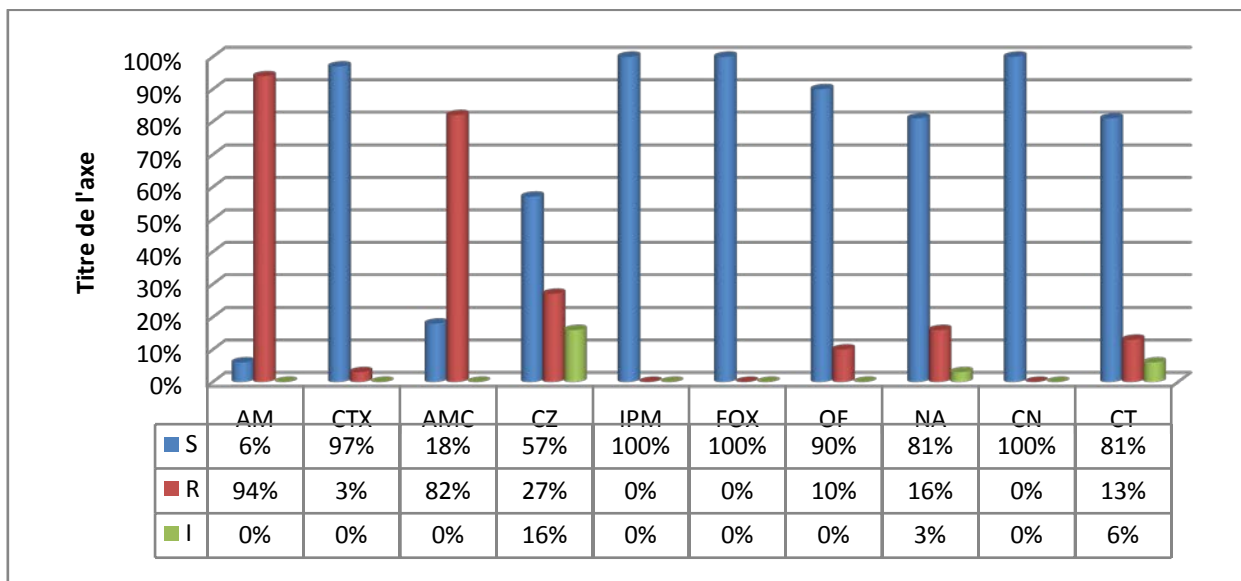


Figure 30 : Résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli* isolées lors des ECBU

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli* isolées a mis en évidence des taux de résistance à l'amoxicilline (AM) (95 %) et à l'association amoxicilline-acide clavulanique (AMC) (81 %). De faibles taux de résistance sont présents pour l'Ofloxacine (OF) (10 %), pour la Céfazoline (CZ) (27 %), pour l'acide Nalidixique (NA) 16 % et pour la colistine (CT) 13 %.

Le nombre de souches d'*Escherichia coli* résistantes aux céphalosporines de troisième génération « C3G » par production de bêta-lactamase à spectre élargi « BLSE » a été d'une seule avec un taux de 3 % (figure 31).

Aucune résistance à l'imipénème, au céfoxitine, et à la gentamicine n'a été enregistrée pour les souches d'*Escherichia coli* isolées, soit une sensibilité à la céfoxitine, à la gentamicine et à l'imipénème de 100 %.

Cependant nous pouvons déduire que la résistance acquise d'*Escherichia coli* à l'amoxicilline par production de pénicillinase est très extrême avec des taux respectifs de 94 % et de 81 % pour l'AM et l'AMC. De plus la bactérie montre une légère résistance au Céfazoline (CZ) avec un taux de 27 % et une faible résistance à l'Ofloxacine (OF) d'un taux de 10 % et au Céfotaxime

(CTX) avec un taux de 3 % pour la seule souche productrice de bêta-lactamase à spectre étendue (*E. coli* BLSE+).

Il existe de nombreuses données sur cette résistance d'*Escherichia coli*. Elle serait le résultat d'une sécrétion d'enzyme bêta-lactamase capable d'inactiver les pénicillines et les céphalosporines, nous rapportent **Baba et al.,(1999)**.

Grosjean et al., (2011) nous rapporte que bien que les souches d'*Escherichia coli* sont naturellement résistantes aux β -Lactamines suite à la présence d'un gène chromosomique codant pour la céphalosporinase, à l'état sauvage, elles sont sensibles à tous les bêta-lactamines car le gène est réprimé chez la bactérie à l'état sauvage. Mais lors d'une mutation sur le gène il peut y avoir expression de l'enzyme à un niveau plus ou moins important. Ce qui expliquerait la sensibilité ou la résistance des certaines de nos souches isolées.

Le taux important de sensibilité de nos souches isolées au CTX est due au fait que malgré la sécrétion de l'enzyme bêta-lactamase par la bactérie l'antibiotique empêchera sa multiplication suite à l'inhibition du bêta-lactamase.

Selon **Singleton (2004)**, toutes les bactéries bacilles Gram négatifs seraient productrices de bêta-lactamases. De plus il nous rapporte que les céphalosporines possèdent une activité bactéricide très élevée sur les bacilles Gram négatifs. Ce pouvoir allant croissant des céphalosporines de première génération aux céphalosporines de troisième génération.

En **2008**, **Bruyère** et ces collègues affirment dans un article (**Bruyère et al., 2008**), que pour *Escherichia coli*, la résistance aux amino-pénicillines (ampicilline et amoxicilline) dépasse largement 40 % des souches et peut même atteindre 35 % pour l'association amoxicilline/acide clavulanique. Par contre vis-à-vis des quinolones la résistance de la bactérie peut atteindre 10 %.

La fréquence de résistance est très basse pour la fosfomycine et les céphalosporines de troisième génération (céfotaxime, ceftriaxone) : inférieure à 3 %. En ce qui concerne les aminosides, on peut observer environ 15 % à la gentamicine (**Bruyère et al., 2008**).

Singleton (2004), *Escherichia coli*, responsable de 70 à 80% des infections urinaires, est un bacille Gram négatif constitutif de la flore sous-dominante du microbiote intestinale. Le principal facteur associé à l'émergence de cette bactérie résistante du microbiote intestinal est la prise d'antibiotique, qu'elle soit volontaire (prise d'antibiotique à des fins curatives) ou

involontaire (antibiotique présent dans l'environnement, l'eau, la nourriture, ...). Cependant, la persistance des infections urinaires par des souches d'*Escherichia coli* est réfractaire aux thérapies antibiotiques.

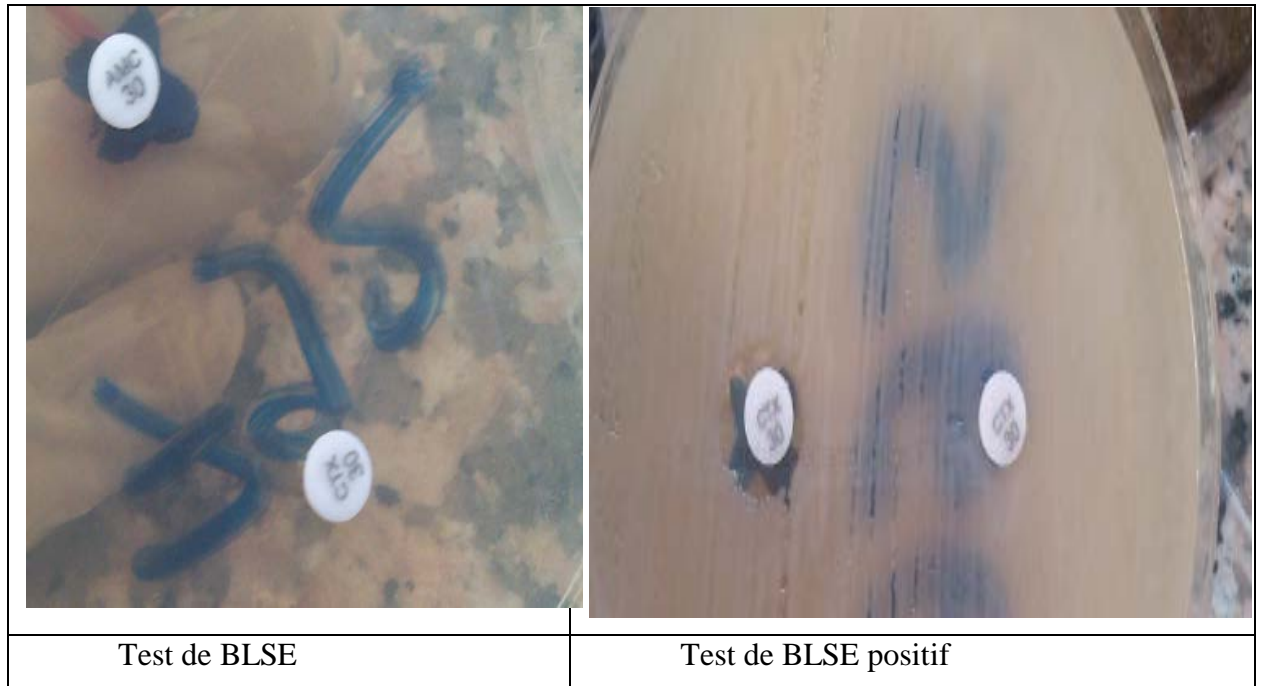


Figure 31:Résultat du test de BLSE

❖ Résultats des tests de sensibilité des souches de *Klebsiella pneumoniae* :

Le tableau 27 (annexe III) illustre les résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques des souches de *Klebsiella pneumoniae*. La figure 33 représente la fréquence de sensibilité des souches de *Klebsiella pneumoniae* aux ATB.

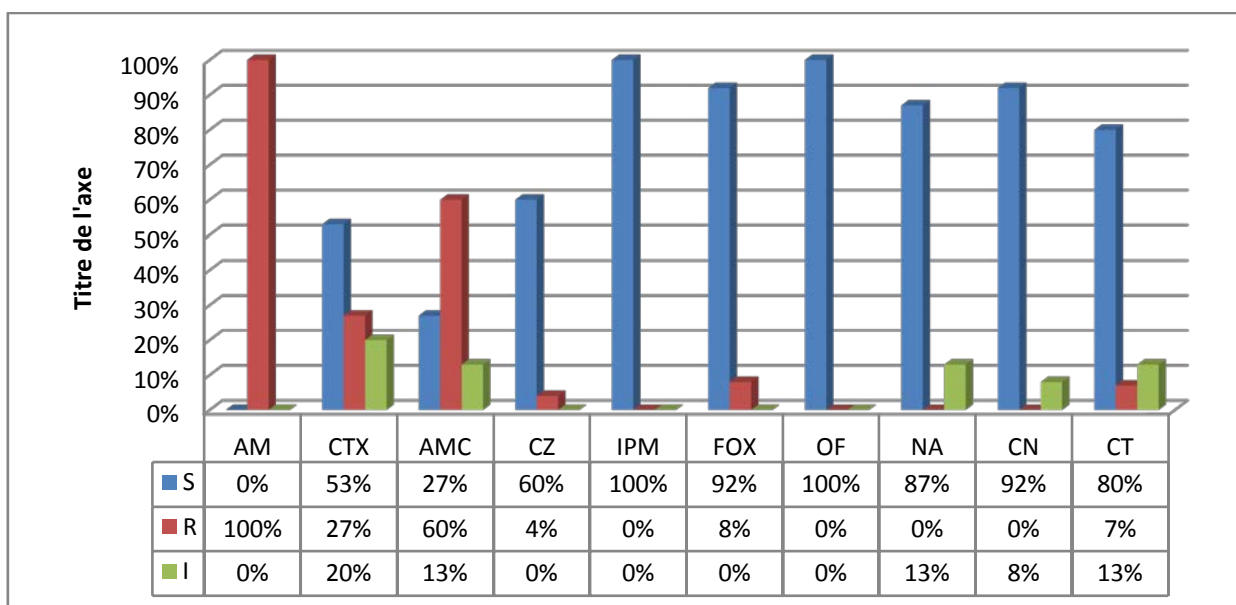


Figure 32: Résultats des tests de sensibilité des souches de *Klebsiella pneumoniae*.

Sur les 15 souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées, nous avons observés une résistance extrême à l’AM (100 %) et un taux plus élevé de 60 % de résistance à l’AMC. Contrairement à *Escherichia coli*, la bactérie présente un taux élevé de résistance à la CZ (40 %) et au CTX (27 %). De faible taux de résistance est aussi observé pour le FOX (8 %) et la colistine (7 %). Aucune résistance n’est enregistrée pour l’IPM, pour l’OF, pour le NA et pour la CN.

Nos résultats sont en relation avec de nombreuses recherches et avec la plupart des données de la littérature. Cependant, la résistance extrême de *Klebsiella pneumoniae* à AM est due au fait qu’elles sont naturellement résistantes à cet antibiotique.

Selon **Bruyère et al., (2008)**, *Klebsiella spp* est naturellement résistante aux aminopénicillines sans inhibiteur. La résistance acquise est comprise entre 15 et 20 % pour les autres bêta-lactamine et reste inférieure à 5 % pour les autres antibiotiques.

La quasi-totalité des souches de *K.p* produit une pénicillinase chromosomique qui confère une résistance, mais à bas niveau, aux aminopénicillines (AM, AMP...). Une pénicillinase plasmidique est synthétisée par certaines souches qui produisent une quantité importante de bêta-lactamase que les souches dites « sauvages » synthétisant uniquement une pénicillinase chromosomique (**Leclerc, 1983**).

La présence des souches catégorisées résistantes (R) ou intermédiaires (I) à céfotaxime (CTX), parmi les souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées, en l’absence de synergie entre la

molécule et l'acide clavulanique serait évocatrice d'une souche hyperproductrice de céphalosporinase chromosomique (entérobactérie du groupe III et *E. coli*) ou d'une céphalosporinase plasmidique (toutes espèces d'entérobactéries) **figure 33 ci-dessous.**

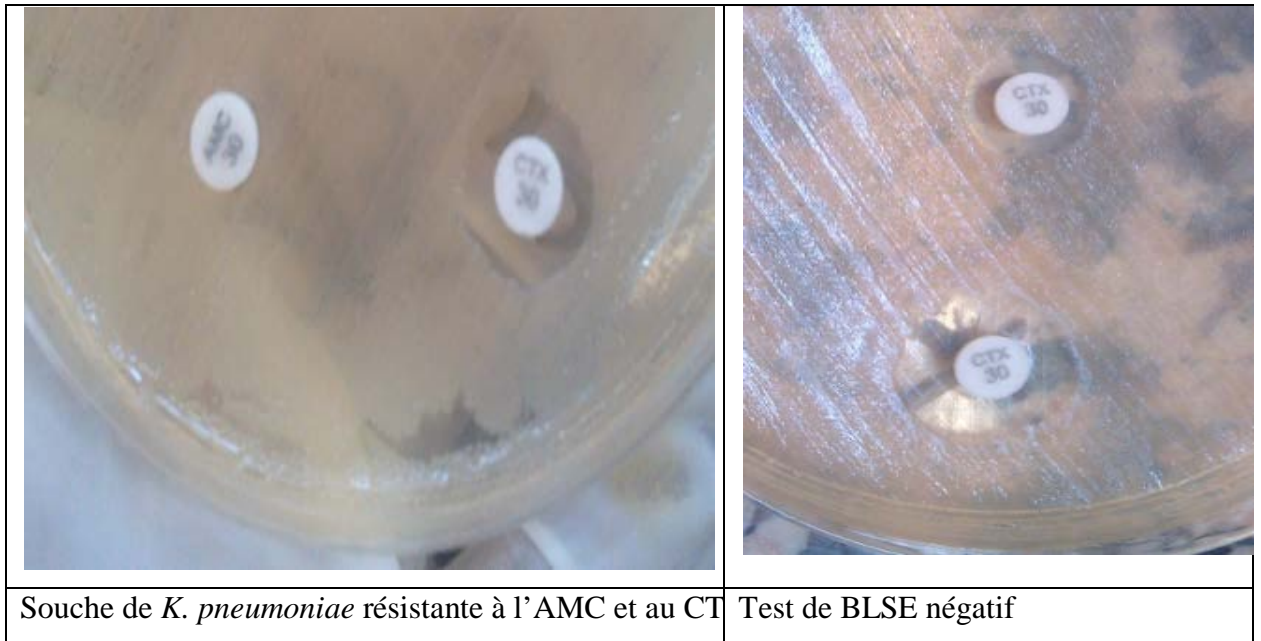


Figure 33:Tests de sensibilité des souches de *Klebsiella pneumoniae*

❖ **Résultats des tests de sensibilité des autres entérobactéries isolées**

Pour les autres bactéries isolées le nombre insuffisant de souches testées (1 à 4) ne permet pas de tirer de bonnes conclusions sur leur sensibilité aux antibiotiques en vus de leur nombre insuffisant. Les Résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques de ces souches isolées (*Proteus mirabilis* et *Enterobacter*) sont illustrés dans le **tableau 28 (annexe III)** et la **figure 34** représente les résultats des tests.

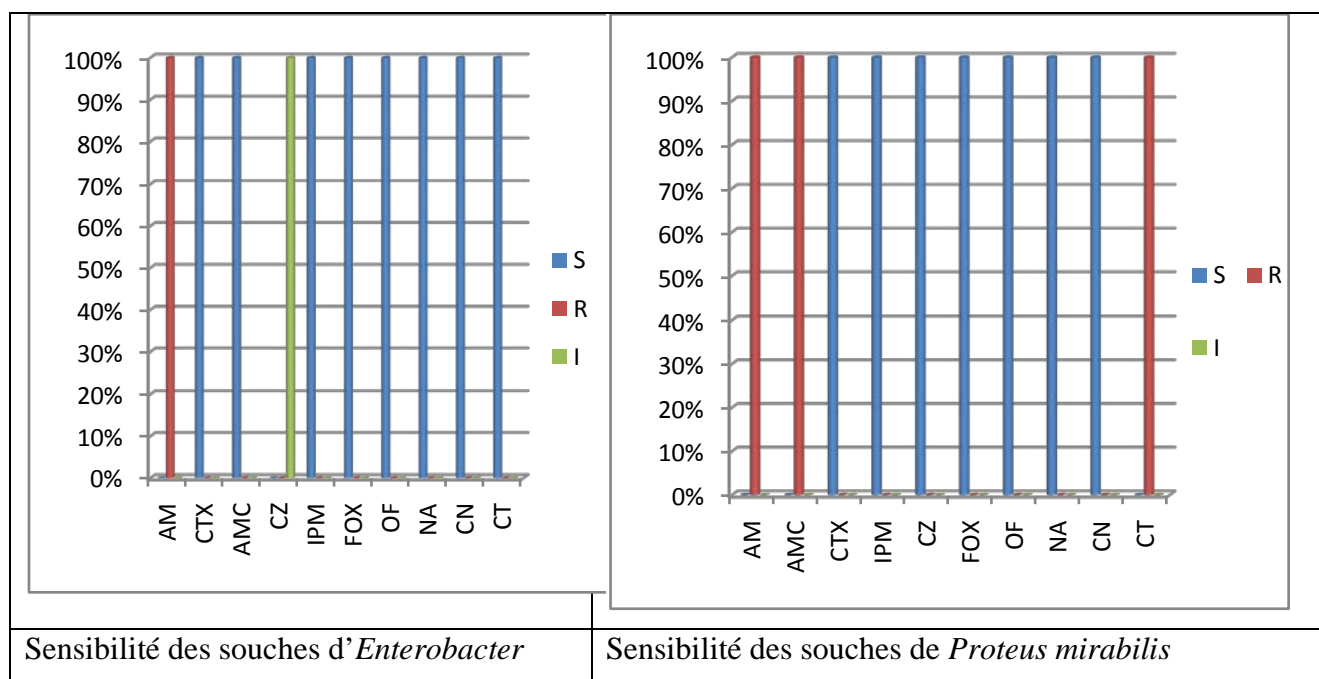


Figure 34 : Représentation graphique des tests de sensibilité des souches de *Proteus mirabilis* et d'*Enterobacter*.

Au cours de notre travail aucune résistance n'a concerné ces germes isolés pour l'IPM, le CTX, la CZ, le FOX, l'OF, le NA et la CN

Les deux souches de *Proteus mirabilis* présentent toutes une résistance à l'AM et à l'AMC par contre la souche d'*Enterobacter* présente une résistance à l'AM mais elle est sensible à l'AMC. Une résistance à la colistine (CT) est présente chez toutes les souches de *Proteus mirabilis* mais pas chez l'*Enterobacter*.

Ces résultats sont vérifiés par les données de **Mauroy et al (1996)**. Selon ces auteurs, la bactérie *Proteus mirabilis* a une résistance extrême à l'Ampicilline (AMP) et l'Amoxicilline (AM) et sont naturellement résistants à la colistine.

Finalement nous constatons que certains bêta-lactamines tels que le céfotaxime (CTX), l'imipénème (IPM), la fosfomycine (FOX), les aminosides notamment la gentamycine ainsi que les quinolones (principalement le NA) possèdent de très bonne activité sur les entérobactéries. Toutes les entérobactéries isolées ont montré une résistance extrême à ces antibiotiques sauf chez une souche de l'espèce *Klebsiella pneumoniae* où nous avons observé une résistance à la fosfomycine.

Les aminosides sont principalement actifs sur les bacilles Gram négatifs comme les entérobactéries (Leclerc, 1983).

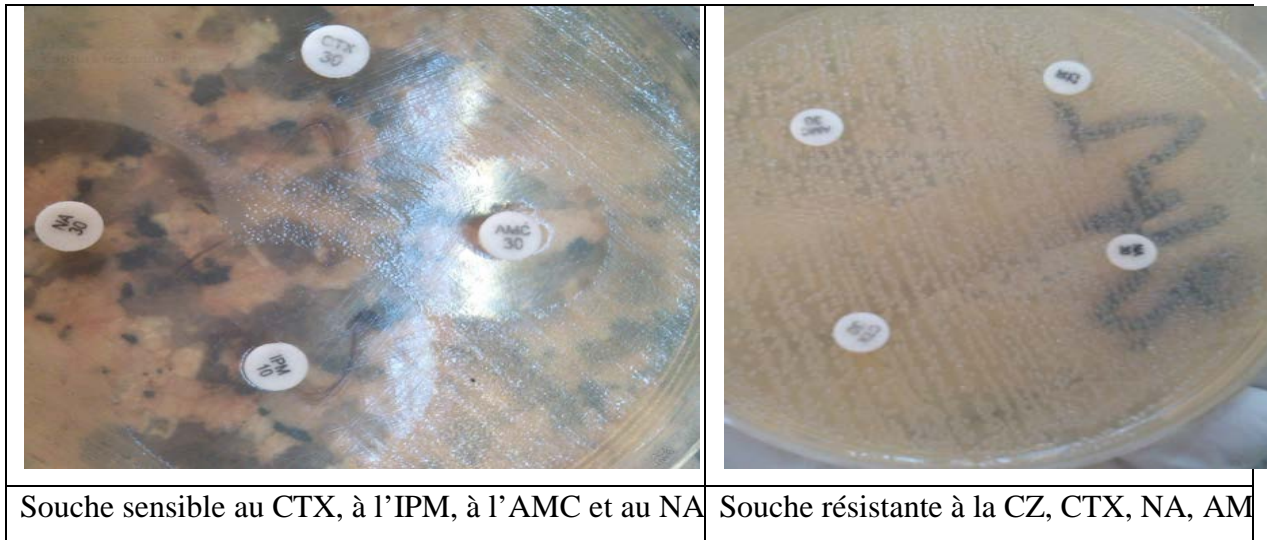


Figure 35 (originale) : profils de sensibilité et de résistance de certaines Souches d'entérobactérie au CTX, à l'AMC, à l'IPM, à la CZ et à au NA.

- ❖ Sensibilité des cocci à Gram positif
- ❖ Résultats des tests de sensibilité des streptocoques

La figure 36 et le tableau 29 (annexe III) illustrent les résultats des tests de sensibilité des souches de streptocoques aux antibiotiques.

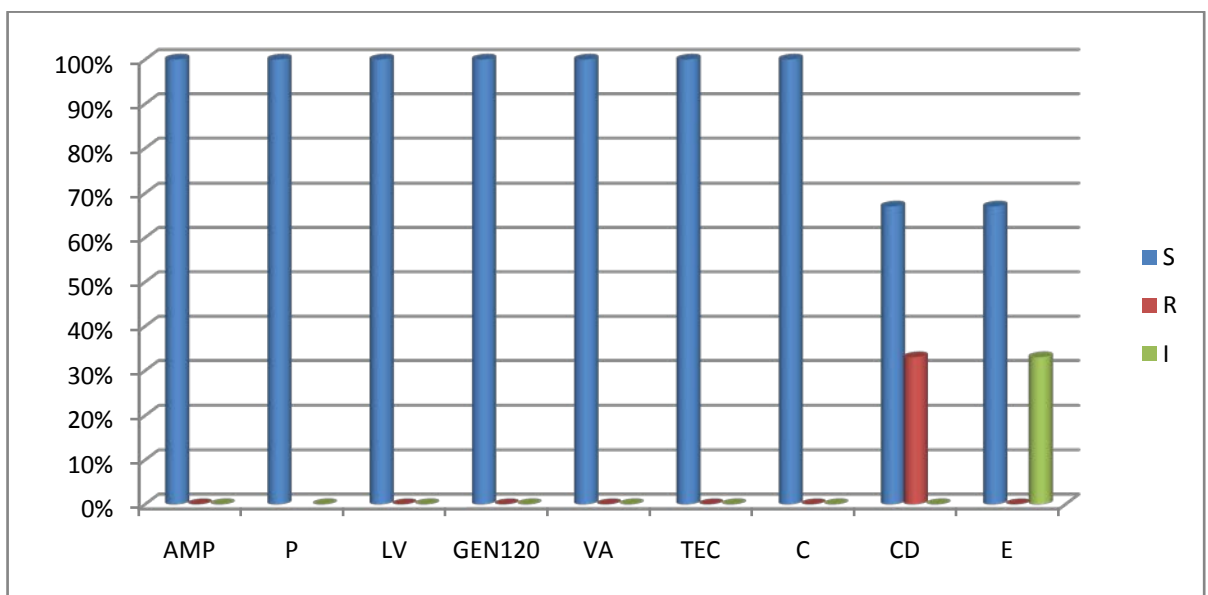


Figure 36: Représentation graphique de la sensibilité des souches de streptocoque aux ATB.

Toutes les souches de streptocoque ont été sensibles aux antibiotiques à part deux souches dont une présente une résistance à la clindamycine et l'autre intermédiaire à l'Erythromycine.

❖ Résultats des tests de sensibilité des staphylocoques

La figure 37 et le tableau 30 (annexe III) illustrent les résultats des tests de sensibilité des souches de streptocoques aux antibiotiques.

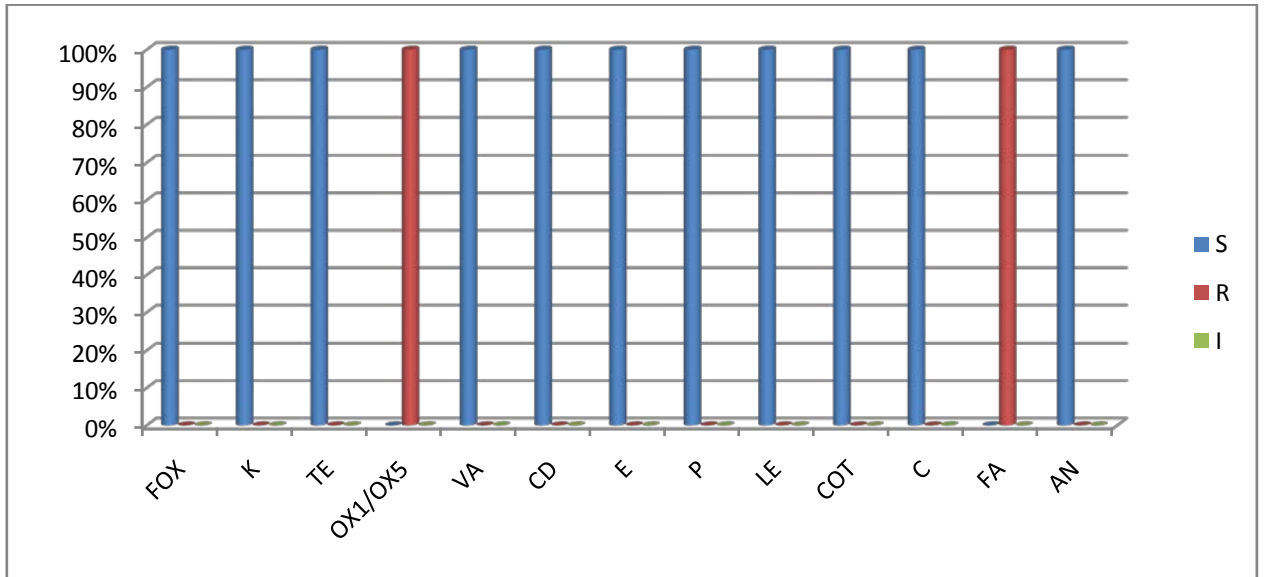


Figure 37: Représentation graphique de la sensibilité des souches de staphylocoque aux antibiotiques.

La souche de staphylocoque isolée a été sensible à tous les antibiotiques sauf à l'acide Fusidique et à l'Oxaciline (OX₁, OX₅).

La sensibilité de la souche au FOX permet d'affirmer que la souche n'est une souche de staphylocoque résistante à la methicilline.

Conclusion

Au cours de notre étude basée sur l'examen cyto bactériologique des urines de femmes enceintes, nous avons enregistré 122 ECBU dont 55 cas d'ECBU positifs avec un taux de 45 % et 67 cas d'ECBU négatifs avec 55 % de négativité.

Les ECBU positifs ont concerné 79 % des urines présentant des leucocytes et ou de bactéries à la cytologie. Par contre les ECBU négatifs n'ont concerné que 15 échantillons d'urines présentant des leucocytes et ou des bactéries soit un taux de 21 %. Le reste des ECBU négatifs est présenté par les urines montrant un champ vide et des urines montrant d'autres éléments que les leucocytes et les bactéries au microscope. Nous remarquons dans notre étude que l'infection urinaire est liée à la présence de bactérie et ou de leucocytes dans l'urine.

Nous constatons également que l'épidémiologie bactérienne des IU chez la femme enceinte reste dominée par les entérobactéries (93%) par contre les cocci à Gram positifs y sont moins impliquées. *Escherichia coli* est la souche la plus fréquente avec un taux d'isolement de 60% suivie de *Klebsiella pneumoniae* avec un taux de 27 %. Les autres germes isolés sont *Streptococcus agalactiae* soit un taux de 5 %, *Proteus mirabilis* avec un taux de 4 %, *Enterobacter* avec un taux faible de 2 % et *Staphylococcus ssp.* soit un taux de 2 %.

La majorité des ECBU positifs a concerné les femmes hospitalisées avec un taux de 87 % contre 13 % d'ECBU positifs concernant les femmes consultant.

Nous remarquons aussi que les infections urinaires sont plus fréquentes au troisième trimestre de la grossesse. Ce résultat s'explique par la prédominance des femmes hospitalisées (femmes atteintes de pyélonéphrite aiguë). Outre, le troisième trimestre de la grossesse est une période où les risques d'atteinte de PNA sont beaucoup plus élevés.

Suite à l'étude de la sensibilité aux antibiotiques, nous retrouvons pour l'ensemble des germes isolés, une fréquence élevée des résistances acquises concernant essentiellement l'amoxicilline et l'amoxicilline + acide clavulanique. Les entérobactéries ont présenté un taux de résistance de 90 % pour l'AM, 78 % pour l'AMC et 33 % pour la CZ. De faibles taux de résistance ont été enregistré pour le CTX (18 %), pour le NA (11 %), pour la CT (7 %), pour le FOX (2 %) et 7 % pour l'OF. Par contre elles ont toutes été sensibles à l'IPM (100 %).

Les streptocoques ont présenté un taux de résistance 33 % pour la CD et la souche de staphylocoque a été résistante seulement à l'oxacilline et à l'acide fusidique.

Certes ces données orientent le clinicien dans le choix d'une antibiothérapie de premier choix pour l'infection, mais un examen cytbactériologique des urines s'avère toujours nécessaire pour confirmer l'infection urinaire et recommander une antibiothérapie raisonnée afin de réserver certaines molécules aux souches multirésistantes. Outre, cette étude serait plus intéressante si nous avions pu mettre en relation chez les femmes enceintes la présence de l'infection urinaire avec d'autres facteurs de risque tels que le diabète, l'insuffisance rénale, immunodépression, la précarité, la lithiase, le sondage, endoscopie etc.

Liste des références bibliographique

- **Anglaret, X et Mortier, E. (2002):** Maladies infectieuses. 3^{ème} Edition, ESTEM (Med-Line), 109p.
- **Avril, J.L ; Dabernat, H ; Denis, F ; Monteil, H. (2000) :** Bactériologie Clinique. 2^{ème} édition Marketing, p192.
- **Aouinati, S et Lessard, M-E.(2011):** *Antibiotiques et grossesse : Cas fréquents*. Le Médecin du Québec, volume 46 : 48-54
- **Baba, M. L ; Sanni I,A ; Dagnra, A.Y ; Anagonou, S ; Prince-David, M ; Edoh, Befort, J.J ; Pr&ost I, G ;Monteil, H. (1999):** Approche épidémiologique de l'antibiorésistance et de la production de leucotoxines par les souches de Staphylococcus aureus isolées en Afrique de l'Ouest. Editions scientifiques et médicales Elsevier SAS, 29 : 689-96
- **BASSI, S.M. (2013):** Antibiothérapies des infections urinaires du patient medullo-lesé ou cérébro-lesé: impact d'une démarche qualité sur les pratiques professionnelles. THESE pour le diplôme d'Etat de docteur en pharmacie, Université de Lyon1. Bassi (cc by-nc-nd 2.0), p1-129, France.
- **Benhib, I ; Bouzekraoui, T ; Zahidi, J ; Noureddine, E ; Ait Said, L ; Warda, K ; Zahlane, K. (2015) :** Epidémiologie et Antibiorésistance des infections urinaires à entérobactéries chez l'adulte dans le chu de Marrakech et implication thérapeutiques ; Uro'Andro - Volume 1.
- **Berche, P ; Gaillard, J-L ; Simonet, M. (1991) :** Bactériologie : Bactéries des infections humaines. Collection de la Biologie à la Clinique, 3^{ème} édition Médecine-Sciences Flammarion, 66p, France.
- **Binder, F.F. (2012) :** Certification, Evaluation des pratiques professionnelles, Accréditation des médecins et des équipes médicales.
- **Bianchi; El Anbassi, S ; Duployez, N. (2013) :** Bactériologie/ Virologie. Prépa Pharma. De Boeck, 173p, Bruxelles.
- **Boissonet, B ; Larpent, J-P ; Boissonet, G. (1987) :** Abrégé de bactériologie générale appliquée. Edition Ellipse, 238p.
- **Bougnicourt. (1995) :** Dictionnaire et microbiologie générale. Edition Ellipses, 545p, paris.
- **Bergogne, B. (2008) :** Infection urinaire basse, Epidémiologie bactérienne et Recommandation. 2^{ème} édition, Elsevier Masson, 256p.

- **Brun-Buisson.C et le groupe de travail. (2005) :** Risques et Maîtrise des infections nosocomiales en réanimation. ELSEVIER, 14, 463–471.
- **Bruyère. F; Cariou.G; Boiteux.J.-P; Hoznek, A; Mignard, J.-P; Escaravage, L; Bernard, L ; Sotto, A; C.-J. Soussy, P. Coloby et le CIAFU. (2008) :** Généralités General remarks, Progrès en Urologie. Elsevier Masson, 18 Suppl. 1, S4-S8
- **Bruyère, F; Cariou, G; Boiteux, J; Hoznek, A; Mignard, J; Escaravage, L; et al. (2008) :** Cystites aiguës. Progrès en Urologie. Elsevier Masson, 18(1):S9–S13.
- **Bruyère. F, G. Cariou, J.-P. Boiteux, A. Hoznek, J.-P. Mignard, L. Escaravage, L. Bernard, A. Sotto, C.-J. Soussy, P. Coloby et le CIAFU. (2008) :** Pyélonéphrites aiguës, Progrès en Urologie. Elsevier Masson, 18 Suppl. 1, S14-S18
- **CA-SFM/ EUCAST 2017 :** Recommandations. Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. V1.0 Mars 2017.1-127
- **Cheesbrough, M. (2006):** District Laboratory Practice in Tropical Countries. Second Edition Cambridge University Press, **Part 2**, 234p, New York.
- **Coulibaly, D. (2007):** Infection urinaire et grossesse dans le centre de santé de référence de la commune II (CSRFII). Thèse pour l'obtention de diplôme de Doctorat en Médecine (diplôme d'Etat). P1-102, Mali
- **Corsin, J. (1999) :** Biologie Animale : Structures et Fonctions ; 2^{ème} édition, 71p.
- **Domart et Bourneuf, J. (1994) :** Petite Larousse de la médecine. 4^{ème} édition Librairie Larousse
- **Denis, F. (2002) :** Bactéries, Champignons et Parasites transmissibles de la mère à l'enfant ; édition John Libbey Eurotext ; 443p
- **Denis, F; Ploy, M.C; Martin, C; Bingen, E et Quentin, R. (2007) :** Bactériologie médicale : Techniques usuelles. Elsevier Masson, 573p, Paris.
- **Desert, J. (2017) :** Prise en charge des infections urinaires bactériennes communautaires de l'adulte dans la région dieppoise. Médecine humaine et pathologie. HAL Id: Dumas-01472766, Paris.
- **Doit, C; Mariani-Kurkdjian, P; Bingen, E. (2010) :** Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu. Elsevier Masson SAS, Archives de Pédiatrie;17:S140 -S14.
- **Ducel, G; Fabry, J; Nicolle, L; Others. (2008) :** Prévention des infections nosocomiales: guide pratique. 2008
- **Duval, J et Soussy, C.J. (1980) :** Abrégés d'Antibiothérapie : Bases bactériologique pour l'utilisation des antibiotiques. 2^e Edition, 145p, Paris.

- **El bouamria, M.C ; Arsalane, L ; Kamouni, Y ; Yahyaoui, H ; Bennouar,N ; Berraha, M ; Zouhair ; S. (2014) :** Profil actuel de résistance aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli* uropathogènes et conséquences thérapeutiques, Progrès en urologie , Elsevier Masson 24, 1058—1062

- **Eberlin, T. (1997) :** Les infections microbiennes. Agents infectieux. Tome 1, Editions Nathan, 128p, Paris.
- **Elliott, T; Casey, A; Lambert, P; Sandoe, J. (2011):** Medical Microbiology and Infection: Lectures Notes. 5th Edition Wiley-Blackwell, 231p.
- **Fournié,A ;Jalle, T ; Sentilhes,L; Lefebvre-Lacoeuille,C. (2008) :** Infections urinaires chez la femme enceinte ; *Elsevier Masson SAS.*, 5-047-A-10

- **François, Brandstatter.H, Bréchet. A.-C, Huttner. A. (2013) :** Infections urinaires HUG (Hôpitaux Universitaires de Genève), DM CPRU (Département de médecine communautaire, de premier recours et des urgences), Service de médecine de premier recours. P1-12, Genève.
- **Goldesten, F; Courvalainp; Leclerc, Q; Bingn, E. (2006):** Sulfamides et trimethoprime. In antibiogramme, 2è edition, 675p.
- **Gravey, F ; Loggi, G ; A. de La Blanchardière ;V. Cattoir. (2017) :** Bacterial epidemiology and antimicrobial resistance profiles of urinaryspecimens of the elderly.Épidémiologie bactérienne et profils de résistance aux antibiotiques des échantillons urinaires du sujet âgé. Elsevier Mason France, Model MEDMAL-3811
- **Grosjean; Jérôme ; Clavé ; Archambaud, D ; Maryse. (2011):** Bactériologie et virologie pratique. 2è edition révisée, Boeck, 290p, Belgique.

- **Janvier, F; Elvire, M-K; Audrey, M ; Cavallo, J.-D. (2008) :** Les difficultés d'interprétation de l'examen cyto bactériologique des urines. Revue francophone des laboratoires - N°406 // 5.
- **Joffin, J-N et Leyral, G. (2001) :** Microbiologie Technique (Tome 1), 3^{ème} édition Biologie technique, 39p.
- **Kernbaum, S. (1990) :** Elément de la pathologie infectieuse. 5^{ème} édition SIMEP/SEPCIA, 606p, Paris.
- **Lahlou Amine, I; Chegri, M; L'Kassmi, H. (2009) :** Épidémiologie et résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées d'infections urinaires à l'hôpital militaire Moulay-Ismail de Meknès. Elsevier Masson SAS. Antibiotiques, 11, 90-96.

- **LEMORT, M.L. ; NEUVILLE, S. ; MEDUS, M ; GUEUDET, P ; SAADA, M ; AUMAITRE, H ; LECAILLON, E. (2006) :** Evaluation comparée de la sensibilité de souches E. Coli isolée d'infections urinaires des patients consultants aux urgences et de patients hospitalisés en 2002 et 2004 à l'hôpital de Perpignan Pathologie. Mémoire pour obtenir le grade de master.
- **Le Conte, P; Elkharrat, D; Potel, G. (2004) :** Prise en charge des infections urinaires communautaires dans les Services d'Accueil et d'Urgence Français : Masson, Paris, 6 : 237-239.
- **Leclerc, H. (1983) :** Microbiologie générale, 3^{ème} édition Doin- Editeurs, 369p, Paris.
- **Levinson, W. (2014):** Review of Medical Microbiology and Immunology. 13^{ème} Edition Lange Medical Book, 1950p.
- **Madi, R. (2014) :** Evaluation des milieux chromogènes dans le cadre des études cytot bactériologiques des urines chez la femme enceinte. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie. 1-60p, Algérie (Blida).
- **Madigan, M.T ; Martinko, J.M. (2007) :** Biologie des micro-organismes. 11^{ème} édition Pearson education France, 351p, Paris.
- **Mauroy. B; Beuscart. C ; Biserte.J; Colombeau. P; Cortesse.A; Delmas. V; Fendler. J.-P; Mangin. P; Mouton. Y; Tostain. J. (1996) :** L'infection urinaire chez la femme enceinte, formation médicale continue, progrès en urologie. Masson Elsevier, 6, 607-622.
- **Martin C, Pourriat J. L, Bruder N et Orlando B. (2002).** Pratique de la réanimation et de la médecine d'urgence. Edition ARNETTE groupe liaisons S.A. P 163-166.
- **Mc Neeley, S.G; Baselskiv.S; Ryan G.M. (1987):** An evaluation of two rapid bacteria screening procedures. Obstet. Gynecol. Elsevier: 69,550-553p, Paris.
- **Mouton, Y; Bingen, E; Deboscker, Y; Luc, D. (2000) :** Antibiotiques, Antiviraux, Anti-infectieux. Edition John Libbey Eurotext, 162p.
- **Nauciel, C. (2000) :** Abrégés connaissance et Pratique : Bactériologie médicale. Edition Masson, 128p, Paris.
- **Nauciel, C et Vildé, J.-L. (2005) :** Bactériologie médicale : Connaissance et Pratique. 2^{ème} édition Masson-Paris, p56-79, Paris.
- **Nelly, M.T (1982):** Milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Doin, 211p, Paris.
- **Perrot, S. (2002):** Nephrology. 4^{ème} Edition Med-line, 254p, Paris.
- **Pilly, E. (2010):** Maladies infectieuses et tropicales. 2^{ème} édition CMIT, 580p, Paris.
- **Raven, Johnson, Mason, Losos, and Singer. (2014) :** Biologie. 3^{ème} édition de boeck ; 1046p.

- **Robiczek; Jacoby, G.A; Hooper, D.C. (2006):** The Worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. *Lancet Infect Dis*, Vol.6,(p629-640)
- **Ryan, K.J; Ray, C.G. (2004):** *Medical Microbiology: An Introduction to Infectious Diseases*. 4th Edition Sherris Editors-Mc Grow-Hill, 350p.
- **Sada, N.S ; Saida, L. (2016) :** Infection urinaire chez la femme enceinte à propos de 24 cas colligés au laboratoire d'El-Mansoura (mère-enfant). Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master.1-50p, Algérie (Constantine).
- **Sangaré, A. (2009) :** Association infection urinaire et grossesse dans le service de gynécobstétrique du centre hospitalo-universitaire Gabriel Touré : Aspects cliniques, bactériologiques et pronostique, A propos de 106 cas. Thèse pour obtenir le Grade de Docteur en Médecine (diplôme d'Etat). P1-96, Mali
- **Sfakianos, J.N. (2006):** *Deadly Diseases and Epidemics AVIAN FLU*. Chelsea House books, InfoBase Publishing, 88p.
- **Singleton, P et Dusart. (1999) :** *Bactériologie*. 4^{ème} édition Jonh Wiley et Sons Ltd, 415p.
- **Singleton, P. (2004) :** *Bactériologie*. 6^{ème} édition Jonh Wiley et Sons Ltd, 541p.
- **Taale, E ; Sanou, S ; Sangaré, I ; Abdelkerim, A.D ; Mbatna, A ; Sirima, C ; and Savadogo,A. (2016):** Urinary tract infection Among pregnant women at Bobo-Djoulasso; Epidemiological and Bactériological aspects. *J.Fundam Appl Sci*.2016, 8(3),1132-1145.
- **Tang, Y-W; Sussman, M; Liu, D; Poxton, I; Schwartzman, J. (2015):** *Molecular Medical Microbiology*. Second Edition Elsevier, V1, 2145p, Paris.
- **Vaubourdolle, M. (2013):** *Infectiologie*. 4^{ème} édition le Mauniteur, Ruel Malmaison: Wolters Kluner, 1398p.
- **Willey, J.M; Sherwood, L.M; Woolverton, C.J, C.J, C.J. (2008):** *Microbiology*. Higher Education, Prescott, Harley, and Klein's *Microbiology*, seventh edition, 1088p.
- **Wilson, M. (2008):** *Bacteriology of humans and Ecological perspective*. 1st Edition Blackwell Publishing, 160p.

Sites internet

- **Anonyme :** Faculté de médecine ULP F67000 Strasbourg : Infections urinaires au cours de la grossesse. Année 2004-2005 :49p.
http://www.ulpmmed.ustrasbg.fr/médecine/cours...cours/.../infections_urin_grossesse.pdf
- **Robin, J. (2014) :** les infections urinaire : Cystite et pyélonéphrite. *Infection urinaire.org*. Informations médicales.
www.infectionurinaire.org (dernière révision : 20/05/2014).

ANNEXE I

Annexe I: verreries, appareillage, milieux de culture utilisés, réactifs et solutions**Tableau 9 : Appareillage et verreries**

Appareillage et verreries	
▪	Anse de platine.....
▪	Lame
▪	Lamelles.....
▪	Bec Bunsen.....
▪	Boîtes de pétri.....
▪	Ecouvillons stériles.....
▪	Tubes à essais stériles.....
▪	Microscope optique.....
▪	Pipette Pasteur.....
▪	Portoirs.....
▪	Réfrigérateur.....
▪	Densitomètre.....
▪	Pied à coulisse.....
▪	Pince métallique.....
▪	Poire.....
▪	Etuve d'incubation (37°C).....

Tableau 10: Réactifs et solutions utilisés

Réactifs	solutions
- Violet de gentiane	- Eau physiologique stérile à 0,9 %
- Lugol	- Eau distillée stérile
- Fuschine	- Eau oxygénée (H ₂ O ₂)
- Réactif de kovacs	- Eau de Javel
- VP1/ VP2	- Huile de vaseline
- TDA	

ANNEXE II

Annexe II : Milieux de cultures utilisés et leur Composition en gramme par litre d'eau distillée

✓ **Milieu gélose nutritive (GN)**

C'est un bouillon nutritif solidifié par addition d'Agar-agar. Il convient à la culture de bactéries peu exigeantes, dont il maintient l'aspect morphologique classique macro et microscopique.

• **Composition (g/l d'eau distillée)**

-NaCl ou KCl.....	5g
-Agar.....	15 à 20 g
Macération de viande (ou eau distillée + extrait de viande.....	1L
-Peptone tryptique.....	15g

pH 7,2-7,4

✓ **Milieu Mueller-Hinton (MH)**

Milieu d'étude de la sensibilité aux ATB.

• **Composition (g/l d'eau distillée)**

-Infusion de viande de bœuf.....	300, 0
-Hydrolysat de caséine.....	17,5g
-Amidon.....	1, 5g
-Gélose.....	17,5g

pH final 7,4

✓ **Milieu gélose au sang cuit (GSC)**

C'est milieu enrichi par addition de 5 à 10 % de sang (lapin, homme, cheval) qui est une substance organique indispensable à la vie de la bactérie à isoler et permet de mettre en évidence les propriétés hémolytiques de la bactérie à isoler.

• **Composition**

10 ml (la moitié du sang contenu dans tube tube) de sang humain additionnée au milieu MH (250 ml).

✓ **Milieu urée- indole**

Sur ce milieu il est possible d'effectuer 3 recherches : présence d'uréase, d'un tryptophane désaminase, de la production d'indole.

• **Composition (g/l d'eau distillée)**

-L-tryptophane :.....	3 g
-phosphate monopotassique :.....	1g
-phosphate dipotassique :.....	.1g
-chlorure de sodium :.....	.5g
-urée :.....	20g
-alcool à 90° :.....	1 L
-solution de rouge de phénol à 1 % :.....	2,5 mL
-Eau distillée :.....	1 L

✓ **Milieu Clark et Lubs**

Milieu utilisé pour la réaction de méthyle et Voges-Proskauer

• **Composition (g/l d'eau distillée)**

-peptone tryptique de caseine :.....	5g
-phosphate dipotassique :5 g
-glucose :5 g
-eau distillée :.....	1 l

✓ **Milieu citrate de Simmons**

Milieu utilisé pour mettre en évidence la possibilité, pour une bactérie, de cultiver en présence de citrate de sodium comme seule source de carbone.

• **Composition (g/l d'eau distillée)**

-chlorure de sodium :.....	5 g
-sulfate de magnésium 7 H ₂ O	0,2 g
-phosphate d'ammonium PO ₄ H ₂ (NH ₄) :.....	1 g
-phosphate dipotassique PO ₄ H K ₂ :	2 g
-citrate trisodique :	2 g

-solution de bleu de bromothymol 1 % :..... 8 mL

-agar :15 g

-eau distillée :1 L

pH =7-7,2.

ANNEXE III

			
<p>Bec Bunsen</p>	<p>agitateur</p>	<p>densitomètre</p>	<p>Microscope</p>
			
<p>Écouvillons</p>	<p>Etuve</p>	<p>Bain marie</p>	<p>Echantillons</p>
			
<p>Réactifs</p>	<p>Milieu MH</p>	<p>Sang frais</p>	<p>Milieu GN</p>

ETABLISSEMENT PUBLIC HOSPITALIER BOUFARIK

**LABORATOIRE CENTRAL
UNITE BACTERIOLOGIE**

Nom :

N° de prélèvement :

Prénom :

Date de réception :

Age :

Nature de prélèvement :

Service :

ANTIBIOGRAMME

Bactérie isolée :

Antibiotique testés	Interprétation	Antibiotique testés	Interprétation
Beta Lactamines		Macrolides	
Pénicilline		Erythromycine	
Amoxicilline/Ampicilline		Lincomycine/Clindamycine	
Amoxicilline-AC		Pristinamycine	
Clavulanique			
Ticarcilline		Telithromicine	
Ticarcilline+ACClavulanique			
Piperacilline		Quinolones	
Oxacilline		Acide maldixique	
Cefazoline		Ofloxacine	
Cefuroxime		Ciprofloxacine	
Cefixime		Lévofloxacine	
Cefoxitine			
Cefotaxime / Ceftriaxone		Glycopeptides	
Ceftazidime		Vancomycine	
Imipenem		Teicoplanine	
		Autres	
Aminosides		Chloramphénicol	
Gentamicine		Cotrimoxazole	
Streptomycine		Fosfomycine	
Amikacine		Termezine	
Kanamycine		Acide Fusidique	
Tobramycine		Rifampicine	
Netilmicine		Furanes	
		Colistine	

Observation :

LE CHEF DE SERVICE

Nb : S = Sensible R = Résistant I : Intermédiaire

Figure 38 : Liste des antibiotiques

Annexe : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibitions et des CMI.

Tableau 11 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibitions et des CMI, pour *Streptococcus spp.* Groupe viridans (Autres que *S. pneumoniae*).

Antibiotiques testés	Charge disques	Diamètres critiques (mm)			Valeurs critiques CMI (µg/ml)		
		R	I	S	R	I	S
Pénicilline	10µg	≤28	≥29	4≥	0.25-2	≤0.12
Ampicilline	10 µg	≤ ¹³	14-16	≥17	8≥	0.5-4	≤0.25
Gentamicine	120 µg	≤6	7-9	≥10	> 500	≤250
Erythromycine	15µg	≤15	16-20	≥21	1≥	0.5	≤0.25
Clindamycine	2µg	≤15	16-18	≥19	1≥	0.5	≤0.25
Teicoplanine	30µg	≤10	11-13	≥14	≥32	16	≤8
Vancomycine	30µg	≤14	15-16	≥17	< 1
Chloramphénicol	30µg	<17	18-20	≥21	16≥	8	≤4
Lévofloxacine	5µg	≤ ¹³	14-16	≥17	8≥	4	≤2

Tableau 12: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibitions et des CMI pour les Entérobactéries.

Antibiotiques testés	Charge disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ ml)		
		R ≤	I	S ≥	R ≥	I	S ≤
ampicilline	10 µg	13	14-16	17	32	16	8
Amoxicilline + Ac. Clavulanique	20/10	13	14-17	18	32/16	16/18	8/4
Céfazoline	30 µg	19	20-22	23	8	4	2
cefoxitine	30 µg	14	15-17	18	32	16	8
Céfotaxime	30 µg	22	23-25	26	4	2	1
Imipénème	10 µg	19	20-22	23	4	2	1
Gentamicine	10 µg	12	13-14	15	16	8	4
Acide Nalidixique	30 µg	13	14-18	19	32	...	16
Colistine**	50 µg	12	13-14	15	>2	...	2
Fosfomycine	200 µg	12	13-15	16	256	128	64

Tableau 13: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibitions et des CMI pour les staphylocoques.

ATB	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)		
		R	I	S
cefoxitine	30 µg	≤14	15-17	≥18
Kanamycine	30µg	≤13	14-17	≥18
Tetracycline	30µg	<14	15-18	>19
Rifampicine	5µg	<16	17-19	>20
Oxaciline 1	1µg	≤10	10-12	≥13
Vancomycine	30 µg	<14	15-16	≥17
Clindamycine	2µg	≤14	15-20	≥21
Erythromycine	15µg	≤13	14-22	≥23
Penicilline	10µg	≤28	≥29
Levofloxacin	5µg	<15	16-20	>21
Co-trimoxazole	30µg	≤24	-	≥25
Chloramphenicol	30µg	<12	13-17	>18
Acide fusidique	10µg	<24	≥24
Amikacine	30 µg	<14	15-16	>17

Figure 39 : Procédures suivies par le personnel du laboratoire de Boufarik pour l'examen cyto bactériologique des urines.

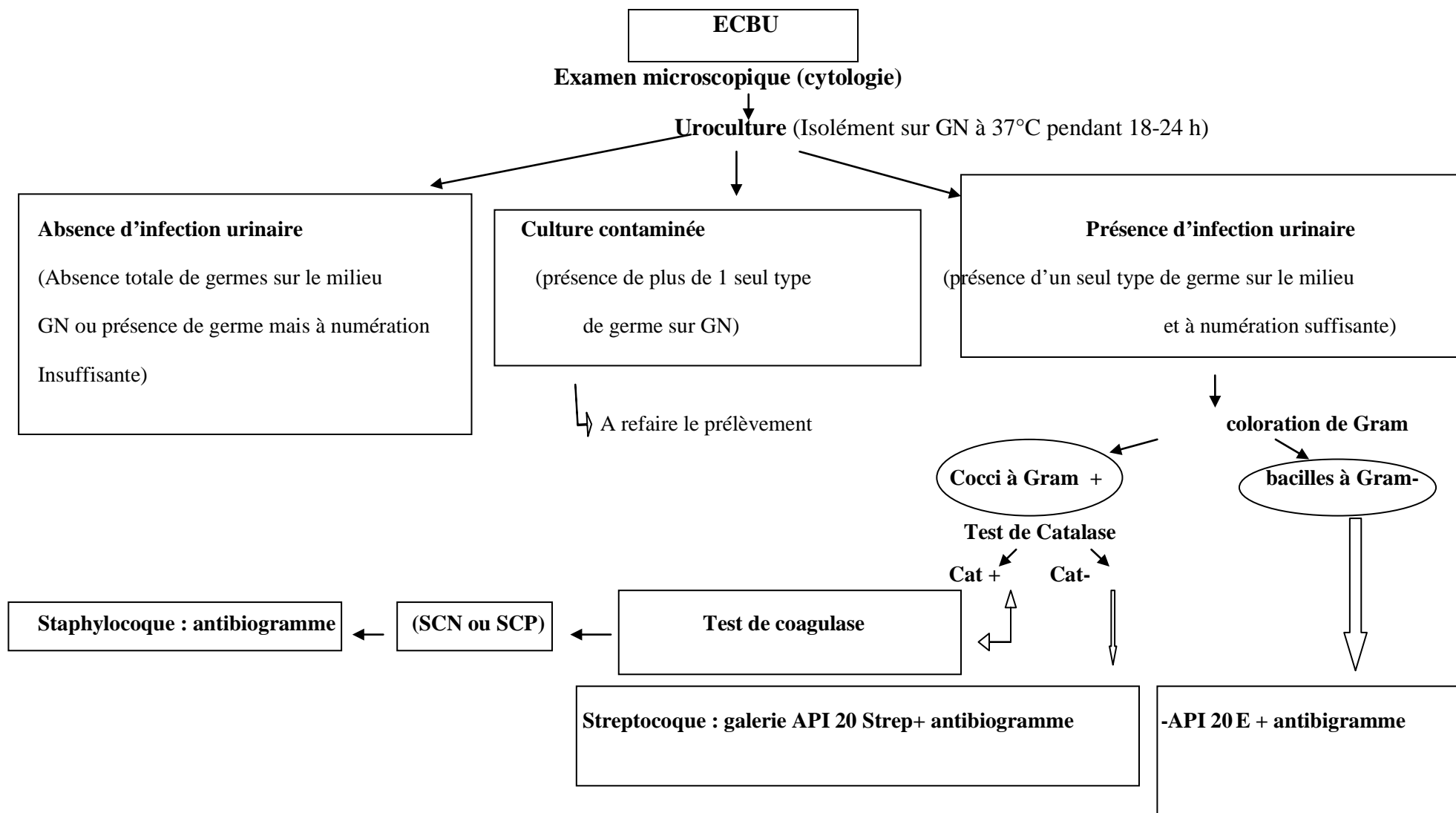


Figure 40 : Fiche d'orientation utilisée pour l'identification des entérobactéries.

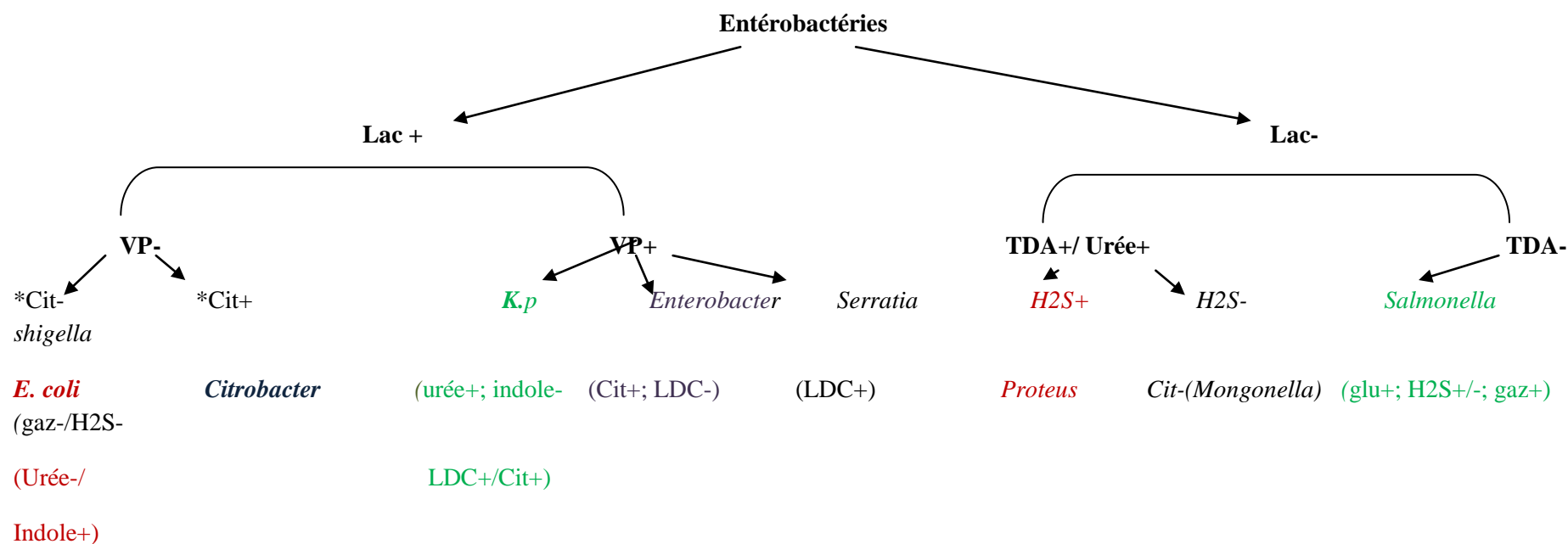


Tableau 14: Méthode d'interprétation de la cytologie

Leucocyturie/ Bacteriurie	Interprétation	Cotation	Quantité des éléments
Eléments non significatifs	éléments absents	0	0
	rares	*	1-5/champ
Eléments significatifs	assez nombreux	**	5-10/champ
	nombreux	***	10-50/champ
	très nombreux	****	>50/champ

Tableau 15: Taux de bactériurie pouvant justifier l'identification et l'antibiogramme des germes isolés en fonction du mode de prélèvement, des critères de Kass et du nombre d'espèces isolées.

Taux de bactériurie significative (UFC/ml)	Critères de Kass	Nombre d'espèces isolées	Mode de prélèvement
$<10^4$ (germe rare)	Bactériurie non significative	Pas d'isolément	« milieu de jet »
		Numération insuffisante	
		Germes contaminants	
$>10^5$ (nombreux germes)	Bactériurie significative	Un seul type	

Tableau 16: Répartition de l'ECBU selon la cytologie

Résultat	Nombres d'échantillons	Taux
RAS	36	30%
Présence d'autres éléments que leucocytes/ germes	16	13%
Présence de leucocytes et de germes	70	57%
Total	122	100%

Tableau 17 : Répartition de la bactériurie et de la leucocyturie selon la cytologie

Interprétation		Bactéries	Leucocytes
Eléments non significatifs	Absence d'éléments	11 (16%)	9 (13%)
	Eléments rares	13 (19%)	22 (31%)
Eléments significatifs	Eléments assez nombreux	22 (31%)	29 (41%)
	Eléments nombreux	15 (21%)	6 (9%)
	Eléments très nombreux	9 (13%)	4 (6%)
Total		70 (100%)	70 (100%)

Tableau 18: Répartition des cas de bactériurie et de leucocyturie significatives ou non significatives

Résultats	Significatives		Non significatives		Total	
	Nbre	Taux	Nbre	Taux	Nbre	Taux
Bactériurie	46	66 %	24	34%	70	100 %
Leucocyturie	39	56%	31	44%		

Tableau 19: résultats de l'uroculture en fonction de la cytologie

ECBU	Cyto	RAS		AEF		Leucocytes/ Bactéries	
		Nbre	Taux	Nbre	Taux	Nbre	Taux
Positifs		0	0%	0	0%	55	45%
Négatifs		36	30%	16	13%	15	12%
Total		122 100%					

Tableau 20: Répartition des germes isolés selon la coloration de Gram

Groupes bactériens selon la Coloration de Gram	Espèces / Genre correspondants	Nbres /germes	Taux
Bacilles à Gram négatifs		51	93 %
Cocci à Gram positifs		4	7%
Total		55	100%

Tableau 21 : Répartition des germes isolés selon l'ECBU

Germes isolés	Nombre	Fréquences
<i>Enterobacter</i>	1	2 %
<i>Proteus mirabilis</i>	2	4 %
<i>Escherichia coli</i>	33	60%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	15	27 %
<i>Staphylococcus ssp.</i>	1	2 %
<i>Streptococcus agalactiae</i>	3	5 %
Total	55	100 %

Tableau 22 : Fréquence des germes isolés en fonction de la bactériurie.

Germes	<i>E. coli</i>	<i>K.p</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>S. agalactiae</i>	<i>Staph. ssp.</i>	Total des germes
Bactéries							
Nombreuses	9 (27%)	9 (60%)	1 (50%)	1 (100%)	2 (65%)	0 (0%)	22 (40%)
Rares	24 (73%)	6 (40%)	1 (50%)	0 (0%)	1 (35%)	1 (100%)	33 (60%)
Total	33 (100%)	15 (100%)	2 (100%)	1 (100%)	3 (100%)	1 (100%)	55 (100%)

Tableau 23: Fréquences des échantillons en fonction de la provenance (externes / internes).

Provenance des urines	Résultats des examens	Nombre d'échantillons	Pourcentages	Total
Internes	Positifs	48	39%	69 (57%)
	Négatifs	21	17 %	
Externes	Positifs	7	6 %	53 (43%)
	Négatifs	46	38%	
Total	Total des échantillons	122	100 %	

Tableau 24: Répartition des résultats de l'ECBU en fonction de l'âge des patientes.

Ages /ans		0 – 19	20-40	> 40	total
ECBU					
Positifs	Nombre	0	53	2	55
	Taux	0 %	96 %	4 %	100 %

Tableau 25: Répartition des germes isolés en fonction de l'âge gestationnel.

AG	1er Trimestre		2ème Trimestre		3ème Trimètre	
Germes						
<i>E. coli</i>	(4)	7%	(11)	20%	(18)	33%
<i>K. pneumoniae</i>		0%	(5)	9%	(10)	18%
<i>P. mirabilis</i>		0%	(1)	2%	(1)	2%
<i>Enterobacter</i>		0%		0%	(1)	2%
<i>S. agalactiae</i>		0%	(2)	4%	(1)	2%
<i>Staphylococcus. Ssp.</i>		0%		0%	(1)	2%
Total	4	(7%)	19	(35%)	32	58%

Tableau 26 : Fréquence de la sensibilité aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli*.

ATB		AM	CTX	AMC	CZ	IPM	FOX	OF	NA	CN	CT
Souches											
S	Nbre	2	32	6	17	21	26	28	25	12	25
	Taux	6 %	97 %	18%	57%	100%	100%	90%	81%	100%	81%
R	Nbre	31	1	27	8	0	0	3	5	0	4
	Taux	94 %	3 %	82%	27%	0%	0%	10%	16%	0%	13%
I	Nbre	0	0	0	5	0	0	0	3	0	2
	Taux	0 %	0 %	0%	16%	0%	0%	0%	3%	0%	6%
Total	Nbre	33	33	33	30	21	26	31	31	12	31
	Taux	100%	100%	100%	100 %	100 %	100 %	100%	100 %	100%	100%

Tableau 27: Fréquence de la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Klebsiella pneumoniae*.

ATB		AM	CTX	AMC	CZ	IPM	FOX	OF	NA	CN	CT
Souches											
S	Nbre	0	8	4	9	14	11	12	13	12	12
	Taux	0%	53%	27%	60%	100%	92%	100%	87%	92%	80%
R	Nbre	15	4	9	6	0	1	0	0	0	1
	Taux	100%	27%	60%	4%	0%	8%	0%	0%	0%	7%
I	Nbre	0	3	2	0	0	0	0	2	1	2
	Taux	0%	20%	13%	0%	0%	0%	0%	13%	8%	13%
Total	Nbre	15	15	15	15	14	12	12	15	13	15
	Taux	100%	100%	100%	100 %	100 %	100 %	100%	100 %	100%	100%

Tableau 28: Résultats de l'antibiogramme pour les *P.mirabilis* et l'*Enterobacter* isolées.

Germes	Pheno-type	bêta-lactamines						Autres ATB			
		AM	CTX	AMC	CZ	IPM	FOX	OF	NA	CN	CT
<i>P.mirabilis</i>	BLSE-	R	S	R	s	S	S	S	S	S	R
	BLSE-	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R
<i>Enterbacter</i>	BLSE-	R	S	S	I	S	S	-	-	S	S

Tableau 29: Résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques des souches de streptocoques.

ATB Souches	AM	p	LV	GEN 120	VA	RA	TEC	C	CD	E
<i>S. agalactiae</i>	S	S	s	S	S	S	S	S	S	s
	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I
	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S

Tableau 30 : Résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques des souches de staphylocoque.

ATB Germe isolé	FO X	K	TE	Ox1	VA	CD	E	P	LE	CO T	C	FA
<i>Staphylococcus spp.</i>	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R

Tableau 31: Résultat des tests de sensibilité des entérobactéries

ATB	Sensibilité		Résistance		Total	
	Nbre	Taux	Nbre	Taux	Nbre	Taux
AM	2	10%	49	90%	51	100%
AMC	11	22%	38	78%	49	100%
CTX	42	82%	9	18%	51	100%
CZ	29	67%	14	33%	43	100%
IPM	38	100%	0	0%	38	100%
FOX	40	98%	1	2%	41	100%
OF	42	93%	3	7%	45	100%
NA	40	89%	5	11%	45	100%
CN	27	10%	0	0%	27	100%
CT	38	84%	7	6%	45	100%

Tableau 32 : Table de lecture de la galerie API 20 E

Tests	Composants actifs	Caractères recherchés	Résultats	
			POSITIF	NEGATIF
ONP G	2-nitrophényl-beta	Beta-galactosidase	Incolore	Incolore
	D-galactopyranoside		Jaune	
ADH	L-arginine	Arginine dihydrolase	Rouge – orangé	Jaune
LDC	L-lysine	Lysine décarboxylase	Rouge – orangé	Jaune
ODC	L-omithine	Ortnithine décarboxylase	Rouge – orangé	Jaune
CIT	Trisodium citrate	Utilisation du citrate	Bleu – vert / Bleu	Vert pâle/jaune
H2S	Sodium thiosulfate	Production d'H2S	Dépôt noir	Incolore-grisâtre
URE	Urée	Uréase	Rouge – orangé	Jaune
TDA	L-tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA – immédiat	jaune
			Marron – rougeâtre	
IND	L-tryptophane	Production d'indole	James – immédiat (2minutes, maxi)	Incolore / vert pâle/ jaune
			Anneau rouge/ rose	
VP	Sodium pyruvate	Production d'acétoïne	VP1 + VP2 (10 minutes)	Incolore/ rose pâle
			Rose – rouge	
GEL	Gélatine (origine bovine)	Gélatinase	Diffusion du pigment noir	Pas de diffusion
GLU	D-glucose	Fermentation –oxydation	Jaune / jaune – gris	Bleu /bleu – vert
MAN	D-mannitol	Fermentation –oxydation	Jaune	Bleu /bleu – vert
INO	Inositol	Fermentation –oxydation	Jaune	Bleu /bleu – vert
SOR	D-sorbitol	Fermentation –oxydation	Jaune	Bleu /bleu – vert
RHA	L-rhamnose	Fermentation –oxydation	Jaune	Bleu /bleu – vert
SAC	D-saccharose	Fermentation –oxydation	Jaune	Bleu /bleu – vert
MEL	Melibiose	Fermentation –oxydation	Jaune	Bleu /bleu – vert
AMY	Amygdaline	Fermentation –oxydation	Jaune	Bleu /bleu – vert
ARA	Arabinose	Fermentation –oxydation	Jaune	Bleu /bleu – vert
OX	Super papier filtre	Cytochrome- oxydase	Ox/ 5-10 « anneau violet (+), (-) incol	

(Suite du Tableau 38): Table de lecture des tests complémentaire de la galerie API 20 E

Tests	Composants actifs	Caractères recherchés	Résultats	
			Positifs	négatifs
Réduction des nitrates (Tube GLU) -NO3- -NO2	Nitrate de potassium	-Production de NO ₂ -Réduction au stade N ₂	NIT1 + NIT2/ 2-3 minutes	
			rouge	Jaune
			ZN	
			jaune	rouge
MOB	Microscope (API M Medium)	Mobilité	mobile	immobilité
McC	Milieu de MacConkey	Culture	présence	absence
OF-F OF-O	Glucose (API OF Medium)	-Fermentation : sous huile -Oxydation : à l'air	-Jaune	-Vert
			-Jaune	-Vert
CAT	Possession d'une catalase		H ₂ O ₂ / 1-2 minutes	
			Bulles	Pas de bulles

Tableau 33 : Table de lecture de la galerie API 20 Strep

Tests	Composants actifs	Réactions / enzymes	Résultats	
			Positifs	Négatifs
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	VP1 + VP2 (10 minutes)	
			Rose/rouge	incolore
HIP	Acide hippurique	Hydrolyse (acide HYPpurique)	NIN (10 minutes)	
			Bleu foncé / violet	Incolore/bleu pâle
ESC	Esculine Citrate de fer	Hydrolyse beta-glucosidase	Noir	Incolore / jaune pâle
PYRA	Acide pyroglutamique-beta-naphtylamide	Pyrrolidonyl arymidase	ZYM A + ZYM B / 10 minutes (PYRA à LAP)	
			Orange	Incolore /orange très pâle
Alpha-GAL	6-bromo-2-naphtyl-alpha-galactopyranoside	Alpha-Galactosidase	Violet	Incolore
Beta-GUR	Acide naphtol-ASBI-glucirionique	Beta-Glucuronidase	Bleu	Incolore
Beta-GAL	2-naphtyl-beta D-galactopyranoside	Beta – Galactosidase	Violet	Incolore/violet très pâle
PAL	2-naphtyl phossphate	Phosphatase Alcaline	Violet	Incolore/violet très pâle
LAP	L-leucine-beta-naphtylamide	Leucine aminopeptidase	Orange	Incolore
ADH	L-arginine	Arginine Dihydrolase	rouge	Jaune
RIB	D-ribose	Acidification (ribose)	Orange/jaune	rouge
ARA	L-arabinose	Acidification (arabinose)	Orange/jaune	rouge
MAN	D-mannitol	Acidification (mannitol)	Orange/jaune	rouge
SOR	D-sorbitol	Acidification (sorbitol)	Orange/jaune	rouge
LAC	D-lactose (origine bovine)	Acidification (lactose)	Orange/jaune	rouge
TRE	D-tréhalose	Acidification (tréhalose)	Orange/jaune	rouge
INU	Inuline	Acidification (inuline)	Orange/jaune	rouge
RAF	D –raffinose	Acidification (raffinose)	Orange/jaune	rouge
AMD	Amidon	Acidification (amidon)	Orange/jaune	rouge
GLYG	Glycogène	Acidification (Glycogène)	Jaune franc	Rouge ou orange

Tableau 34 : Résultats de la cytologie des urines positives.

ID	Espèces / genres Isolées	Germes	leucocytes	Hématies	nombre
E1	<i>K.pneumoniae</i>	****	****		1
E2	<i>K.pneumoniae</i>	****	**		2
E3	<i>E. coli</i>	*	*		3
E4	<i>Proteus mirabilis</i>	*	*		4
E5	<i>E. coli</i>	**	**		5
E6	<i>E. coli</i>	*	**		6
E7	<i>E. coli</i>	0	*		7
E11	<i>E. coli</i>	*	*		8
E12	<i>K.pneumoniae</i>	****	**		9
E13	<i>K.pneumoniae</i>	****	**		10
E14	<i>E. coli</i>	***	****		11
E16	<i>Streptococcus agalactiae</i>	**	**		12
E17	<i>K.pneumoniae</i>	**	**		13
E18	<i>Staphylococcus spp.</i>	**	***		14
E19	<i>E. coli</i>	**	***		15
E25	<i>E. coli</i>	*	**		16
E26	<i>E. coli</i>	**	***		17
E27	<i>E. coli</i>	****	**		18
E28	<i>E. coli</i>	***	*		19
E29	<i>K.pneumoniae</i>	***	*		20
E34	<i>K.pneumoniae</i>	**	**		21
E35	<i>Streptococcus agalactiae</i>	***	**		22
E36	<i>E. coli</i>	**	**		23
E37	<i>E. coli</i>	**	**		24
E38	<i>E. coli</i>	*	**		25
E41	<i>Proteus mirabilis</i>	***	**		26
E48	<i>E. coli</i>	***	**		27
E53	<i>E. coli</i>	**	**		28
E55	<i>K.pneumoniae</i>	***	**		29
E58	<i>Enterobacter</i>	****	*		30
E64	<i>E. coli</i>	**	**		31
E65	<i>E. coli</i>	**	*	**	32
E70	<i>E. coli</i>	***	*		33
E71	<i>K.pneumoniae</i>	***	**		34
E84	<i>E. coli</i>	**	**		35
E85	<i>E. coli</i>	**	**		36
E87	<i>E. coli</i>	**	*		37
E92	<i>E. coli</i>	***	**		38
E93	<i>E. coli</i>	**	*		39
E90	<i>E. coli</i>	**	***		40
E95	<i>E. coli</i>	***	**		41
E96	<i>E. coli</i>	***	*		42
E97	<i>E. coli</i>	0	**		43

E100	<i>K.pneumoniae</i>	**	***		44
E103	<i>K.pneumoniae</i>	*	**	*	45
E104	<i>E. coli</i>	**	*		46
E106	<i>E. coli</i>	***	**		47
E107	<i>K.pneumoniae</i>	**	*	**	48
E110	<i>K.pneumoniae</i>	**	****		49
E114	<i>K.pneumoniae</i>	***	***		50
E115	<i>E. coli</i>	**	*		51
E118	<i>S. agalactiae</i>	****	****		52
E119	<i>E. coli</i>	**	**		53
E120	<i>E. coli</i>	***	**		54
E122	<i>K.pneumoniae</i>	****	*		55

* = non significatif

= *= ****= significatif