

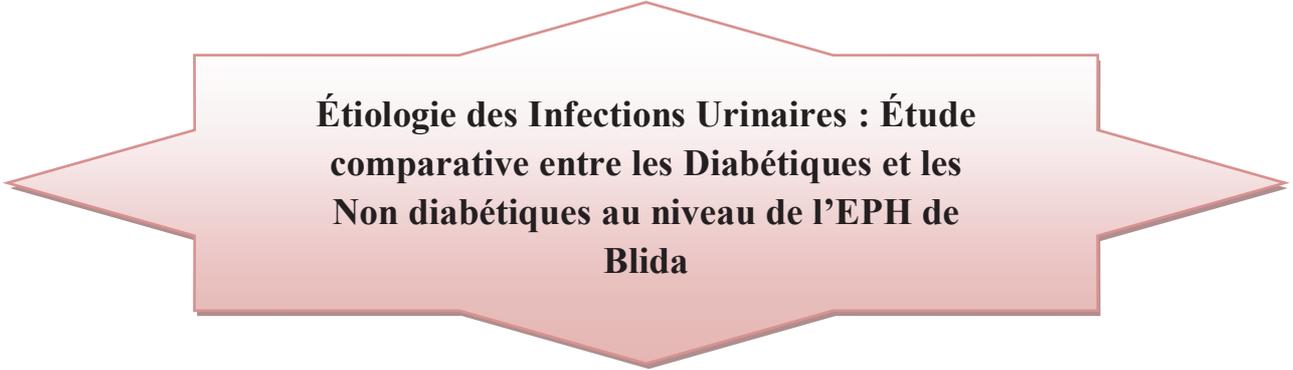


**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université Saad Dahlab de Blida**  
**Faculté des Sciences Agro-Vétérinaires et Biologiques**  
**Département de Biologie**

**Mémoire de Fin d'Étude Pour l'Obtention Du Diplôme  
De Master en Biologie**

**Option : Microbiologie/ Bactériologie**

**Présenté par : KEBBAL Imène**



**Étiologie des Infections Urinaires : Étude  
comparative entre les Diabétiques et les  
Non diabétiques au niveau de l'EPH de  
Blida**

**Devant le jury**

<b>Nom et Prénom</b>	<b>Grade</b>	<b>Lieu d'Exercice</b>	<b>Qualité</b>
Mr OUSSADOU	MAA	Université de Blida	Président
Mme BOULKOURS. S	MAA	Université de Blida	Examinatrice
Mme CHERALLAH. A	MAA	Université de Blida	Examinatrice
Mr HAMAIDI. M.S	MCA	Université de Blida	Promoteur
Mme TACHET	MAA	EPH de Blida	Co-promotrice

**Soutenu publiquement le 23- 09-2013**

# Liste des Tableaux

<b>Tableau I</b>	Facteur de risque d'infection urinaire	<b>03</b>
<b>Tableau II</b>	Signes diagnostiques des infections urinaires	<b>03</b>
<b>Tableau III</b>	Principales infections rencontrées chez les diabétiques.	<b>07</b>
<b>Tableau IV</b>	Caractères biochimiques de différentes espèces des Entérobactéries	<b>11</b>
<b>Tableau V</b>	Répartition des prélèvements selon les patients <i>Critères</i>	<b>16</b>
<b>Tableau VI</b>	<i>d'interprétation de l'ECBU</i>	<b>19</b>
<b>Tableau VII</b>	Répartition des espèces bactériennes identifiées chez les diabétiques et les non diabétiques	<b>38</b>
<b>Tableau VIII</b>	Antibiorésistance d' <i>Escherichia.coli</i>	<b>40</b>
<b>Tableau IX</b>	Antibiorésistance de <i>Proteus mirabilis</i>	<b>41</b>
<b>Tableau X</b>	Mécanisme d'action et de résistance de différentes familles d'antibiotiques	<b>Annexe</b>
<b>Tableau XI</b>	<i>Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibitions et des CMI pour Entérobactéries.</i>	<b>Annexe</b>
<b>Tableau XII</b>	<i>Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibitions et des CMI pour Staphylocoque sp.</i>	<b>Annexe</b>

# Liste des Figures

<b>Figure 1</b>	Cercle vicieux au cours de coma hyperosmolaire.	<b>09</b>
<b>Figure 2</b>	Lecture de TSI.	<b>26</b>
<b>Figure 3</b>	Lecture de Citrate de Simmons	<b>27</b>
<b>Figure 4</b>	Test de l'uréase	<b>29</b>
<b>Figure 5</b>	Test de catalase	<b>31</b>
<b>Figure 6</b>	Test de la coagulase	<b>31</b>
<b>Figure 7</b>	Répartition des résultats selon le sexe	<b>34</b>
<b>Figure 8</b>	Répartition des prélèvements selon l'âge	<b>35</b>
<b>Figure 9</b>	Répartition des résultats des prélèvements effectués	<b>36</b>
<b>Figure 10</b>	Répartition des résultats selon les sites de prélèvement	<b>37</b>
<b>Figure 11</b>	Antibiorésistance de <i>K. pneumoniae</i>	<b>42</b>
<b>Figure 12</b>	Antibiorésistance des <i>SCN</i>	<b>43</b>

# Liste des Abréviations

**ADH** : Arginine décarboxylase.

**API 20<sup>E</sup>** : Analytical profil index.

**ATB** : Antibiotique.

**BGN** : Bacille à gram négatif.

**βLSE** : β-lactamase à spectre élargi.

**CGP** : cocci à gram positif.

**D** : Diabétique.

**ECBU** : Examen cytbactériologique des urines.

**FP** : Flore polymorphe.

**GN** : Gélose nutritive.

**GSC** : Gélose au sang cuit.

**H<sub>2</sub>S** : Sulfure d'hydrogène.

**KES** : Klebsiella Enterbacter Serratia.

**Lac** : Lactose.

**LDC** : Lysine décarboxylase.

**MH** : Mueller Hinton.

**MI** : Médecine interne.

**ND** : Non diabétique.

**ODC** : Ornithine décarboxylase.

**ONPG**: Ortho-Nitro-Phénil Galactoside.

**PNA** : pyélonéphrite aigue

**R** : Résistant.

**RM** : Rouge de méthyle.

**S** : sensible.

**SCN** : Staphylococcus coagulase négatif.

**TDA** : Tryptophane désaminase.

**TSI** : Triple Sugar Iron.

**UFC** : Unité formant colonie.

**Uré** : Uréase.

**VP** : Vogue Proskauer.

# Glossaire

**Aérobic** : microorganismes qui ont besoin d'air (oxygène libre) pour vivre.

**Anaérobic** : microbe qui se développe qu'à l'abri de l'oxygène de l'air.

**Antibiogramme** : Examen bactériologique qui permet d'apprécier la sensibilité ou la résistance d'une bactérie vis-à-vis les antibiotiques.

*Artérite* : désigne l'ensemble des lésions touchant les artères qui s'accompagnent d'un rétrécissement du calibre des artères.

**Bactéricide** : toute substance qui tue les bactéries.

**Bactériémie** : décharge de bactéries dans le courant sanguin à partir d'un foyer septique.

**Bactériurie** : présence des bactéries dans les urines.

**Bactériostatique** : toute substance et en particulier d'un antibiotique, dont l'action se borne à arrêter la multiplication des bactéries sans les tuer.

**Choc septique** : est la diminution brutale de la circulation sanguine, accompagnés d'une hyperthermie (élévation de la température) dus à une infection bactérienne, essentiellement par des bactéries mises en évidence par la coloration Gram-.

**Dysurie** : est une difficulté à la miction qui est le fait d'évacuer les urines de la vessie.

**Immunodéprimé** : se dit d'un sujet incapable d'avoir des réactions immunitaires normales.

**Miction** : est l'évacuation de l'urine emmagasinée dans la vessie.

**Nécrose** : définit l'arrêt non naturel du fonctionnement d'une ou de plusieurs cellules d'un tissu du corps humain.

**Polydipsie** : symptôme caractérisé par une soif excessive avec augmentation de l'absorption de liquide.

**Septicémie** : état pathologique caractérisé par l'envahissement durable de la circulation sanguine par des germes, à partir d'un foyer septique.

**Sonde** : instrument cylindrique destiné à être introduit dans les orifices naturels, traumatiques ou thérapeutiques.

**Urothélium** : Couche de cellules formant un épithélium (tissu de recouvrement) tapissant les voies urinaires.

# Résumé

L'infection urinaire est l'infection bactérienne la plus commune et la cause d'un fardeau important pour les ressources du système de santé. En milieu communautaire, elle touche principalement les femmes actives sexuellement mais également les gens de tout âge. En milieu hospitalier, les personnes âgées et les porteurs de sonde urinaire sont les principaux patients touchés.

Durant notre étude au niveau de l'EPH de Blida nous avons obtenues sur les 100 prélèvements un taux de positivité 38% d'infection urinaires.

La répartition des germes a révélé une prédominance d'*E.coli* chez les patients diabétiques avec un taux de 66.66% ainsi que, la présence des *BGN* et *SCN* avec un taux de 13,33% alors qu'ils sont absents chez les patients non diabétiques. *K. pneumoniae* occupe la première place chez les patients non diabétique avec un pourcentage de 50%, *P.mirabilis* est faiblement rencontré dans les deux types de terrain.

L'approche thérapeutique demeure relativement simple. Ceci, avec l'émergence de pathogènes urinaires résistants observés dans le milieu communautaire et hospitalier.

**Mot clés :** *BGN*, diabétiques, *E.coli*, infection urinaire, résistance, *SCN*.

## الملخص

التهاب المسالك البولية هي عدوى بكتيرية الأكثر شيوعا ويسبب موردا هاما للعبء النظام الصحي. في المجتمع، تمس أساسيا النساء الناشطات جنسيا وكذلك الناس من جميع الأعمار. في المستشفيات، المسنين وأصحاب القسرة البولية هم المرضى الأساسيون المصابين. من خلال دراستنا في المستشفى بالبليدة حصلنا من 100 عينة على معدل الإيجابية 38% من عدوى المسالك البولية.

أظهر توزيع البكتيريا غلبة *E.coli* بنسبة 66.66% في مرضى السكري. BNG SCN بنسبة 13.33% في حين أنها غائبة عند المرضى الغير المصابين بالسكري، ووجود *K.pneumoniae* بنسبة 50% عند المرضى الغير المصابين بالسكري ونسبة قليلة من *P.mirabilis*. النهج العلاجي بسيط نسبيا، مع ظهور مسببات الأمراض البولية المقاومة التي لوحظت في المجتمع والمستشفى.

الكلمات الأساسية:

SCN, BGN التهاب بولي، السكري، المقاومة.

# Abstract

Urinary tract infection is the most common bacterial infection and causes an important resource for health system burden. In the community, it mainly affects sexually but also people of all ages active women. In hospitals, the elderly and the holders of urinary catheter are the main affected patients.

In our study at the EPH Blida we got 100 samples a positivity rate of 38% of urinary tract infection.

The distribution of seeds showed a predominance of *E. Coli* in diabetic patients with a rate of 66.66% and the presence of *BGN* and *SCN* with a rate of 13.33% while they are absent in patients not diabetics. *K. pneumoniae* ranks first among non-diabetic patients with a percentage of 50% are slightly *P.mirabilis* encountered in both types of terrain.

The therapeutic approach is relatively simple. However, with the emergence of resistant urinary pathogens observed in the community and hospital.

**Keyword:** *BGN*, diabetes, *E.coli*, *SCN*, resistance, urinary infection.

# Introduction

Le concept de syndrome urinaire s'appuie sur un large éventail de constatation clinique et/ou biologique. Il intéresse tous les âges, hommes et femme confondus **(Vaubourdolle, 2007)**.

Les infections urinaires recouvrent un ensemble de situations cliniques de gravité variable où l'appareil urinaire et les urines sont concernés **(Rouquette, 2002)**, ce qui peut avoir des conséquences grave sur la santé **(Encyclopédie, 2010)**.

Les infections étaient autrefois une cause importante de morbidité et de mortalité chez les diabétiques. L'avènement des antibiotiques et les progrès du traitement antibiotique ont totalement changé ces données. Cependant, les infections sont volontiers insidieuses chez le diabétique.

Chez un diabétique équilibré, le pronostic d'une infection est le même que chez le sujet non diabétique. En revanche, si le diabète est déséquilibré, une infection sera plus sévère que chez le non-diabétique **(Maunand, 2010)**.

Selon **Kenkouo, (2008)**. Les principaux germes rencontrés au cours des infections urinaires sont : *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Pneumoniae* et *Proteus mirabilis*. Cependant, les profils étiologiques et de sensibilité aux antibiotiques des germes responsables des infections urinaires sont susceptibles de varier dans l'espace et le temps d'où l'importance d'une surveillance régulière au niveau de chaque localité

L'objectif de notre travail est de rechercher les principales bactéries responsables des infections urinaires chez un nombre de patient diabétique et non diabétique ainsi que l'étude comparative de la sensibilité et de la résistance de ces germes pathogènes vis-à-vis des antibiotiques utilisés actuellement dans l'EPH (Établissement public hospitalier) de Blida.



### I- Les infections urinaires

#### I.1-Définition

Une infection urinaire est une atteinte bactérienne des voies urinaires basses (**Denis, 2010**). Situé au niveau de la vessie : cystite, au niveau de l'urètre : urétrite, au niveau de la prostate : prostatite et/ou hautes : situées au niveau du bassinet, il s'agit d'une pyélonéphrite (néphrons ; rein) (**Mathieu et Fonteneau, 2008**).

#### I.2-Physiopathologie

Les germes uropathogène ont des capacités d'adhérer à l'épithélium urinaires par des adhésines reconnaissant certains récepteurs membranaires de l'urothélium.

Le mode de pénétration des germes dans les voies urinaires peut être :

- Par voie ascendante (la plus fréquente) soit spontané (chez les femmes dont l'urètre est court), soit provoqué par la mise en place d'une sonde ou la réalisation d'une cytoscopie ;
- Par voie hématogène : plus rare lors de bactériémie ou de septicémie surtout chez les immunodéprimé ou le diabétique ;
- Par voie lymphatique à partir d'infections des organes pelviens (maladie inflammatoire de l'intestin, suppuration pelvienne) (**Alexandre De La Taille et al., 1998**).

#### I.3-Forme clinique

Les infections urinaires sont dues à la contamination ascendante des voies urinaires. Les signes cliniques révèlent de l'inflammation liée à la présence de bactéries.

Il est essentiel de distinguer deux types d'infection urinaire : les infections urinaires parenchymateuses liées à l'infection d'un organe plein (prostatite ou pyélonéphrite) et les infections urinaires vésicales (cystite) (**Sabbah et al., 2004**).

- a) **Pyélonéphrite** : La Pyélonéphrite est une inflammation microbienne du bassinet avec infection des zones adjacentes du tissu rénal.

La pyélonéphrite est un abcès du rein. Il s'agit le plus souvent d'un aspect évolutif de la pyélonéphrite. Elle correspond à une infection des cavités et du parenchyme rénal en amont d'un obstacle avec destruction du tissu rénal. Chez les diabétiques le tableau pyélonéphrite est grave, avec risque de nécrose papillaire (**Rouquette, 2002**).

- b) **Prostatite** : La prostatite est une inflammation de la prostate causée par des agents infectieux (bactéries, champignons, mycoplasmes) ou par une affection (par exemple rétrécissement de l'urètre, hyperplasie de la prostate). L'organisme le plus souvent en cause est *E.coli*. Le microorganisme provient généralement de l'urètre.

Les complications de la prostate sont les suivantes : hypertrophie de la prostate, bactériémie et pyélonéphrite (**Smith et al., 2006**).

- c) **Cystite** : La cystite à germe est une infection des voies urinaires et de la paroi vésicale sans infection parenchymateuse associée. Cette définition exclut l'atteinte rénale qui peut s'y associer secondairement (**Lobel et Soussy, 2007**).

### **I.4-Facteur de risque d'infection urinaire**

Les principaux facteurs de risque (tableau I) sont l'existence d'une anomalie obstructive (lithiase, tumeur, diverticules vésicaux) ou d'une anomalie (reflux vésico-urétéral et autres malformations congénitales). La présence d'un corps étranger (sondes vésicales et urétérales, cathéters de néphrostomies). D'une anomalie fonctionnelle (vessie neurologique) ou d'une maladie générale (diabète, insuffisance rénale...) (**Pourriat et al., 2005**).

**Tableau I:** Facteur de risque d'infection urinaire

<p><b>Infection urinaires non compliquées</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Virulence bactérienne</li><li>• Augmentation de l'adhérence bactérienne, colonisation (Colonisation excrétion de la glycoprotéine de Tamm-Horsfall)</li></ul>
<p><b>Infection urinaires compliquées</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Anomalies anatomique ou fonctionnelles :<ul style="list-style-type: none"><li>- Obstruction</li><li>- Maladies sous-jacentes (diabète, maladies neurologiques, insuffisance rénale...)</li><li>- Grossesse</li></ul></li><li>• Réponse immunitaire ou inflammatoire déficiente</li></ul>
<p><b>Facteurs de risques acquis</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Personnes âgées</li><li>• Pratiques sexuelles</li><li>• Ménopause, diminution de la sécrétion d'œstrogène</li><li>• Traitements immunosuppresseurs, antibiotiques</li><li>• Manœuvres instrumentales, sondages urinaires</li></ul>

**I.5-Signes clinique :** Le tableau II ci-après rappelle les signes diagnostiques des infections urinaires pour les cystites, pyélonéphrites et les prostatites.

**Tableau II : Signes diagnostiques des infections urinaires (Bouvet, 2010)**

<p><b><i>Cystite</i></b></p> <p>Brulures à la miction ou dysurie</p> <p>Pollakiurie : envie impérieuse d'uriner (plus de six fois par jour) avec peu de volume urinaire, Pyurie (urines troubles)</p> <p>Absence de fièvre</p>
<p><b><i>Pyélonéphrite</i></b></p> <p>Signes de la cystite, souvent frustres, parfois absents</p> <p>Fièvre, frissons, douleur de la fausse lombaire, le plus souvent unilatérale, augmentée à la palpation</p> <p>Signes digestifs fréquents, parfois trompeurs</p>
<p><b><i>Prostatite</i></b></p> <p>Signes fonctionnels d'infection urinaire basse souvent marqué, douleurs pelviennes et périnéales, syndromes infectieux</p> <p>Toucher rectal : prostate augmentée de volume et douloureuse</p>

### **I.6-Les sujets à risque**

- **La femme enceinte :** L'infection urinaire représente la complication la plus fréquente au cours de la grossesse. Elle expose au risque de prématurité et de mortalité périnatale et à de graves complications chez la femme.

Trois cas de figure peuvent être rencontrés par ordre de fréquence décroissante :

- La bactériurie asymptomatique, définie par la présence de germes dans l'urine en l'absence de toute symptomatologie clinique,
- La cystite aigue,
- La pyélonéphrite aigue (PNA), marquant l'atteinte du haut appareil (**Denis et Gambarotto, 2002**).

- **Les diabétiques :** Dans le cas de diabète déséquilibré, le diabète peut entraîner des anomalies des défenses immunitaires vis-à-vis des infections bactériennes « le diabète favorise les infections » (**Popelier, 2006**). Le diabète favorise des pyélonéphrites aiguës et des infections à germes résistants. Le taux de complication est élevé, le diabète aggravant l'infection (risque de cystite ou pyélonéphrite emphysémateuse, d'abcès rénal ou de nécrose papillaire) (**Lobel et Soussy, 2007**).
  
- **Les personnes âgées :** Ce sont les infections que l'on rencontre le plus fréquemment chez les personnes âgées en raison d'une altération de leur système immunitaire (**Aveline et al., 2000**)

Une grande variété de germes, potentiellement multirésistants, peuvent être en cause dans les infections urinaires chez les personnes âgées, une bactériurie asymptomatique est extrêmement fréquente, détérioration de l'état générale et le choc septique (**Sabbah et al., 2004**).

## II-Le diabète

### II.1-Définition

Selon la définition de l'OMS Le diabète est un état d'hyperglycémie chronique relevant de facteurs génétiques et exogènes, agissant conjointement (**Molinier, 2007**).

### II.2-Principaux types de diabète

- **Les deux principaux types de diabètes sont :**
  - Le diabète de type 1 qui est aussi appelé « insulino-dépendant » (DID) ;
  - Le diabète de type 2 qui est aussi appelé « non insulino-dépendant » (DIND).

#### ➤ **Diabète de type 1**

Le diabète de type 1 est une destruction auto-immune des cellules insulinosécrétrices, dites « cellules bêta », des îlots de Langerhans du pancréas exocrine. L'hyperglycémie n'apparaît que lorsqu'il reste seulement 10 à 20% des cellules fonctionnelles. Ce processus évolue sur plusieurs années (**Mathieu et Fonteneau, 2008**).

Le diabète de type 1 se caractérise par les signes cliniques suivants :

- Syndrome cardinal diabétique ;
- Polyurie : augmentation de la diurèse ;
- Polydipsie (soit intense) ;
- Hyperphagie ;
- Amaigrissement.

### ➤ **Diabète de type 2**

Se caractérise par une résistance à l'insuline et par une sécrétion non adéquate d'insuline (**Ganong, 2003**). Cette résistance se traduit par une hyperglycémie chronique asymptomatique découverte à l'occasion d'examen sanguins de routine.

Il associe différentes anomalies :

- Insulinorésistance hépatique ;
- Insulinorésistance musculaire ;
- Diminution de la sécrétion d'insuline.

Les signes cliniques de diabète de type 2 sont asymptomatiques pendant plusieurs années, parfois signalés par une polydipsie et sont découverts lors des complications ou d'une glycémie de contrôle (**Mathieu et Fonteneau, 2008**).

### **II.3-Les facteurs de risques**

- Facteurs génétiques
- Facteurs environnementaux : l'âge (au dessus de 45 ans), l'obésité et le surpoids, le tabagisme, les habitudes alimentaires (surconsommation de sucre et de graisses) et la sédentarité (**Mathieu et Fonteneau, 2008**).

### **II.4-Les complications de diabète**

Les complications du diabète peuvent être classées en deux grands groupes : les complications chroniques et les complications aiguës (métaboliques).

### II.4.1-Les complications chroniques

Elles font suite à une hyperglycémie chronique de plusieurs années (5 à 15 ans). L'hyperglycémie chronique dans le diabète est à l'origine de deux pathologies : la macroangiopathie (problème vasculaire liés aux artères et aux veines), responsables de l'augmentation de la mortalité cardiovasculaire (**Willoquet et al., 2012**) et la microangiopathie (problèmes liés aux capillaires) (**Ondoua, 2012**).

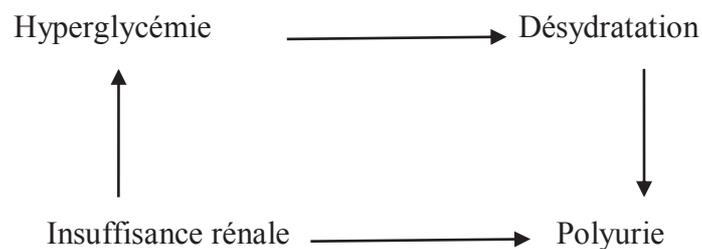
- a) **Microangiopathie** : C'est une complication quasi spécifique du diabète, ayant pour facteur causal unique l'hyperglycémie (**Ha Van, 2011**) qui apparaît à partir d'un seuil qui définit le diabète (glycémie supérieur ou égal 1,26 g/l). Elle touche les petits vaisseaux dont le diamètre est inférieur à 3 microns. Elle se caractérise par un épaissement de la membrane vasculaire (**Marsaudon, 2004**). Elle est responsable d'une néphropathie et d'une rétinopathie (**Chapelon et al., 2009**).
- b) **Macroangiopathie** : La macroangiopathie est une complication chronique du diabète déséquilibré, qui s'installe progressivement sur plusieurs années. Elle touche les gros vaisseaux sanguins et se caractérise par des lésions athérosclérotiques précoces. La macroangiopathie est à l'origine des pathologies suivantes : l'artérite des membres inférieurs, l'hypertension artérielle, l'atteinte coronarienne et l'insuffisance cardiaque (**Marsaudon, 2004**).

### II.4.2-Les complications aiguës

Les complications aiguës du diabète relèvent de l'urgence médicale. Ce sont des troubles métaboliques qui font suite, soit à une hyperglycémie, soit à une hypoglycémie, et dont la présentation clinique la plus connue est le coma. On distingue :

- a) **L'acidocétose** : L'acidocétose diabétique est une complication métabolique aiguë du diabète mettant en jeu le pronostic vital. L'acidocétose traduit une carence insulinaire empêchant la pénétration intercellulaire du glucose. La conséquence donc est une hyperglycémie (**Vincent et al., 2010**).
- b) **Coma hyperosmolaire** : Le coma hyper osmolaire est une complication grave du diabète, il atteint surtout les DNID âgés de plus de 60 ans. Moins fréquent que l'acidocétose, il garde, même traité, un pronostic très sévère, aboutissant encore à la mort dans 20 à 40% des cas (**Maunand, 2010**).

C'est un coma caractérisé par une situation biologique particulière : hyperglycémie supérieure à 6 g/l (33mmol/l), déshydratation massive avec hyperosmolarité plasmique. L'hyperosmolarité entraîne une polyurie osmotique qui est insuffisamment compensée. Du fait de la compensation insuffisante une déshydratation s'installe qui se complique rapidement d'une insuffisance rénale fonctionnelle (**Perlemuter et Hernandez, 2002**). La figure 1 résume les complications rencontrées au cours du coma hyperosmolaire.



**Figure 1 :** Cercle vicieux au cours de coma hyperosmolaire

- c) **Hypoglycémie :** Les hypoglycémies peuvent survenir chez les patients diabétiques de type 1 et les patients diabétiques de type 2. L'hypoglycémie est définie par une diminution de la glycémie en dessous de 0,60g/l associée des signes neuroglucopéniques (**Vincent et al., 2010**).

Les causes de l'hypoglycémie sont un excès d'insuline, un déficit de la néoglucogenèse (insuffisance hépatique ou rénale) et une dénutrition sévère (**Garabedian et al., 2010**).

Les travaux de **Pichard et Beytout (2002)** ont résumé les principales infections rencontrées chez les diabétiques dans le tableau III ci-après.

**Tableau III : Principales infections rencontrées chez les diabétiques (Pichard et Beytout, 2002).**

Tableaux clinique, germes en cause, diagnostic			
Type	Germes en cause	Signes clinique	Diagnostic
infection urinaire basse: cystite/prostatite	<i>E.coli, Proteus sp..</i>	Dysuriesouvent absente), Pollakiurie	ECBU
Pyélonéphrite	<i>E.coli, Proteus sp..</i>	Fievre, douleur	ECBU
Sépticémie	<i>E.coli, S.aureus, Streptocoques, BGN</i>	Fièvre, taux, malaise, choc	Hémoculture
Pneumopathie	<i>S. pneumoniae, S.aureus, Haemophilus, BGN</i>	Fièvre, taux, douleur thoracique	Radio
Infection superficielle des parties molles	<i>S.aureus, Streptocoques</i>	Furuncle, anthrax, pyodermite	Clinique
Cellulite/Fascite	Streptocoque A, BGN, anaerobies	Douleur, œdème, rougeur, bulles, nécrose	clinique exploration chirurgicale
Pied diabétique	<i>S.aureus, Streptocoques anaerobies, BGN</i>	Ulcère insensible, déformation du pied	Exploration par sonde, sonde, radio, chirurgie
Main diabétique	<i>S.aureus, Streptocoques anaerobies, anaerobies, BGN</i>	Panaris/phlegmons, ulcère, non cicatrisation	Exploration par sonde, sonde, radio, chirurgie
Condidose génitale	<i>C.albicans</i>	Rougeur, dépôt blanc	
Condidose autre		Muguet	
Pyélonéphrite emphysémateuse	<i>E.coli</i>	Pyélonéphrite avec pneumaturie	Pneumatine, TDM: air intra parenchyme
Mucormycose rhino-cérébrale	Mucorales		Biopsie naso-sinus
Otite maligne externe	<i>Pseudomonas.sp</i>	Otite+ mastoidite	Bactériologie, imagerie

## I -Les principales bactéries rencontrées dans les infections urinaires

### I.1-Les Entérobactéries

Les Entérobactéries constituent une famille de bactérie très importante comportant de nombreux genres subdivisés eux-mêmes en espèces.

- Ce sont des bacilles à Gram négatifs dont les dimensions varient de 1 à 6  $\mu\text{m}$  de long et 0,3 à 1  $\mu\text{m}$  de large ;
- mobiles grâce à une ciliature péritriche mais immobiles dans le cas des bactéries des genres *klebsiella*, *shigella* et *Yersinia pestis* ;
- Elles sont aéro-anaérobies facultatives et elles cultivent sur les milieux ordinaires ;
- Elles fermentent le D-glucose avec ou sans production de gaz et réduisent le nitrate en nitrite ;
- Elles ne possèdent pas d'oxydase mais possèdent une catalase, ces caractères les différencient des autres bacilles à gram négatif (**Bernard et Alain, 2003**).
- L'espèce bactérienne rencontré fréquemment dans les infections urinaires, *Escherichia coli* mais bien d'autres germes peuvent être rencontrés tel que *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter spp* (**Lobel et Soussy, 2007**).

#### ❖ *Escherichia coli*

Le germe le plus souvent en cause dans les infections urinaires est *E.coli*. Elle peut être à l'origine de septicémies ou de pyélonéphrites dans 15 à 25% des cas (**Pourriat et al., 2005**).

*E.coli* est un commensal de l'intestin de l'Homme et de l'animal. La bactérie se répand dans l'environnement par la voie des excréments. La présence d'*E.coli* dans l'eau et les aliments est le témoin d'une contamination fécale. La transmission à l'homme se fait par voie féco-orale (**Goubau et al., 2000**). *Escherichia coli* est un bacille à Gram négatif de 2 à 3 $\mu\text{m}$  de long sur 0,6  $\mu\text{m}$  de large, capsulé, non sporulé, environs 70% des souches sont mobiles grâce à une ciliature péritriche (**Didier, 1999**).

*Escherichia coli* est une bactérie aéro-anaérobie facultative, elle se cultive sur les milieux ordinaires à base d'extrait de viande (gélose nutritive).

Les colonies sont habituellement rondes à bord réguliers de 2 à 3 mm de diamètre, après 24 heures d'incubation à 37°C, elles deviennent lisses. Les colonies d'aspect rugueux se rencontrent surtout dans des vieilles cultures, elles sont plates à bord irréguliers (**Pereliman, 1990**).

Sur les milieux lactosés les colonies sont généralement lactose positif alors que sur gélose au sang elles peuvent être hémolytiques (**Avril et al., 2000**).

Les colibacilles responsables d'entérite sont subdivisés en quatre catégories, en fonction du syndrome provoquée et du mécanisme pathogénique :

- a) ***E.coli* entéro-toxinogènes (ECET)** : diarrhée des voyageurs
- b) ***E.coli* entéro-pathogènes (ECEP)** : gastro-entérite aigue des nourrissons
- c) ***E.coli* entéro-invasifs (ECEI)** : colite invasive (ressemblance clinique à la shigellose)
- d) ***E.coli* entéro-hémorragiques (ECEH)** : colite hémorragique et syndrome hémolytique-urémique (**Goubau et al., 2000**).

### ❖ *klebsiella*

Elles sont fréquemment isolées des eaux, du sol et des végétaux. Elles sont présentes dans la flore fécale de l'Homme et sont souvent commensales de la peau, des muqueuses et des voies respiratoires (**Avril et al., 1992**).

Les *Klebsiella* sont des *Enterobacteriaceae* toujours immobiles, ils possèdent généralement une capsule qui est plus ou moins volumineuse et fermentent de nombreux glucides (**Avril et al., 2000**). Ce sont des petits bacilles, Gram négatifs, très polymorphes (**Obré et al., 1986**).

Sur milieux usuels : on observe des colonies rondes de 3 à 4 mm de diamètre et après 24 heures, elles deviennent bombées, muqueuses, brillantes, opaques et généralement lactose (+) à 37°C.

Cet aspect muqueux en relation avec la présence habituelle d'une capsule plus ou moins volumineuse est parfois observé avec d'autre *Enterobacteriaceae* (**Avril et al., 2000**).

*K.pneumoniae* est de loin la plus rencontrée, alors que *K.oxytoca* est isolées principalement de broncho-pneumopathies aiguës ou subaigües, mais aussi d'infection urinaire, hépatobiliaires ou de pus divers (Avril et al., 2000).

### ❖ *Proteus*

Les *proteus* sont extrêmement répandues dans l'environnement. On les trouve partout sur le sol, dans les eaux de surfaces, dans les eaux d'égouts etc... Ce sont des hôtes habituels du tube digestif de l'Homme et des animaux (Avril et al., 2000).

Ce sont des bacilles à Gram négatifs très polymorphes. Dans une culture jeune, il peut exister des formes courtes et des formes longues. Les souches très mobiles sont pourvues de longs flagelles. En bouillon, les cultures se développent en donnant souvent un voile en surface (Avril et al., 2000).

En milieu gélosée ce sont des aéro-anaérobies facultatifs, certaines espèces tel que *P. mirabilis* et *P.vulgaris* qui peuvent envahir la surface du milieu en formant des ondes concentriques après 18 à 24 heures (Berche, 1991). Cet essaimage ou *swarming* est du à la grande mobilité de la bactérie.

C'est des bactéries opportunistes responsables d'infection urinaire et de cystite méningites (Kitzism, 1998).

Ces bactéries sont aussi isolées à partir de produits pathologiques variés : sécrétion trachéo-bronchiques, brûlures, pus divers. Des méningites à *proteus* ont été observées chez le nourrisson. Le pouvoir entéropathogène des *proteus* est très discutable. Ces espèces sont souvent présentes en grande quantité dans les selles lors des diarrhées par dysmicrobisme intestinal (Avril et al., 2000).

### ❖ *Enterobacter*

Les *Enterobacter* sont des commensaux du tube digestif de l'Homme et des animaux. On les trouve dans les eaux, sur le sol, sur la peau et les muqueuses. Ce sont des bactéries de l'hospitalisme. Elles sont à Gram négatif, mobile, capsulé ou non, très polymorphe (Avril et al., 2000).

Sur gélose ordinaire on observe des grandes colonies, bombées et opaques, et sur milieu sélectif c'est des petites colonies souvent assez plates (**Avril et al., 2000**).

Alors que sur la gélose HEKTOEN c'est des colonies jaunes ce virage de la couleur est dû à la dégradation du lactose (**Le Minor, 1990**).

C'est des bactéries pathogènes opportunistes qui peuvent être responsables de septicémies, de méningites, d'infections urinaires et de suppuration diverses (**Avril et al., 2000**).

### ❖ *Serratia*

Les *Serratia* sont des bactéries de l'environnement (sol et plantes). *Serratia marcescens* est une espèce ubiquitaire, elle est la seule à jouer un rôle important comme pathogène opportuniste. Les souches non pigmentées sont fréquemment isolées en milieu hospitalier. Elles ont une grande résistance aux antibiotiques.

Les *Serratia* sont les entérobactéries les plus résistantes aux agents physiques et chimiques. Elles peuvent survivre des mois dans l'eau distillée et se multiplier dans des solutions antiseptiques : ammoniums quaternaire, chlorhexidine (**Avril et al., 2000**).

Les *Serratia* sont des *Enterobacteriaceae* généralement mobiles. Certaines souches de *S.marcescens* sont isolées plus souvent de l'environnement que chez l'Homme. Neufs espèces sont actuellement reconnues : *S.maecescens*, *S.liquefaciens*, *S.plymuthica*, *S.rubidaea*, *S.odorifera*, *S.ficaria*, *S.grimesii*, *S.proteomaculans* et *S.entomophila* (**Avril et al., 2000**).

Ces bactéries se caractérisent par la production d'un pigment rouge, la prodigiosine (**Carbonnelle et al., 1990**). Sur gélose ordinaire les colonies sont grandes, bombées et opaques. Sur la gélose sélective ces colonies sont petites et souvent assez plates, alors que sur le milieu Hektoen elles sont jaunes à cause de la dégradation du lactose (**Le Minor, 1990**).

Les *Serratia* sont peu pathogènes pour les sujets sains. Actuellement, elles sont responsables d'infection hospitalières parfois épidémique due particulièrement aux *S.marcescens*.

La localisation de l'infection dépend de l'activité du service hospitalier : infection urinaire après manœuvres instrumentales ; infection respiratoire due à l'emploi antiseptiques

contaminés ; septicémies compliquant les infections précédentes ou consécutives à l'usage de cathéters (Avril et *al.*, 2000).

Les caractères biochimiques de différentes espèces des Entéobactéries sont rapportés dans le tableau IV.

**Tableau IV :** Caractères biochimiques de différentes espèces des Entérobactéries (Le Minor et véron, 1989)

	<i>E.coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>E.cloacae</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>P.vulgaris</i>	<i>P.mirabilis</i>	<i>P.morganii</i>	<i>Providencia</i>
Mobilité	+	-	+	+	+	+	+	+
Lactose	+	+	+	-	-	-	-	-
Test ONPG	+	+	+	+	-	-	-	-
H2S	-	-	-	-	+	-	-	-
LDC	D	+	-	+	-	-	-	-
ODC	D	-	+	+	-	+	+	-
ADH	D	-	+	-	-	-	-	-
Uréase	-	+	-	-	+	+	+	-
TDA	-	-	-	-	+	+	+	+
Indol	+	-	-	-	+	-	+	+
Citrate de simmon	-	+	+	+	d	D	-	+
Malonate	-	+	+	-	-	-	-	-
VP	-	+	+	+	-	d	-	-
TTR	-	-	-	D	+	+	+	+
Gélatinase	-	-	+	+	+	+	-	-
Gaz/Glucose	+	+	+	-	+	+	+	D
Mannitol	+	+	+	+	-	-	-	D
Rhamnose	d	+	+	-	-	-	-	-
Saccharose	d	+	+	+	+	d	d	-
Arabinose	+	+	+	-	-	-	-	-
Inositol	-	+	D	D	-	-	-	D
Adonitol	-	+	D	D	-	-	-	D
Galacturonate	+	+	+	+	-	-	-	-
Dnase	-	-	-	+	-	-	-	-

### I.2- Les Staphylocoques

La famille des *micrococcaceae* est composée de trois genres: *staphylococcus* (30-39%), *micrococcus* (65-75%), et *planococcus* (48-52%). Les espèces appartenant à ces trois genres possèdent une catalase et se développent en aérobiose (Avril et al., 2000).

Les staphylocoques sont des cocci à Gram positif qui tendent à se regrouper en amas. *Staphylococcus aureus*, tient une place très importante dans les infections communautaires, (Nauciel et Vildé, 2005).

*S.aureus* croît abondamment sur milieu gélosé (colonies de 1 à 2 mm de diamètre) ; certaines souches produisent un pigment jaune-orange mais cette production est irrégulière. La culture est obtenue en 18 à 24 heures à 37°C sur milieu ordinaire. *S.aureus* pousse en présence de forte concentration saline (milieu sélectif de chapman à 7,5% de NaCl). Le pH optimal est de 7,0 à 7,5 (Avril et al., 2000).

La transmission est surtout interhumaine directe (contact, dissémination manuportée, à partir du nez notamment) ou indirecte par l'intermédiaire des aliments ou du milieu extérieur.

Les infections à *S.aureus* sont très fréquentes et apparaissent sous des aspects cliniques très variés. Elle peut être à l'origine d'infections cutanées superficielles ou profondes, d'une septicémie patente, toxi-infections alimentaires et Entérocolites aigue (Avril et al., 2000).

## II-Antibiorésistance

### II.1-Définition de l'antibiotique

Un antibiotique est un composé chimique, d'origine naturelle ou synthétique, qui a comme activité thérapeutique l'inhibition de la croissance bactérienne (bactériostatique) ou la destruction de la bactérie (bactéricide) (Rouquette, 2002).

### II.2-Mécanisme d'action

#### ❖ Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse protéique :

Appartiennent a ce groupe les tétracyclines, les macrolides, les lincosamides et les streptogramines, le point commun de ces quatre familles d'antibiotiques est d'entraîner un effet pharmacologique par inhibition de la synthèse des protéines et plus spécifiquement lors de la traduction des ARN messagers en protéines. L'ensemble de ces antibiotiques sont dits bactériostatiques; ils

empêchent la croissance bactérienne sans entrainer la mort des différentes souches (**Casamajor et Descroix, 2009**).

❖ **Antibiotiques agissants au niveau des membranes externes et cytoplasmiques :**

Dans cette classe on peut citer les polypeptides tels que les polymyxines B et E (Colistine, souvent utilisé). Ils agissent au niveau des membranes externes et cytoplasmiques, ce qui entraîne une mort rapide de la bactérie (donc bactéricides), avec destruction de la membrane comme l'effet d'un détergent. Ils sont actifs sur les bactéries à Gram négatif (efficaces) mais pas sur les bactéries à Gram positif (**Gronin, 2011**).

❖ **Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse protéique :**

Cette catégorie d'antibiotique interfèrent avec la synthèse protéique bactérienne au niveau de l'une des trois étapes principales de la traduction :

- Des inhibiteurs de la sous-unité 50S des ribosomes: Lincosamides et streptogramines, le chloramphénicol (Ils ont un effet bactériostatique)
- Des inhibiteurs de la sous-unité 30S des ribosomes: Cyclines (Ils sont bactériostatiques. Aminocyclitol (Ce sont des antibiotiques qui ont un effet bactéricides très rapide) (**Gronin, 2011**).

❖ **Antibiotiques agissants sur la synthèse des acides nucléiques :**

Les quinolones Sulfamides et triméthoprime (ne sont actifs que chez les Gram négatif) (**Giraud et Fosse, 2010**).

### **II.3-Résistance aux antibiotiques**

#### **II.3.1-Définition**

Une souche est dite résistante in vivo (résistance génétique) lorsqu'elle supporte une concentration d'antibiotiques notablement plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce.

Une souche est dite résistante *in vitro* (résistance clinique) lorsque la concentration en antibiotiques qu'elle est capable de supporter *in vitro* est notablement plus élevée que celle qu'il est possible d'atteindre *in vivo* (Vaubourdolle et Collignon, 2007).

La résistance bactérienne aux antibiotiques se caractérise par son caractère naturel ou acquis, son mécanisme et son support génétique (Yala et al., 2001).

### a) La résistance naturelle

C'est une insensibilité aux antibiotiques, existant naturellement chez tous les membres d'un genre ou d'une espèce bactérienne. Elle fait donc partie du patrimoine génétique normal du germe (Yala et al., 2001).

### b) La résistance acquise

Elle survient chez des bactéries qui étaient au départ sensibles à l'antibiotique car elles font partie de son spectre d'action. Le support de la résistance génétique acquise peut être chromosomique ou par acquisition de gène (Ramdani et al., 2009).

- **La résistance chromosomique due à des mutations**

Elle survient suite à une mutation, entraînant généralement une modification des structures bactériennes. Cette modification consiste en la synthèse d'une nouvelle porine inefficace dans le transport de la molécule antibiotique, rendant la bactérie imperméable à l'antibiotique (Ramdani et al., 2009).

- **La résistance par acquisition de gène**

C'est le mécanisme le plus fréquent. Les gènes acquis par la bactérie peuvent être portés par un plasmide ou un transposon. Ces éléments génétiques rendent la bactérie résistante à l'antibiotique par la synthèse de nouvelles protéines (Ramdani et al., 2009).

### II.3.2-Mécanisme de résistance bactérienne

On distingue quatre modes principaux d'acquisition de résistance.

- **La modification d'affinité de la cible de l'ATB :** Comme chaque antibiotique agit sur une cible spécifique, une résistance peut apparaître lorsque cette cible est absente (résistance naturelle) ou modifiée (résistance acquise). La résistance acquise se fait soit par mutation, soit par acquisition de gène étranger (**Jehl et al., 2003; Prescott et al., 2003**).
- **Modification de la perméabilité :** Toute diminution de la perméabilité de la paroi bactérienne peut entraîner l'apparition d'une résistance aux composés qui ne peuvent plus traverser cette paroi (**Delmé, 2003**).
- **Production d'enzymes détruisant les ATB :** Le mécanisme de résistance aux bêta-lactamases qui sont des enzymes qui hydrolysent le noyau bêta-lactamase. Ces enzymes se retrouvent à la fois chez les bactéries à Gram positif et à Gram négatif des espèces aérobies et anaérobies. Ces dernières passent ensuite de l'étape métabolique sensible à l'ATB. (**Delmé, 2003**).
- **Excrétion de l'antibiotique par un mécanisme d'efflux :** Le mécanisme d'efflux est le rejet hors de la cellule bactérienne des substances qui viennent d'y entrer. Certaines bactéries possèdent dans leurs membrane, plasmique des pompes effluentes, qui expulsent les antibiotiques. Ces pompes sont non spécifiques et agissent sur de nombreux antibiotiques différents comme les tétracyclines, ce système est observé chez *E.coli*, *P.aeruginosa* et *S.aureus* (**Jehl et al., 2003 ; Prescott et al., 2003**).

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie à l'EPH de Blida, durant une période de 4 mois (du mois de mai jusqu'au mois de août 2013).

### **I-Matériel**

Durant notre étude nous avons employé deux types de matériel, biologique et non biologique.

#### **I.1- Matériel biologique**

Le matériel biologique est constitué de prélèvements d'urine. Nous avons effectué 100 prélèvements sur des patients diabétiques et non diabétiques soumis à un examen cyto bactériologique des urines qui sont répartis dans le tableau ci-dessous :

**Tableau V:** Répartition des prélèvements selon les patients

Patients	Interne	Externe
Diabétique	29	21
Non diabétique	0	50

#### **I.2- Matériel non biologique**

Le matériel non biologique est constitué par la verrerie, l'appareillage, les milieux de culture, les réactifs et les disques d'antibiotiques (voir annexe).

### **II-Méthodes**

#### **II.1-Prélèvement**

Les prélèvements sont constitués par les urines. Ces prélèvements doivent être réalisés dans les meilleures conditions d'asepsie car la qualité de l'échantillon conditionne la valeur des résultats.

Les prélèvements doivent être réalisés avant toute antibiothérapie, ils sont accompagnés d'une fiche de renseignement dans laquelle sont mentionnés les coordonnées relatives au malade (nom, prénom, médecin traitant, service etc...).

### II.2-Etude cyto bactériologique des urines (ECBU) :

#### II.2.1- Technique de prélèvement

La récolte des échantillons doit se faire selon la méthodologie suivante :

- Le recueil des urines doit être réalisé sur les premières urines du matin.
- Procéder à une toilette locale avec du savon.

Ces précautions permettent d'éviter la contamination du prélèvement par des bactéries présentes à la surface de la peau.

Les échantillons d'urine sont recueillis dans des tubes stériles et conservés à 4°C dans le cas où l'analyse n'a pas lieu immédiatement.

#### II.2.2- Examen des échantillons

Les prélèvements effectués sont soumis à une analyse directe comportant l'examen macroscopique, microscopique et bactériologique.

##### a) Examen macroscopique

Il repose sur l'aspect des urines qui sont jaunes et limpides sur un sujet sain ; cependant, ils peuvent avoir un aspect hémorragique s'il y a beaucoup d'hématies, ils peuvent être troubles par la présence de cristaux, de leucocytes ou de bactéries.

##### b) Examen microscopique

Cet examen se fait à l'état frais, il se base sur l'observation microscopique des bactéries vivantes. Cette méthode permet de mettre en évidence l'existence ou non de germes, la morphologie des bactéries qui est l'une des principales étapes de l'identification bactérienne, la mobilité et le mode d'assemblage (libres ou liées).

#### Technique :

- Homogénéiser soigneusement l'urine par retournement du flacon.
- Recouvrir la cellule nageotte d'une lamelle.
- Déposer à l'aide d'une pipette 1 à 2 gouttes d'urine sur la lame.
- Placer délicatement la cellule sur la platine du microscope.

### Lecture :

- Observation au microscope optique grossissement X 40.
- Numération des leucocytes et des hématies.
- Observation des autres constituants (Cellules rénales, cellules épithéliales, Cylindres, cristaux d'oxalate, cristaux d'urate, cristaux de phosphate, levures, bactéries).  
L'appréciation de ces éléments par les expressions : rares, assez nombreux, nombreux, ou très nombreux.

### c) Examen bactériologique

La culture de l'urine permet l'isolement, la quantification et l'identification de l'espèce majoritaire. Elle est exprimée en nombre d'UFC/ml d'urine.

### Mise en culture

La mise en culture des urines est un passage obligatoire, elle se fait sur différents milieux tel que la gélose nutritive(GN), le BCP. Pour les femmes enceintes on ajoute à ces milieux la gélose au sang cuit (GSC).

### Isolement sur GN :

- Déposer une goutte de l'urine totale sur la surface de milieu GN.
- Ensemencement de l'inoculum à l'aide d'une pipette pasteur par des stries serrées selon la méthode des quadrants.

### Incubation :

La gélose GN est incubée dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures et les GSC sont incubées dans une jarre avec une bougie à 37°C pendant 24 à 48 heures.

**Interprétation** : Le dénombrement des germes urinaires se réalise en corrélation avec le taux de leucocytes.

Les critères d'interprétation de l'ECBU sont résumés dans le tableau ci dessous.

**Tableau VI:** Critères d'interprétation de l'ECBU (Remic, 2004)

Leucocyturie	Bactériurie	Culture	Interprétation
< 10 <sup>4</sup> /ml	<10 <sup>3</sup> UFC/ml	Négative	Absence d'infection urinaire (urine stérile).
< 10 <sup>4</sup> /ml	>10 <sup>5</sup> UFC/ml	Positive : 3 ou plusieurs colonies	FBP : Flore bactérienne polymorphe (urine contaminée, prélèvement à renouveler). Il peut s'agir d'une infection sur terrain particulier (immunodéprimé, sujet âgé ou femme enceinte).
>10 <sup>4</sup> /ml	>10 <sup>5</sup> UFC/ml	Positive : un seul type de colonie	Présence d'infection urinaire, poursuivre l'analyse.
>10 <sup>4</sup> /ml	>10 <sup>5</sup> UFC/ml	Positive : deux types de colonies	Présence d'infection urinaire, faire une identification de l'espèce majoritaire ou des 2 espèces si elles sont en quantité équivalente.
>10 <sup>4</sup> /ml	<10 <sup>3</sup> UFC/ml	Négative	Leucocyturie amicrobienne : il peut s'agir d'une tuberculose rénale (BK), d'une infection traitée par antibiotique ou d'une étiologie non bactérienne.

### III-Identification biochimique des germes isolés :

Des colonies individuelles, issues des cultures bactériennes positives (38 cas positifs) après 24h d'incubation, font l'objet d'une identification par le test de coloration et les tests biochimiques.

#### III.1- Test de la coloration de Gram

**Principe :** La coloration de Gram est la base de l'identification d'une souche bactérienne.

Au terme du processus de coloration, les bactéries dites « Gram Négatives » apparaissent roses tandis que les bactéries dites « Gram Positives » sont colorés en bleu foncé/violet, cette différences de coloration des bactéries dépend de la constitution de la paroi (peptidoglycane).

#### **Technique:**

**1<sup>ère</sup> étape :** préparation du frottis

- Déposer sur une lame une goutte d'eau physiologique.
- Prélever avec une pipette pasteur, une colonie isolée et la mettre sur la lame.

- Etaler le frottis à l'aide d'une pipette et le fixer par la flamme du bec benzène.

### **2<sup>ème</sup> étape** : coloration du frottis

- Recouvrir le frottis avec le violet de gentiane et laisser agir de 30 secondes à 1 minute.
- Rincer à l'eau pour éliminer l'excédent de colorant.
- Couler sur la lame la solution de lugol et laisser agir 30 secondes.
- Rincer à l'eau pour éliminer l'excédent de lugol.
  - Décolorer le frottis en versant quelques gouttes d'alcool sur la lame et laisser agir 10 à 15sec.
- Rincer à l'eau.
- Recolorer par la fuschine en versant le colorant sur la lame et laisser agir 1 min.
- Rincer à l'eau.
- Sécher la lame entre 2 feuilles de papier.
- Mettre une goutte d'huile à immersion sur le frottis.
- Observer au microscope optique grossissement X 100.

### **Lecture**

Les bactéries à Gram négatives se décolorent sous l'action de l'alcool, elles sont recolorées à la fuschine et apparaissent rose. Les bactéries à Gram positives gardent la coloration violettes et ne se décolorent pas sous l'action de l'alcool et donc apparaissent violet.

## **III.2- Tests biochimiques**

### **III.2.1-identification des bacilles Gram<sup>-</sup> (BGN)**

#### ➤ **Galerie biochimique classique**

La galerie classique utilisée pour l'identification des Enterobacteries et autres bacilles à Gram<sup>-</sup> comporte les tests suivants :

#### ◆ **Milieu Triple Sugar Iron (TSI)**

**But :** Permet l'identification rapide des Entérobactéries il permet de mettre en évidence la fermentation du lactose, du glucose avec ou sans dégagement de gaz, du saccharose et la production d'hydrogène sulfuré H<sub>2</sub>S.

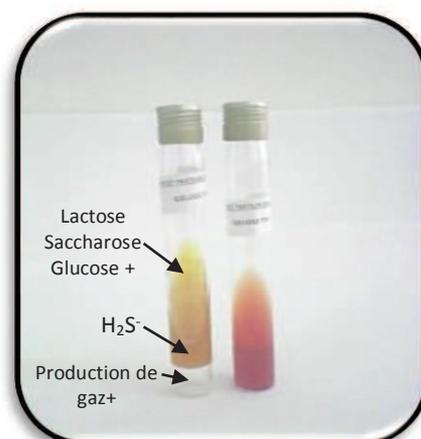
### Technique :

- Réaliser une suspension bactérienne de densité 0,5 en prélevant à l'aide d'une pipette pasteur des colonies de la souche à étudier et l'introduire dans un tube contenant 10ml d'eau physiologique.
- Homogénéiser la suspension bactérienne.
- Prélever quelques gouttes de la suspension par une pipette pasteur stérile.
- Ensemencer la pente par stries et le culot par piqueure centrale.
- Incuber à 37°C pendant 24h (bouchant desserré) de manière à favoriser les échanges gazeux dans l'étuve.

### Lecture :

La gélose TSI fournit les renseignements suivants :

- Fermentation de glucose
  - Culot jaune : glucose fermenté
  - Culot rouge : glucose non fermenté
- Fermentation du lactose et/ou du saccharose
  - Pente inclinée jaune : lactose et/ou saccharose fermenté(s).
- Production du gaz
  - Formation des bulles d'air dans la masse du milieu repoussant parfois la totalité vers le haut de tube.
- Formation d'H<sub>2</sub>S
  - Noircissement de la zone entre le culot et la pente.



**Figure 2 : Lecture de TSI**

**(Photo originale)**

### ◆ Milieu citrate de Simmons

#### But :

C'est un milieu synthétique utilisé pour la différenciation des Entérobactéries sur la base de l'utilisation du citrate comme seule source de carbone.

#### Technique :

- Ensemencer la moitié de la pente par une strie longitudinale à l'aide d'une pipette pasteur à partir de la suspension.
- Incuber à 37°C pendant 24h (le bouchon doit être desserré).

#### Lecture :

- Bactérie citrate positif : virage de l'indicateur de pH du vert au bleu avec développement des colonies à la surface du milieu (alcalinisation du milieu).
- Bactérie citrate négatif : pas de virage de l'indicateur de pH (pas d'alcalinisation du milieu).



**Figure 3: Lecture de Citrate de Simmons**  
(Photo originale)

### ◆ Bouillon Clark et Lubs

#### But :

Le milieu Clark et Lubs est un bouillon glucosé permet la différenciation des Entérobactéries, réaction de Vogues Proskauer et rouge de méthyle concernant la fermentation du glucose.

### **Technique :**

- Mettre 2 à 3 gouttes de la suspension bactérienne à analyser dans le milieu Clark et Lubs.
- Incuber 24h à 37°C.  
Après 24h d'incubation partager le volume sur deux tubes à essais et réaliser les tests suivants :

#### ✓ **Le test VP :**

- Ajouter quelques gouttes d'alpha naphthol (VPI) et le même volume de soude concentrée ou de potasse (VPII).
- Incliner le tube pour permettre une bonne oxygénation.
- Agiter et réchauffer pendant 5 à 10 min.

#### ✓ **Le test RM :**

Ajouter 2 à 3 gouttes de rouge de méthyle sur le milieu Clark et Lubs et la lecture est immédiate.

### **Lecture:**

- ✓ **Test VP:** Rouge → VP+  
Jaune → VP-
- ✓ **Test RM:** Rouge → RM+  
Jaune → RM-

### ◆ **Urée Tryptophane**

#### **But :**

Le milieu urée tryptophane, appelé aussi urée indol qui est un milieu synthétique permet la recherche de l'uréase et de l'indol pour l'identification des bactéries à Gram-.

### **Technique :**

- Mettre 2 à 3 gouttes de la suspension bactérienne en milieu Urée Tryptophane.
- Incuber à 37°C pendant 24 h.
-

### Lecture :

- Virage de la couleur au rose violacé → uréase (+).
- Incolore → uréase (-).

Partager ce milieu dans deux tubes stériles et réaliser les tests suivants :

### ✓ Test de l'indole :

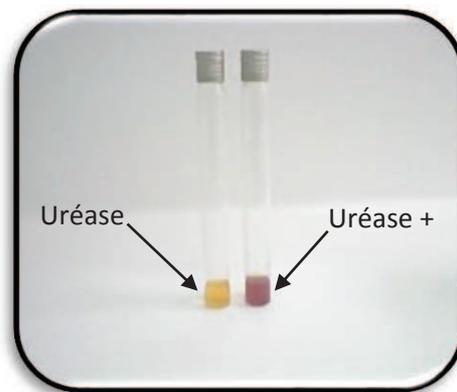
Ajouter quelques gouttes du réactif de KOVACS et laisser agir 10 min.

- Formation d'un anneau rouge : indole (+).
- Absence d'un anneau rouge : indole (-).

### ✓ Test TDA :

Ajouter quelques gouttes du réactif TDA sur le milieu urée tryptophane et attendre quelques minutes.

- Présence d'un précipité brun foncé : TDA (+).
- Absence de précipité : TDA (-).



**Figure 4 : Test de l'uréase  
(Photo originale)**

### ➤ Galerie API 20E

Api 20E est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram-, comprenant 20 tests biochimiques miniaturisés.

**Technique :**

**1<sup>ème</sup> étape :** Préparation de l'inoculum à partir des souches pures

- Prélever à l'aide d'une pipette pasteur des colonies isolées et les introduire dans l'eau stérile.
- Homogénéiser soigneusement pour l'obtention d'une suspension bactérienne.

**2<sup>ème</sup> étape :** Inoculation de la galerie

- Pour les tests CIT, VP, GEL remplir les tubes et les cupules.
- Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non les cupules).
- Pour les tests : ADH, LDC, ODC, H<sub>2</sub>S, URE créer une anaérobiose en remplissant leurs cupules de l'huile de vaseline.
- Refermer la boîte d'inoculation et incubé à 37°C pendant 24h.

### III.2.2-identification des Cocci à Gram Positifs (CGP)

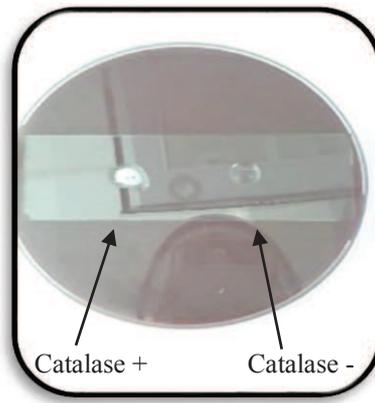
➤ **Test de catalase**

**Technique :**

- Déposer sur une lame propre une goutte d'eau oxygénée.
- Prélever à l'aide d'une pipette pasteur une colonie isolée et la mettre sur une lame.

**Lecture :**

- Dégagement de bulles gazeuses (O<sub>2</sub>): catalase (+) (Staphylocoques).
- Absence de bulles gazeuses (O<sub>2</sub>) : catalase (-) (Streptocoques).



**Figure 5 : Test de catalase  
(Photo originale)**

➤ **Test de coagulase**

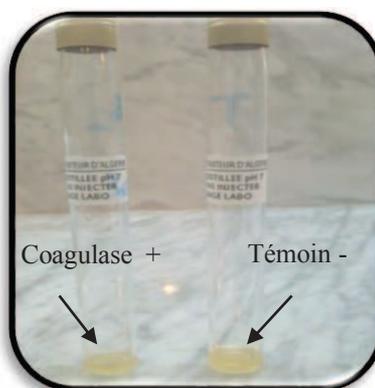
**But :** Ce test permet d'identifier les *Staphylococcus aureus* qui ont une coagulase capable de coaguler le plasma.

**Technique :**

Dans deux tubes à essai sec 0,5ml du plasma de lapin, sur le premier on ajoute quelques colonies bactériennes à tester et l'autre tube servira de témoin positif ou négatif ensuite on les incube à 37°C pendant 24h.

**Lecture :**

Coagulase du plasma : la bactérie est une *S.aureus*



**Figure 6 : Test de la coagulase  
(photo originale)**

### III.3- AntibioGramme

**But :** L'étude de la sensibilité ou la résistance des germes pathogène envers les antibiotiques.

**Technique :**

✓ **Milieux utilisés :**

- Gélose Mueller Hinton (MH), couler en boite de pétri pour les bactéries non exigeantes : Entérobacteries, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter sp*, *Staphylococcus sp*, *Enterococcus sp*
- Gélose Mueller Hinton additionnée du sang frais pour les streptocoques.

✓ **Inoculum :**

- A partir d'une culture pure âgée de 18 à 24h sur le milieu d'isolement, racler à l'aide d'une pipette Pasteur des colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Décharger la pipette dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.
- Homogénéiser la suspension bactérienne.

✓ **Ensemencement :**

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- Frotter l'écouvillon sur la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boite de 60° à chaque fois sans oublier de pivoter l'écouvillon sur lui même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur le périphérique de la gélose.

✓ **Application des disques d'antibiotiques :**

- Appliquer les disques d'antibiotiques (pas plus de 5 disques par boite) à l'aide d'une pince fine flambée.
- Incuber les boites pendant 24h à 37°C.

- La liste des antibiotiques à testés différent selon la bactérie isolée. Ces antibiotiques sont indiqués dans le fascicule de standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale.

✓ **La liste des antibiotiques à tester selon les espèces bactérienne :**

**Entérobactéries :** FOX : céfoxitine, CTX : céfotaxime, IPM : imipénème, GM : gentamine, AN : amikacine, CS : colestine, CN : cefalexine.

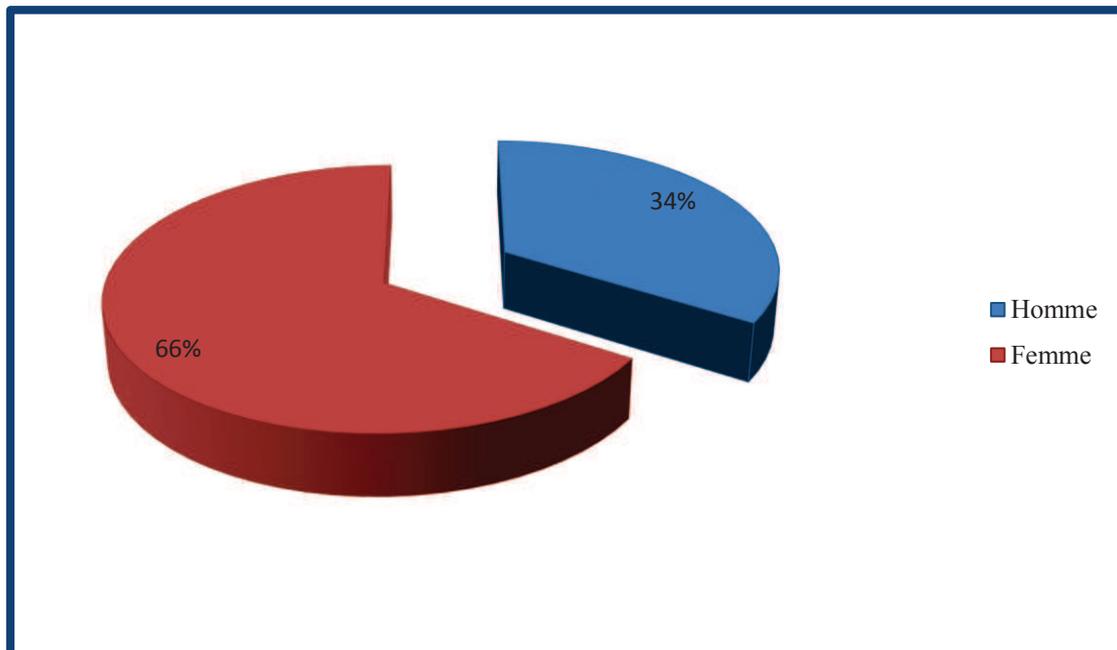
**Staphylocoques :** P : pénicilline G, OX : oxacilline, GM : gentamicine, AN : amikacine, E ; erythromycine, L : lincomycine, PT : pristnamycine, VA : vancomycine, FA : acide fusidique.

**Lecture :**

- Mesurer avec précision les diamètres de la zone d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique, à l'extérieur de la boîte fermer.
- Comparer les résultats aux valeurs critiques.
- Classer les bactéries dans l'une des catégories ; sensible, intermédiaire ou résistante.

### 1-Répartition des prélèvements selon le sexe

Les résultats rapportés dans la figure 7 montrent que sur les 100 prélèvements reçus, les femmes occupent un nombre très important soit un taux de 66% et un taux de 34% pour les hommes.



**Figure 7:** Répartition des résultats selon le sexe

Nos résultats montrent un taux assez élevé retrouvé chez les femmes, ces résultats sont voisins de ceux de **Blanc et Siproudhis (2006)**. En effet, ces mêmes auteurs signalent que les infections urinaires sont plus fréquente chez la femme avec un taux de 25% à 50%, et 40% à 50% peuvent contracter une infection urinaire au cours de leurs vie cela s'explique pour des raisons anatomiques (urètre court) (**Vaubourdolle, 2007**).

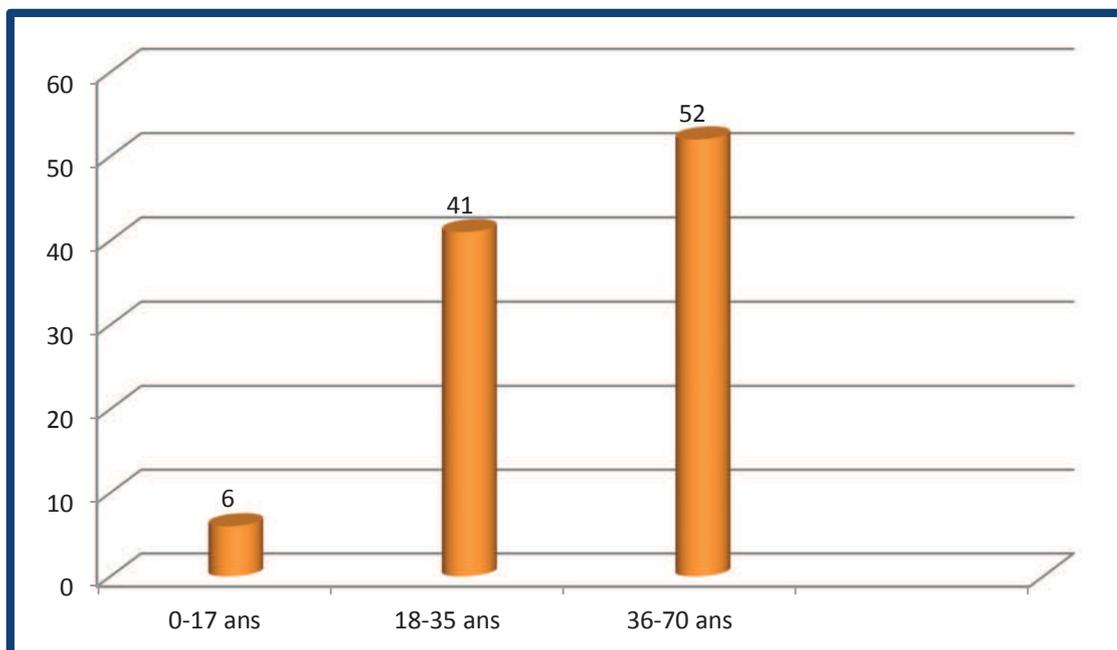
Il existe d'autres facteurs favorisant et parfois intriqués : l'activité sexuelle chez la femme, la ménopause, la grossesse et la modification de la flore vaginale (**Bouvet, 2010**).

Les infections urinaires chez la femme représentent 75% des cas, alors que, chez l'homme d'environ 10% (**Blanc et Siproudhis, 2006**).

Le taux d'infection urinaire chez l'homme est peu remarquable, d'après **Michael et al. (1999)** ces infections sont peu fréquentes chez l'homme avant 50 ans; elle est souvent associée à des anomalies urologiques ou à une prostatite.

### 2-Répartition des prélèvements selon la tranche d'âge

D'après les résultats illustrés sur la figure 8, on remarque que la répartition des prélèvements entre les nouveaux née jusqu'à l'âge de 17 ans est de 4% ; 41% dont l'âge varie entre 17 et 35 ans et un taux assez élevée entre 35 et 70 ans.



**Figure 8:** Répartition des prélèvements selon l'âge

Ce taux retrouvé chez les enfants rejoint celui de **Anglaret et Mortier (2002)**, qui indique 8% des filles et 2% des garçons auront une infection urinaire entre la naissance et l'âge de 15 ans.

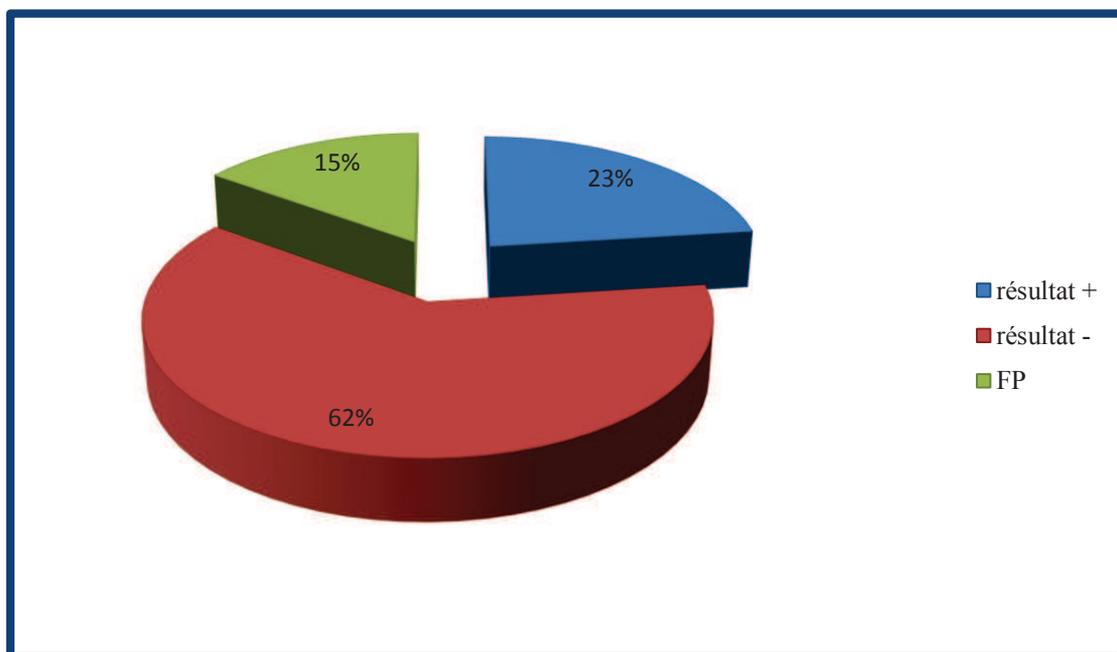
Selon **Sabbah et al. (2004)** chez les enfants 3% d'entre eux font une infection urinaire avant l'âge de 11 ans, avec une prépondérance féminine. Plus l'enfant est jeune, plus les garçons sont atteints et plus l'infection est liée à une malformation de l'arbre urinaire.

Le taux d'infection urinaire chez l'adulte est moyennement élevé, selon **Claessens et Ray (2012)**. Les infections urinaires chez l'adulte sont dues à l'invasion du tractus urinaire par un pathogène. Les organes concernés sont la vessie, les voies urinaires supérieures (urètre, rein) et la prostate.

Chez les personnes âgées on remarque un taux assez important ; **Kuhn et Sibert (2002)** signalent que l'infection urinaire est la plus fréquente des affections bactériennes touchant les sujets âgés. Des facteurs environnementaux, l'altération des mécanismes de défenses liés au processus physiologiques du vieillissement. Le risque relatif d'infection urinaire est multiplié par 2 après 65 ans et par 5 après 85 ans, le taux d'infection urinaire corrélé avec la diminution de l'autonomie.

### 3-Répartition des résultats des prélèvements effectués

La figure 9, indique que sur 38 cas positifs, 23 cas se sont identifiés positifs, soit un taux de 23%, 15 cas se sont révélés une flore bactérienne polymorphe, soit un taux de 15% et les 62 cas négatifs, soit un taux de 62%.



**Figure 9** : Répartition des résultats des prélèvements effectués

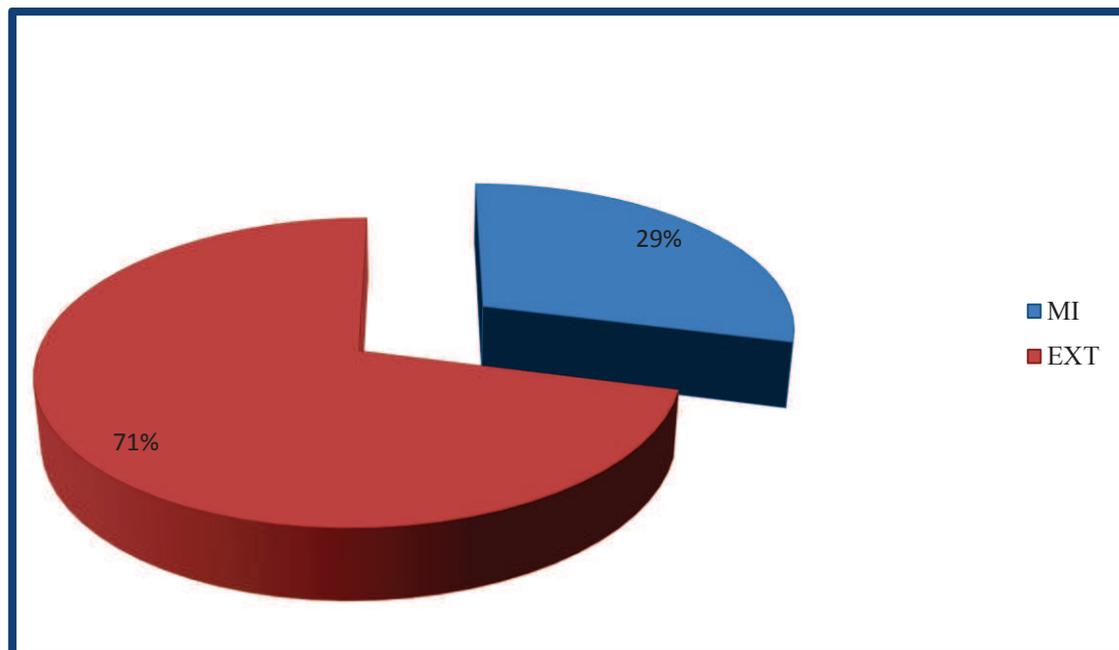
Ce taux assez élevé des cas positifs rejoint ceux d'**Anglaret et Mortier (2002)**. En effet, ces mêmes auteurs signalent que les infections urinaires représentent le deuxième motif de consultation en pathologie infectieuse (après les infections

respiratoires), et la première cause d'infection nosocomiale (50%) fait penser que Les infections urinaires imposent une charge économique considérable à la société (**Daniel *et al.*, 2003**).

Selon **Lacheheb (2006)** dans son étude a indiqué que sur les 58,8 millions de décès par an enregistrés dans le monde, 25,5% sont dus aux infections urinaires.

#### 4-Origine des prélèvements

Selon l'origine des prélèvements, on remarque sur la figure 10 que le nombre des prélèvements reçus par le service de médecine interne sont représentés seulement par des patients diabétiques est de 29, soit un taux de 29% et 62 sont d'origine externe, soit un taux de 62%.



**Figure 10:** Répartition des résultats selon les sites de prélèvement

La présence d'infection urinaire au niveau du service de médecine interne est due selon **Toudeft *et al.* (2010)** au fait que les patients présentant des facteurs de risque intrinsèques ont plus de risque de contracter une infection nosocomiale par rapport aux sujets indemnes de facteurs de risque et que le taux d'infection urinaire chez les diabétique hospitalisé est de (8.33%) et il présente l'un des facteurs prédisposant aux infections urinaires (**clive *et al.*, 1999**).

Selon **Godreuil (2007)**, les patients hospitalisés peuvent contracter une infection urinaire par des germes liés à l'environnement hospitalier ainsi que la fréquence de cette infection peut augmenter également chez les diabétiques, les porteurs de sondes ainsi que chez les personnes alitées (**TIOUIT *et al.*, 2001**).

Le taux assez élevé d'infection urinaire chez les externes rejoint ceux de **Elkharrat *et al.* (2007)** qui indique que les infections urinaires communautaires sont le deuxième motif de consultation et de prescription d'antibiotiques au cabinet du médecin.

### 5-Etiologie des infections urinaires chez les diabétiques et les non diabétiques

Sur les 100 prélèvements reçus, 50 présentant le diabète et 50 sont non diabétique. Notre étude nous a permis de faire une comparaison entre les deux types de patients a partir de leur étiologie.

Le tableau VII ci-après nous révèle que le taux d'*E.coli* prédomine dans les infections urinaire et qu'il est plus élevé chez les diabétiques, avec un taux de 66,66% et 37,5% chez les non diabétiques. Il est suivi par les *BGN* avec un taux de 13,33%. On remarque aussi l'absence de *K.pneumoniae* chez les diabétiques alors qu'elle prédomine chez les non diabétiques, soit un taux de 50%. Chez les diabétiques les staphylocoques occupent un taux de 13,33% et sont absents chez les non diabétiques.

Germes	Terrain du malade	
	Diabétique	Non diabétique
<i>E. coli</i>	66,66%	37,5%
<i>BGN</i>	13,33%	0%
<i>K.pneumoniae</i>	0%	50%
<i>P. mirabilis</i>	6,66%	12,5%
<i>SCN</i>	13,33%	0%

**Tableau VII:** Répartition des espèces bactérienne identifiées chez les diabétiques et les non diabétiques

La prédominance de *E.coli* dans les deux cas rejoint celle de **Lobel et Soussy (2007)** qui indiquent un taux de 60% suivis des autres entérobactéries.

Selon l'enquête faite par **Lacheheb (2006)**, la présence d'*E.coli* est liée à des facteurs d'adhésion à l'épithélium urinaire.

D'après **Bouvet (2010)** les germes responsables des infections urinaires sont *E.coli* dans la très grande majorité puis les staphylocoques ensuite plus rarement les autres entérobactéries.

La présence des entérobactéries comme *E.coli*, *Klebsiella*, *Proteus* peuvent coloniser certains sites lorsque les défenses immunitaires de l'hôte sont affaiblies tel que les diabétiques et provoque des infections graves (**Ducel et al., 2002**).

La présence d'infection urinaire à germe infectieux chez les diabétiques présente un taux de 16% selon (**Lacheheb, 2006**).

Les travaux de **Denis et Poly (2007)** relatifs à la présence des SCN chez les diabétiques montrent que les staphylocoques à coagulase négative, longtemps considérés comme peu ou pas pathogène, sont maintenant reconnus comme des bactéries pathogènes opportunistes.

### 6-Antibiorésistance

Dans cette partie nous avons testé la sensibilité et la résistance de certaines bactéries pathogènes telles que *Escherichia coli*, *P.mirabilis*, *K. pneumoniae* et SCN.

#### a) Résistance d'*E.coli* aux antibiotique

D'après les résultats obtenus et rapportés dans le tableau VIII comparatif de l'antibiorésistance entre les diabétiques et les non diabétiques, *E.coli* présente une grande résistance à l'Oxacilline (OX) chez les diabétiques et les non diabétiques, soit respectivement un taux de 80% et 75%, une résistance moyenne aux Amoxicilline+Ac.clavulaniques (AMC) et Cotrimoxazole (SXT) avec des taux respectifs de 50% et 40%.

Par contre, *E. coli* est très sensible aux Céfazoline (CZ) avec un taux de 70% chez les diabétiques et 75% chez les non diabétiques, aux Céfoxitine (FOX),

Céfotaxime (CTX), Imipénem (IPM), Clindamycine (CM) et Nétilmecine (Net) avec un taux de 100%.

Antibiotique	Diabétique		Non diabétique	
	% de S	% de R	% de S	% de R
Oxacilline	20	80	25	75
Amoxicilline+AC clavulanique	50	50	50	50
Cotrimoxazole	60	40	50	50
Cefazoline	70	30	75	25
Ciprofloxacine	90	10	75	25
Céfoxitine	100	0	100	0
Céfotaxime	100	0	100	0
Imipénem	100	0	100	0
Clindamycine	100	0	100	0
Nétilmecine	100	0	100	0

**Tableau VIII:** Antibiorésistance d'*Escherichia.coli*

Selon **Lavigne et al. (2002)**, *Escherichia coli* est une bactérie fréquemment impliquée en pathologie infectieuse. Elle est caractérisée par une aptitude particulière à acquérir des mécanismes de résistance à des antibiotiques habituellement actifs, pouvant parfois survenir en cours d'antibiothérapie.

Le principal mécanisme de résistance est la production de  $\beta$ -lactamases, enzymes qui hydrolysent le cycle  $\beta$ -lactame et rendent donc la bactérie résistante à certaines  $\beta$ -lactamines.

Le taux relativement élevé de souches d'*E.coli* résistantes à l'association Amoxicilline+Ac.clavulanique attire l'attention sur les risques d'échecs thérapeutiques lors de l'emploi, très étendu de cette association. Plusieurs mécanismes enzymatiques peuvent être en cause : production de pénicillinase et/ou céphalosporinase (**Eyquem et al., 2000**).

Selon **Javouhey et al. (2010)**, *E.coli* est 20% résistant au Cotrimoxazole et présente une sensibilité naturelle à de nombreux antibiotiques notamment les  $\beta$  lactamines (à l'exception de la pénicilline comme tous les bacilles à Gram-).

### b) Résistance de *P.mirabilis* aux antibiotiques

D'après le tableau IX, *P.mirabilis* est une bactérie très résistante aux Amoxicilline+Ac.clavulaniques (AMC) et Cotrimoxazole (SXT) dans le cas de diabète ou non diabète avec un taux de 100%.

Par contre, elle est très sensible aux Cefazoline, Céfoxitine(FOX), Imipénem (IPM), Céfotaxime (CTX), Ciprofloxacine(CIP), Clindamycine (CM) et Nétilmecine (Net) avec un taux de 100%.

Antibiotique	Diabétique		Non diabétique	
	% de S	% de R	% de S	% de R
Amoxicilline+AC clavulanique	0	100	0	100
Cotrimoxazole	0	100	0	100
Cefazoline	100	0	100	0
Céfoxitine	100	0	100	0
Imipénem	100	0	100	0
Céfotaxime	100	0	100	0
Ciprofloxacine	100	0	100	0
Clindamycine	100	0	100	0
Nétilmicine	100	0	100	0

**Tableau IX:** Antibiorésistance de *Proteus mirabilis*

Chez *Proteus mirabilis*, la résistance atteint ou dépasse 20 % pour les amino- et les carboxypénicillines, le cotrimoxazole et l'acide nalidixique, 15 % pour la ciprofloxacine, mais reste inférieure à 5 % pour les autres antibiotiques (**Lobel et Soussy, 2007**).

*P.mirabilis* est résistant à l'acide clavulanique et plus souvent sensible à l'ampicilline et aux céphalosporines (**Goubau et al., 2000**).

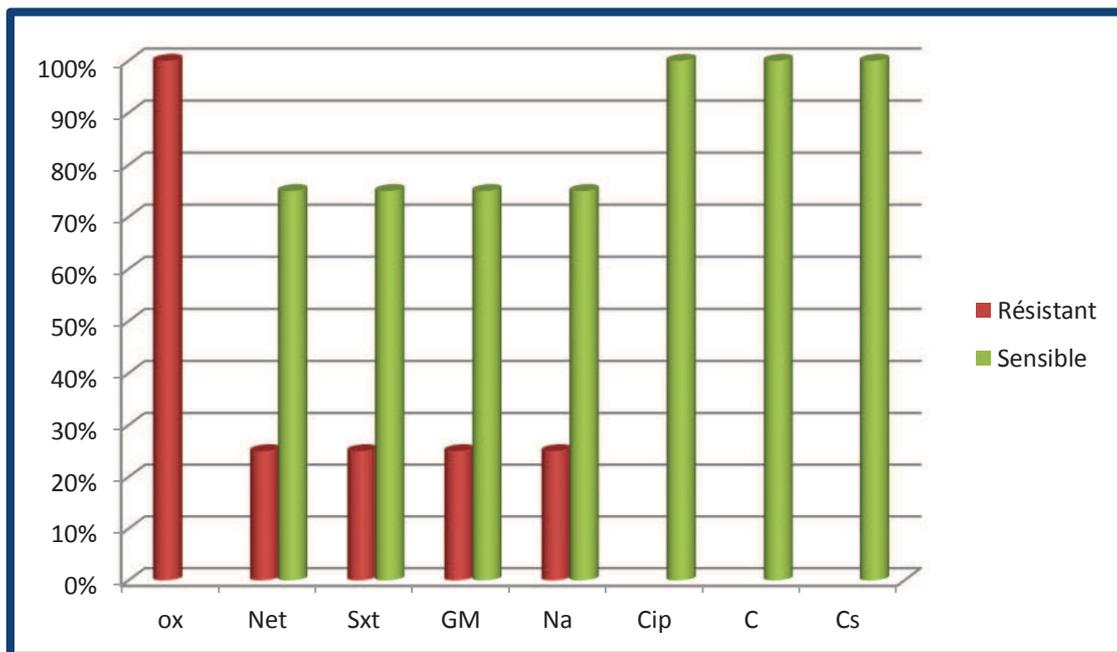
Selon **Javouhey (2010)**, *P.mirabilis* est 20% résistant au Cotrimoxazole.

### c) Antibiorésistance de *K.pneumoniae*

D'après les résultats de la figure 11, *K. pneumoniae* est rencontré uniquement chez les patients non diabétiques, elle présente une très grande résistance à l'Oxacilline (OX) avec un taux de 100%.

Ce germe est faiblement résistant aux Nétilmecine (Net), Cotrimoxazole (SXT), Gentamicine (GM) et Acide naldixique (NA) avec un taux de 33,33%.

Par contre, *K.pneumoniae* est très sensible aux Ciprofloxacine (CIP), Colistine (Cs) et Chloramphénicol (C) avec un taux de 100%.



**Figure 11:** Antibiorésistance de *K. pneumoniae*

Parmi les principales entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération, figure *Klebsielle pneumoniae* (Mkaouar *et al.*, 2008). Les *Klebsiella* ont une résistance naturelle à l'ampicilline et à la carbénicilline, elles sont normalement sensibles aux céphalosporines (Avril *et al.*, 1992).

D'après Seck (2001), les Klebsielles présentent une résistance naturelle aux aminopénicillines et aux carboxypénicillines par production d'une « pénicillinase bas

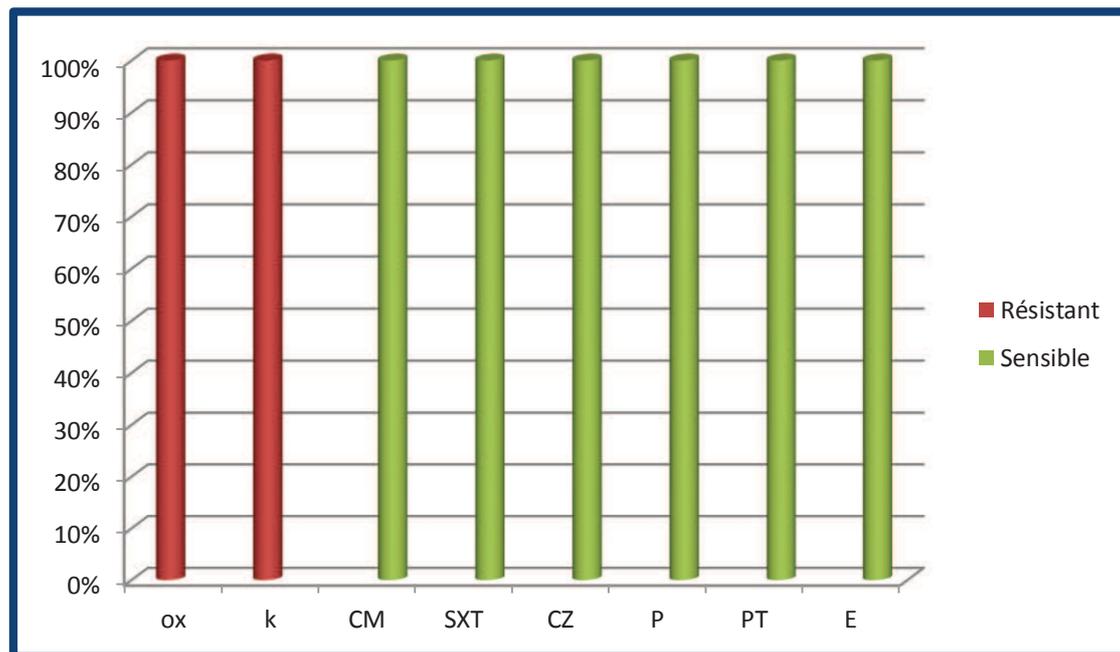
niveau », correspondant au phénotype sauvage. Ces bactéries peuvent être maîtrisées par les antibiotiques suivants :

- ✓ Les céphalosporines de troisièmes générations (ceftriaxone, ceftazidine)
- ✓ Les aminosides (gentamicine, amikacine)
- ✓ Les quinolones (ciprofloxacine).

### d) Antibiorésistance des *SCN*

Les résultats de la figure 12 montrent que d'une part les staphylocoques à coagulase négative rencontrés uniquement chez les diabétiques sont très sensibles aux Clindamycine (CM), Cotrimoxazole (SXT), Céfazoline (CZ), Penicilline (P), Pristinamycine (PT) et Erythromycine (E) avec un taux de 100%.

D'autre part, ils sont fortement résistants vis-à-vis Oxacilline (OX) et Kanamycine (K) avec un pourcentage de 100%.



**Figure 12:** Antibiorésistance des *SCN*

Les staphylocoques sont actuellement la famille prépondérante dominée par les staphylocoques à coagulase négatif (*SCN*). L'évolution de la résistance à la méticilline des *SCN* est moins connue car ce n'est qu'à partir de 1980 qu'ils ont été réellement considérés pathogènes (Pourriat et Martin, 2005).

Le pouvoir pathogène des Staphylocoques à coagulase négative est faible, mais il prend de l'importance chez les sujets débilisés tel que le diabète, souvent porteurs de résistance aux antibiotiques (**Richard et Grob, 2006**).

D'après **Dauge (2010)**, le taux de résistance à la méticilline ou oxacilline des souches *SCN* est très élevé (70 à 100%).

Selon **Fomba (2006)**, les infections à *SNC* posent des problèmes thérapeutiques parfois difficiles du fait de la fréquence élevée des souches polyrésistantes aux antibiotiques.

# Conclusion

Les bactéries sont des micro-organismes remarquablement adaptables, à l'origine de maladies graves ou de simple colonisation de la peau. Elles sont capables de survivre et de se multiplier dans l'environnement.

Au cours de notre étude portant sur 100 prélèvements issu des patients diabétiques et non diabétiques externes et internes au niveau de l'EPH de Blida, 38 cas se sont révélés positifs.

Les résultats de cette enquête montrent qu'*E.coli* occupe la première place dans les infections urinaires chez les patients diabétiques avec un taux de 66,66%. Les *BGN* et les *SCN* viennent en deuxième place avec un même pourcentage de 13,33%. En dernière place *P.mirabilis* avec un pourcentage de 6,66%.

Chez les patients non diabétiques, *K.pneumoniae* prédomine avec un pourcentage de 50% suivi d'*E.coli* avec un taux de 37,5% et à la fin *P.mirabilis* avec un taux de 12,5%.

L'étude de l'antibiorésistance des bactéries testées montrent que les infections urinaires sont étroitement liées à l'émergence de bactéries multirésistantes. La résistance des bactéries aux antibiotiques résulte de l'exposition intensive des bactéries aux antibiotiques.

## Recommandations

Les mesures de prévention sont un objectif primordial afin d'éviter la propagation des germes. En effet, il est nécessaire de :

- Boire suffisamment, et spécialement de l'eau, environ un litre et demi à deux litres par jour.
- Ne pas retenir trop longtemps son envie d'uriner.
- Lutter contre les troubles du transit intestinal, en particulier contre la diarrhée qui contribue aux cystites.
- Mise en œuvre d'une hygiène globale des patients, des soignants et des soins.

- Les excès de sucre favorisent le développement des germes.
- Faire une toilette intime deux fois par jour avec des savons neutres et non antiseptiques.
- Des mesures thérapeutiques doivent s'envisager avec prudence chez les diabétiques.

En plus des mesures de préventions citées, il faut une lutte contre l'antibiorésistance qui repose sur la modification des antibiotiques actuellement utilisés pour le traitement des infections urinaires. La limitation de l'extension de l'antibiorésistance passe avant tout par des règles d'utilisation des antibiotiques disponibles actuellement :

- ✓ Choix d'un antibiotique à spectre étroit lorsque l'agent bactérien est connu ;
- ✓ Utilisation d'une antibio-prophylaxie de courte durée.

- ❖ **Alexandre de La Taille, Gibod L, Barthez., 1998** : Infections urinaires et génitales Médecine général, édition Estem. Paris. PP. 1.
- ❖ **Anglaret X, Mortier E., 2002** : Maladies infectieuses, 3<sup>ème</sup> édition Medline. Estem. France. PP. 109.
- ❖ **Aveline L, Cartier O, Cuer P, Doucé P, Chantal de Désévéday CH-M, Dovillez P, Duchet N, Griveau B, Grosshans C, Guichon M, Jochum Ch, Joubert A, le Clainche M, Laroque G, Le Grain J, Mallay D, Manicot C, Masson- Mosca M- A, Lemaire C, Novella J-L, Ruillon D, Vincencs A., 2000** : Gériatrie, Modulo pratique, édition Estem. Paris. PP. 213.
- ❖ **Avril J-P, Dabernat H, Denis F, Monteil H., 1992** : Bactériologie clinique, 2<sup>ème</sup> édition ELLIPSES. Paris. PP. 511.
- ❖ **Avril J-P, Dabernat H, Denis F, Monteil H., 2002** : Bactériologie clinique, 3<sup>ème</sup> édition ELLIPSES. Paris. PP. 360.
- ❖ **Berche. P, Gaillard. J-L, Simonet., 1991** : Bactériologie clinique, édition ELLIPSES.
- ❖ **Bernar J et Alain R., 2003** : Entérobactéries (systématique et méthodes de diagnostic) ; Lavoisier, édition TEC & DOC. Paris. PP. 12-17.
- ❖ **Bouguessa R-N, Seghier M, Belouni R, Benslimani A., 2009** : Manuel de microbiologie. Office des publications universitaires. PP. 277.
- ❖ **Bouvet E., 2010** : Guide d'antibiothérapie pratique, édition Lavoisier. PARIS. PP. 124.
- ❖ **Blanc B, Siproudhis L., 2006** : Pelvi-périnéologie, Infectiologie Collection Le Moniteur internat édition Springer. Paris. PP. 579.
- ❖ **Casamajor Ph, Descroix V., 2009** : La prescription ciblée en odontologie Guide clinique, édition CdP. France. PP. 38.
- ❖ **Chapelon A, Bach J-F, Imbert J-C, Jasmin C, Biclet P, Chainé C, Catherine., 2009** : Encyclopédie médico-chirurgicale.Traité EMC : angéiologie, édition Elsevier Masson. Page 70.
- ❖ **Claessens Y-E, Ray P., 2012** : Les biomarqueurs en médecine d'urgence des données biologiques au lit du malade, édition Sringer, France. PP. 214.
- ❖ **Clive P, Curtis, Morley C, Sutter, Michael J, Brian B, Walker H., 1999** : Pharmacologie intégrée, 1<sup>ère</sup> édition De Boeck Université. Paris. PP. 225.

- ❖ **Dauger S, Ieteurtre S, Beaufil F., 2010** : Réanimation pédiatrique 2<sup>ème</sup> édition doin. France.
- ❖ **Denis F, Gambartto K., 2002** : **Les bactéries, champignons et parasites transmissibles de la mère à l'enfant MS. Médecine sciences, édition Libbey Eurotext. Paris. PP. 432.**
- ❖ **Denis F, Poly M-C., 2007** : Bactériologie médicales techniques usuelles, édition Elsevier Masson. PP. 573.
- ❖ **Denis S., 2010** : Pharmacologie B.P cahiers du préparateur en pharmacie (collection porphyre) 4<sup>ème</sup> édition Wolters Kluwer. France. PP. 299.
- ❖ **Delmé M., 2003** : Université catholique de Louvain faculté de médecine (cour).
- ❖ **Didier. Raoult., 1999** : Dictionnaire des maladies infectieuses, diagnostic, épidémiologie, répartition géographique, taxonomie, symptomatologie, édition illustré. PP. 1162.
- ❖ **Ducel G, Fabry J, Nicolle L., 2002**: Prévention des infections nosocomiales, 2<sup>ème</sup> édition. Organisation mondiale de la santé. PP. 80.
- ❖ **Elkharrat D, Arrouy L, Benhamou F, Dray A, Grenet J, Le Corre A., 2007** : Monographies en urologie. Épidémiologie de l'infection urinaire communautaire de l'adulte en France, édition Springer. France. PP. 1-20.
- ❖ **Eyquem A, Alouf J, Montagnier L, Allonso J.M, Bergogne-Berezin J, Boiron P, Buffet P, Carniel E, Casanova J.L, Gachot M, Cheorges A.J, George M-C, Courbot, Harf-Monteil C, Monteil H, Lamassoure M, Legoff P, Sarraux A, Theze J, Vincent V, Youinou P., 2000** : Traité de microbiologie clinique: deuxièmes mises à jour édition PICCIN. PP. 77.
- ❖ **Encyclopédie Familiale de la santé, comprendre, prévenir et soigner, 2010.** Edition Québec. Amérique. PP. 397.
- ❖ **Fomba M., 2006** : These role pathogene et sensibilite aux antibiotiques des acinetobacter et des staphylococcus a coagulase negative a l'hopital du point g. Mali. PP. 15.
- ❖ **Ganong W., 2003** : Review of médical physiology 21<sup>ème</sup> édition par Prentice Hall Inc, une compagnie de Pearsson Eduaction. PP. 333.

- ❖ **Garabedian Ch, Deruelle Ph, Borson-Chazol F, Boumaud C, Aude Brac de la perrière, Crand A, Cugnet Ch, Moret M, Moulin Ph, Peretti N, Raverot G, Simon Ch, Villar-Fimbel S., 2010 : ECN Med Gynécologie. Endocrinologie Nutrition éditions Prodel. France. PP. 206.**
- ❖ **Giraud C, Fosse T., 2009 : Laboratoire de bactériologie, CHU de Nice-DCEM1.**
- ❖ **Godreuil S., 2007 : Infections nosocomiales et bactéries multirésistantes. Faculté de Médecine Montpellier. PP. 1-2.**
- ❖ **Goubau P, Pellegrims E, Alfons van Gompel., 2000 : Repères en microbiologie, 3ème édition Garant. Belgique. PP. 84-85.**
- ❖ **Grandin C., 2011 : Bactériologie III. Mode d'action des antibiotiques.**
- ❖ **Ha Van., 2011 : Le Pied diabétique Georges, édition Elsevier Masson. Paris. PP. 10.**
- ❖ **Javouhey E, Bachette J, Bernoux D, Pouyou R., 2010 : ECN Med Pédiatrie, édition Prodel. France. PP. 93.**
- ❖ **Jehl. F, Weber. M, Gérard. A, 2003 : De l'antibiogramme à la prescription, 2<sup>ème</sup> édition Flammarion Médecine Science. Paris. Page : 388-393.**
- ❖ **Kuhn J-M, Sibert L., 2002 : Les pathologies du vieillissement masculin Collection Pathologie, sciences, formation édition John Libbey Eurotext. Paris. PP. 105.**
- ❖ **Lacheheb., 2006 : Les infections urinaire thèse Doctorat, service de maladie infectieuses CHU sétif.**
- ❖ **Lavigne J-P, Sotto A, Merle C, Jourdan J, Soussy C-J, Sirot D., 2002 : Résistance enzymatique d'*E.coli* aux bêtalactamines et prévalence en clinique. Pathol biol ; 50. PP. 388-393.**
- ❖ **Le Minor et Véron., 1989 : Bactériologie médicale, 2<sup>ème</sup> édition Flammarion médecine science. Paris. PP. 1107.**
- ❖ **Le Minor., 1990 : Bactériologie médicale, 3<sup>ème</sup> édition Flammarion médecine science. Paris.**
- ❖ **Lobel B, Soussy C., 2007 : Les infections urinaires Monographies en urologie, édition Springer.France. PP. 23-73-75- 82.**

- ❖ **Marsaudon E., 2004:** Questions-clés sur le diabète: Savoir, comprendre pour mieux vivre, édition Ellebore. Paris. PP. 76-200.
- ❖ **Mathieu MJ, Fonteneau JM., 2008 :** Le manuel porphyre du préparateur en pharmacie: préparation du BP, formation continue 3<sup>ème</sup> édition Wolters Kluwer. France. PP. 3.
- ❖ **Mathieu MJ, Fonteneau JM., 2008 :** Le manuel porphyre du préparateur en pharmacie: préparation du BP, formation continue 4<sup>ème</sup> édition Wolters Kluwer. France. PP. 234-235- 298.
  
- ❖ **Maunand., 2010 :** Diabète. L'infirmière en diabétologie, soigner et accompagner 3<sup>ème</sup> édition Wolters Kluwer. France. PP. 8.
  
- ❖ **Michael J, Clive P, Curtis, Morley C, Sutter, Brian B. Hoffman., 1999 :** Pharmacologie intégrée, 1<sup>ère</sup> édition De Boeck Supérieur. France. PP. 336.
- ❖ **Michael M. Henry, Jeremy N, Thompso, Dhem A, Krémer R., 2004 :** Chirurgie clinique, technique et pratique Sciences médicales. Série Laennec 1<sup>ère</sup> édition de boeck. Belgique. PP. 53.
- ❖ **Mkaouar D, Mahjoubi F, Mezghani S, Znazen A, Ktari S, Hammami A., 2008:** Etude de la résistance des entérobactéries aux C3G dans les hopitaux de Sfax, Tunisie (1999-2005). Méd Mal Infect. PP. 200.
- ❖ **Molinier A., 2003 :** Pathologie médicale et pratique infirmière, tome 2, volume 2, édition LARMARRE. France. PP. 141.
- ❖ **Nauciel C, Vildé J-L., 2005 :** Bactériologie médicale, 2<sup>ème</sup> édition Masson. Paris. PP. 257.
- ❖ **Ondoua J-M., 2012 :** Je me porte bien avec mon diabète un manuel d'éducation pour le patient diabétique et le public en Afrique un aide mémoire pour le professionnel de santé, édition : Harmattan cameroun. PP. 49-52.
- ❖ **Pereliman R., 1990 :** Les maladies infectieuses (infection à entérobactérie), édition illustré. PP. 1313-1320.
- ❖ **Perlemuter G, Hernandez N-M., 2002 :** Endocrinologie, diabétologie, nutrition Collection Med-Line. 4<sup>ème</sup> éditions ESTEM, MED-LINE. PP. 232.
- ❖ **Pichard E, Beytout J., 2002 :** Manuel de maladies infectieuses pour l'Afrique, édition Libbey Eurotext. France. PP. 348.

- ❖ **Popelier M, Bleu C., 2006** : Le Diabète Volume 125 Santé & médecine PP. 101.
- ❖ **Pourriat J- L, Martin C, Nathan C, Rezzoug A, Gauzit R., 2005** : Principes de réanimation chirurgicale 2<sup>ème</sup> édition ARNETTE. France. PP. 994-1095-1142.
- ❖ **Prescott L-M, Harly J-P, Klein D-A., 2003**: Microbiologie, 2<sup>ème</sup> édition De boek et Lacier. Bruxelles. PP. 1137.
- ❖ **Richard M-A, Grob J-J., 2006** : Infections cutané-muqueuses bactériennes et mycosiques (87) DCEM2 - Module n° 7 Santé et Environnement - Maladies Transmissibles. France. PP. 2.
- ❖ **Rouquette C., 2002** : Médecine, chirurgie et soins infirmiers, édition Lamarre, France. PP. 157-158-403.
- ❖ **Sabbah L, Gachot B, Autier J, Kluger N, Deffieux X, Buyse S, Carmanirani R, Leboulanger N, Moulin N, d'Escatha A, Lerolle N, Larrar M, Sèbe P., 2004** : Module 7 (DCEM - Epreuves Classantes Nationales): Santé et environnement - Maladies transmissibles, volume 7, édition Estem. Paris. PP. 93-205-214.
- ❖ **Seck A., 2001** : Données sur la résistance des souches à l'origine d'infections nosocomiales (1990-2000) au CHU de N° 83. PP. 193.
- ❖ **Smith D, Suddarth S, Smeltzer C, Sholtis Brunner L, Bare B., 2006** : Soins infirmiers en médecine et en chirurgie : Fonction rénale et reproductrice volume 4. 2<sup>ème</sup> Edition De Boeck Supérieur. France. PP. 287.
- ❖ **Tiout D, Naim M, AMHIS W., 2001** : Médecine du Maghreb n°91.
- ❖ **Toudeft, Kitous Saidi, Haouchine, Azzam, Berkane, Aridji, Bellil, Cherrad Moussi, Messad, Chebrak, Saadi.MA, zahem, Berbiche, Matmar, Khadir, Djebbar, Mouali, Hadji,Attar, Rafsi, Landri Idir, Astouati, Sebti, Kaced Baïche, Azaoun, Khedim, Saadi, Ramdane, Rabia, Aïssi, Lazri, Mokrani., 2010** : Enquête de prévalence des infections nosocomiales au niveau de CHU de Tizi-Ouzou en octobre 2010.
- ❖ **Vaubourdolle M, Collignon A., 2007** : Infectiologie, Pharmacie, Biologie Concours de l'Internat, formation continue, volume 3, 3<sup>ème</sup> édition le Moniteur. France. PP. 346-299.

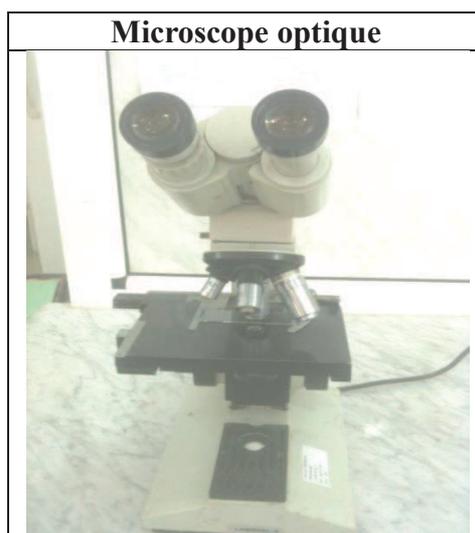
- ❖ **Vincent J-I, C Martin, Lehot J- J, Arvieux Ch-Ch ., 2010:** Le point sur Réanimation et urgences, édition springer-Verlag. France. PP. 215-223.
- ❖ **Willoquet G, Talbert M, Gervais R Calop J., 2011 :** Guide pharmaco clinique 2<sup>ème</sup> édition Wolters Kluwer. France. PP. 552.
- ❖ **Yala D, Merad.A-S, Mouhamedi D, Ouar Kourich M-N., 2001:** Résistance bactérienne aux antibiotiques. Médecine du Maghreb n°91. PP.1-2.

**Matériels non biologiques****Verreries :**

- Api 20E
- Boîte de pétri
- Lame et lamelles
- Pince métallique
- Pipette pasteur stérile
- Portoir
- Tube à essai stérile
- Tube sec

**Appareillages :**

Séchoir	Etuve	Jarre
		
Bec-benzène	Distributeur d'ATB	
		



**Milieux de culture :**

**a) Milieux d'isolement et d'enrichissement**

Milieu	Composition g/l	Utilisation	Photos
<b>Gélose nutritive</b>	-Extrait de viande .....1 -Extrait de levure .....2 -Peptone.....5 -Chlorure de sodium.....5 -Agar .....15 -pH.....7,4	Milieu universel pour la culture des germes peu exigeants dans les eaux, les boissons et les produits biologiques	
<b>Gélose Hektoen</b>	-Protéase-peptone.....12 -Extrait de levure.....3 -Lactose.....12 -Saccharose.....12 -Salicine.....2 -Citrates de fermonica.....11,5 -Sels biliaires.....5 -Fuchsine acide.....0,1 -Bleu de bromothymol.....0,065 -Chlorure de sodium.....5 -Thiosulfate de sodium.....5 -Agar.....14 -pH.....7,6	Isolement des Entérobactéries	

<b>Milieu Muller Hinton</b>	-Infusion de viande de bœuf.....3 -Peptone de caséine .....17,5 -Amidon de maïs ..... 1,5 -Agar ..... 17 -pH..... 7,4	Milieu non sélectif pour l'étude de la sensibilité ou la résistance des germes pathogène envers les ATB	
-----------------------------	---	---	--

### b) Milieux d'identification

Milieux	Composition g/l	Utilisation	Photos
<b>Gélose Triple Sugar Iron (TSI)</b>	-Peptones de caséine .....15 -Peptones de viande....5 -Extraits de viande .....3 -Peptones de levure ....3 -Chlorure de sodium ...5 -Lactose ..... 10 -Saccharose .....10 -Glucose .....1 -Citrate ammoniacal de Fer (III) .....0,5 -Thiosulfate de sodium.....0,5 -Rouge de phénol...0,024 -Agar.....12	Milieu d'identification pour les entérobactéries permet de mètre en évidence la fermentation du lactose glucose ou saccharose avec ou sans production de gaz et d'H <sub>2</sub> S	
<b>Agar citrate de simmons</b>	-Citrate de sodium .....1 -Bleu de bromothymol .....0,08 -Chlorure de sodium...5 -Sulfate de magnésium.....0,2 -Hydrogénophosphate de potassium .....1 -Dihydrogénophosphate d'ammonium.....1 -Agar-agar .....15 -pH.....7,1	Milieu d'identification des entérobactéries sur la base de l'utilisation du citrate comme seule source de carbone	

<b>Bouillon Clark et lubs</b>	-Peptone.....5 -Glucose.....5 -Hydrogénophosphate de potassium.....5 -pH.....7,5	Bouillon glucosé pour la différenciation des Entérobactéries, réaction de Vogues Procskaure et rouge de méthyle	
<b>Urée-indole</b>	-Tryptophane.....3 -Phosphate monopotassique.....1 -Phosphate bipotassique .....1 -Chlorure de sodium...5 -Urée.....20 -Rouge de phénol...0,025 -Alcool à 95°.....0,1 -PH.....6,7	La recherche de : l'urée, TDA et l'indole	

### c) Réactifs

Réactifs	Composition	Utilisation	Photos
<b>KOVACS</b>	-Diméthyl-amino-4-benzaldéhyde .....50g -Acide chlorhydrique pur .....250 ml -Pentanol.....1000ml	Recherche d'indole	
<b>TDA</b>	-Perchlorure de fer .....3,4g -Eau distillée ....100ml	Recherche de TDA	
<b>VPI</b>	-Hydroxyde de potassium .....40g -Eaudistillée.....100ml	Recherche de l'acétoïne	

<b>VPII</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Alpha naptol ...6g</li> <li>-Ethanol .....100ml</li> </ul>	Recherche de l'acétoïne	
<b>Rouge de methyle (RM)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Rouge de méthyle...5g</li> <li>-Ethanol.....1cm</li> </ul>	Recherche de RM	
<b>Violet de gentiane phénique</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Violet de gentiane .....1g</li> <li>-Phénol .....2 g</li> <li>-Éthanol (90°)...10 ml</li> <li>-Eau distillée ...100ml</li> </ul>	Se fixe sur les composants cytoplasmiques de toutes les bactéries	
<b>Solution de lugol</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Iodure de potassium.....2 g</li> <li>-Iode métalloïde.....1 g</li> <li>-Bicarbonate de soude à 5%.....60ml</li> <li>- Eau distillée ...300 ml</li> </ul>	Permet de fixer le violet de gentiane	
<b>La fuschine de ZIEHL</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Fuschine basique...1g</li> <li>-Alcool à 96° .....100ml</li> <li>-Phénol .....5g</li> <li>-Eau distillée ....100ml</li> </ul>	Décolore le cytoplasme en éliminant le violet de gentiane	

## d) Les solutions et les disques imprégnés

<b>Violet de Gentiane+lugol+fuchsine+alcool</b> (pour la coloration de Gram)	<b>Bleu de méthylène</b> (pour coloration simple au bleu de méthylène)	<b>L'eau oxygéné <math>H_2O_2</math></b> (pour le test de catalase)
		
<b>Huile de vaseline</b> (pour crée l'anaérobiose)	<b>Huile à immersion</b> (pour l'observation microscopique des colorations effectuées)	<b>Eau distillé stérile</b> (pour la préparation des suspensions bactérienne)
		
	<b>Disques d'antibiotiques</b> (pour l'antibiogramme)	
		

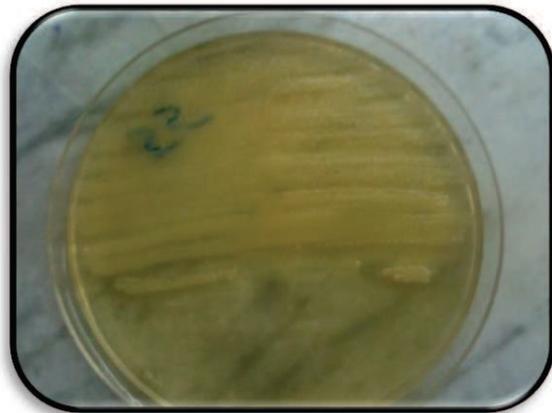
**Tableau X** : Mécanisme d'action et de résistance de différentes familles d'antibiotiques

<b>les différentes familles des antibiotiques</b>	<b>Activité</b>	<b>Mécanisme d'action cible</b>	<b>Mécanisme de résistance</b>
β-lactames	Gram+ Gram- anaérobies	-Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne	- Modification de la cible - Production de β-lactamase
Glycopéptides	Gram +	-Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne	- Modification de la cible
Aminoglycosides	Gram-	-Inhibition de la synthèse des protéines, ribosomes	- Modification de la cible - Production d'un inhibiteur
Tétracyclines	Gram+ Gram-	-Inhibition de la synthèse des protéines, ribosomes	- Modification de la cible - Mécanisme de reflux
Macrolides et Lincosamides	Gram+ Gram-	-Inhibition de la synthèse des protéines, ribosomes	- Modification de la cible -Imperméabilité de la paroi gram-
Quinolones	Gram+ Gram-	-Inhibition de la réplication de l'ADN, ADN gyrase	- Modification de la cible
Rifampin	Gram+	-Inhibition de la synthèse de l'ARN, ARN polymérase	- Modification de la cible
Trimethoprim et Sulfonamides	Gram+ Gram-	-Inhibition de la synthèse des acides nucléiques, enzyme	- Modification de la cible

# Les photos originales



L'antibiogramme d'*E.coli* sur MH



Gélose nutritive après incubation

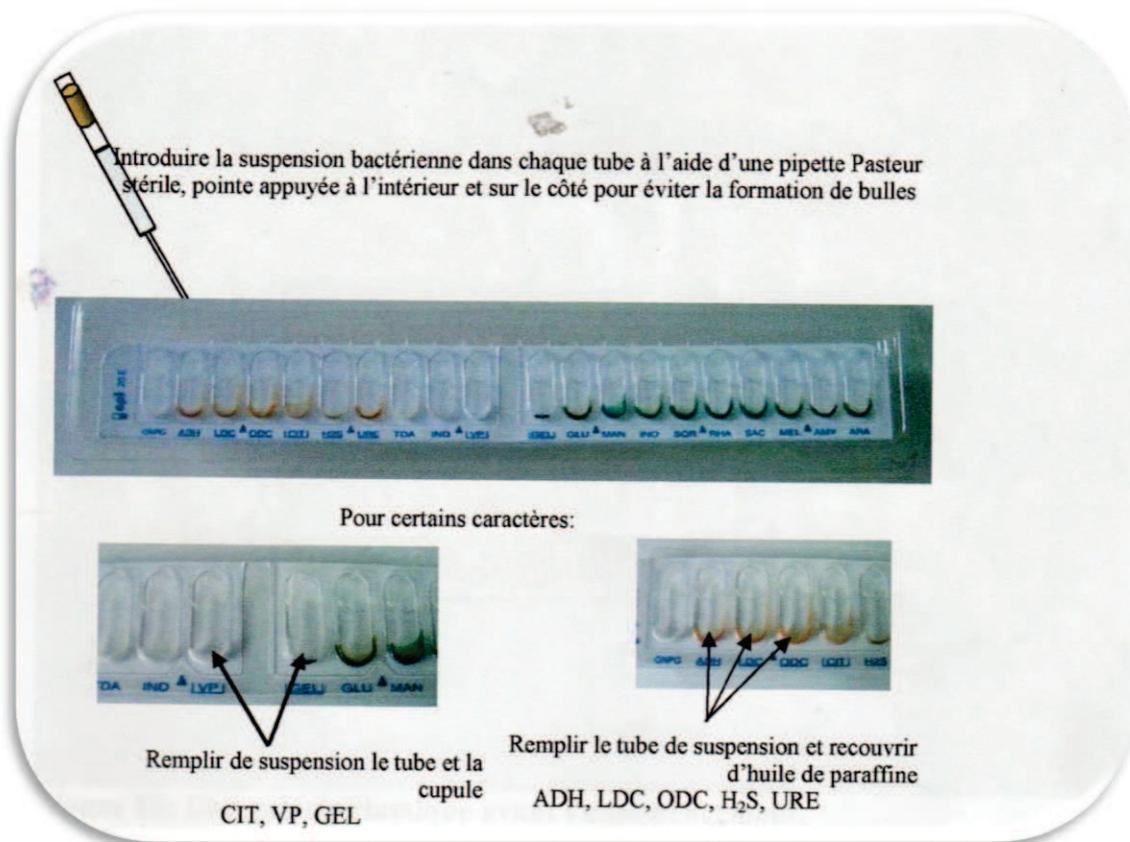


Les Urines

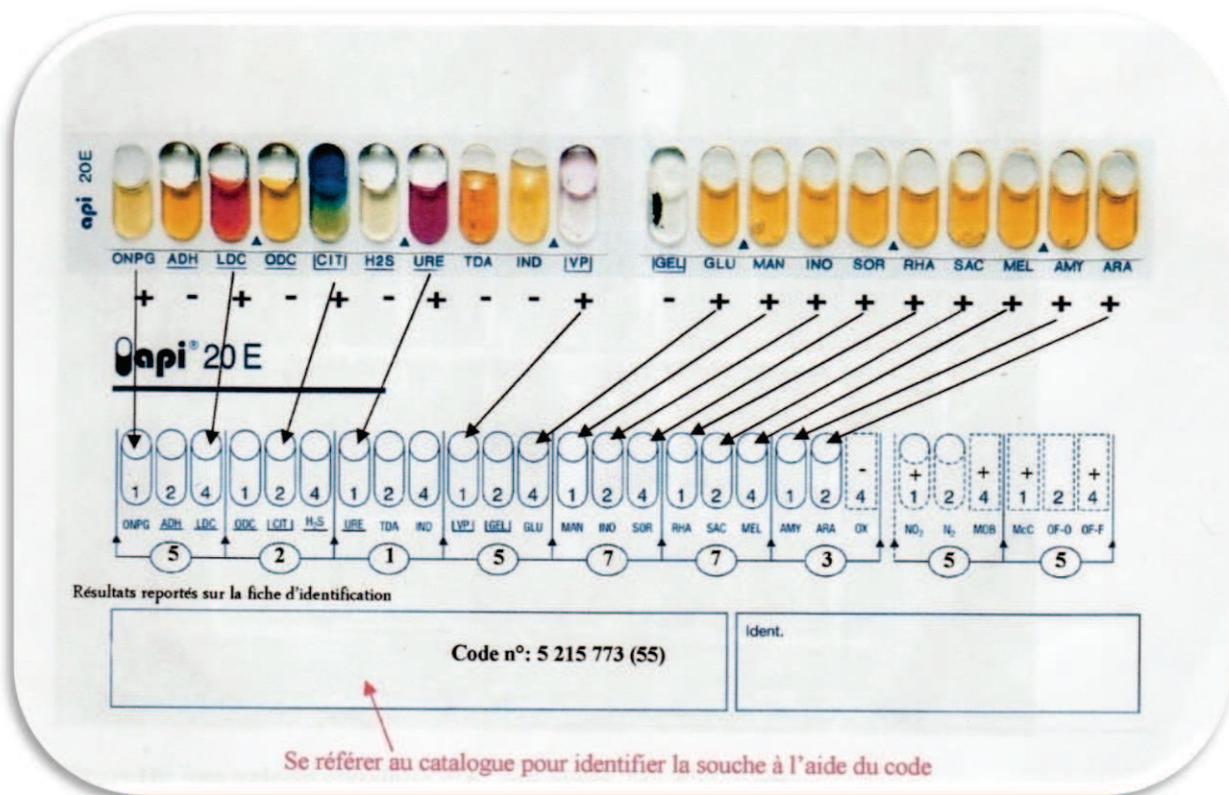


Galerie classique





Méthode d'ensemencement de la galerie API 20E



Une galerie API 20E après ensemencement et incubation