



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Microbiologie

قسم : الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes

Intitulé :

Isolement et étude de *Klebsiella sp.* et *Proteus sp.* , bactéries uréolytiques impliquées dans les infections urinaires

Présenté et soutenu par : GUESSOUM Rania
YAKHLEF Imen

Le : 15/06/2017

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mme RIAH N. (MCB - UFM Constantine).

Rapporteur : Mme BOUZERAIB L. (MAA- UFM Constantine).

Co – Rapporteur : Dr ALLAG H. (Maître assistant en microbiologie - EHS Daksi).

Examineurs : Mme GUERGOURI I. (MAA- UFM Constantine).

Année universitaire
2016 - 2017

Remerciements

Au terme de ce travail du mémoire de master, les mots justes sont difficiles à trouver pour exprimer nos remerciements du fond du cœur à « Allah » le tout puissant de nous avoir donné la force pour survivre, qui nous a honorés par ce savoir, en nous portant aide pour achever ce modeste travail.

Nos sincères remerciements à Mme Riah.N et Mme Guergouri vous nous faites l'honneur de participer au jury de notre mémoire.

Nous tenons à remercier infiniment notre encadreur Mme Bouzraib Latifa, vous nous avez guidés tout au long de notre travail en nous apportant vos précieux et pertinents conseils.

Nous vous remercions pour votre gentillesse, votre modestie et votre soutien lors de la réalisation de ce travail.

Nous tenons à remercier notre directeur de stage le médecin chef responsable du laboratoire de bactériologie ALLAG HAMOUDI .De nous avoir accueilli au sein de l'hôpital EHS Daksi Constantine service de bactériologie et d'avoir accepté de d'ériger ce travail ; sa rigoureuse scientifique, sa disponibilité et ces qualités humaines nous ont profondément touché

On remercie tous ce qui nous ont aidé surtout toute l'équipe du laboratoire de bactériologie : Nadia, Houda, Maissa, Maya pour leur aides, conseils, ambiances et les bons moments durant la période du stage.

Dédicace

Je dédie ce travail à mon très cher papa qui a été à mes cotés tout au long de ce travail, tes conseils m'ont suivi .Sois fier de moi aujourd'hui et vois à travers ce travail mon amour sincère et ma gratitude profonde, c'est grâce à toi que je suis arrivé a ce point là.

À ma très chère mère, à celle qui m'a donné la vie. Maman aucune dédicace ne pourrait exprimer toute l'estime et toute la reconnaissance que j'éprouve à ton égard. Que ce travail puisse encore t'honorer et faire ta fierté, je prie dieu qu'il te garde, te donne la santé.

À mes chers frères et Sœurs, merci pour êtres toujours présents à mes cotés.

À mes chers grands parents et à toute ma famille.

À mes amies : Rania, Ouïsem, Louïza, Samira et Nerdjess .merci mes amoures je vous aime.

Enfin, à toutes les personnes qui m'ont aidée de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Imen

Je dédie ce travail

A dieu :

Le tout puissant, qui m'a toujours accordé sa grâce, et ne cesse de demeurer auprès de moi, je lui dois ce que je suis devenu.

A ma très chère mère :

Celle qui ma donné la vie, le symbole de la bonté et la tendresse quoique je fasse, je ne pourrais te rendre ce que tu as fait pour moi. Si je suis arrivée là, c'est bien grâce a toi. Que dieu te protège pour moi

A mon cher père :

Tes conseils m'ont suivi et m'ont permis d'atteindre le bout du chemin. Si je suis arrivée là, c'est bien grâce a toi. Que dieu te protège pour moi

A mes chers frères et ma chère sœur :

Merci pour être toujours présents à mes cotés

A ma jolie nièce : Lyna

A mes adorables amies : Imen, Ouissem, Louiza, Samira, Nardjess

Merci pour votre fidèle amitié et pour tous les bons moments qu'on a passé ensemble

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

Rania

Liste des abréviations

- **AMP:** Ampicilline
- **AMC :** Amoxicilline +Ac clavulanique
- **AMY :** Amylose
- **AMK :** Amikacine
- **ARA :** Arabinose
- **CZO :** Céfazoline
- **FOX :** Céfoxitine
- **CTX :** Céfotaxime
- **CRO :** Céftriaxone
- **IPM :** Imipénème
- **GEN :** Gentamycine
- **COL :** Colistine
- **SXT :** Sulfaméthoprime + Triméthoprime
- **NAL :** Acidenalidixique
- **CIP :** Ciprofloxacine
- **NIT :** Furane
- **FOS :** Fosfomycine
- **BGN:** Bacilles à Gram Négatives
- **BLSE:** Béta-Lactamase
- **BM:** Bleu de Méthylène
- **BU :** Bandelettes Urinaires
- **CIT :** Citrate
- **CO₂ :** Dioxyde de Carbone
- **ECBU :** Examen Cytobactériologique des Urines
- **Glu :** Glucose
- **MAN :** Mannose
- **RHA :** Rhamnose
- **SAC :** Saccharose
- **GN :** Gélose Nutritive
- **H₂O :** Oxyde d'hydrogène
- **H₂S :** Sulfure d'hydrogène
- **I :** Intermédiaire
- **Ind :** Indole
- **IU :** Infection Urinaire
- **Lac :** Lactose
- **MH :** Muller- Hinton
- **N :** Nombre
- **O₂ :** Oxygène
- **ONPG:** Ortho-Nitro-Phényl-Galacto-Pyranoside
- **P:** Prostate

- **PN:** Pyélonéphrite
- **pH:** Potentiel Hydrogène
- **R:** Résistante
- **S:** Sensible
- **UFC :** Unité formant colonie
- **% :** pourcentage
- **+** : positif
- **- :** négatif

Liste des tableaux

	Pages
Tableau 1. Les caractères d'identification biochimique des germes les plus fréquemment rencontrés	3
Tableau 2. Caractères biochimiques de l'espèce type de <i>k. pneumoniae</i>	9
Tableau 3. Caractères biochimiques de l'espèce type de <i>P .mirabilis</i>	12
Tableau 4. Les principaux constituants de l'urine	15
Tableau 5. Caractéristiques de quelques uréases bactériennes	28
Tableau 6. Résultats obtenus par les bandelettes urinaires	37
Tableau 7. Interprétation bactério-clinique.....	38
Tableau 8. Résultats de la Galerie API 20 E de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	40
Tableau 9. Résultats de la Galerie API 20 E de <i>Klebsiella oxytoca</i>	40
Tableau 10. Résultats de la Galerie API 20 E de <i>Proteus mirabilis</i>	40
Tableau 11. Résultats de la Galerie API 20 E de <i>Proteus vulgaris</i>	40
Tableau 12. Répartition des résultats selon le sexe	42
Tableau 13. Répartition des résultats selon les germes en cause	42
Tableau 14. Répartition des résultats selon les services.....	43
Tableau 15. Profil de résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	45
Tableau 16. Profil de résistance de <i>Klebsiella oxytoca</i>	47
Tableau 17. Profil de résistance de <i>Proteus mirabilis</i>	48
Tableau 18. Profil de résistance de <i>Proteus vulgaris</i>	50

Liste des figures

	Pages
Figure 1. Différents sites d'action d'antibiotiques	5
Figure 2. Coloration de Gram du genre <i>Klebsiella</i>	7
Figure 3. Aspect du genre <i>Klebsiella</i> sur GN	8
Figure 4. Coloration de Gram du genre <i>Proteus</i>	10
Figure 5. Aspect du genre <i>Proteus</i> sur GN	11
Figure 6. Anatomie de l'appareil urinaire	17
Figure 8. Structure de l'uréase	27
Figure 7. Test des bandelettes urinaires	23
Figure 9. Répartition des résultats selon les 380 échantillons.....	41
Figure 10. Répartition des cas positifs selon le sexe.....	42
Figure 11. Répartition des cas positifs selon les germes en cause	43
Figure 12. Répartition des cas positifs selon le service	43
Figure 13. Profil de résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	45
Figure 14. Profil de résistance de <i>Proteus mirabilis</i>	48
Figure 15. Profil de résistance de <i>Proteus vulgaris</i>	50

Tables des Matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction	1
--------------------	---

Revue Bibliographique

Chapitre 1 : Les Enterobacteriaceae.....	2
1. Classification	2
2. Généralités	2
3. Morphologie	4
4. Structure antigénique	4
5. Caractères cultureux	4
6. Bases moléculaire de l'antibiorésistance chez les entérobactéries	5
6.1. Mécanisme d'action des antibiotiques	5
6.2. Résistance des bactéries aux antibiotiques	6
• Résistance naturelle.....	6
• Résistance acquise	6
7. Les bactéries uréolytique impliqués dans les infections urinaires	6
7.1. Klebsiella	6
• Caractères bactériologiques	7
• Caractères biochimiques	9
• Caractères antigéniques	9
• Pouvoir pathogènes naturelle	9
• Antibiothérapie	10
7.2. Proteus	10
• Caractères bactériologiques	10
• Caractères biochimiques	12
• Caractères antigéniques	12
• Pouvoir pathogènes naturelle	12
• Antibiothérapie	13

Chapitre 2 : Les infections urinaires	14
1. L'urine	14
1.1. Définition de l'urine	14
1.2. Caractères physico-chimiques de l'urine	14
1.3. Constitution physiologique de l'urine	14
2. L'arbre urinaire	16
• Les reins	16
• Les uretères	16
• La vessie	16
• L'urètre	16
3. Les infections urinaires	18
3.1. Généralité	18
3.2. Types d'infections urinaires	18
• La cystite	18
• L'urétrite	18
• La pyélonéphrite	19
• La prostatite	19
3.3. Les bactéries en cause	19
3.4. Les facteurs de risque et les personnes à risque	19
3.4.1. Les facteurs de risque	19
• Chez les femmes	20
• Chez les hommes.....	20
3.4.2. Personnes à risque	20
4. Les calculs rénaux	21
4.1. Causes	21
4.2. Types de calculs	21
5. Moyens de défense de l'hôte contre l'infection urinaire	22
6. Diagnostic	23
6.1. Diagnostic clinique	23

6.2 Diagnostic bactériologique	23
• Bandelette urinaires (BU)	23
• Examen cytobactériologique des urines (ECBU)	23
7. Traitement antibiotique utilisés	24
8. Prévention	25
8.1 Mesures préventives non médicamenteuse	25
Chapitre 3 : l'uréase	26
1. Définition	26
2. Classification	26
3. Structure	27
4. Caractères biologique de l'uréase	27
5. Localisation	29
6. L'uréase et le pouvoir pathogène	29
• Les bactéries uréolytiques de la cavité buccal	29
• Les bactéries uréolytique pathogène de l'estomac	29
• Les bactéries uréolytiques uropathogènes	29
• Les bactéries uréolytiques responsables d'infections respiratoires	30

Matériel et Méthode

1. Lieu et période d'étude	31
2. Echantillon	31
2.1 Recueil des urines	31
2.2 Acheminement	31
2.3 Renseignement accompagnant le prélèvement	31
3. Examen macroscopique	32
4. Test indicatif par bandelette urinaire	32
5. Examen microscopique (ECBU)	32
5.1 Examen cytologique	32

5.1.1 Analyse quantitative	32
5.1.2 Analyse qualitative	33
5.2 Examen bactériologique	33
5.2.1 Analyse quantitative	33
5.2.2 Analyse qualitative	33
• Examen directe à l'état frais	33
• Examen directe après coloration au bleu de méthylène	33
• Examen directe après coloration de Gram	33
6. La mise en culture	33
7. Test d'oxydase	34
8. La galerie miniaturisée de type API 20 E	34
9. L'antibiogramme	34
• Principe	35
• Milieu	35
• Préparation de l'inoculum bactérien	35
• Ensemencement	35
• Antibiotiques utilisés	36

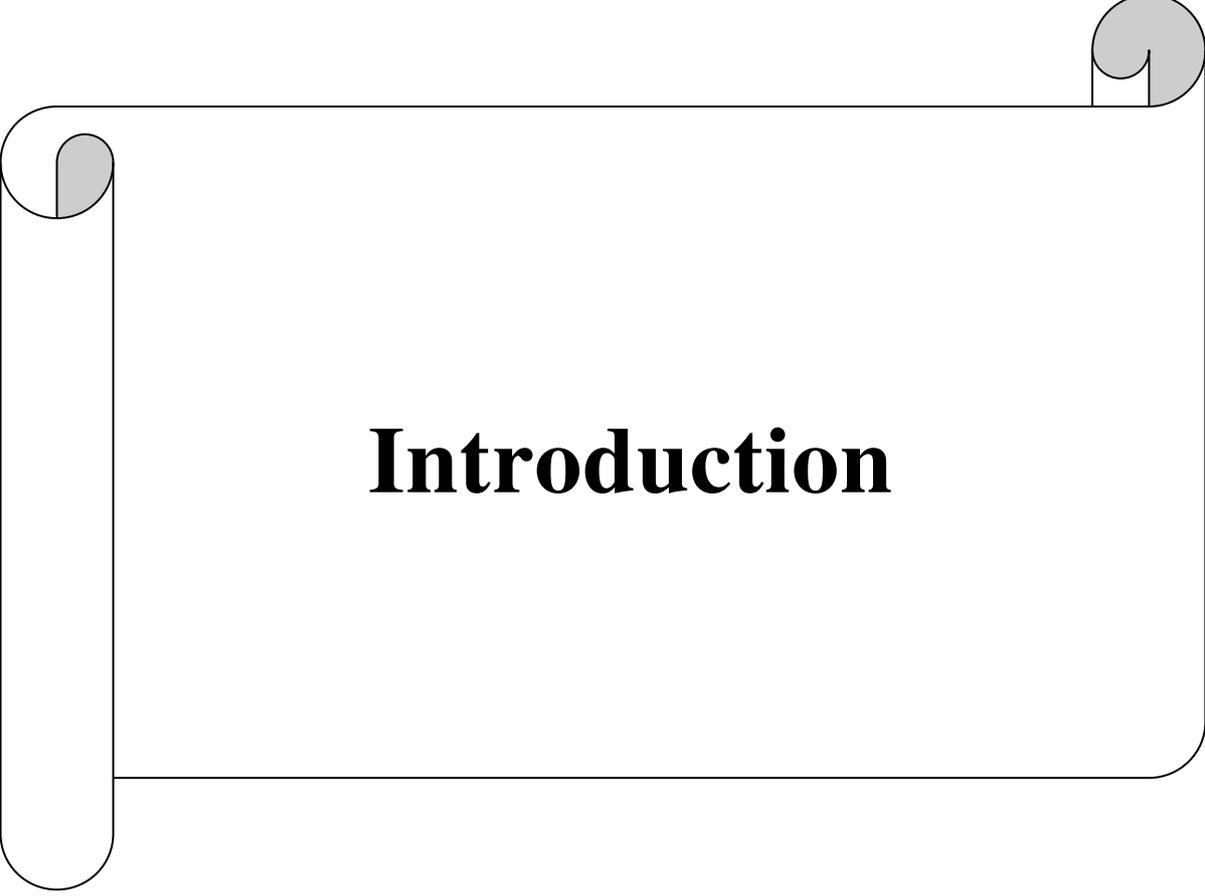
Résultat et discussion

1. Examen macroscopique	37
2. Bandelette urinaire	37
3. Examen cyto bactériologique des urines (ECBU)	38
3.1 Examen cytologique	38
3.1.1 Examen quantitatif	38
3.1.2 Examen qualitatif	39
• Etat frais	39
• Coloration non différentielle (BM)	39
• Coloration différentielle (coloration de Gram)	39
3.2 Examen bactériologique	39
4. Résultats d'oxydase, de la catalase et de la nitrate réductase.....	39
5. Résultat des galeries API 20 E.....	40

• Klebsiella	40
• Proteus	40
6. Données épidémiologique	41
• Répartition des résultats selon les 380 échantillons	41
• Répartition des résultats selon le sexe	42
• Répartition des résultats selon les germes uréolytique en cause	42
• Répartition des résultats selon les services	43
7. Résultat et Interprétation d'antibiogramme	44
• <i>Klebsiella</i>	44
Discussion des résultats de <i>K. pneumoniae</i>	46
Discussion des résultats de <i>K. oxytoca</i>	47
• <i>Proteus</i>	47
Discussion des résultats de <i>P. mirabilis</i>	49
Discussion des résultats de <i>P. vulgaris</i>	51
Conclusion	52

Références bibliographique

Annexes



Introduction

Introduction

Les entérobactéries sont des bacilles à Gram négatif, aérobies-anaérobies facultatifs, retrouvés partout dans le sol, dans l'eau et surtout dans l'intestin de l'homme et des animaux.

Elles regroupent un nombre très élevé de genres et d'espèces (plus de quarante genres) [1].

Leur caractéristique telle que : la mobilité, la rapidité de leur multiplication, l'acquisition fréquente de mécanismes de résistance aux antibiotiques expliquent qu'elles soient les bactéries les plus impliquées en pathologie infectieuse humaine surtout en milieu hospitalier [2].

Les infections urinaires (IU) regroupent l'ensemble des infections du tractus urinaire (les reins, les urètres, la vessie, et l'urètre), elles se rencontrent chez l'enfant, l'adulte, et le vieillard, chez les deux sexes, elles peuvent être symptomatiques ou asymptomatiques.

L'infection urinaire est un réel problème de santé publique car il s'agit d'un deuxième site d'infection après l'infection de l'appareil respiratoire [3] [4].

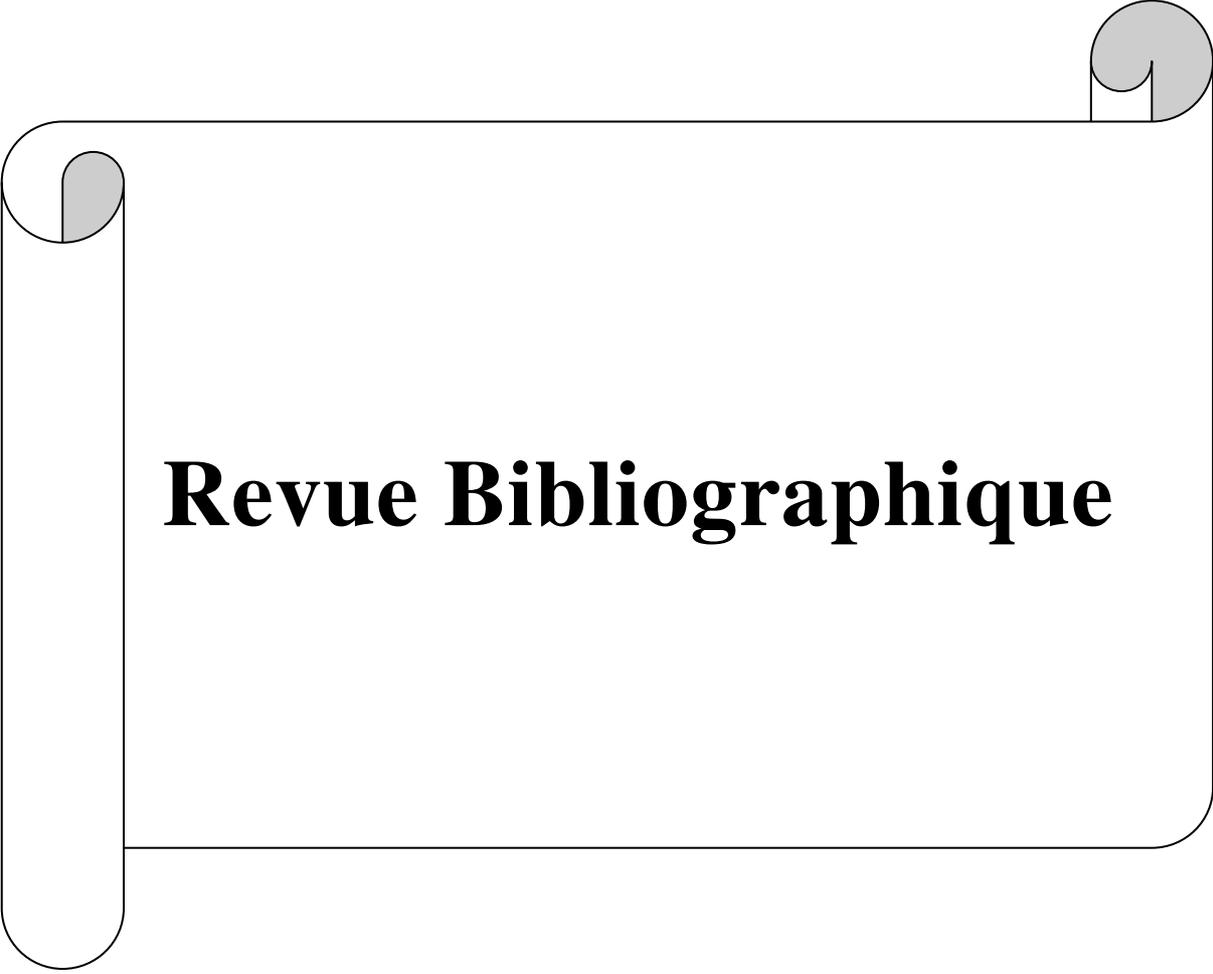
Les germes les plus souvent responsables des infections urinaires sont, pour les infections communautaires *E. coli* (75-85% selon les études et les pays) et d'autres entérobactéries qui possèdent le caractère uréase positive tel que *Klebsiella sp* et *Proteus sp* comptent pour environ 4% chacune [5].

Le caractère uréase positive est l'agent causale des calculs rénaux urinaires (des Cristaux). Et donc de l'infection urinaire, c'est un facteur de gravité de la lithiase urinaire.

Le calcul peut être préexistant et l'infection le colonise ou l'infection peut être la cause du calcul [6].

L'objectif de ce travail est :

- Etudier l'aspect épidémiologique et bactériologique des infections urinaires.
- L'isolement des bactéries responsables d'infection urinaire et de lithogénèse et l'étude de leurs profils de sensibilité aux antibiotiques



Revue Bibliographique

Chapitre 1 : Les Enterobacteriaceae

1-Classification

Classification d'entérobactéries [10].

- Règne : Bacteria
- Embranchement : Proteobacteria
- Classe : Gammaproteobacteria
- Ordre : Enterobacteriales
- Famille : Enterobacteriaceae.

2-Généralités

- Les entérobactéries sont des bacilles Gram négatif retrouvés partout dans le sol, l'eau et surtout dans l'intestin de l'homme et des l'animaux [8].
- Constituent l'une des plus importantes familles des bactéries autant du point de vue quantitatif (plus de quarante genres) que du point de vue qualitatif, elles sont fréquemment rencontrées en pathologie infectieuse ainsi que dans la bio-industries (fermentation de fromage et produit laitiers, alcools, production de toxines a usage cosmétique, industrie pharmaceutique, ...) [8].
- Sont des bactéries non exigeantes (culture facile sur milieu ordinaire à 37°C), fermentant le glucose avec ou sans production de gaz.
- Oxydase négative ; possèdent une nitrate réductase (capables de réduire les nitrates en nitrites) ; catalase positive, aéro-anaérobie facultatives, non sporulées, immobiles/ mobiles par ciliature péritriche [10].
- Certains genres sont thermodépendants et ne poussent pas à 37°C tel que :
Hafnia alvie ; *Yersinia enterocolitica* [7].
- Les différences entre les genres et les espèces viennent de critères plus précis (Tableau1) ; la fermentation des différents sucres ; production ou non de sulfures ; présence ou absence des enzymes (β -galactosidase, désaminase, décarboxylase) ; le type de fermentation (acide mixte ou 2,3-butanédiol) [7].

Tableau 1 : Les caractères d'identification biochimique des genres des entérobactéries les plus fréquemment rencontrées [42].

	<i>Escherichia</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Serratia</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Shigella</i>	<i>Proteus</i>	<i>Providencia</i>	<i>Yersinia</i>
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mobilité	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+
Lactose	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
ONPG	+	+	+	+	+	-	+/-	-	-	+
H ₂ S	-	+/-	-	-	-	+	-	-	-	-
VP	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+
TDA	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
Urée	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+
Indole	+	-	-	+/-	-	-	+/-	+/-	+	+/-
Citrate	-	+	+	+	+	+/-	-	+/-	+	-

+ : Résultat positif

- : Résultat négatif

+/- : Variable

3-Morphologie

- 2 à 4 microns de long, 0,4 à 0,6 microns de large.
- Présence ou non de ciliature péritriche, la longueur des flagelles dépend des conditions de culture, elle peut atteindre 20 μ m et la longueur d'onde des ondulations 2,3 μ m.
- Peuvent posséder d'autres appendices de nature protéique appelés pili ou fimbriae.
- Certaines bactéries possèdent une volumineuse capsule aisément visible en microscope en contraste de phase ou après coloration à l'encre chine [9].

4-Structure antigénique

Trois antigènes sont présents : antigène O (présent dans la paroi), antigène H (flagellaires) et l'antigène K (capsulaire) [9].

- Antigène O : thermostable (fraction protéique plus une fraction polysidique) très toxique ; une fraction lipidique liée au polyside est responsable de la toxicité (endotoxine), provoque des fièvres suivies de leucocytose [9].
- Antigène H : thermolabile de nature protéique réduit par l'alcool à 50% et les enzymes protéolytiques [9].
- Antigène K : entoure la paroi de certaines bactéries peut masquer l'antigène O [9].

5- Caractères culturels

Les entérobactéries se développent facilement sur des milieux ordinaires, on distingue trois types de colonies [10].

- Smooth (S) : colonies rondes, lisses, blanche voire translucides [10].
- Rugueux (R) : colonies des bactéries vieilles ou anormales (sèches, irisées) [10].
- Muqueux (M) : colonies plus grosses certaines bactéries ont toujours cet aspect tel que : *Klebsiella* [10].

6-Bases moléculaires de l'antibiorésistance chez les entérobactéries

La connaissance des bases moléculaires de la résistance naturelle et acquise est indispensable pour comprendre comment l'utilisation des antibiotiques exerce une pression de sélection sur les microorganismes et influence leur état de résistances [11].

6-1-Mécanisme d'action des antibiotiques

-Les antibiotiques, contrairement aux antiseptiques, agissent sur les bactéries en inhibant des fonctions physiologiques précises telle que la synthèse de la paroi (β -lactamines, glycopeptides, fosfomycine), la réplication, la transcription de l'ADN (quinolones, rifamycine, sulfamides, triméthoprime), la synthèse protéique (aminosides, tétracycline, macrolides, chloramphénicol) [12].

- Pour exercer leur action, ils doivent se lier à des cibles moléculaires spécifiques le plus souvent intracellulaires (Figure 1) [12].

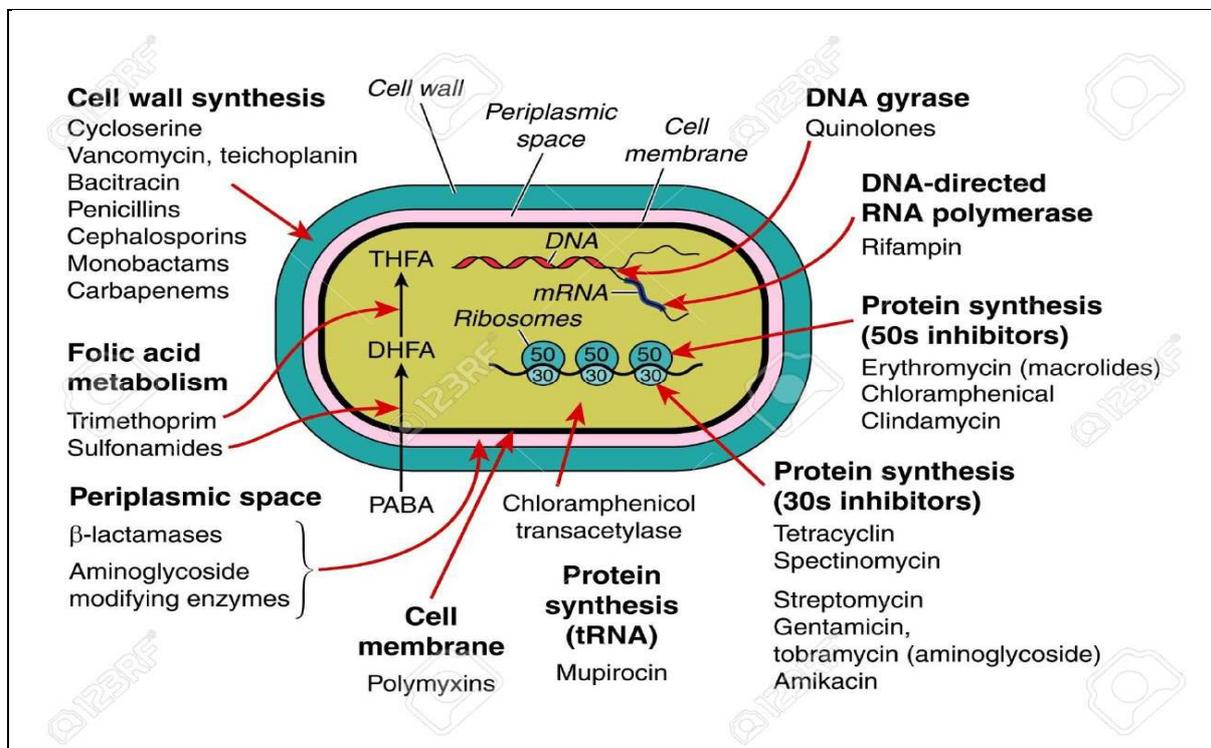


Figure1: Différents sites d'action des antibiotiques [43].

6-2- Résistance des bactéries aux antibiotiques

Une souche est dite résistante lorsqu'elle supporte une concentration d'antibiotique, notamment plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce [13] [14].

Résistance naturelle

- la résistance naturelle est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce, ce type de résistance est détecté dès les premières études réalisées afin de déterminer l'activité d'un antibiotique et contribue à définir son spectre antibactérien [15].

- la résistance naturelle est stable, transmise à la descendance mais pas ou peu transmissible sur un mode horizontal, elle a pour support génétique le chromosome bactérien [16].

Résistance acquise

- Ce terme est utilisé pour désigner le résultat d'un processus permettant à des bactéries d'une espèce originellement sensible de devenir résistante à un ou plusieurs antibiotiques [14].

- La résistance bactérienne acquise n'apparaît que chez quelques souches d'une espèce donnée normalement sensible, elle est due à l'emploi en thérapeutique des antibiotiques [15].

- Sur le plan génétique, la résistance peut être acquise par deux voies : soit des mutations affectant des gènes présents sur le chromosome soit l'acquisition des gènes étrangers [17].

7-Les bactéries uréolytiques impliquées dans les infections urinaires

7-1 *Klebsiella*

- *Klebsiella pneumoniae* et *Klebsiella oxytoca* sont les plus répandues dans la nature.

- Ces bactéries causent jusqu'à 5% des infections urinaires communautaires et 9% des nosocomiales [9] [10].

Caractères bactériologiques

- Morphologie

-Bacilles à Gram négatif, immobiles et capsulés, cette capsule est de nature polysaccharidique contient l'acide glycuronique et galacturonique et de 2 à 4 sucres (galactose, glucose, mannose, fructose, rhamnose), 6% des souches de *K pneumoniae* sont non capsulés.

- Dimensions comparables à celles d'*Escherichia coli*.

- Elles font partie du groupe KESH (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Hafnia*) [9] [7].

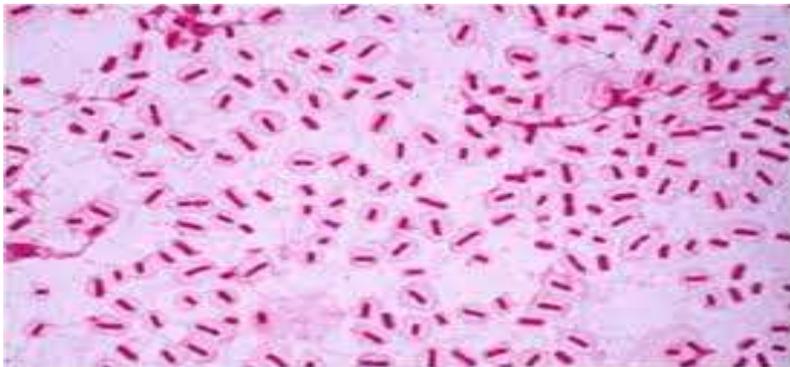


Figure 2 : Coloration de Gram du genre *Klebsiella* [47].

- Culture

Sur les milieux classiques d'isolement d'entérobactéries (Drigalski, EMB, DCL, Hektoen, Mac Conkey), les colonies de *K. pneumoniae* et *K. oxytoca* sont : Lactose +, bombées muqueuses d'un diamètre de 3 à 4 mm à 37°c pendant 18-24h [10].



Figure 3 : Aspect du genre *Klebsiella* sur GN [48].

- Habitat

Bactéries ubiquitaires présentes dans le tube digestif et l'appareil respiratoire des animaux tant que bactéries commensales, elles sont fréquentes dans les selles et peuvent être un indicateur de contamination fécale.

Elles sont abondantes dans le sol, les eaux et sont des fixateur d'azote atmosphérique [9] [10].

Caractères biochimique

Les caractères types de l'espèce type : *Klebsiella pneumoniae* sont représentés dans le tableau 2.

Tests	Caractères
Mobilité	-
VP	+
RM	-
Uréase	+
ONPG	+
H ₂ S	-
Indole	-
ADH	-
LDC	+
ODC	-
Gélatinase	-
Production de gaz	+
Citrate de Simmons	+

+ : Test positif / - : Test négatif

Caractère antigénique

Possèdent l'antigène O somatique et l'antigène K capsulaire [9].

Pouvoir pathogène naturel

K. pneumoniae, *K. oxytoca* ; sont principalement isolées chez l'homme de broncho-pneumopathies aiguës et sub- aiguës et d'infections urinaires, secondairement d'infections hépatovésiculaires et de pus divers, les septicémies à *Klebsiella* sont à pronostic sévère [9].

Antibiothérapie

Le genre *Klebsiella* est naturellement sécréteur d'une pénicillinase chromosomique de bas niveau ce qui la rend naturellement résistante aux pénicillines A (amoxiciline) et aux carboxypénicillines et uréidopénicillines. - Comme toutes les entérobactéries *Klebsiella* peut acquérir de nombreux mécanismes de résistances aux autres antibiotiques (pénicillinase plasmidique, céphalosporinase, β -lactamase à spectre élargie BLSE) [11].

7-2- *Proteus*

- Bactérie commensale de tube digestif
- Plusieurs espèces : *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Proteus morganii*
- Elles font partie du groupe *Proteus*, *Providencia* [9].

Caractères bactériologiques

- Morphologie

-Bacilles à Gram négatif ; très polymorphe.

- Dans les cultures jeunes, il existe des formes longues et filamenteuses ces formes longues peuvent disparaître pour donner des petits bacilles droits de 0,3 à 3 μm .

- Possèdent des ciliatures très abondantes et longues (bactérie envahissante) (essaimage ou swarming) [9].



Figure 4: Coloration de Gram du genre *Proteus* [47].

- Culture

- Sur milieu liquide (bouillon nutritif, bouillon trypto-caséine soja, eau peptonée) sont abondantes avec souvent un voile en surface et un dépôt, dégagent une odeur fétide particulière [10].

- Sur milieu solide gélose (envahissement) plusieurs facteurs favorise l'envahissement : concentration d'agar, température d'incubation ; présence d'électrolytes

Les inhibiteurs d'envahissement : alcool éthylique, azide de sodium [10].

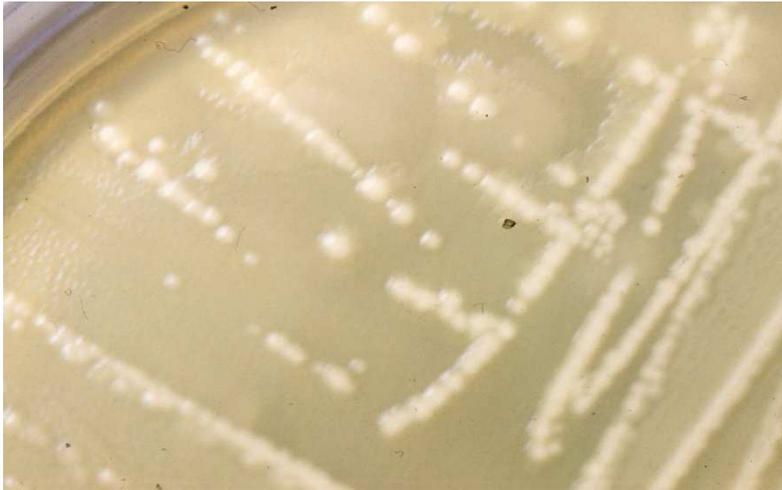


Figure 5 : Aspect du genre *Proteus* sur GN [48].

- Habitat

Très répandue dans la nature : les eaux de surface ; eaux usées ; sols ; les légumes; ils végètent en saprophyte sur la peau et les muqueuses.

Caractères biochimiques

De l'espèce type : *Proteus mirabilis*

Tableau 3 : Caractères biochimique de l'espèce type de *Proteus mirabilis* [9].

Test	Caractère
Glucose	+
Nitrate réductase	+
Indole	-
Lactose	-
ONPG	-
H ₂ S	+
Uréase	+
TDA	+
VP	-
RM	+
Saccharose	+
LDC	-
ODC	+
Mobilité	+

+ : Test positif / - : Test négatif

Caractères antigéniques

Différents types antigéniques sans intérêt pratique [9].

Pouvoir pathogène

Sont souvent en cause dans des infections urinaires (10% d'infection en ville) ; infection de plaie ; surinfection diverses tumeurs voies respiratoires [9].

Antibiothérapie

- *P. mirabilis* résiste naturellement à la colistine, aux polymixines et aux furanes ; les souches sauvages sensibles à toutes les β -lactamines (pas de céphalosporinase chromosomique).

-Résistance acquise : β -lactamase de classe A, résiste aux inhibiteurs des β -lactamases, β -lactamase de classe A à spectre étendu (BLSE) ; résistance à l'imipenème chez

P. mirabilis (elle n'est pas enzymatique) [11].

Chapitre 2 : Les infections urinaires

1-L'urine

1-1-Définition de l'urine

L'urine est un liquide biologique composé de déchets de l'organisme, elle est sécrétée par les reins qui sera expulsée hors du corps par le système urinaire [18] [19].

1-2-Caractères physicochimique de l'urine

L'urine d'un sujet sain présente plusieurs paramètres :

- Volume : 1000-1600 ml en 24h. Ce volume peut être réduit de moitié à cause de grandes chaleurs ou de divers exercices corporels.
- Couleur : jaune ambrée liée aux pigments qu'elle contient tel que

L'urochrome et L'uroerythrine.

- Odeur : légère, cependant des bactéries qui peuvent transformer l'urée en

Carbonate d'ammonium (cas de cystite).

- Limpidité : l'urine normale fraîchement émise renferme toujours des cellules épithéliales, du mucus, de sédiment, les leucocytes qu'elle contient peuvent également diminuer sa clarté [20].

1-3- Constitution physiologique de l'urine

L'urine d'une personne saine est constituée de 95% d'eau, dans laquelle les déchets du métabolisme sont dissous. Les principaux composants sont mentionnés dans le tableau 4, [21].

Tableau4 : Les principaux constituants de l'urine [21].

Principaux composants de l'urine	Volume habituelle (g /l)
- Eau	950 g /l
- Urée	20 à 30 g/l
- Chlorure	6 à 10 g/l
- Sodium	5 à 6,5 g /l
- Phosphatases	1,5 à 3 g/l
- Sulfate	2 g/l
- Créatine	1 à 1,5 g/l
- Ammoniaque	0,5 à 1 g/l
- Acide urique	0,4 à 0,8 g/l
- Calcium	0,008 à 0,3 g/l

2-L'arbre urinaire

L'arbre urinaire est composé de quatre organes vitaux du corps humain. Il produit, stocke, et élimine l'urine, les déchets et les toxines. Il maintient l'équilibre intérieur "l'homéostasie".

- **Les reins**

Organe vital en forme d'haricot de couleur rouge très foncé, existant en paire, implantés de chaque côté.

Sa fonction principale est de purifier le sang et de veiller à la bonne expulsion de l'urine, des déchets et toxines qui en dérivent.

- **Les uretères**

Sont des conduits reliant les reins à la vessie, leur fonction est d'acheminer l'urine des reins à la vessie.

- **La vessie**

Il s'agit d'un réservoir extensible qui recueille l'urine avant qu'elle soit évacuée.

- **L'urètre**

Est le conduit qui relie la vessie à l'extérieur du corps. Lorsque la vessie est pleine, il se produit ce que l'on appelle la miction. Cette action consiste à expulser l'urine par l'urètre jusqu'à l'extérieur du corps [22].

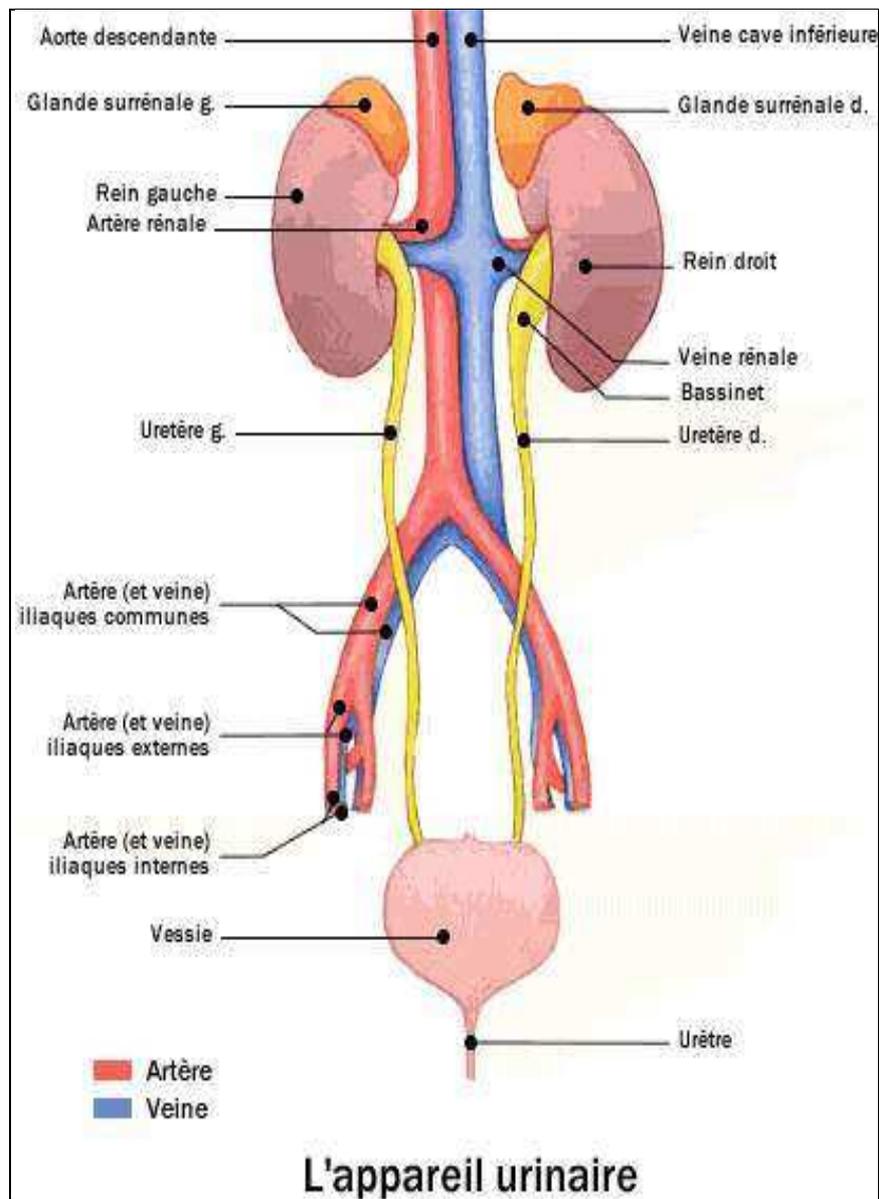


Figure 6 : Anatomie de l'appareil urinaire. [45]

3- les infections urinaires (IU)

3-1-Généralité

Le terme infection urinaire regroupe l'ensemble des infections du tractus urinaire, qui englobe les infections des différents constituants de l'appareil urinaire ou de certaines annexes. Elle se manifeste le plus souvent par des douleurs ou une sensation de brûlures lors de la miction, parfois par des douleurs abdominales et de la fièvre. L'infection urinaire se caractérise par une multiplication de microorganisme au sein de l'arbre urinaire (bactériurie) s'accompagnant d'une réaction inflammatoire avec afflux de leucocytes (Leucocyturie). Cette infection est majoritairement féminine, le risque d'infection est moindre chez le sexe masculin [23] [24].

3-2- types d'infections urinaires

On distingue quatre types d'infections urinaires : la cystite, l'urétrite, la pyélonéphrite et la prostatite. Ils se distinguent selon la localisation de l'infection [25].

- **La cystite**

Est de loin la forme d'infection la plus courante, Elle touche presque uniquement les femmes. Il s'agit de l'inflammation de la vessie. La plupart du temps l'inflammation est provoquée par la prolifération de bactéries intestinales de type *Escherichia coli*, qui sont nombreuses aux environs de l'anus. Les bactéries passent par la région vulvaire à la vessie en remontant l'urètre. Tout ce qui gêne la vidange de la vessie augmente le risque de cystite. La cystite s'accompagne normalement d'une urétrite, l'inflammation de l'urètre.

- **L'urétrite**

Touche uniquement l'urètre (le conduit qui relie la vessie au méat urinaire). On l'appelle urétrite il s'agit d'une infection sexuellement transmissible (IST) courante chez les hommes, mais les femmes peuvent aussi en souffrir. Différents agents infectieux peuvent causer l'urétrite, les plus communs sont la chlamydia et le gonocoque (bactérie responsable de la gonorrhée).

- **La pyélonéphrite**

Est un état plus grave. Elle désigne l'inflammation du bassinet et du rein, celle-ci résulte généralement d'une infection bactérienne, il peut s'agir d'une complication d'une cystite non traitée ou mal traitée qui permet la prolifération des bactéries de la vessie vers les reins. La pyélonéphrite aiguë survient surtout chez la femme, et principalement la femme enceinte.

- **La prostatite**

Est une inflammation de la prostate causée par des agents infectieux (bactéries, champignons, mycoplasme) ou par une affection (par exemple : rétrécissement de l'urètre, hyperplasie de la prostate) [25].

3-3- les bactéries en cause

Les bactéries sont responsables de la plupart des infections urinaires. On distingue les bactéries par leur forme (notamment les coques et les bacilles), d'autre part la coloration de Gram et leurs caractéristiques biochimiques, fermentation du lactose. Ainsi on peut identifier principalement [25].

- Les Entérobactéries Ce sont les bacilles à Gram négatif qui fermentent le lactose, parmi elles, on reconnaît les familles suivantes : *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Citrobacter*, *Enterobacter* et l'espèce *E. coli*.
- Les « bacilles Gram négatif non fermentant » les plus fréquents *Pseudomonas*, *Acinetobacter* et le *Chryseomonas*.
- Les coques Gram positif notamment les familles des staphylocoques et streptocoques comme *Streptococcus pneumoniae* responsable de pneumonie.
- Les coques Gram négatif comme *Neisseria gonorrhoea* ou gonocoque responsable de la gonorrhée (maladie sexuellement transmissible : MST) [25].

3-4- Facteurs de risques et personnes à risque des infections urinaires

3-4-1- Facteurs de risques

Chez les femmes

Avoir une mauvaise hygiène génitale, les régions anale et génitale doivent être nettoyées avec soin régulièrement, ce qui aide à contrer la prolifération des bactéries.

Les relations sexuelles, particulièrement si celles-ci sont intenses et fréquentes après une période d'abstinence. On d'écrit d'ailleurs ce phénomène comme « la cystite de la lune de miel ».

Chez certaines femmes qui utilisent un diaphragme comme moyen contraceptif, l'urètre se trouvera comprimé, ce qui empêche la vessie de se vider complètement et favorise les infections de la vessie.

Certaines femmes contractent une urétrite en raison de l'usage de spermicides [25].

Chez les hommes

La sodomie augmente le risque d'être infecté [25].

3-4-2- Personnes à risque

- ✓ Les femmes, surtout celle qui sont sexuellement actives. Le taux d'infections est 50 fois plus élevé chez les hommes
- ✓ Les hommes atteints d'une hypertrophie bénigne de la prostate (fréquente à partir de 50 ans) ou d'une prostatite lorsqu'elle augmente de taille, la prostate comprime l'urètre, ce qui ralentit l'évacuation de l'urine.
- ✓ Les femmes enceintes sont à risque en raison de la pression exercée par le bébé sur le système urinaire, mais aussi des changements hormonaux inhérents à la grossesse.
- ✓ Les femmes ayant une vaginite causée par une baisse d'hormones œstrogènes après la ménopause.
- ✓ Les personnes diabétiques, en raison du taux élevé de sucre dans leur urine qui constitue un milieu favorable au développement bactérien et de leur sensibilité accrue aux infections.
- ✓ Les personnes chez qui on a introduit une sonde dans l'urètre.
- ✓ Les personnes qui ont une anomalie structurale des voies urinaires, qui souffrent de calculs rénaux ou de divers troubles neurologiques [25].

4- Les calculs rénaux

Communément appelés “ pierres aux reins “ sont des cristaux durs qui se forment dans les reins et peuvent entraîner des vives douleurs ; on utilise le terme lithiase urinaire pour désigner les cristaux qui peuvent aussi se retrouver dans le reste de l'appareil urinaire : vessie ; l'urètre ou les uretères ; leur taille est très variable de quelques millimètres à quelques centimètres de diamètres.

Les calculs rénaux surviennent plus fréquemment dans la quarantaine et ils sont deux fois plus fréquents chez l'homme que chez la femme ; certains enfants peuvent aussi être atteints [6].

4-1- Causes

Les calculs sont le résultat de la cristallisation de sel minéraux et d'acides présents en trop forte concentration dans l'urine ; peuvent être la conséquence d'un grand nombre de facteurs ; le plus souvent ils sont dus à : [6]

- un manque de dilution des urines c'est-à-dire à une consommation trop faible d'eau
- une alimentation déséquilibrée trop riche en sucre ou en protéine.
- Plus rarement une infection
- Certains médicaments
- Une maladie génétique ou métabolique
- Et même les mal formations des voies urinaires surtout chez les enfants

4-2- Types de calculs

À base de calcium

80% de tous les calculs rénaux oxalate de calcium (plus fréquents), de phosphate de calcium ou un mélange des deux, causés par : la déshydratation ; un apport excessif de la vitamine D ; certaines maladies et médicaments ; des facteurs héréditaires ou une alimentation trop riche en oxalate ; infection urinaire (*Proteus*).

Struvite (phosphate ammoniaco – magnésien)

Liés aux infections urinaires chroniques en répétition d'origine bactérienne, représente 10% des calculs urinaires, ce sont des calculs graves du fait de la mortalité infectieuse et morphologie qu'ils induisent les germes en cause en présence d'urines alcalines sont

Les germes ayant une activité uréasique tel que : *Proteus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylocoques aureus*.

L'uréase bactérienne hydrolyse l'urée urinaire en ammoniaque NH_3 en CO_2 ; H_2O en consommant un proton (H^+) ce qui élève plus le pH ; le pH alcalin favorise la dissociation des phosphate en trivalents favorisant la formation des cristaux « Struvite », ils se forment chez les personnes qui ont une sonde vésicale.

Calculs d'acide urique

5 à 10 % des calculs rénaux se forment en raison d'une concentration élevée d'acide urique dans l'urine, les personnes à risque qui reçoivent une chimiothérapie ; et peuvent être causés par une infection (*Proteus*) (se trouve dans les biofilms) formée sur les sondes urinaires.

De cystine

Forme plus rare, la cause est une anomalie génétique qui entraîne l'excrétion d'une quantité excessive de cystine par les reins, ce type peut survenir dès l'enfance [6].

5- Moyens de défense de l'hôte contre l'infection urinaire

Tous les mécanismes de défense ne sont pas bien connus, mais quelques uns ont été identifiés : [26]

1. Les mécanismes liés à la physiopathologie de l'appareil urinaire : le volume de flux urinaire,
 - La vidange régulière et complète de la vessie 2 à 4 fois par jour et qui est le moyen d'expulsion des germes.
2. Les mécanismes liées à l'urine ; comme le pH des urines et son osmolarité.
3. Les facteurs biologiques : surtout les mécanismes anti-adhérences des germes aux muqueuses et la sécrétion d'anticorps.
4. Les sécrétions vaginales de la femme, et prostatiques de l'homme.

6- Diagnostic

6-1- Diagnostic clinique

Les signes de l'atteinte vésicale sont les brûlures mictionnelles, la pollakiurie et/ou la présence d'urine troubles ou hématuriques [27].

6-2- Diagnostic bactériologique

Bandelettes urinaires (Bu) :

La bandelette urinaire est un grand apport en gériatrique pour le dépistage des IU, c'est un test rapide qui donne des résultats immédiats, il s'effectue sur une urine qui a séjourné au moins 4h dans la vessie [28].



Figure 7: test des bandelettes urinaires. [46]

Examen cytobactériologique des urines (ECBU)

L'ECBU consiste à analyser les urines d'une personne pour mettre en évidence une Leucocyturie et les éléments urinaires anormaux afin de déceler une éventuelle infection Urinaire .déterminer la présence dans les urines (bactériurie) et les identifier et enfin adapter Au mieux le traitement antibiotiques [28].

7- Traitement antibiotiques utilisés

- Béta – lactamine

- Les pénicillines du groupe « G » : spectre actif sur les cocci et les Bacilles à Gram positif autre que le staphylocoque.

- Les pénicillines du groupe « M » : actives sur les staphylocoques (oxacilline).

- Les pénicillines du groupe « A » : spectre élargie aux germes Gram négatif en particulier le colibacille.

- Les céphalosporines (céfalotine, céfoxitine, céfotaxine) ; ont activés sur les staphylocoques, avec un spectre élargie sur les bactéries Gram négatif.

- Les monobactames : ont un spectre d'activité étroit sur les bactéries à Gram négatif aérobies.

- Aminosides

Actifs sur les bacilles Gram négatif (BGN) les staphylocoques ; les cocci Gram.

- Cyclines

Actives sur les germes intracellulaires (*Brucella*, *Chlamydia* et *Ureaplasma*).

- Macrolides

Actives sur les cocci à Gram + (à l'exception des *staphylocoques* et de 40% de *pneumocoque*) et les germes intracellulaires.

- Phénicolés

Actives sur les *S. pneumoniae*, *N. meningitidis*, *H. influenzae*.

- Sulfamides et Triméthoprim

Actifs sur les *Staphylocoques* ; les *Salmonelles* ; *Shigella*.

- Quinolones

1^{er} génération ou Quinolones urinaires : actives sur *E. coli*, *P. vulgaris*, *K. oxytoca*

2^{ème} génération ou Quinolones systémique ; actives sur les entérobactéries, les germes intracellulaires, *staphylocoques*, *H. influenzae*.

3^{ème} génération ou Quinolones antipneumococcique : actives sur les Pneumocoques *in vitro* [29].

8- Prévention

Des mesures simples de préventions peuvent être réalisés au quotidien afin de diminuer le risque d'IU. Un traitement préventif est par ailleurs envisagé en cas d'IU récidivantes [30].

8-1 Mesures préventives non médicamenteuses

Certaines mesures non médicamenteuses sont recommandées, d'autres non pas fait leurs preuves mais sont classiquement admises :

- ❖ Boire suffisamment (> 1,5 /Jours).
- ❖ Eviter de retenir un besoin d'uriner : avoir des mictions régulières et complètes
- ❖ Avoir une miction post-coïtale.
- ❖ Réguler le transit intestinal : lutter contre la diarrhée ou la constipation.
- ❖ Avoir une bonne hygiène intime quotidienne avec un savon adapté.
- ❖ Préférer des sous-vêtements en coton, pas trop serrés.
- ❖ Eviter les spermicides et l'utilisation d'un diaphragme en cas d'IU récidivante [30].

Chapitre 3 : L'uréase

1- Définition

Les uréases sont un groupe d'enzymes très répandues dans la nature. Elles sont synthétisées par de nombreux organismes incluant les plantes, les bactéries, les champignons, les algues et les invertébrés [38].

Elles sont également présentes dans le sol en tant qu'enzymes libres ou liées aux particules colloïdales du sol. Leur fonction essentielle est de permettre aux organismes d'utiliser l'urée comme source d'azote pour leur croissance.

L'uréase exerce une fonction catalytique aboutissant à l'hydrolyse de l'urée en ammoniac et dioxyde de carbone. La première étape est une dégradation enzymatique de l'urée en ammoniac et carbamate. Ce dernier est ensuite spontanément hydrolysé formant une deuxième molécule d'ammoniac, et du dioxyde de carbone [34].



L'activité uréase tend à augmenter le pH de son environnement car elle produit de l'ammoniac (molécule basique)

Ce sont des métallo-enzymes contenant du nickel de poids moléculaire élevé [34].

2- Classification

Les Uréases (EC 3.5.1.5), appartiennent à la superfamille des amidohydrolases et des phosphotriesterases [34].

3- Structure

Toutes les uréases ont une structure trimérique de base. Chez les bactéries, chaque unité de ce trimère est lui-même un hétéro trimère constitué de trois sous-unités : [UreA, UreB, et UreC] une large (A 60-76kDa) et deux petites (B 8-21 kDa, C 6-14 kDa), formant une structure (Ure ABC) trois avec un seul site actif qui requiert deux atomes de nickel pour son activation, c'est la principale caractéristique commune à toutes les uréases.

En termes de séquences et de structure, les uréases des plantes sont similaires à celles des bactéries. [34] (Figure 4)

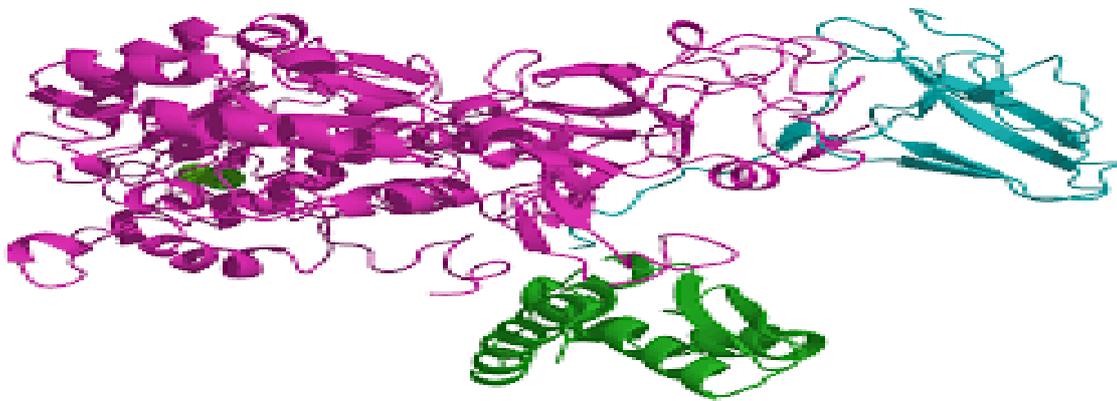


Figure 8 : structure de l'uréase [44]

4- Caractères biologiques de l'uréase

- Poids moléculaire: 480 kDa ou 545 kDa pour l'uréase (masse calculée à partir de la séquence d'acides aminés).
- 840 acides aminés par molécule, dont 90 sont des cystéines.
- pH optimal: 7,4.
- Température optimale: 60 degrés Celsius.
- Spécificité enzymatique: urée et hydroxyurée.
- Inhibiteurs: métaux lourds (Pb et Pb²⁺).

Tableau 5: caractéristiques de quelques uréases bactériennes [35].

Bactéries	Km (mM)	Activité spécifique	pH optimal	Température optimale	Masse molaire (KDa)
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	1.5	ND	7.7	65°C	337
<i>Arthrobacter mobilis</i>	3	2370	4.2	ND	290
<i>Arthrobacter oxydans</i>	12.5	219	7.6	ND	242
<i>Bacillus pasteurii</i>	40-130	1528	ND	ND	230
<i>Brevibacterium ammoniagenes</i>	18-72	3570	7	ND	200
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2.8	2200	7.75	79°C	224
<i>Helicobacter pylori</i>	0.2	1500	7.5	43°C	625
<i>Lactobacillus fermentum</i>	2.7	ND	2	65°C	220
<i>Morganella morganii</i>	ND	2431	5.5	ND	ND
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	0.3	101	7.2	60°C	ND
<i>Proteus mirabilis</i>	13	2057	7.5	ND	250
<i>Providencia rettgeri</i>	10.5-71	30.6	7.5	ND	ND
<i>Providencia stuartii</i>	9.3	7100	ND	ND	230
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	7.36	150	6.8	ND	250
<i>Streptococcus salivarius</i>	3.5-4.1	ND	6.5-7	60°C	ND
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	2.5	1800	7.2-7.5	ND	380
<i>Yersinia enterocolitica</i>	0.15	310	3.5-5.5	ND	ND

ND : Non définie

5- Localisation

Toutes les uréases bactériennes sont uniquement cytoplasmiques, à l'exception de l'uréase d'*Helicobacter pylori*, qui, avec son activité cytoplasmique, a une activité externe avec les cellules hôtes. En revanche, toutes les uréases végétales sont cytoplasmiques [34].

6- Les uréases et le pouvoir pathogène

- **Les bactéries uréolytique de la cavité buccal**

Une activité uréolytique globale de 1 μ mol de NH₃/min/mg de matière sèche est détectée dans la salive et la plaque dentaire de l'Homme, toutes les espèces bactériennes contribuant à cette activité n'ont pas été encore identifiées. *Streptococcus salivarius* est probablement l'espèce qui contribue le plus à l'uréolyse dans la cavité buccale, néanmoins cette bactérie n'est pas un constituant prédominant du biofilm dentaire dans lequel les bactéries uréolytiques sont majoritairement des *Actinomyces* et *Haemophilus*, l'hydrolyse microbienne de l'urée (à 10Mm dans la salive) pourrait être à l'origine du maintien du pH neutre et de la composition de la flore de la cavité buccale [35].

- **Les bactéries uréolytique pathogène de l'estomac**

H. pylori est une bactérie colonisant l'antrum gastrique de l'homme, responsable de gastrites chroniques atrophiques ou non, de duodénite, d'ulcère gastroduodénal, d'adénocarcinome de lymphome (de type MALT) gastrique. La persistance de cette bactérie dans l'estomac cause une inflammation active et prolongée, qui est caractérisée par une infiltration de polynucléaires neutrophiles et de monocytes dans la muqueuse gastrique. Et une augmentation de la proportion de cellules de l'épithélium gastrique en apoptose. L'uréase, qui représente 6% des protéines totales de la bactérie, a un rôle crucial dans la persistance de *H. pylori* au niveau de la muqueuse gastrique [35].

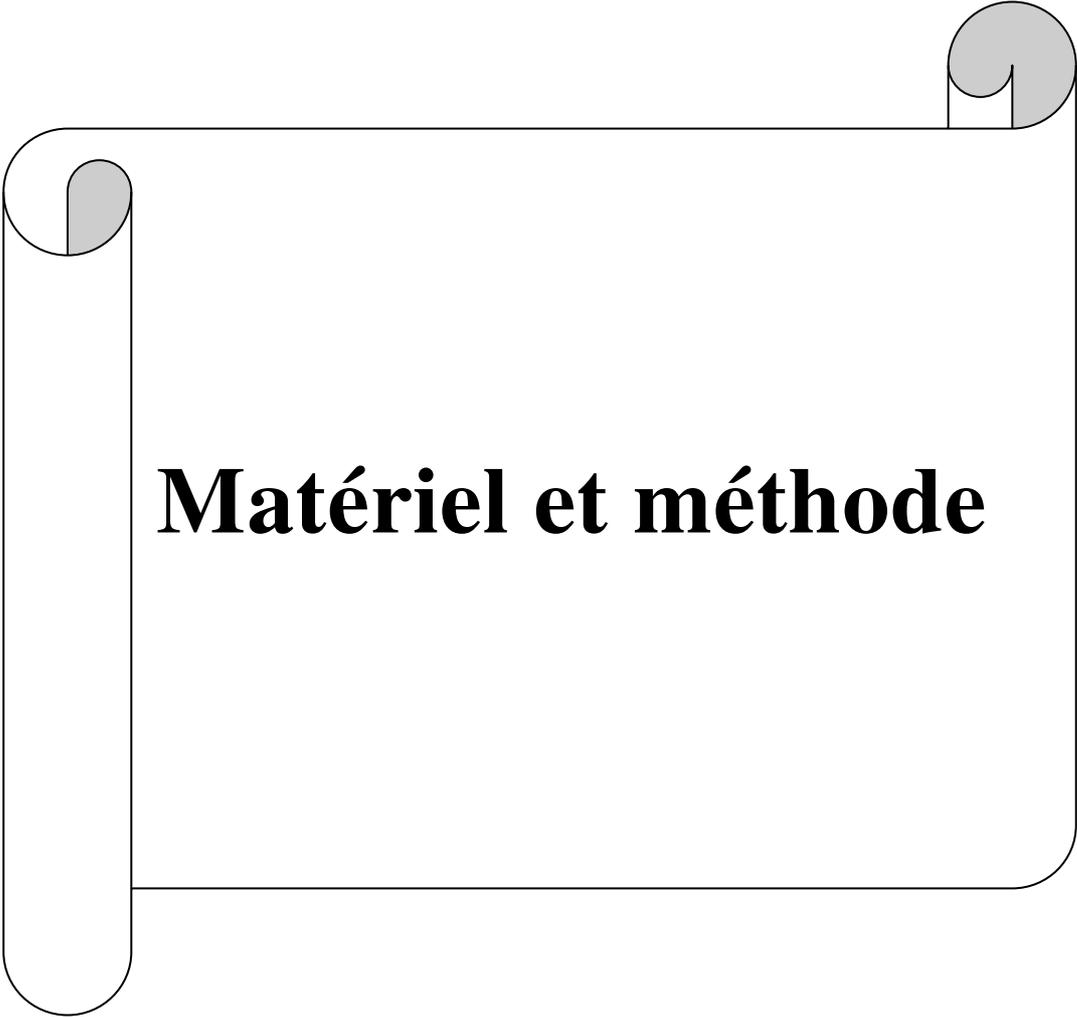
- **Les bactéries uréolytique uropathogène**

Les bactéries uréolytiques sont fréquemment associées aux infections du tractus urinaire, en particulier chez les patients ayant une malformation anatomique ou fonctionnelle du rein et/ou de la vessie et, éventuellement porteurs de sonde urinaire. Les espèces associées à ces infections sont : *P. mirabilis*, *P. penneri*, *E. coli*, *Klebsiella. spp*, *P. stuartii*. Mais aussi *Corynebacterium spp*, *Pseudomonas spp*, *Staphylococcus spp* et *Ureaplasma urealyticum* [35].

- **Les bactéries uréolytique responsables d'infections respiratoires**

Bordetella bronchiseptica. Mycobacterium bovis. Actinobacillus pleuropneumoniae.

Sont toutes trois pathogènes pour les voies respiratoires de bovins et porcins et produisent une uréase [35].



Matériel et méthode

Matériels et méthode

1-Lieu et période d'étude

Notre travail à été réalisé au sein du laboratoire de bactériologie de la clinique Rénale de Daksi Etablissement hospitalier spécialisé Abdelkader Bouchrite (EHS), au niveau de la paillasse des urines. Durant trois mois de la période allant du 05 mars au 05 juin 2017

2-Echantillonnage

Un échantillon de 380 prélèvements a été examiné durant la période de notre étude à partir de patients de plusieurs catégories (Traitement ambulatoire, patients hospitalisés).

2-1-Recueil des urines

Après lavage hygiénique des mains et réalisation d'une toilette soignée au savon ou aux antiseptiques doux de la région vulvaire ; suivi d'un rinçage ; le sujet élimine le premier jet, pour ne recueillir dans le tube à urine stérile que les 20 ml en prenant soin de ne pas toucher le bord supérieur du récipient.

2-2-Acheminement

Pour éviter toute prolifération bactérienne le transport au laboratoire se fera le plus vite possible (pas plus de 2 heures) au delà de ce délai le flacon d'urine sera placé dans un récipient contenant de la glace.

Les urines pouvant être gardés 24h à 4°C sachant que la réfrigération ne préserve pas les leucocytes.

2-3- Renseignement accompagnant le prélèvement

Les renseignements qui accompagnent le prélèvement sont indispensables ; ils concernent le nom et prénom, l'âge, le sexe du patient, le service, l'heure du prélèvement, et le traitement.

Ces renseignements permettant au personnel du laboratoire d'améliorer l'examen Cytobactériologique des urines et son interprétation.

3-Examen macroscopique

Il consiste à observer à l'œil nu la limpidité de l'urine et sa couleur ; il permet de constater l'existence d'une éventuelle hématurie ; son intérêt est limitée car une urine trouble n'est pas forcément le signe d'une infection [31].

4- Test indirect qualitatif par bandelette urinaire

On cherche surtout par cet examen la présence des leucocytes, des hématies, et les nitrates [31].

Technique

- ❖ Bien homogénéiser l'urine en tournant lentement à plusieurs reprises.
- ❖ Immerger la bandelette une seconde dans l'urine en humectant entièrement toutes les zones réactives.
- ❖ Après égoutter rapidement en passant la tranche de la bandelette sur un papier absorbant afin de supprimer l'excédent d'urine.
- ❖ Et enfin enclencher le chronomètre.

5-Examen microscopique

ECBU

Cette analyse est réalisée par deux examens : un examen cytologique et examen bactériologique.

5-1-Examen cytologique

5-1-1-Analyse quantitative

Permet de connaître le nombre figurés par unités de volume (Leucocytes ; hématies ...etc.) ; cette quantification est effectuée manuellement ou bien par un système automatique de comptage [32].

5-1-2- Analyse qualitative

Cet examen permet d'observer et d'apprécier les cellules présentes dans l'échantillon (hématies, leucocytes, cristaux, levures) , il est réalisé en déposant une goutte d'urine entre lame et lamelle à l'aide d'une pipette pasteur sans coloration puis examiner sous microscope optique à l'objectif $\times 40$ [32].

5-2-Examen bactériologique

5-2-1-Analyse quantitative

La mise en culture à pour but l'isolement et la numération des espèces bactériennes. C'est la seule méthode qui permet une identification exacte des bactéries qui colonisent l'urine.

Les entérobactéries ne sont pas exigeantes et sont cultivés sur gélose ordinaire, gélose nutritive (GN), et sur milieu Hektoen (milieu sélectif).

Dans un premier temps, l'ensemencement est réalisé en prélevant une öse d'urine qui est déposé sur les milieux de culture à l'aide de l'anse de platine par la technique des stries [32].

5-2-2-Analyse qualitative

- **Examen directe à l'état frais**

Cet examen permet de préciser la présence des microorganismes dans l'urine, leur mobilité, et estimer leur nombre [33].

- **Examen directe après coloration au bleu de méthylène**

- **Examen directe après coloration de Gram**

Cet examen reste indispensable en apportant des informations immédiates au clinicien sur le type de bactéries impliquées permettant d'adapter le traitement. Cette coloration permet d'étudier la morphologie des germes et le Gram différentiel [24].

6- La mise en culture

Pour chaque prélèvement urinaire on fait une uroculture sur GN avec un dénombrement des germes (bactérienne) et une deuxième uroculture sur milieu Hektoen si le patient est immunodéprimé (femme enceint, patient hospitalisée) pour l'isolement des bacilles à Gram négatif .

7- Test de l'oxydase

Le disque de papier filtre imprégnés de réactif : l'oxalate de N-diméthyle paraphenylène diamine, qui est incolore sous forme réduite et rouge-violet sous forme oxydée a été utilisé.

Déposer, sur une lame porte-objet propre, un disque « Ox » et l'imbiber avec une goutte d'eau distillée ou d'eau physiologique stérile, prélever une partie de la colonie à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée stérile et l'étaler sur le disque [2].

8- La galerie miniaturisée de type API 20 E

- **Introduction et objectif du test**

Le système API de Biomérieux se définit comme un système standardisé pour l'identification des bactéries selon les caractères biochimiques.

La galerie API 20 E de Biomérieux est un système standardisé pour l'identification des enterobacteriaceae et autres bacilles à Gram négatif non fermentant, constituant 20 tests biochimiques miniaturisés qui nous permet d'étudier les caractères biochimiques des bactéries afin de les identifier [31].

- **Echantillons (Prélèvement et répartition)**

L'API 20E ne doit pas être utilisé directement à partir des prélèvements d'origine clinique ou autre ; les microorganismes à identifier doivent dans un premier temps être isolés sur un milieu de culture adapté à la culture des enterobacteriaceae et/ou des bacilles à Gram négatif non fastidieux selon les techniques usuelles de bactériologie [31].

9- L'antibiogramme

Etude de la sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries pour déterminer la sensibilité des entérobactéries aux antibiotiques on doit utiliser l'antibiogramme par diffusion des disques

- **Principe**

Dans les laboratoires cliniques l'antibiogramme est réalisé par méthodes de diffusion en disque sur milieu Muller Hinton selon les recommandations du CLSI pour chaque germe isolé.

Elles consistent à disposer des disques de papier buvard imprégnés de concentration déterminée d'antibiotiques à la surface d'un milieu gélosé, dès que les disques sont appliqués, l'antibiotique diffuse à partir du disque de manière uniforme dans la gélose

Après incubation, les disques s'entourent des zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture

S'il est efficace, l'antibiotique va détruire les bactéries à proximité et former ainsi une auréole visible à l'œil nu

Le diamètre du disque formé va donner une indication de la sensibilité de la bactérie à l'antibiotique testé, plus le diamètre du disque est élevé, plus l'antibiotique est efficace.

- **Milieu**

Muller-Hinton non sélectif qui doit être coulé en boîte de pétri sur une épaisseur de 4 mm, les boîtes doivent être séchées avant leur emploi

- **Préparation de l'inoculum bactérien**

À partir d'une culture pure de 18h à 24h sur milieu d'isolement appropriée, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques et les transférer dans l'eau physiologique stérile (2,5 ml) puis bien homogénéiser la suspension bactérienne.

- **Ensemencement**

Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum puis l'essorer en le pressant fermement contre la paroi interne du tube, afin de charger au maximum

L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas, en stries serrées, l'opération doit être répétée 2 fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois, finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose

- **Antibiotique utilisés**

Les antibiotiques utilisés dans notre étude sont : les β -lactamines (ampicilline, Amoxicilline + acide clavulanique, céfazoline, céfoxitine, céftriaxone, imipenème, les sulfamides (Sulfamethoxazole+ Triméthoprime); les quinolones (acide nalidixique, ciprofloxacine); les polymixines (colistine); les aminosides (gentamycine, amikacine); les nitrofurantoines (furanes).

Trois catégories cliniques ont été retenues pour l'interprétation des tests de sensibilité in vitro : Sensible (S), Résistant (R) et Intermédiaire (I).

Les souches de catégories S : sont celles pour les quelles la probabilité de succès thérapeutique est forte dans les cas d'un traitement par voie systématique avec la posologie recommandée.

Les souches de catégories R : sont celles pour les quelles il existe une forte probabilité d'échec thérapeutique quels que soit le type de traitement et la dose d'antibiotique utilisée.

Les souches de catégorie I : sont celles pour les quelles de succès thérapeutique est imprévisible, ces souches forment un ensemble hétérogène pour le quel les résultats obtenus in vitro ne sont pas prédictifs d'un succès thérapeutique, en effet ces souches peuvent présenter un mécanisme de résistance dont l'expression in vitro est faible [46].



Résultat et discussion

Résultats et discussion

1- Examen macroscopique

L'aspect macroscopique permet de donner une idée préliminaire sur la présence d'une infection urinaire, plusieurs aspects ont été observés

- Urine claire ou jaune brun : renseigne sur la concentration en eau de l'urine
- Urine trouble ou purulente : cet aspect suggère la présence des leucocytes
- Urine sanglante : présence des hématies
- Urine rouge ou verte : due à l'alimentation ou la prise des médicaments, la présence de dépôt du à la présence des cristaux.

2- Bandelettes urinaires

Les résultats obtenus par les bandelettes urinaires sont figurés dans le tableau suivant :

Tableau 6 : Résultats obtenus par les bandelettes urinaires

Paramètres	Principe de la méthode	Pathologie
pH	Mise en évidence du pH pour la présence de plusieurs indicateurs chromogènes	En complément d'autres paramètres
Glucose	Mise en évidence du glucose	Dépistage et contrôle du diabète sucré ou d'une hyper glycémie
Sang	Mise en évidence de l'hémoglobine et de la myoglobine pour l'activité de peroxydase et le virage d'un indicateur	Infection graves des reins et des voies urinaires
Protéines	Mise en évidence de l'albumine grâce au virage de couleur d'un indicateur de pH	Symptôme d'une maladie des reins et des voies urinaires évaluation de la fonction rénale : insuffisance rénale
Nitrites	Mise en évidence des nitrites obtenus par l'activité des nitrate-réductase de certains germes	Infection bactérienne des reins ou des voies urinaires
Leucocytes	Mise en évidence de l'activité des estérases dans les leucocytes granulaires	Symptôme d'infection urinaire

3- L'examen cytobactériologique des urines (ECBU)

3-1 Examen cytologique

3-1-1 Examen quantitatif

Les différents éléments contenus dans un volume donné de l'urine comme les leucocytes, les hématies et les bactéries ont été observés à l'aide d'un microscope (tableau7)

Tableau 7 : Interprétation bactériologique-clinique

Leucocyturie	Bactériurie	Interprétation et conduite à tenir
$< 10^4$	$< 10^4$	Urine normale, non infectée
$< 10^4$	$> 10^4$	Infection urinaire monobactérienne
$< 10^4$	$> 10^5$	La discordance entre l'absence de réaction cellulaire et l'importance de la bactériurie fait évoquer plusieurs hypothèses : infection débutante ou une infection sur un terrain particulier (immunodéprimé)
$> 10^4$	$< 10^4$	La Leucocyturie sans germes évoque la possibilité d'infection par une bactérie nécessitant une recherche spéciale

3-1-2 Examen qualitatif

- **Etat frais**

Permet de voir la morphologie et la mobilité, on observe des bactéries, des leucocytes, des hématies, des cristaux.

- **Coloration non différentielle (coloration au bleu de méthylène)**

Les structures colorables apparaissent bleues, cette coloration permet de déterminer la nature de leucocytes et la forme des bactéries.

- **Coloration différentielle (coloration de Gram)**

L'examen microscopique après coloration de Gram, nous a permis d'observer des coccobacilles colorés en rose. Ce sont des bactéries Gram négatif.

3-2 Examen bactériologique

Les caractères culturaux observés sur les boîtes de pétri après 24h d'incubation

- Les *Klebsiella* forment des colonies souvent très muqueuses, larges, grasses et luisantes.
- Les *Proteus* : forme des colonies circulaires, lisses, et opaques.

4-Résultats d'oxydase, de la catalase et de la réduction des nitrates

- ✚ La coloration violette sur le disque d'oxydase révèle un résultat positif, l'absence de la coloration violette révèle un résultat négatif sur le disque d'oxydase.
- ✚ Les souches isolées sont oxydase négative.
- Pour compléter l'appartenance de nos souches à la famille des *Enterobacteriaceae* nous recherchons la catalase et la réduction des nitrates en nitrites(Annexe 05)
- Les souches testées sont catalase positive et réduisent les nitrates en nitrites.

5- Résultats des galeries API 20E

- *Klebsiellasp*

Tableau 8 : Résultats de la Galerie API 20 E de *Klebsiellapneumoniae*

Test	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP
Résultat	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+
Test	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
Résultat	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tableau 9 : Résultats de la Galerie API 20 E de *Klebsiellaoxytoca*

Test	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP
Résultat	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+
Test	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
Résultat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

- *Proteussp*

Tableau 10 : Résultats de la Galerie API 20 E de *Proteus mirabilis*

Test	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP
Résultat	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-
Test	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
Résultat	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

Tableau 11 : Résultats de la Galerie API 20 E de *Proteusvulgaris*

Test	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP
Résultat	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-
Test	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
Résultat	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-

- D'après les résultats obtenus les germes uréases positivement identifiés sont : *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*

-L'infection par ces germes peut être monobactérienne (un seul germe uréasique) ; ou poly microbienne (2 germes uréasique ou un uréasique et l'autre non)

6- Résultats épidémiologiques

Parmi 380 échantillons étudiés, nous avons remarqué que 238 échantillons sont infectés par des germes uréase négative et 64 échantillons sont infectés par des germes uréase positive (*Klebsiella* et *Proteus*), et 78 échantillons ne présentent pas de germes en culture (non infecté).

- ❖ 2 échantillons parmi les 64, sont des infections poly microbiennes (2 bactéries uréasiques)
- ❖ 9 échantillons parmi les 64 sont des infections poly microbiennes (2 bactéries : une est uréasique et l'autre non)
- ❖ 8 échantillons parmi les 64, sont des infections mono bactériennes avec présence des cristaux d'oxalate de calcium et d'acide urique (6 hommes, 2 femmes)

• Répartition des résultats selon les 380 échantillons :

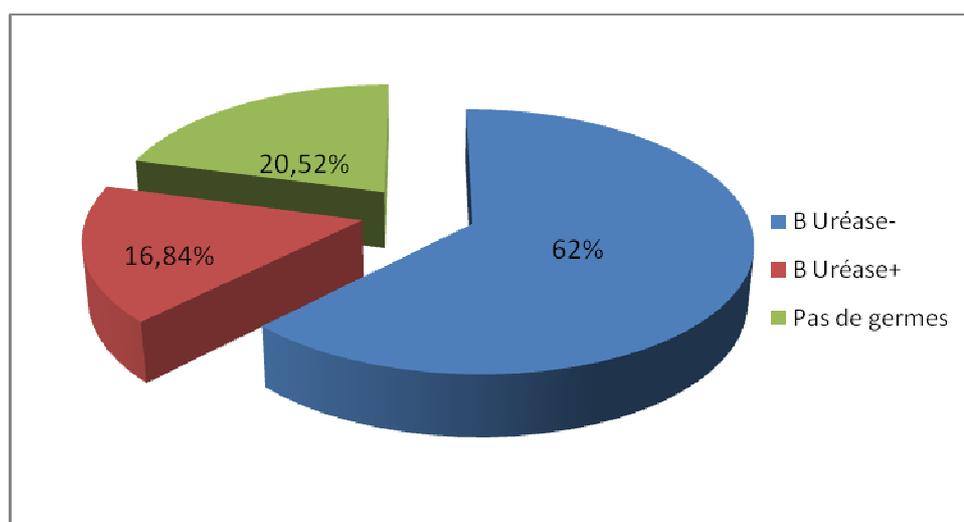


Figure 9 : Répartition des résultats selon les 380 échantillons.

- Répartition des résultats selon le sexe :

Tableau 12 : Répartition des résultats selon le sexe

Sexe	Effectif	Pourcentage
Femmes	22	34,37%
Hommes	42	65,62%
Total	64	100%

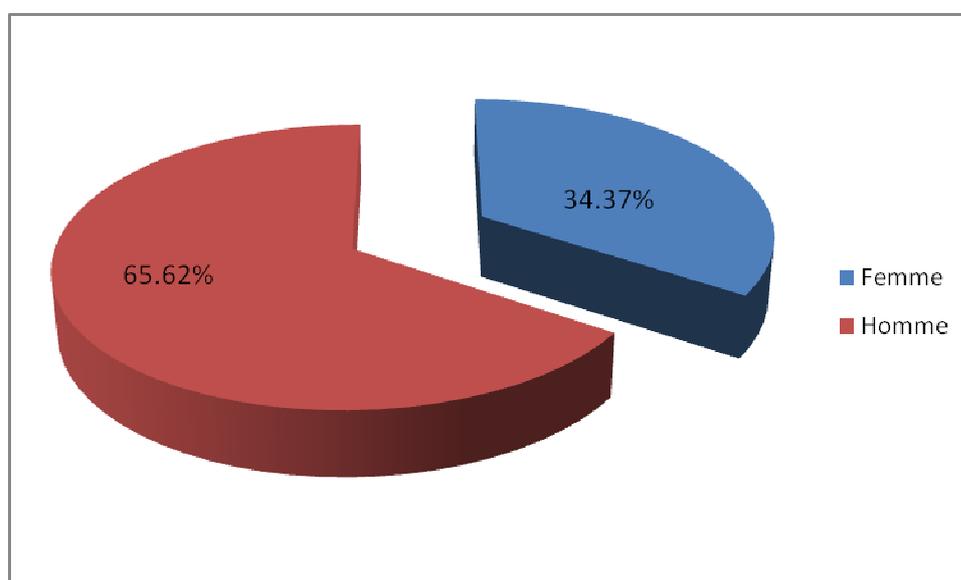


Figure 10: Répartition des cas positifs selon le sexe

- Répartition des résultats selon les germes uréolytique en cause :

Tableau 13 : Répartition des résultats selon les germes uréolytique en cause

Germes	Effectif	Pourcentage
<i>Klebsiella</i>	51	62,5%
<i>Proteus</i>	24	37,5%
Total	64	100%

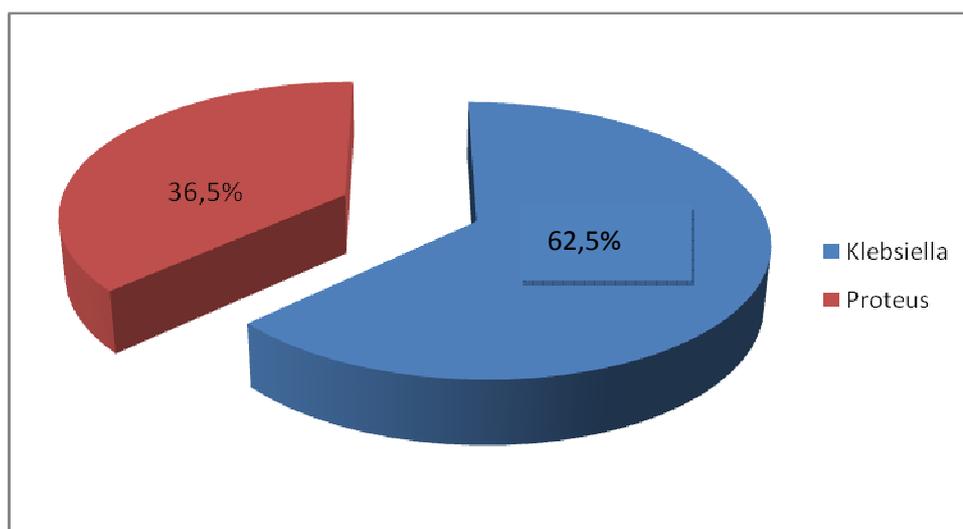
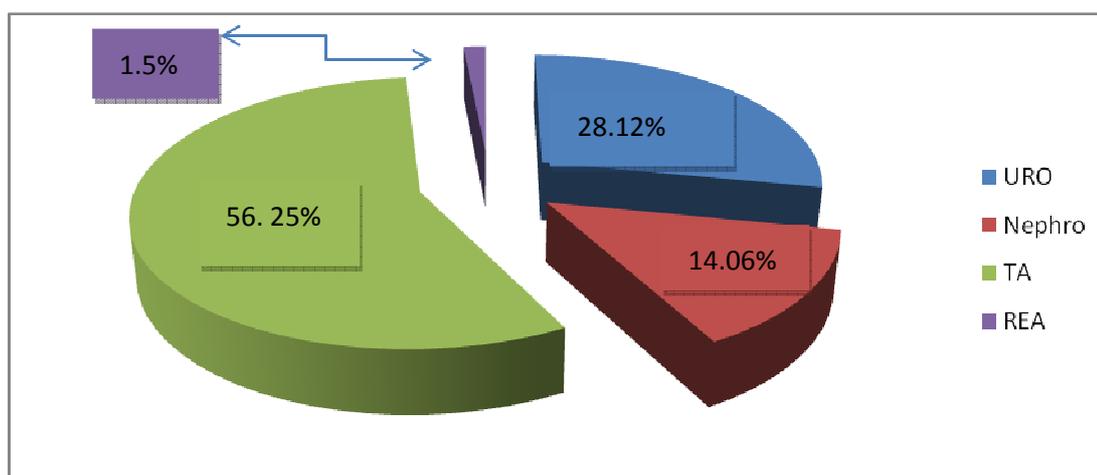


Figure11 : Répartition des cas positif selon les germes en cause

- **Répartition des résultats selon les services :**

Tableau 14 : Répartition des résultats selon les services

Service	Urologie	Néphrologie	Traitement ambulatoire	REA
Effectif	18	9	36	1
Pourcentage	28,12%	14,06%	56,25%	1,5%



URO :Urologie /Nephro : Néphrologie / TA : traitement ambulatoire/ REA :Réanimation

Figure12: Répartition des cas selon les services

7- Résultats et interprétation de l'antibiogramme

- Après 24h d'incubation et pour chaque antibiotique on mesure le diamètre de la zone d'inhibition de croissance bactérienne et cela est fait à l'aide d'un pied à coulisse métallique, deux boîtes sont utilisés pour tester la sensibilité des deux bactéries *Klebsiella* et *Proteus* vis-à-vis des antibiotiques :

✚ Boîte 1 : Ampicilline, Amoxicilline + Acide clavulanique, Céftriaxone, Céfoxitine, Amikacine, Fosfomycine, Sulfaméthoxazole+ Triméthoprim

✚ Boîte 2 :Céfazoline, Acide nalidixique, Furane, Imipenème, Gentamycine, Colistine, Ciprofloxacine

- La sensibilité aux antibiotiques : le diamètre mesurer permet donc d'indiquer si les germes sont sensibles ou résistants à l'antibiotique testé : les résultats obtenus ont été comparés aux valeurs critiques, on peut les classer en 3 catégories Sensible (S), Résistante (R), Intermédiaire (I)

- ***Klebsiella sp***

D'après nos résultats, 51 patients se sont révélés être positifs à une infections urinaire causés par *Klebsiellasp.* (Une souche *K. oxytoca*, et 50 souches *K. pneumoniae*)

Tableau 15 : Profil de résistance de *Klebsiellapneumoniae*

Antibiotique	R		S	
	Souche	Pourcentage	Souche	Pourcentage
Ampicilline	50	100%	0	0%
Amoxicilline+acide clavulanique	35	70%	15	30%
Imipenème	0	0%	50	100%
Céfazoline	28	56%	22	44%
Céfoxitine	9	8%	41	82%
Céftriaxone	37	54%	23	46%
Gentamycine	26	52%	24	48%
Amikacine	42	84%	8	16%
Colistine	2	4%	48	96%
Sulfamethoxazole+ Triméthoprim	31	62%	19	38%
Acide nalidixique	19	38%	31	62%
Ciprofloxacine	28	56%	22	44%
Furane	40	80%	10	20%
Fosfomycine	5	10%	45	90%

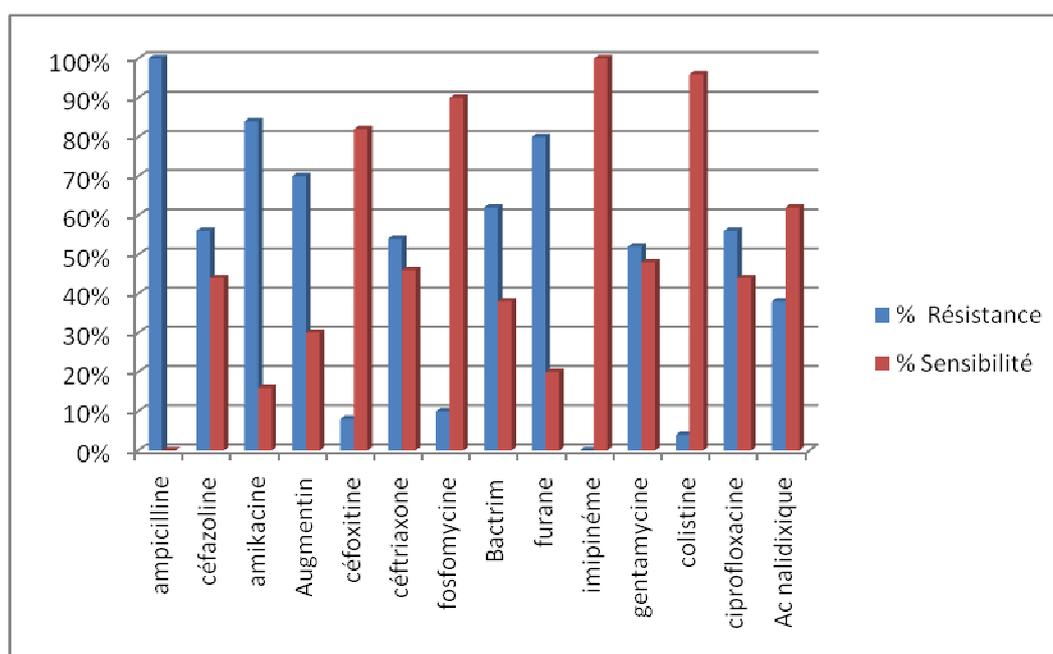


Figure13 : Profil de résistance de *Klebsiellapneumoniae*

Discussion des résultats de *K. pneumoniae* :

➤ **Les bêta- lactamines :**

La résistance élevée aux bêta- lactamine : 100% à l'ampicilline, de nos souches est due à la production de cette bactérie d'une β - lactamase de classe A, de nature chromosomique ce qui fait de ce germe une bactérie naturellement résistante. Ces résultats sont en conformité avec ceux rapportés par Nabti M et *al.*2009 ; Hameza et *al.*2001 [37] [38].

En ce qui concerne l'association Amoxicilline+ acide clavulanique, on remarque que nos souches présentent un taux de résistance de 70% ces résultats sont en conformité avec celles de Nabti M et *al.*2009 avec un taux 50% ; par contre les travaux de Mérens et *al.*2008 ,qui mentionnent un taux de 11,7% [37] [39].

➤ **Les céphalosporines :**

Pour les céphalosporines de 1^{ère} génération ,56% des souches résistantes à la céfazoline ; pour les céphalosporines de 2^{ème} génération, 8% des souches résistantes à la céfoxitine

et pour les céphalosporines de 3^{ème} génération, 54% des souches résistantes à la céftriaxone, selon les pourcentages obtenus on remarque que les céphalosporines de 2^{ème} génération sont les plus actifs sur les souches étudiées, résultats controversé avec les études de John et al. 2001, et Nabti M et *al.*2009 qui disent que les céphalosporines de 3^{ème} génération sont les plus actifs sur les souches de *K. pneumoniae*[37].

➤ Pour l'imipénème, les souches de *K. pneumoniae* conservent une excellente sensibilité avec un taux de résistante de 0%, cette observation est en conformité avec celle rapportée par Nabti M et *al.* 2009 [37].

➤ **Les aminosides**

On note les taux de résistances suivants : 84% pour l'Amikacine et 52% pour Gentamycine, contrairement à nos résultats, les pourcentages de résistance à la gentamycine obtenus par Mérens et *al.* 2008 sont de 5% [39].

Pour la colistine on note une résistance de 4%.

➤ Les Quinolones

Les souches de *K. pneumoniae* étudiées présentent un taux de résistance égale à 38% pour l'acide nalidixique et pour les fluoroquinolones ciprofloxacine, le taux est de 56%. On remarque que ces taux sont élevés, résultats éloignés des taux rapportés par Sakhri A.2011, qui révèle des taux inférieurs à 4,5% pour l'acide nalidixique et 0% pour Ciprofloxacine [16].

- Pour les furanes on note un taux de résistance de 80% ; pour les Fosfomycine on note une résistance de 10%.

Tableau 16 : Profil de résistance de *Klebsiella oxytoca*

Ampicilline	Céfazoline	Céftriaxone	Amoxicilline+Acide clavulanique	Céfoxitine	Amikacine	Fosfomycine
R	R	R	R	S	S	S
Sulfamethoxazole + Triméthoprime	Acide nalidixique	furane	Imipenème	Gentamycine	Colistine	Ciprofloxacine
R	S	R	S	S	S	S

Discussion des résultats de *K. oxytoca*

On remarque un profil de résistance aux : Ampicilline, Amoxicilline+ Acide clavulanique, Céfazoline, Céftriaxone, Sulfamethoxazole+ Triméthoprime, furane.

Par contre on note une sensibilité vis-à-vis les autres antibiotique : Imipenème, Céfoxitine, Amikacine, Gentamycine, Acide nalidixique, Ciprofloxacine, Fosfomycine

• *Proteus sp*

D'après nos résultats, 14 patients se sont révélés être positifs à une infections urinaire causé par *Proteus sp.* (12souches *P. mirabilis*, et 2 souches *P. vulgaris*).

Tableau 17 : Profil de résistance de *Proteus mirabilis*

Antibiotique	R		S	
	Souche	Pourcentage	Souche	Pourcentage
Ampicilline	6	54.5%	5	45.5%
Amoxicilline+acide clavulanique	3	28%	8	72%
Imipenème	10	90%	1	100%
Céfazoline	1	10%	10	90%
Céfoxitine	0	0%	11	100%
Céftriaxone	0	0%	11	100%
Gentamycine	2	18%	9	82%
Amikacine	7	63.5%	4	36.5%
Colistine	10	90%	1	10%
Sulfaméthoxazole+ Triméthoprim	7	63%	4	37%
Acide nalidixique	4	37%	7	63%
Ciprofloxacine	0	0%	11	100%
Furane	9	82%	2	18%
Fosfomycine	3	28%	8	72%

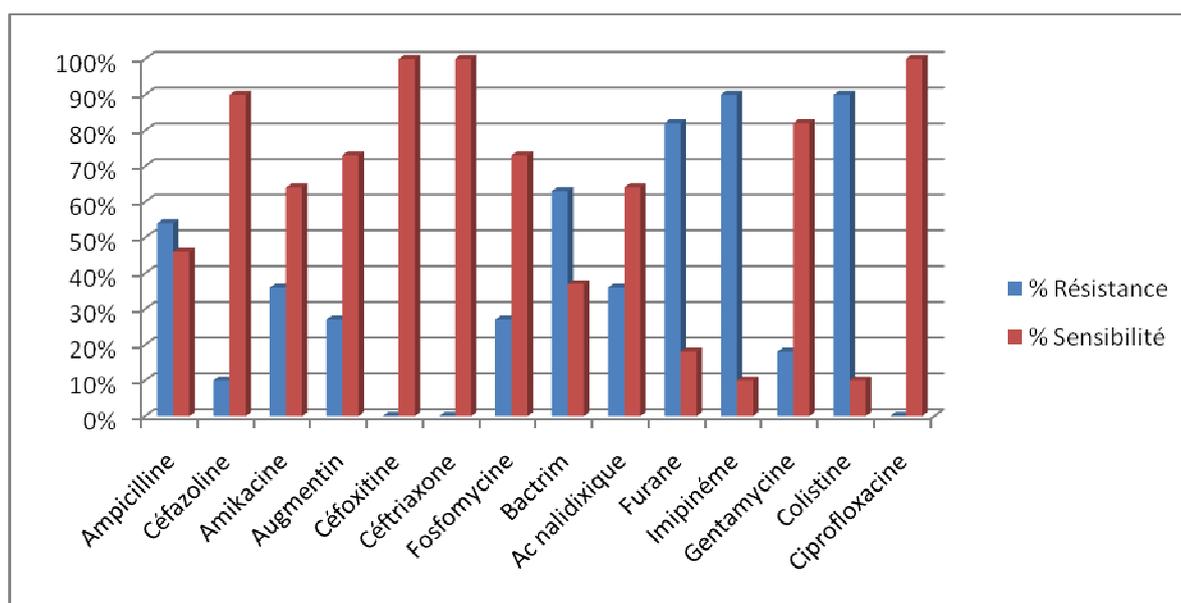


Figure 14: Profil de résistance de *Proteus mirabilis*

Discussion des résultats de *P. mirabilis*

➤ Les bêta- lactamines

Selon le tableau les souches de *Proteus mirabilis* étudiées présentent les taux de résistance suivants vis-à-vis des bêta-lactamines testées : 55% pour l'ampicilline en conformité avec ceux rapporté par Mahmat et *al.* 2006. avec un taux de 59% de souches résistantes[40].

En ce qui concerne l'association de l'Amoxicilline+ acide clavulanique (Augmentin) 28%

Des souches de *Proteus mirabilis* sont résistantes. Ce pourcentage se rapproche de celui mentionné par : L'ONERBA en 2000 avec un taux de 30% des souches résistantes à l'Amoxicilline + acide clavulanique [39].

➤ Les céphalosporines

Pour les Céphalosporines, les souches de *Proteus mirabilis* présentent les taux de résistance suivants : 10% pour laCéfazoline, 0% pour la céfoxitine, 0% pour laCéftriaxone ; ceci se conforme avec les études de Bertrand en 2006 qui indique une sensibilité pour laCéfoxitine et laCéftriaxone. (Ces résultats sont dus à l'absenceCéphalosporinase chromosomique) [41].

➤ Pour l'imipénème, les souches de *Proteus mirabilis* représentent un taux de résistance très élevée de 90%, éloignés des taux rapportés par Nabti M. et *al.* 2009. Qui révèle un taux de 0% [37].

➤ Les aminosides

On note les taux de résistance suivants : 37% pour l'amikacine et 18% pour la gentamycine Ces faibles taux de résistance sont dus à la sensibilité naturelle aux aminosides, celle-ci est en voie d'acquérir des résistances à ces molécules car les taux de résistances de *Proteus mirabilis*aux aminosides étaient inférieurs à ceux mentionnés dans notre étude : Bertrand en 2006 note un taux de résistance de 2% à la gentamycine [41].

➤ Les quinolones et les fluoroquinolones.

Les souches de *P. mirabilis* présente un taux de résistance égale à 37% concernant l'acide nalidixique ce qui est confirmé par les études de Nabti M. et *al.* 2009 avec un taux de 40% et pour la Ciprofloxacin, on note une excellente efficacité sur nos souches isolées avec un taux de 0% de résistance, ces résultat sont en conformité avec Tali et *al.* 1999[37].

Pour la colistine, on note un taux de résistance de 90% (résistance naturelle), pour les furanes on note un taux de résistance de 82%. Et pour la Fosfomycine, un taux de résistance de 28%

Tableau 18 : Profil de résistance de *Proteus vulgaris*

Antibiotique	R		S	
	Souche	Pourcentage	Souche	Pourcentage
Ampicilline	1	50%	1	50%
Amoxicilline+acide clavulanique	0	0%	2	100%
Imipenème	0	0%	2	100%
Céfazoline	1	50%	1	50%
Céfoxitine	0	0%	2	100%
Céftriaxone	0	0%	2	100%
Gentamycine	1	50%	1	50%
Amikacine	0	0%	2	100%
Colistine	2	100%	0	0%
Sulfaméthoxazole+ Triméthoprim	1	50%	1	50%
Acide nalidixique	1	50%	1	50%
Ciprofloxacine	2	100%	0	0%
Furane	0	0%	2	100%
Fosfomycine	1	50%	1	50%

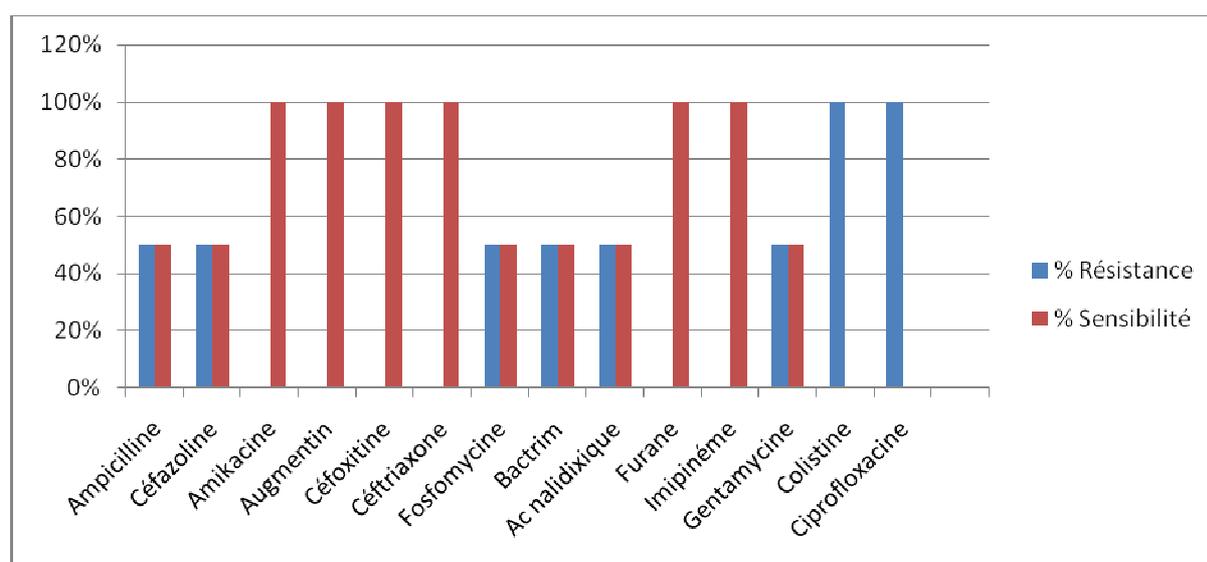
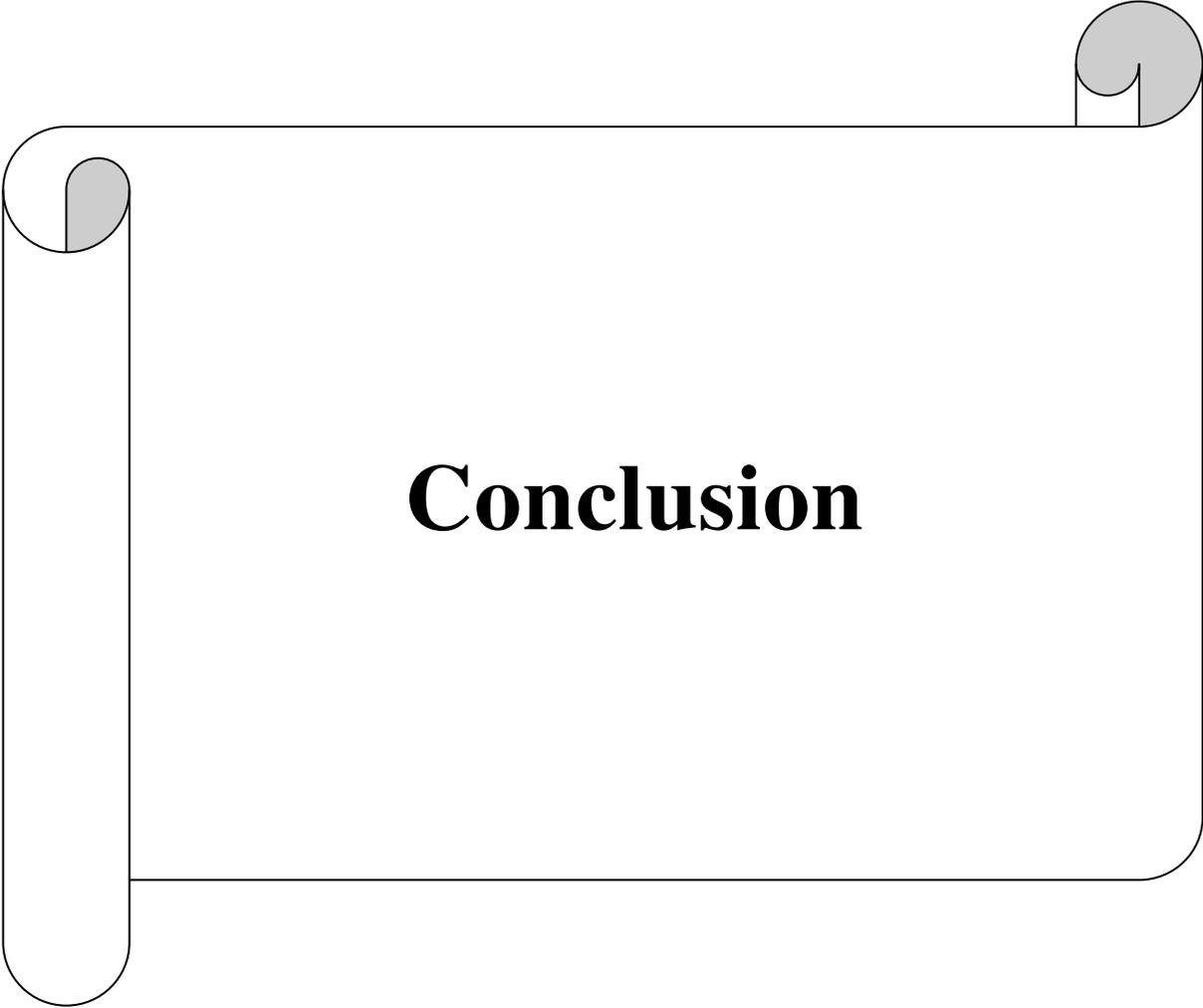


Figure 15 : Profil de résistance de *Proteus vulgaris*

- Les résultats de l'antibiogramme montrent une résistance nette à 100% pour la colistine et la ciprofloxacine, aussi une résistance de 50% est observée pour la majorité des antibiotiques testés : Ampicilline, Céfazoline, Fosfomycine, Sulfamethoxazole+ triméthoprim (bactrim), acide nalidixique et gentamycine ; par contre on observe une sensibilité de 100% pour l'amikacine, la céfoxitine, le céftriaxone, les furanes et l'imipenème.

A decorative scroll graphic with a central text area. The scroll is white with a black outline and features three rolled-up ends: one on the left side and two on the top side. The word "Conclusion" is centered within the scroll.

Conclusion

Conclusion

Les infections urinaires représentent le second site d'infection bactérienne après l'arbre respiratoire, et le premier site d'infection bactérienne nosocomiale.

A la lumière des résultats obtenus, il en ressort que les hommes sont les plus exposés aux infections urinaires avec 65,62% comparés aux femmes avec 34,37%. Les personnes âgées ainsi que les immunodéprimés sont fortement exposés aux infections urinaires.

L'ECBU a démontrée que parmi 380 cas étudiés, 64 échantillons sont infectés par des bactéries uréolytiques et une prédominance du genre *Klebsiella* 62,5 % suivi de *Proteus* 37,5% Ces bactéries sont la cause majeure des calculs rénaux.

L'examen cytologique a mis en évidence la présence des cristaux, d'acide urique et d'oxalate de calcium dans 8 échantillons (6 hommes et 2 femmes).

Le traitement antibiotique doit être adapté aux résultats de l'antibiogramme et à la fonction rénale du patient.

En conclusion les bactéries uréolytiques favorisent la formation des calculs rénaux et donc une meilleure identification du facteur favorisant l'infection urinaire et leur prévention pourrait permettre de réduire le taux de ces infections, car la prévention demeure le meilleur moyen de lutte.

Les résultats obtenus dans cette étude nous permettront de penser aux perspectives suivantes :

- Étaler notre étude sur une large période avec plusieurs échantillons.
- Réaliser une caractérisation plus approfondie avec détermination des sérotypes.
- Réaliser une étude génotypique avec les techniques de biologie moléculaire (PCR, RFLP...) qui pourrait mieux contribuer à comprendre l'épidémiologie des souches étudiées.
- Tester d'autres antibiotiques.

Résumé

Les infections urinaires constituent un véritable problème de santé publique tant par leur fréquence que par leur difficulté de traitement. Il existe quatre types d'infection urinaire : la cystite, urétrite, pyélonéphrite, prostatite.

Les calculs rénaux peuvent être la conséquence d'un grand nombre de facteurs. L'un de ces facteurs c'est l'infection chronique des voies urinaires par un germe uréolytique.

Le diagnostic de l'infection urinaire repose sur l'examen cyto bactériologique (ECBU) avec la mise en évidence des bactéries uréolytiques impliqués dans l'uropathologie et l'étude de leur sensibilité à différents antibiotiques.

Au cours de notre travail nous avons également constaté que la prédominance de l'infection urinaire est causée par *Klebsiella* avec un taux de (62,5 %), et par *Proteus* avec un taux de (37,5%), les souches de *Klebsiella pneumoniae* présentent les taux de résistance suivants : 100% pour AMP ; 70% pour AMC ; 0% pour IM ; 56% CZO ; 8% pour FOX ; 54% pour CRO ; 52% pour GEN ; 84% pour AMK ; 4% pour COL ; 62% pour SXT ; 38% pour NAL ; 56% pour CIP ; 80% pour NIT ; 10% pour FOS ; et une sensibilité pour les antibiotiques suivants : 100% pour IM. les souches de *Proteus mirabilis* présentent les taux de résistance suivants : 55% pour AMP ; 28% pour AMC ; 90% pour IM ; 10% CZO ; 0% pour FOX ; 0% pour CRO ; 18% pour GEN ; 37% pour AMK ; 90% pour COL ; 63% pour SXT ; 37% pour NAL ; 0% pour CIP ; 82% pour NIT ; 28% pour FOS ; et une sensibilité pour les antibiotiques suivants : 100% pour FOX, 100% pour CRO, 100% CIP. les souches de *Proteus vulgaris* présentent les taux de résistance suivants : 50% pour AMP ; 0% pour AMC ; 0% pour IM ; 50% CZO ; 0% pour FOX ; 0% pour CRO ; 50% pour GEN ; 0% pour AMK ; 100% pour COL ; 50% pour SXT ; 50% pour NAL ; 100% pour CIP ; 0% pour NIT ; 50% pour FOS ; et une sensibilité pour les antibiotiques suivants : 100% pour AMC, 100% pour IM, 100% pour FOX, 100% pour CRO, 100% pour AMK, 100% pour NIT.

Les mots clés : Infection urinaire, examen cyto bactériologique des urines, Antibiogramme, Calculs rénaux, germe uréolytique.

Abstract

Urinary tract infections are a real public health problem, both in term of frequency and difficulty in treatment. There are four types of urinary tract infection: cystitis, urethritis, pyelonephritis, and prostatitis.

Kidney stones can be the result of a large number of factors. One of these factors is the chronic infection of the urinary tract with an ureolytic germ.

The diagnosis of urinary tract infection is based on the cytobacteriological examination (ECBU) with the detection of ureolytic bacteria involved in uropathology and the study of their sensitivity to different antibiotics.

During our work we also found that the predominance of the urinary tract infection is caused by *Klebsiella* with a rate of (62.5%), and by *Proteus* with a rate of (37.5%), *Klebsiella* strains *Pneumoniae* have the following resistance rates: 100% for AMP; 70% for AMC; 0% for IM; 56% CZO; 8% for FOX; 54% for CRO; 52% for GEN; 84% for AMK; 4% for COL; 62% for SXT; 38% for NAL; 56% for CIP; 80% for NIT; 10% for FOS; And sensitivity for the following antibiotics: 100% for IM. *Proteus mirabilis* strains have the following strengths: 55% for AMP; 28% for AMC; 90% for IM; 10% CZO; 0% for FOX; 0% for CRO; 18% for GEN; 37% for AMK; 90% for COL; 63% for SXT; 37% for NAL; 0% for CIP; 82% for NIT; 28% for FOS; And sensitivity for the following antibiotics: 100% for FOX, 100% for CRO, 100% CIP. *Proteus vulgaris* strains have the following strengths: 50% for AMP; 0% for AMC; 0% for IM; 50% CZO; 0% for FOX 0% for CRO; 50% for GEN; 0% for AMK; 100% for COL; 50% for SXT; 50% for NAL; 100% for CIP; 0% for NIT; 50% for FOS; And sensitivity for the following antibiotics: 100% for AMC, 100% for IM, 100% for FOX, 100% for CRO, 100% for AMK, 100% for NIT.

Keywords: Urinary tract infection, cytobacteriological examination of urine, Antibiogram, Kidney stones, ureolytic germ.

المخلص

التهابات المسالك البولية تشكل مشكلة هامة للصحة العامة سواء لوتيرتها أو لصعوبة علاجها.

هنالك أربعة أنواع من التهابات المسالك البولية : التهاب المثانة، التهاب الإحليل، التهاب الحويلة و الكلى، التهاب البروستات.

يمكن لحصى الكلى أن يكون نتيجة لعوامل كثيرة، أحد هذه العوامل التهاب المسالك البولية المزمن من قبل بكتيريا uréolytique .

يستند تشخيص التهابات المسالك البولية على الفحص السيتوبكتيريولوجي (تحليل البول) مع الكشف عن البكتيريا uréolytique المشاركة في أمراض المسالك البولية و دراسة حساسيتها للمضادات الحيوية المختلفة .antibiogramme.

خلال عملنا وجدنا أن إنتشار التهابات المسالك البولية التي تسببها *Klebsiella* بمعدل (62.5%) و *Proteus* بمعدل (37.5%).

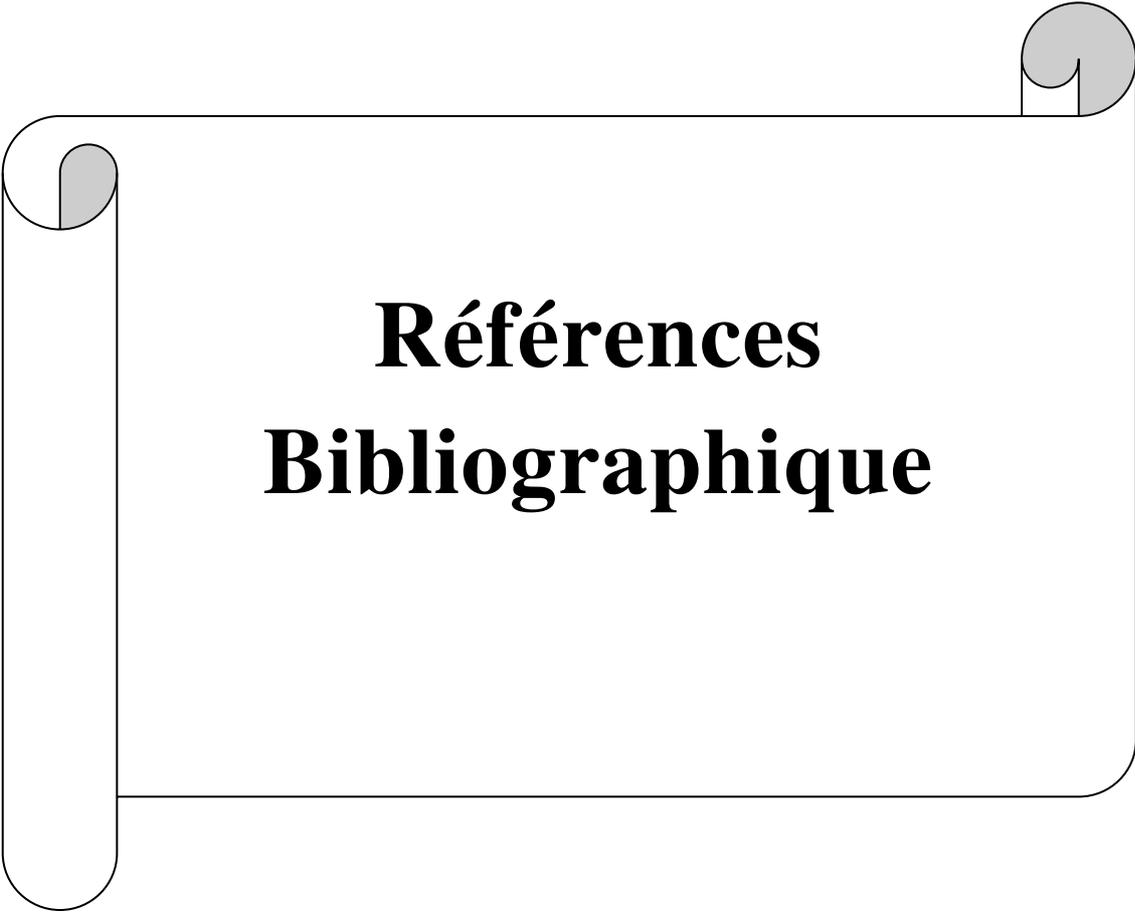
Klebsiella pneumoniae لديها معدل المقاومات التالية: AMP %100، AMC %70، IM %0، CZO %56، FOX %8، CRO %54، GEN %52، AMK %84، COL %04، SXT %62، NAL %38، CIP %56، FOS %10، NIT %80، و لديها حساسية للمضادات الحيوية التالية: IM%100 .

Proteus mirabilis لديها معدل المقاومات التالية: AMP %55، AMC %28، IM %90، CZO %10، FOX %82، CRO %0، GEN %18، AMK %37، COL %90، SXT %63، NAL %37، CIP %0، FOS %28، NIT %28، و لديها حساسية للمضادات الحيوية التالية: CRO %100، FOX %100، CIP %100 .

Proteus vulgaris لديها معدل المقاومات التالية: AMP %50، AMC %0، IM %0، CZO %50، FOX %0، CRO %0، GEN %50، AMK %0، COL %100، SXT %50، NAL %50، CIP %100، NIT %0، FOS %50، و لديها حساسية للمضادات الحيوية التالية: AMC %100، IM %100، FOX %100، CRO %100، AMK %100، NIT %100 .

الكلمات المفتاحية :

التهابات المسالك البولية، حصى الكلى، الفحص السيتوبكتيريولوجي (تحليل البول)، البكتيريا uréolytique، .antibiogramme



**Références
Bibliographique**

Références Bibliographique

[1]- **Verhaegen J** .Bactériologie. [En ligne]

<https://www.Kuleuven.be/vesaliusonline/UNIKEN%20KONGO.doc> (consulté le 20/04/2017)
p1.

[2]-**SAVADOGO M. et Boubkeur Y. (2016)**. Isolement et étude de quelques entérobacteries pathogènes dans les eaux usées d'oued Bomerzoug à Constantine. Université Mentouri. Mémoire de diplôme de master.

[3]- **Philip JK.et William DM. (2011)**. Infection Du Tractus Urinaire. Médecine Interne de Netter. p 1036-1043.

[4]- **Djebaili R. et Guerabsi K. (2016)**. Les infections Urinaires chez le sujet âgé. Université Mentouri. Mémoire de diplôme de master.

[5]- **François A. (2013)**. Infection Urinaires. Hôpitaux Universitaire de Genève.

[6]- **Bruyere F. et al. (2008)**. Progrès En Urologie. Elsevier Masson, France. p 1015-1020.

[7]- **Cristian C. (2008)**. Microbiologie Hygiène Base Microbiologique de la diététique. Edition TEC et DOC Lavoisier, Paris. p 76-86, 257.

[8]- **Madigan M. et Martinko J. (2007)**. Biologie des microorganismes 11^{ème} édition. PEARSON Education, France. p 354-355.

[9]- **Le Minor L. et Veron M. (1989)**. Bactériologie médicale. 2^{ème} édition. Edition Flammarion Médecine-Science, Paris. p 312-459.

[10]- **Delarras C. (2007)**. Microbiologie Pratique Pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle Sanitaire. Edition technique et documentation Lavoisier, Paris. p 128-129-347.

[11]- **Amara I. et Bakiri N. (2009)**. Etude D'antibiorésistance de souche d'entérobacteries isolées des eaux Polluées et en milieu hospitalier. Université Mentouri. Diplôme de mémoire de master.

[12]- **Courvalim P. et al. (2006)**. AntibioGramme 2^{ème} édition. Edition ESKA. p 13.

[13]- **Rachidi N. (2014)**. Epidémiologie et résistance aux antibiotiques de bactéries Isolées d'infection urinaires a l'Hmimv de Rabat. Faculté de médecine et de pharmacie Rabat. Thésée de pharmacie.

Références Bibliographique

- [14]- **Diallo A. (2013)**. Escherichia coli Pathogènes et résistances Humaine et Animale, Prévalence et caractérisation avant et après traitement épuratoire. Université de Toulouse 1 . Thèse de doctorat.
- [15]- **Proyart C. (2003)**. Cours de professeur PROYAT dans la faculté de médecine Necker. Enfant malade. p 62.
- [16]- **Sekhri A.N. (2011)**.Fréquence et marqueurs épidémiologique de Klebsiella pneumoniae dans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Benbadis de Constantine. Université Mentouri. Thèse pour obtention du grade de docteur en sciences.
- [17]- **Galimand M. et al. (2005)**. Worldwide disseminated armA aminoglycoside resistance methylase gene is born by composite transposon Tn 1548. Antimicrobe agents chemother, 49, p 2949-2953.
- [18]- **Gros Jean J.et al**. Bactériologie et virologie pratique. 2^{ème} édition .p 22-24.
- [19]- **Lechheb L. Bendagha Y. (2016)**. Les infections urinaires. Université Mentouri. Diplôme de mémoire de master.
- [20]- **Laringne J.P. (2007)**. Effet des antibiotiques, mécanisme de résistance. Faculté de médecine Montpellier, Nîmes France. Thèse de doctorat.
- [21]- **Chouba M. et al. (2006)**. Les infections urinaires. Rapport de stage. Université Constantine.
- [22]- **Bruyère F. et al. (2003)**. Les infections urinaires. 8 suppl., 1.S4-S8.
- [23]- **Lobel B. Sousy C. (2007)**. Les infections urinaires. springer, Paris. p 242.
- [24]- **Banacrosi S. (2007)**. Bactériologie médicales, paris. p 135-1.
- [25]- **KENKOUO G.A. (2008)**. Etude Bactériologique des infections urinaires au centre Pasteur di Cameroun.
- [26]- **Chartier E**. Urologie : 4^{ème} édition.
- [27]- **Trivalle C. (2004)**. Antibiothérapie et personnes âgées. Elsevier Masson SAS, 2014.

Références Bibliographique

[28]- Agence Française de Sécurité sanitaire de produits de santé (AFSSAPS) Recommandation de bonne pratique : Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires chez l'adulte (2008). [En ligne]

[Http://www.Infectiologie.com/siteMédias/Documentsconsensus/AFssap-Inf-Urinairesadultate-Argumentaire.pdf](http://www.Infectiologie.com/siteMédias/Documentsconsensus/AFssap-Inf-Urinairesadultate-Argumentaire.pdf), consulte le **05/03/2017**.

[29]- **Yabifoua Avhille R. (2006)**. Profil antibiotique des bactéries responsables d'infection urinaire communautaire. Université Bamako. Thèse de doctorat en pharmacie.

[30]- **Barrier Letertre C. (2014)**. Infections urinaires chez les personnes âgées. Université Angers, Rennes. Thèse de doctorat en pharmacie.

[31]- **Roubaud-Boudron C. Gavazzi G. (2014)**. Epidémiologie des bactériémies chez le sujet âgé. Cah. Année Gérontol. p 102- 106.

[32]- **Piette F. (2008)**. Infections urinaires des sujet âgés.

[33]- **Herman H. et Cier J. (1997)**. Précis de physiologie.4ème édition- Paris- New York- Barcelone- Milan. p 159-231.

[34]- **ARKOUN M. (2012)**. Etude de la nutrition uréique et ammoniacale chez Colza (*Brassica napus L*) et developement de nouveaux inhibiteurs d'uréases et de la nitrification. Université de Caen. Thèse de doctorat.

[35]- **Florent S. (03juin2002)**. Caractéristiques génétique des locus uréase de *Yersinia pestis* et *Yersinia pseudotuberculosis*. Université de Lille 1. Thèse de doctorat en biologie et santé

[36]- **Pinganaud G. Rainfray M. (2004)**. Les infections urinaires chez les personnes âgées Neurologie. Psychiatrie. Gériatrie. Volume 4. Issue 24. p 15-21

[37]- **Nabti M. Mimouni K. (2009)**. Incidence d'*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, et *Proteus mirabilis* dans les infections urinaires et leur résistance aux antibiotique. Université Mentouri. Mémoire de diplôme de master.

[38]- **Hamze M. et al. (2003)**. Sensibilité des entérobacteries aux antibiotiques. Faculté de santé publique, université libanaise.

[39]- **Mérens A. et Malec J.Y. (2008)**. Evolution de la resistance aux antibiotiques des entérobactéries, l'ONERBA, France.

Références Bibliographique

[40]- **Mahamat A. et al. (2005)**. Profils de résistance des souches urinaires de *Proteus mirabilis* de 1999- 2005 au CHU de Nimes, France.

[41]- **Bertrand X. (2006)**. Résistance associée chez les bacilles Gram-négatifs, ONERBA, France.

Site d'internet :

[42] http://www.memobio.fr/html/bact/ba_ba_entb.html.

[43] https://www.123rf.com/photo_12092766_bacterial-structure-and-antibiotic-action.html.

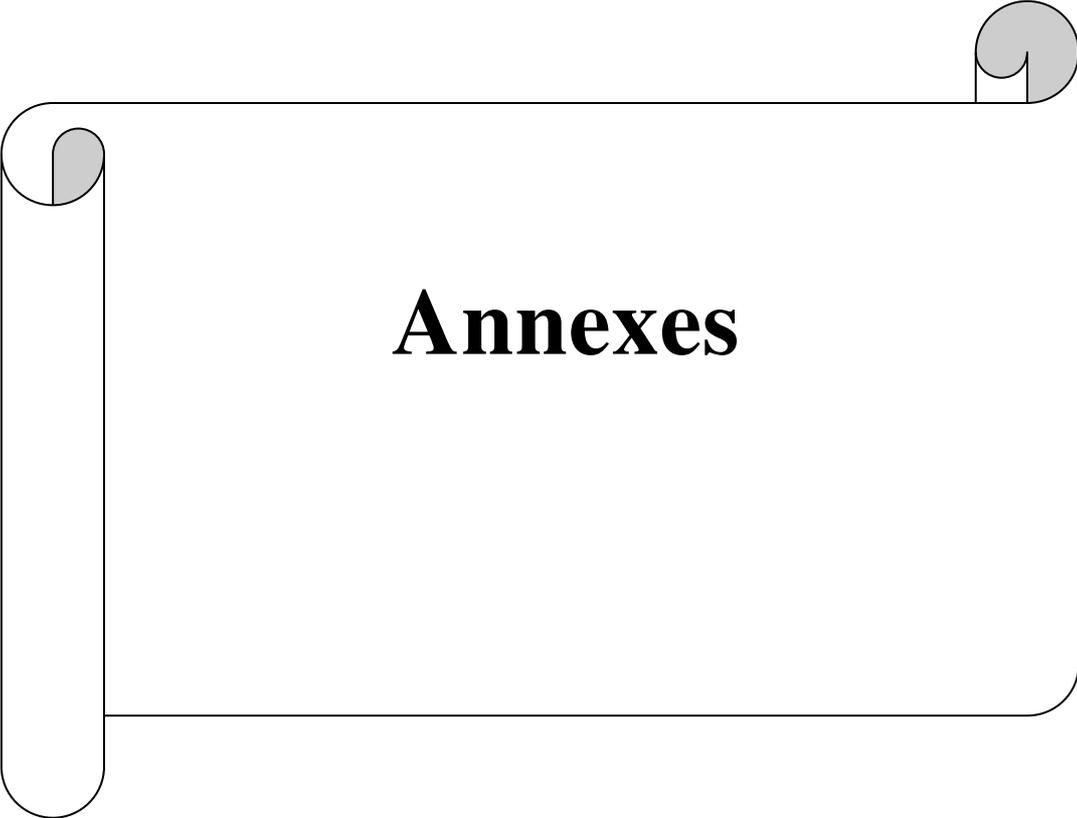
[44] <https://fr.wikipedia.org/wiki/Ur%C3%A9ase>.

[45] <http://www.doctissimo.fr/html/sante/atlas/fiches-corps-humain/appareil-urinaire.htm>.

[46] https://fr.wikipedia.org/wiki/Bandelette_urinaire.

[47] <http://www.fumed1.com/t5964-coloration-de-gram>.

[48] <http://www2.ac-lyon.fr/enseigne/biotech/microbio/milieus.html>.



Annexes

Annexe 1. Coloration de Gram

La coloration permet de distinguer les bactéries Gram positif des Gram négatif, basée sur la différence de composition de la paroi.

-Préparation de frottis

- Etalement
- Séchage
- Fixation

-Coloration

Etapes	Mode opératoire	Temps	Principe
Coloration primaire	-Recouvrir la lame de cristal Violet ou violet de gentiane -Rincer à l'eau distillée et récupérer le cristal violet dans un bécher (ne pas le jeter dans le bac à coloration)	1 minute	Le colorant violet pénètre dans les cellules bactériennes.
Mordantage	-Recouvrir de Lugol -Rincer à l'eau distillée et égoutter	1 minute	Il se forme un complexe Chimique entre le violet et le Lugol qui fixe le violet et colore Le cytoplasme de toutes les bactéries en violet
Décoloration	Tenir la lame inclinée et faire couler pendant quelques secondes de l'alcool à 95° Jusqu'à écoulement incolore -Rincer immédiatement à l'eau distillée et égoutter	5 secondes environ	L'alcool dissout le violet de gentiane, si la paroi bactérienne est perméable à l'alcool (les lipides sont dissous par l'alcool), celui-ci pénètre dans la bactérie et décolore son cytoplasme : la bactérie devient incolore Si la bactérie à une paroi imperméable à l'alcool (épaisse et sans lipide), elle reste coloré en violet et elle est dite Gram+
Coloration secondaire	Recouvrir la lame de fuschine -Rincer à l'eau distillée	1 minute	La fuschine recolore en rose la bactérie précédemment décolorée : bactérie Gram -
Séchage	Egoutter entre 2 morceaux de papier –filtre et laisser sécher		

Annexe 2. Galerie API 20 E

Inoculation de la galerie API 20 E

Avec la suspension bactérienne et la pipette ayant servi au prélèvement , remplir les tubes et cupules des tests : **CTI VP GEL**

- Remplir uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests.
-
- Créer une anaérobiose dans les tests **ADH, LCD, ODC, URE, H2S** en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- Refermer la boîte d'incubation et la placer dans l'étuve à 35-37° C pendant 18 à 24 heures.



Identification de la galerie API 20 E

TABLEAU DE LECTURE DE LA GALERIE MINIATURISÉE API 20E						
Microtube	Substrat :	Caractère recherché	Révélateur	Lecture directe ou indirecte Test (si nécessaire)	Résultat -	Résultat +
ONPG	ONPG = Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	Béta galactosidase		Lecture directe		
ADH LDC ODC	Arginine Lysine Ornithine	Arginine Dihydrolase Lysine Décarboxylase Ornithine Décarboxylase	Rouge de phénol	Lecture directe		
[CIT]	Citrate	Utilisation du citrate	BBT	Lecture directe		
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S	Fe III	Lecture directe		
URÉ	Urée	Uréase	Rouge de Phénol	Lecture directe		 
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase		Lecture indirecte		
IND	Tryptophane	Tryptophanase ou production d'indole		Lecture indirecte	 	 
[VP]	Pyruvate de sodium	production d'acétoine (3-hydroxybutanone)		Lecture indirecte		 
[GEL]	Gélatine	gélatinase	Particules de charbon	Lecture directe		
GLU à ARA = zymogramme	Substrat carboné (glucide)	Utilisation de substrats carbonés (glucides)	BBT	Lecture directe		
NO ₂ ⁻ /N ₂	Nitrates (NO ₃ ⁻)	Nitrate réductase		Lecture indirecte		

Annexe 4. Milieux de Culture**Milieu Gélose nutritive**

Extrait de viande	1,0 g/l
Extrait de levure	2,5 g/l
Peptone	5,0 g/l
Chlorure de sodium	5,0 g/l
Agar	15,0 g/l
pH	7,0

Milieu Mueller-Hinton

Infusion de viande de bœuf	300 ml
Peptone de caséine	17,5 g/l
Amidon de maïs	1,5 g/l
Agar	10g/l
pH	7,4

Milieu Hektoen

Peptone pepsique de viande.....	12,0 g
Extrait autolytique de levure.....	3,0 g
Lactose.	12,0 g
Saccharose	12,0 g
Salicine.....	2,0 g
Sels biliaires	9,0 g
Chlorure de sodium.....	5,0 g
Thiosulfate de sodium	5,0 g
Citrate ferrique ammoniacal	1,5 g
Bleu de bromothymol	65 mg
Fuchsine acide	40 mg
Agar	13,5 g
pH	7,6

Annexe 3. Tableau présente les Antibiotiques testés et les critères d'interprétation des diamètres d'inhibition selon les normes du CLSI 2007

Antibiotique	Charge du disque (μg)	Valeurs critiques des diamètres d'inhibition (mm)		
		Sensible	Intermédiaire	Résistant
Pénicilline G	10	-	-	-
Oxacilline (screening)	5	≥ 26	-	≤ 26
Amoxicilline	25	-	-	-
Céfotaxime	30	-	-	-
Imipenème	10	-	-	-
Erythromycine	15	≥ 21	16-20	≤ 15
Clindamycine	15	≥ 19	16-18	≤ 15
Pristinamycine	15	≥ 19	16-18	≤ 15
Cotrimoxazole	1.25/23.75	≥ 19	16-18	≤ 15
Tétracycline	30	≥ 23	19-22	≤ 18
Chloramphénicol	30	≥ 21	-	≤ 20
Vancomycine	30	≥ 17	-	-
Rifampicine	5	≥ 19	17-18	≤ 16
Lévofloxacine	5	≥ 17	14-16	≤ 13
Ciprofloxacine	5	≥ 19	16-18	≤ 15
Oflaxacine (screening)	5			< 10

Annexe 5. Identification biochimique

L'identification et la classification des entérobactéries sont basées essentiellement sur l'étude des caractères suivants, dont les principaux concernant la mobilité, l'utilisation des sucres (dont particulièrement le lactose) et les caractères : indole, rouge de méthyle, inositol (abandonné), Voges-Proskauer, citrate.

Recherche de l'oxydase

Le disque de papier filtre imprégnés de réactif : l'oxalate de N-diméthyle paraphénylène diamine, qui est incolore sous forme réduite et rouge-violet sous forme oxydée a été utilisé

Déposer, sur une lame porte-objet propre, un disque « Ox » et l'imbiber avec une goutte d'eau distillée ou d'eau physiologique stérile, prélever une partie de la colonie à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée stérile et l'étaler sur le disque.

Recherche de la catalase

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), Produit toxique du métabolisme aérobie de nombreuses bactéries en H_2O et $\frac{1}{2} O_2$.



Prendre une lame porte -objet propre. Déposer sur celle-ci une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes et émulsionner un peu de la colonie suspecte ou de la culture obtenue sur gélose.

Test de nitrate réductase

Le bouillon nitraté est un bouillon de culture permettant la recherche de l'utilisation de l'ion nitrate par certains micro-organismes, notamment par respiration nitrate.

On met une ou deux gouttes dans du bouillon nitraté cultivé pendant 24h à 37°C.

S'ils sont présents, ils donnent une coloration rose en présence d'acide sulfanilique et d' α -Naphtylamine, Ces réactifs portent le nom de réactifs de Griess.

Recherche de l'utilisation du glucose, lactose, production de gaz et H₂S sur le milieu KIA ou TSI

Le milieu **KIA** ou **TSI** est utilisé principalement pour orienter l'identification des entérobactéries (bacilles à Gram-). Il permet de permettre en 24 heures les fermentations du glucose, du lactose et du saccharose (pour TSI), la production d'hydrogène sulfuré (H₂S) et de gaz provenant de la fermentation du glucose.

Ensemencer le culot du milieu par piqure centrale et la pente en stries serrées, afin d'avoir une culture en nappe avec la souche bactérienne à tester. Ne pas revisser à fond le bouchon du tube. Incuber à 37°C pendant 24 heures.

Recherche de l'utilisation du citrate

Le milieu citrate de Simmons est un milieu solide qui permet de mettre en évidence l'utilisation du citrate comme seule source de carbone et d'énergie. Seules les bactéries possédant une citrate perméase seront capables de se développer sur ce milieu.

La pente du milieu est ensemencée par stries sur toute la surface et incubé à 37°C.

Pendant 24 heures, en cas de réaction négative, prolonger l'incubation de 24 heures.

Test de Mannitol Mobilité

Le milieu mannitol mobilité est un milieu semi solide qui permet d'étudier simultanément la dégradation du mannitol (la dégradation en anaérobiose conduit à la formation de fructose qui est un produit de dégradation du mannose) et la mobilité.

L'ensemencement du milieu s'est fait par piqure centrale jusqu'au fond du tube avec la souche à tester à l'aide d'une anse de platine (fil droit sans bouche). Incubation à 37°C durant 24 heures.

Recherche de l'indole et mise en évidence de l'uréase et de la TDA

Le milieu urée-tryptophane, improprement appelé urée-indole est un milieu de culture synthétique utilisé en bactériologie permettant la mise en évidence simultanée :

- De la production de l'indole (par hydrolyse du tryptophane par la tryptophanase)
- De l'hydrolyse de l'urée (par une uréase)
- De la désamination du tryptophane par le tryptophane désaminase

Ensemencer abondamment un milieu urée-indole avec quelques colonies de la souche étudiée et incuber 24 heures à 37°C

Isolement et étude de *Klebsiella sp.* et *Proteus sp.*, bactéries uréolytiques impliquées dans les infections urinaires

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes

Résumé

Les infections urinaires constituent un véritable problème de santé publique tant par leur fréquence que par leur difficulté de traitement. Il existe quatre types d'infection urinaire : la cystite, urétrite, pyélonéphrite, prostatite.

Les calculs rénaux peuvent être la conséquence d'un grand nombre de facteurs. L'un de ces facteurs c'est l'infection chronique des voies urinaires par un germe uréolytique.

Le diagnostic de l'infection urinaire repose sur l'examen cyto bactériologique (ECBU) avec la mise en évidence des bactéries uréolytiques impliquées dans l'uropathologie et l'étude de leur sensibilité à différents antibiotiques.

Au cours de notre travail nous avons également constaté que la prédominance de l'infection urinaire est causée par *Klebsiella* avec un taux de (62,5 %), et par *Proteus* avec un taux de (37,5%), les souches de *Klebsiella pneumoniae* présentent les taux de résistance suivants : 100% pour AMP ; 70% pour AMC ; 0% pour IM ; 56% CZO ; 8% pour FOX ; 54% pour CRO ; 52% pour GEN ; 84% pour AMK ; 4% pour COL ; 62% pour SXT ; 38% pour NAL ; 56% pour CIP ; 80% pour NIT ; 10% pour FOS ; et une sensibilité pour les antibiotiques suivants : 100% pour IM. les souches de *Proteus mirabilis* présentent les taux de résistance suivants : 55% pour AMP ; 28% pour AMC ; 90% pour IM ; 10% CZO ; 0% pour FOX ; 0% pour CRO ; 18% pour GEN ; 37% pour AMK ; 90% pour COL ; 63% pour SXT ; 37% pour NAL ; 0% pour CIP ; 82% pour NIT ; 28% pour FOS ; et une sensibilité pour les antibiotiques suivants : 100% pour FOX, 100% pour CRO, 100% CIP. les souches de *Proteus vulgaris* présentent les taux de résistance suivants : 50% pour AMP ; 0% pour AMC ; 0% pour IM ; 50% CZO ; 0% pour FOX ; 0% pour CRO ; 50% pour GEN ; 0% pour AMK ; 100% pour COL ; 50% pour SXT ; 50% pour NAL ; 100% pour CIP ; 0% pour NIT ; 50% pour FOS ; et une sensibilité pour les antibiotiques suivants : 100% pour AMC, 100% pour IM, 100% pour FOX, 100% pour CRO, 100% pour AMK, 100% pour NIT.

Mots clés : Infection urinaire, examen cyto bactériologique des urines, Antibiogramme, Calculs rénaux, germe uréolytique.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de bactériologie de clinique rénal Daksi

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mme RIAH N. (MCB - UFM Constantine),
Rapporteur : Mme BOUZERAIB L (MAA- UFM Constantine),
Examineur : Mme GUERGOURI B. (MAA- UFM Constantine).

Date de soutenance : 15/06/2017

