



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث 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 والحياة

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 : *Ecologie Microbienne*

Intitulé :

Les infections urinaires à Ain M'lila

Présenté et soutenu par : Gasmi Razika

Le : 19/06/2018

Salhi Sara

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : BOUBEKRI Karima

(Maître de conférences – UFM Constantine).

Rapporteuse : GACI Meriem

(Maître-assistante - UFM Constantine).

Examinatrice : RIAH Nassira

(Maître de conférences - UFM Constantine).

*Année universitaire
2017 - 2018*



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث 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 والحياة

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 : *Ecologie Microbienne*

Intitulé :

Les infections urinaires à Ain M'lila

Présenté et soutenu par : Gasmi Razika

Le : 19/06/2018

Salhi Sara

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : BOUBEKRI Karima

(Maître de conférences – UFM Constantine).

Rapporteuse : GACI Meriem

(Maître-assistante - UFM Constantine).

Examinatrice : RIAH Nassira

(Maître de conférences - UFM Constantine).

*Année universitaire
2017 - 2018*

Remerciements

Au terme de ce travail du mémoire de master, les mots justes sont difficiles à trouver pour exprimer nos remerciements à « Allah » le tout puissant de nous avoir donné la force pour survivre, ainsi que le courage pour dépasser toutes les difficultés.

*On tient beaucoup à présenter nos remerciements à :
Notre encadrante M^{elle} **GACI Meriem**, pour ses conseils judicieux, ses critiques constructives et sa patience ainsi que son suivie tout au long de notre travail.*

*Nous tenons à remercier les membres du jury :
La présidente du jury Mme **BOUBEKRI Karima** qui nous a fait l'honneur d'accepter de présider ce jury.*

*À Mme **RIAH Nassira** d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nos vifs remerciements vont également à toute l'équipe technique du laboratoire central de l'hôpital Sliman Amirat d'Ain M' Lila, notamment Mme **BAHERI**,
Mlle Khadija, Mme Amel et Mlle Houda.*

Enfin nous adressons nos profonds remerciements à tous ceux qui, de près ou de loin, nous ont aidés dans la concrétisation de ce travail.

**Sara
Razika**

Dédicaces

Je dédie ce travail à mon très cher papa « Ramdhan » qui a été et sera toujours un exemple pour moi par ses qualités humaines, son honnêteté et sa responsabilité

Je dédie avec joie et fierté le fruit de ce travail à ma chère mère « Samia » qui s'est tant battue pour mon bien être, pour sa bienveillance et sa force qu'elle me transmet pour traverser les plus difficiles épreuves

A mes chères sœurs : Ahlem- Amina – Khadija

A mes chers frères : Ismail – Mohammed Zakaria

A mes très chers grands parents, Puisse dieu vous accorder santé, longue vie et prospérité « Baba semati , mama zohra, nana nouara »

A toute ma famille maternelle et paternelle.

A mon binôme Razika source de l'amitié, merci pour tous ces bons moments passés avec toi

A mes très chers amis

Aussi d'autres personnes que je n'ai pas eu l'occasion de les mentionner

Sara

Je dédie ce travail à mon père Abed Allah qui m'a permis de réaliser et de réussir mes études, et sans qui tout cela n'aurait pas été possible.

Merci pour tes conseils, et tes encouragements, je t'en serai pour toujours reconnaissante.

A ma mère Cherifa, source d'amour, de tendresse et de bien-être, à la lumière de mon existence.

A mes très chers frères Abed Elkader, faride, Djalile, Mohammed, Rabeh et Omar

A mes très chères sœurs Meriem, Fahima, Sabrina et Samia

A mes nièces et mes neveux : Housseem, Fateh, Oussema et Amina

A mon binôme Sara source de l'amitié, merci pour tous ces bons moments passés avec toi

A mes très chers amis

Aussi d'autres personnes que je n'ai pas eu l'occasion de les mentionner

Razika

Résumé

Les infections urinaires (IU) constituent un véritable problème de santé publique. Elles représentent le second site d'infections bactériennes après l'arbre respiratoire, et le premier site d'infections bactériennes nosocomiales.

Notre étude ayant pour but d'isoler et d'identifier les germes responsables des IU et de tester leurs profils de sensibilité aux antibiotiques, et aussi l'étude des caractéristiques épidémiologiques des infections urinaires dans la région d'Ain M'Lila, Wilaya d'Oum El Bouaghi.

Le diagnostic des IU repose essentiellement sur l'ECBU qui doit être pratiqué avant toute antibiothérapie. Il repose sur un examen microscopique minutieux et une interprétation rigoureuse de la culture bactérienne.

Dans notre étude, nous avons identifié 38 microorganismes. La plupart d'entre eux appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* dont l'*Esherichia coli* est de loin la bactérie la plus fréquemment isolée (44.72%), suivie de *Proteus mirabilis* (13.15%), et de *Klebsiella pneumoniae* (10.52%). Nous avons trouvé aussi d'autres microorganismes tels que : *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, Staphylocoque à coagulase négatif, *Serratia marcescens*, *Citrobacter koseri*, *Klebsiella ornithiolytica*, *K. oxytoca*, *Providencia stuartii* et aussi des levures.

L'étude de la résistance des bactéries isolées aux différents antibiotiques a montré une variabilité selon les souches.

Les résultats épidémiologiques montrent une prédominance féminine avec un pourcentage de 84% et que 39.47% des malades ont une infection urinaire nosocomiale.

Mots clés : Infection urinaire, Examen cyto bactériologique des urines, *Enterobacteriaceae*, Antibiogramme.

Abstract

Urinary tract infections (UTIs) are a real public health problem. They represent the second site of bacterial infections after the respiratory tree, and the first site of nosocomial bacterial infections

Our study aims to isolate and identify the germs responsible for UI and to testify their susceptibility profiles to antibiotics, and also the study of the epidemiological characteristics of urinary tract infections in the region of Ain M'Lila, Wilaya of Oum El Bouaghi.

The diagnosis of UTI is based primarily on CBEU, which must be performed before any antibiotic therapy. It is based on careful microscopic examination and a rigorous interpretation of bacterial culture.

In our study, we identified 38 microorganisms. Most of them belong to the *Enterobacteriaceae* family. *Esherichia coli* is by far the most frequently isolated bacterium (44.72%), followed by *Proteus mirabilis* (13.15%), and *Klebsiella pneumoniae* (10.52%). We also found other microorganisms such as: *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, Coagulas-negativeStaphylococcus,*Serratiamarcescens*, *Citrobacter koseri*, *Klebsiella ornithiolytica*, *K. oxytoca*, *Providencia stuartii* and also yeasts.

The study of the resistance of the isolated bacteria to the different antibiotics showed variability according to the strains.

The epidemiological results have shown that the prevalence of UTIs is feminine with a percentage of 84% and that of 39.47% atients have a nosocomial urinary tract infection.

Key words: Urinary tract infection, cytobacteriological analysis of urines, *Enterobacteriaceae*, Antibiogram.

ملخص

تشكل التهابات المسالك البولية مشكلة حقيقية للصحة العمومية وتمثل ثاني موقع لالتهاب البكتيري بعد الجهاز التنفسي وأول موقع لالتهابات البكتيرية الناتجة عن عدوى المستشفيات. أجرينا دراسة بهدف عزل وتحديد الجراثيم المسؤولة عن الالتهابات البولية واختبار مدى حساسيتها للمضادات الحيوية وكذا دراسة مظاهر انتشار الالتهابات البولية بمنطقة عين مليلة ولاية ام البواقي. ان تشخيص الالتهابات البولية يعتمد أساسا على التحليل السيتوبكتريولوجي للبول (ECBU) الذي يطبق قبل اي استهلاك للمضادات الحيوية. وهو يعتمد على معاينة ميكروسكوبية دقيقة و تفسير دقيق للزرع الجرثومي.

عند دراستنا حددنا 38 جرثومة، معظمها تنتمي إلى عائلة البكتيريا المعوية و بكتيريا القولون تمثل البكتيريا لأكثر عزل (44,72%) تليها *Proteus mirabilis* (13,15%) و *Klebsiella pneumoniae* (10,52%) ووجدنا كذلك جراثيم اخرى مثل: *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella*, *Citrobacter koseri*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Providencia stuartii* و *K. oxytoca*, *ornitholytica* و ايضا الخمائر.

عند دراسة مقاومة البكتيريا وتعريضها لعدة مضادات حيوية تبين ان مقاومتها تختلف حسب السلالة. أظهرت النتائج الوبائية ان الاناث اكثر عرضة لالتهاب البولي بنسبة تقدر ب 84% و ان 39,47% من أمراض الالتهابات البولية ناتجة عن عدوى المستشفيات.

الكلمات المفتاحية: التهاب المسالك البولية، التحليل السيتوبكتريولوجي للبول، البكتيريا المعوية، الانتيبيوغرام.

Liste des abréviations

ACU : Acide urique

ADH : Arginine dihydrolase

AipA : Adhésion et invasion médiée par l'autotransporteur *Proteus*

AMY : Amygdaline

AFSSAPS : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé

API : Appareillage et Procédé d'Identification

ARA : Arabinose

ATB : Antibiotique

BGN : Bacille à Gram négatif

BU : Bandelette urinaire

CGP : Cocci à Gram positif

CIT : Citrate

CNF : Facteur cytotoxique nécrosant

Bap : Protéine d'adhésion associée aux biofilm.

ECBU : Examen Cytobactériologique des Urines

Epa : Antigène Polysaccharidique Entérococcique

Esp : Protéine de surface

GEL : Gélatine

Glu : Glucose

GN : Gélose nutritive

IND : Indole

INO : Inositol

IU : Infection urinaire

LDC : Lysine décarboxylase

MAN: Mannitol

MEL: Melibiose

ml: millilitre

NAFs : Fimbriae non agglutinantes

OC : Oxalate de Calcium

ODC : Ornithine Décarboxylase

ONPG : Ortho-nitro-phényl- β -D-galactopyranoside

PMF : Fimbriae de type *Proteus mirabilis*

R : Résistance

RHA: Rhamnose

S: Sensible

SAC: Saccharose

SOR : Sorbitol

SPILF : Société de Pathologie Infectieuse de la Langue Française

TaaP : Autoagglutinine trimérique autotransporteur de *Proteus*

TDA : Tryptophane

UA : Urates amorphes

UafA : Adhésine facilite l'adhésion à uroépithélium

UFC : Unie faisant colonie

UPEC : *Escherichia coli* Uropathogène

URE : Urée

VP : Réaction de vouge-proskauer

VPN : Valeurs prédictives négatives

VPP : Valeurs prédictives positives

Liste des figures

Figure 01 : Composants de l'appareil urinaire	03
Figure 02 : Forme topographique de types d'infection urinaire	08
Figure 03 : Réalisation de l'examen à la bandelette urinaire	19
Figure 04 : Schéma récapitulatif des différentes étapes de l'ECBU	20
Figure 05 : La galerie API 20E	25
Figure 06 : Les différents aspects des urines.....	29
Figure 07 : Observation microscopique des éléments cytologiques sous microscope optique (G x400)	31
Figure 08 : Aspect macroscopique des colonies bactériennes appartenant à la famille des <i>Enterobactériaceae</i> après 24h d'incubation	32
Figure 09 : Résultat d'identification d' <i>E. coli</i>	35
Figure 10 : Résultat d'identification de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	35
Figure 11 : Résultat d'identification d' <i>Enterobacter cloacae</i>	35
Figure 12 : Résultat d'identification de <i>Klebsiella ornithiolytica</i>	35
Figure 13 : Résultat d'identification de <i>Proteus mirabilis</i>	35
Figure 14 : Résultats de l'antibiogramme d' <i>E. coli</i>	36
Figure 15 : Résultats de l'antibiogramme de <i>K. pneumoniae</i>	36
Figure 16 : Résultats de l'antibiogramme de <i>Proteus mirabilis</i>	37
Figure 17 : Résultats de l'antibiogramme d' <i>Enterobacter cloacae</i>	37
Figure 18 : Répartition des échantillons selon le résultat de la culture	38
Figure 19 : Pourcentage des différents éléments de l'examen cytologique	40
Figure 20 : Répartition des infections urinaires selon le sexe	41
Figure 21 : Répartition des infections urinaires selon l'état du patient	42
Figure 22 : Répartition des IU nosocomiales selon les services	42
Figure 23 : Répartition des IU selon les souches isolées	43
Figure 24 : Répartition des entérobactéries parmi les germes isolés	44
Figure 25 : Répartition d' <i>E. coli</i> parmi les entérobactéries isolées	44

Liste des tableaux

Tableau 01 : Les constituants anormaux de l'urine	05
Tableau 02 : Caractères biochimiques de quelques espèces identifiées	34
Tableau 03 : Répartition des éléments cytologiques chez les patients d'ECBU négatifs	39
Tableau 04 : Répartition des éléments cytologiques chez les patients d'ECBU positifs	40

Table des matières

Introduction	01
Chapitre 1 : Etude bibliographique	
1. L'appareil urinaire	02
1.1. Définition	02
1.2. L'anatomie de l'appareil urinaire.....	02
1.2.1. Le rein.....	02
1.2.2. Les uretères.....	02
1.2.3. La vessie	02
1.2.4. L'urètre	02
2. L'urine	03
2.1. Définition	03
2.2. Formation	04
2.3. Composition	04
2.4. La coloration	05
2.5. L'odeur	05
2.6. Le pH	05
2.7. Le volume	05
3. Les infections urinaires.....	06
3.1. Classification des IU	06
a. Les IU simples	06
b. Les IU à risque de complication.....	06
c. Les IU graves.....	06
d. Cystites récidivantes.....	06
e. La colonisation urinaire ou bactériurie asymptomatique	06
f. L'IU communautaire.....	07
g. L'IU nosocomiale	07
3.2. L'aspect clinique et complication	07
a. Cystite.....	07
b. Pyélonéphrite.....	07
c. Infections urinaires asymptomatiques de la femme enceinte	07
d. Prostatite.....	08
3.3. Physiopathologie.....	08

3.4. Facteurs favorisant l'infection urinaire	09
3.4.1. Facteurs liés à la bactérie elle-même.....	09
3.4.1.1. Bactéries à Gram négatif	09
a. <i>Escherichia coli</i> uropathogène (UPEC).....	09
b. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	10
c. <i>Proteus mirabilis</i>	10
3.4.1.2. Bactéries à Gram positif	11
a. Staphylocoques	11
b. Autres staphylocoques à coagulase négative	11
3.4.1.3. Autres microorganismes	12
a. <i>Candida</i>	12
b. <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	12
3.4.2. Facteurs liés à l'hôte	12
3.5. Mécanismes de défense de l'hôte.....	12
3.5.1. Le flux permanent d'urine et le péristaltisme.....	12
3.5.2. La jonction urétéro-vésicale	12
3.5.3. Caractéristiques physico-chimiques de l'urine.....	13
3.5.4. La miction.....	13
3.5.5. L'urètre	13
3.5.6. La flore vaginale.....	13
3.5.7. Les sécrétions prostatiques	13
3.5.8. Facteurs limitant l'invasion de la muqueuse	13
3.6. Diagnostic	14
3.6.1. La bandelette urinaire (BU).....	14
3.6.2. Examen cyto bactériologie des urines	14
3.7. Traitement	14
3.8. Epidémiologie	15

Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

1. Lieu et la période d'étude	16
2. Prélèvement.....	16
2.1. Précautions de prélèvement	16
2.2. Conditions de transport et conservation.....	16
3. Manipulation.....	17

3.1. Examen macroscopique des urines	17
3.2. Analyse biochimique des urines.....	17
3.3. Examen cyto bactériologique des urines.....	19
3.3.1. Examen cytologique	19
3.3.1.1. Examen cytologique quantitatif.....	19
3.3.1.2. Examen cytologique qualitatif.....	21
3.3.2. Examen bactériologique	21
3.3.2.1. Identification bactérienne	22
a. Recherche de catalase	22
b. Recherche de la coagulase	22
c. La galerie biochimique API 20E.....	23
3.3.2.2. Antibiogramme	27

Chapitre 3 : Résultat et discussion

1. Examen macroscopique des urines	29
2. Analyse biochimique des urines	30
3. L'examen cyto bactériologique des urines	30
3.1. Examen cytologique.....	30
3.1.1. Examen cytologique quantitatif.....	30
3.1.2. Examen cytologique qualitatif.....	31
3.2. Examen bactériologique.....	31
3.2.1. Dénombrement des cultures	31
3.2.2. Observation des cultures et identification des colonies.....	32
3.2.3. Identification bactérienne	33
a) Test de la catalase	33
b) Test de la coagulase.....	33
c) La galerie biochimique API 20E	33
3.2.4. Résultats et interprétation de l'antibiogramme	36
4. Résultats épidémiologiques	38
4.1. Répartition des échantillons selon le résultat de la culture	38
4.2. Répartition des éléments cytologiques selon la positivité et la négativité de l'ECBU.....	39
4.3. Répartition des infections urinaires selon le sexe	40

4.4. Répartition des infections urinaires selon les patients hospitalisés et non hospitalisés	41
4.5. Répartition des infections urinaires nosocomiales selon les services	42
4.6. Répartition des souches isolées	43
4.7. Répartition des entérobactéries parmi les germes isolées	43
4.8. Répartition d' <i>E. coli</i> parmi les entérobactéries isolées	44
Conclusion	45
Références bibliographiques	46
Annexes	

Introduction

Les infections urinaires viennent en deuxième position des maladies infectieuses contractées par l'homme après les maladies respiratoires (Goldstein, 1991). On parle d'infection urinaire dans le cas d'une présence d'un germe pathogène dans l'urine en présence d'une symptomatologie compatible (Schmiemann *et al.*, 2010).

Les IU sont caractérisées par leur fréquence plus élevée chez la femme que chez l'homme du fait de la conformation de l'appareil urogénital féminin (APPIT, 1991).

L'examen cyto bactériologique des urines (ECBU) permet d'affirmer le diagnostic et de guider le traitement est, aussi et de loin, l'examen le plus fréquemment demandé à un laboratoire de microbiologie. Il permet d'isoler les microorganismes responsables et en déterminant la sensibilité ou la résistance de ces germes identifiés aux antibiotiques (Abalikumwe, 2004).

Pour cela on s'est intéressé au cours de cette étude à examiner les urines des patients suspectés ayant une infection urinaire. L'objectif de notre travail a porté principalement sur :

- Isolement et identification des bactéries responsables des infections urinaires par :
 - La chimie des urines.
 - L'examen macroscopique des urines.
 - L'examen cyto bactériologique des urines.
 - Etudier le profil de résistance, des bactéries identifiées, aux antibiotiques.
- Etudier l'aspect épidémiologique des infections urinaires.

Chapitre 1

Revue

bibliographique

1. L'appareil urinaire

1.1. Définition

L'appareil urinaire est l'ensemble des organes qui permettent au corps d'éliminer les déchets et les substances toxiques, donc qui assure l'évacuation des produits du catabolisme du corps humain sous une forme liquide : l'urine qui provient de la filtration du sang (Brizon, 1998; Nevers, 2017).

1.2. L'anatomie de l'appareil urinaire

Le système urinaire est constitué par un haut appareil urinaire (reins, uretère), et un bas appareil urinaire (vessie, urètre) (Nevers, 2017).

1.2.1. Le rein

Deux glandes en forme haricot de chaque côté de la colonne vertébrale, qui assure de nombreuses fonctions : Élimination des déchets de l'organisme (urée, créatine, acide urique) et des substances chimiques exogènes (toxiques, médicaments) ; et l'équilibration des sels minéraux et de l'acidité sanguine (Brizon, 1998 ; Nevers, 2017).

1.2.2. Les uretères

Ce sont deux fin conduits qui relient chaque rein à la vessie ; et sont essentiellement des conduits qui transportent l'urine des reins à la vessie (Brizon, 1998 ; Marieb, 2008).

1.2.3. La vessie

C'est un sac musculaire lisse et rétractile qui emmagasine temporairement l'urine, la vessie sert de réservoir pour l'urine ; il possède un système anti-reflux qui empêche l'urine de remonter vers les reins (Brizon, Marieb, 2008).

1.2.4. L'urètre

L'urètre part de la base de la vessie, donc c'est un canal évacuateur de la vessie ; chez l'homme l'urètre traverse la prostate, situé juste au-dessous du col de la vessie, puis la verge ; permet de transporter soit l'urine, soit le sperme ; et chez la femme

l'urètre aboutit en avant du vagin, permet d'acheminer l'urine hors d'organe (Brunner *et al.*, 2011).

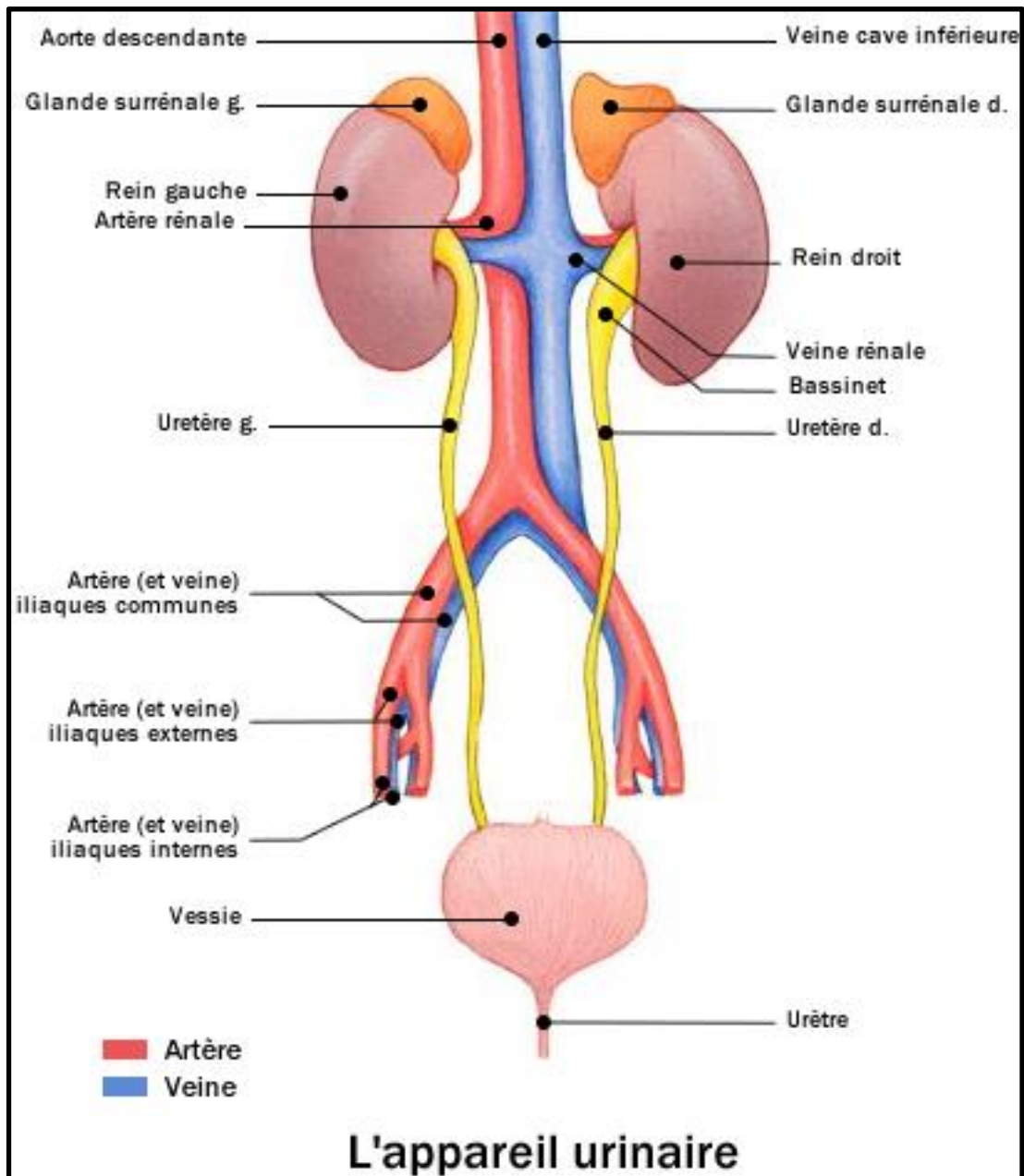


Figure 01 : Composants de l'appareil urinaire (Ach, 2000).

2. L'urine

2.1. Définition

L'urine est un liquide sécrété de façon continue, élaborée par les néphrons. Elle passe successivement du tube collecteur de Bellini (au sommet de la papille rénale) aux petits puits aux grands calices, ensuite dans le bassinet et les uretères. Au niveau des

uretères, des ondes péristaltiques favorisent l'écoulement des urines qui descendent vers la vessie (Ramé et Théron, 2009).

2.2. Formation

L'urine se forme par un processus complexe comportant 3 étapes essentielles :

- **La filtration** : il s'agit d'un processus passif et non sélectif au cours duquel les liquides et les solutés sont poussés à travers une membrane par la pression hydrostatique, on parle d'urine glomérulaire ou d'urine initiale (Ramé et Théron, 2012) ;
- **La réabsorption tubulaire** : l'eau, le glucose, les acides aminés et les ions nécessaires sont retirés du filtrat ; ils traversent les cellules tubulaires puis entrent dans le sang capillaire (Marieb, 2008) ;
- **La sécrétion tubulaire** : les ions H^+ et K^+ , la créatinine et les médicaments sont retirés du sang péri-tubulaire et sécrétés par les cellules tubulaires dans le filtrat (Marieb, 2008).

2.3. Composition

La composition de l'urine est variable d'un jour à l'autre, mais relativement stable, qui est constituée par différents éléments, elle est formée en grande partie de 95% d'eau, tenant dissolution environ 5% de matières inorganiques et de matières organiques (Brizon, 1998).

C'est la quantité de l'eau qui détermine le volume des urines. Des urines trop concentrées ou au contraire trop diluées peuvent témoigner d'un problème au niveau d'organes aussi divers que le rein. Les sels minéraux (sodium, potassium, calcium, chlore, sulfates, magnésium, phosphates) sont mesurés par l'ionogramme urinaire. Il est normal que l'urine contient les substances organiques (urée, créatinine, acides aminés, acide urique, petites protéines, certaines vitamines)... Toutefois, certains déséquilibres (acide urique par exemple) peuvent témoigner de problèmes endocriniens ou métaboliques. À l'état normal, elle ne contient pas de protéines (comme l'albumine ou les immunoglobulines) et de glucose. Une petite quantité de globules rouges et de globules blancs (moins de 5000 par millilitre) peut s'y retrouver (Eddi, 2010). Le tableau 01 résume les constituants anormaux de l'urine.

Tableau 01 : Les constituants anormaux de l'urine (Marieb, 2008).

Constituants	Etat	Causes possibles
Glucose	Glucosurie	diabète sucré
Protéines (albumine)	Protéinurie	hypertension, glomérulonéphrite
Pus (globules blancs et bactéries)	Pyurie	Infection des voies urinaires
Erythrocytes	Hématurie	Saignement des voies urinaires
Hémoglobine	Hémoglobinurie	Anémie hémolytique
Pigments biliaires	Bilirubinurie	Maladie du foie (hépatite)

2.4. La coloration

Les urochromes, produits de couleur jaune contenant de l'azote issus de la dégradation de l'hémoglobine, sont responsables de la couleur jaunâtre des urines. Des urines brunâtres ou rougeâtres sont le signe d'un saignement au niveau du rein ou des voies urinaires (hématurie). Des urines troubles ou laiteuses blanchâtres sont en faveur d'une présence importante de globules blancs (leucocyturie), d'un trouble ou d'une floculation (Schäffler *et al.*, 2008).

2.5. L'odeur

L'odeur est légèrement aromatique, l'urine qu'on laisse reposer dégage une odeur d'ammoniac attribuable à l'action des bactéries sur ses solutés, certains médicaments, certains légumes et quelques maladies (ex : diabète) modifient aussi son odeur (Marieb, 2008).

2.6. Le pH

Le pH est légèrement acide (environ 6), mais il peut devenir beaucoup plus acide ou beaucoup plus alcalin selon le métabolisme et le régime alimentaire (Marieb, 2008).

2.7. Le volume

La quantité d'urine émise chaque jour est variable (entre 1 et 2 litres). Cela dépend de l'âge, de la quantité d'eau absorbée, de l'alimentation, de la température extérieure, de l'activité physique, etc... (Eddi, 2010).

3. Les infections urinaires

Les infections urinaires (IU) correspondent à la mise en évidence d'un germe pathogène dans l'urine. Elles peuvent être localisées dans les voies urinaires basse (cystite, urétrite, prostatite, épидидymite) ou haute (pyélonéphrite ou pyélite) (Brandstättere *et al.*, 2013).

3.1. Classification des IU

a. Les IU simples

Ce sont des IU survenant chez des patients sans facteur de risque de complication (SPILF, 2015).

b. Les IU à risque de complication

Ce sont des IU survenant chez des patients ayant au moins un facteur de risque pouvant rendre l'infection plus grave et le traitement plus complexe. Ces facteurs de risque de complication sont : La grossesse, sexe masculin, du fait de la fréquence des anomalies fonctionnelle de l'arbre urinaire sous-jacentes ou anatomique, Toute anomalie fonctionnelle ou organique de l'arbre urinaire, quel que soit (reflux, lithiase, tumeur, résidu vésical...), insuffisance rénale chronique sévère, immunodépression grave, sujet âgé et le diabète (SPILF, 2015).

c. Les IU graves

Elles sont soit simples ou à risque de complication (pyélonéphrite ou IU masculin) associées à un sepsis, un choc septique et indication de drainage chirurgical (Bigot, 2017).

d. Cystites récidivantes

Elles sont définies par la survenue d'au moins 4 épisodes pendant 12 mois consécutifs (Rioux, 2010).

e. La colonisation urinaire ou bactériurie asymptomatique

Elle est définie par la présence d'un microorganisme dans les urines sans manifestation clinique spécifique associée, il n'y a pas de seuil de bactériurie sauf chez la femme enceinte (100000 UFC/ml) (Rioux, 2010).

f. L'IU communautaire

Une IU est dite communautaire lorsqu'elle n'est pas acquise dans une structure de soins où lorsqu'elle n'est pas liée aux soins (Bruyère *et al.*, 2008).

g. L'IU nosocomiale

L'IU est dit nosocomiale dans les cas suivants:

- Cas 1 : si aucune infection antérieure de l'arbre urinaire n'était présente ou en incubation à l'admission;
- Cas 2 : si une infection antérieure de l'arbre urinaire était présente mais le microorganisme identifié est différent, ou l'infection précédente était déclarée comme guérie ;
- Cas 3 : si l'état à l'admission n'est pas connu et l'infection est apparu après un délai de 48 heures (Butreau-lemaire et Botto, 1997).

3.2. L'aspect clinique et complication

a. Cystite

C'est la plus fréquente des IUs, c'est une inflammation courante de la vessie chez la femme ; les signes et les symptômes comprennent d'ordinaire la dysurie (miction impérieuse, difficile et douloureuse) et la pyurie (présence de pus dans l'urine), la principale complication est l'infection ascendante (pyélonéphrite) (Pichard, 2002).

b. Pyélonéphrite

C'est une infection de l'arbre urinaire haut révélée par une fièvre élevée des frissons, des lombalgies spontanées ou provoquées plus ou moins associés à des troubles urinaires bas et à une altération de l'état général , une pyélonéphrite peut se compliquer d'abcès rénal , de septicémie ou de pyélonéphrite chronique responsable d'une néphrite interstitielle chronique et, à terme, d'une insuffisance rénale ; l'agent causal est *Escherichia coli* (Pichard, 2002).

c. Infections urinaires asymptomatiques de la femme enceinte

Leur fréquence rend le dépistage systématique souhaitable (bandelette urinaire) au mieux une fois par mois, le traitement étant recommandé (Pichard, 2002).

d. Prostatite

Elle survient sur une prostate saine ou adénomateuse, fréquence accrue chez l'homme âgé ou l'immunodéprimé révélation par fièvre élevée plus ou moins frissons, troubles mictionnels, parfois douleurs pelviennes et rétention aigue, le toucher rectal est douloureux, une prostatite aigue négligée va évoluer vers la chronicité se révélant souvent par épisodes fébriles à répétition (figure 02) (Pichard, 2002).

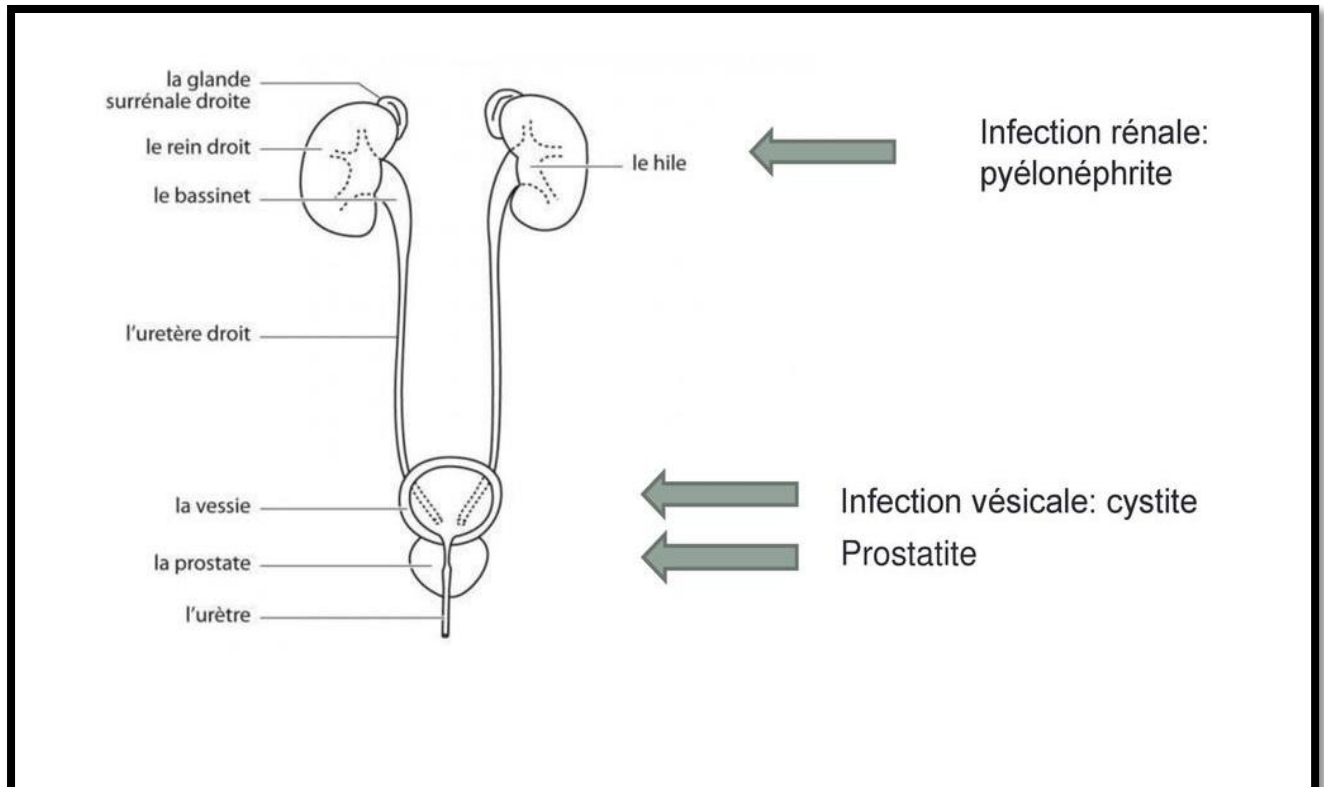


Figure 02 : Forme topographique de types d'infection urinaire (Moreddu, 2007).

3.3. Physiopathologie

L'urine, normalement stérile dans les organes urinaires, est souillée au cours de la miction. Chez l'homme, les derniers centimètres de l'urètre pénien sont le siège d'une flore saprophyte. Chez la femme, l'extrémité de l'urètre est également le siège d'une flore saprophyte et sa brièveté rend beaucoup plus fréquents les infections urinaires par les germes situés dans le vagin (Haerti et Conort, 1991).

Pour causer une infection, les microorganismes doivent parvenir au niveau de la vessie ou du tissu rénal en échappant aux mécanismes de défense de l'hôte et débiter leur croissance (Thirion et Williamson, 2003).

Dans la majorité des cas, les microorganismes vont coloniser la région périurétrale pour ensuite accéder à la vessie par croissance ascendante dans l'urètre (Gupta et Stamm, 1999). Si les pathogènes parviennent à surmonter les mécanismes de défense, ils pourront atteindre la vessie et causer une cystite (Thirion et Williamson, 2003).

Par la suite, en l'absence d'une réponse immunitaire et/ou de soins adéquats, il peut y avoir une prolifération continue avec progression dans les uretères jusqu'au parenchyme rénal. Une infection rénale, la pyélonéphrite, peut résulter en des complications graves et compromettantes à moins d'avoir recours à des soins immédiats (Thirion et Williamson, 2003). La voie ascendante est spécialement pour les bactéries d'origine intestinale (*Escherichia coli* et autres entérobactéries) (Bruyère *et al.*, 2008).

Dans de rares cas, une infection urinaire peut plutôt résulter de l'insémination hémotogène ou de la transmission contiguë des tissus infectés adjacents. À noter que ce sont surtout les staphylocoques et le *Candida sp.* qui sont la cause des infections hémotogènes (Thirion et Williamson, 2003).

D'autre part, bien qu'il y ait des ramifications lymphatiques au niveau du rein, il existe très peu de données pour appuyer cette voie comme source d'infection (Thirion et Williamson, 2003).

3.4. Facteurs favorisant l'infection urinaire

3.4.1. Facteurs liés à la bactérie elle-même

La virulence d'une bactérie au niveau urinaire est principalement déterminée par la présence des facteurs d'adhérence.

3.4.1.1. Bactéries à Gram négatif

a. *Escherichia coli* uropathogène (UPEC)

On distingue deux principaux groupes de fimbriae chez *E. coli*. Ils se différencient par leur capacité à agglutiner les érythrocytes en fonction de la présence ou de l'absence de mannose (Beyère et Boiteux, 2011).

- Les adhésines mannose-sensibles ou pili de type 1 se fixent aux résidus D-mannose des protéines de l'épithélium de la vessie (Ulett *et al.*, 2013).

- Les adhésines mannose-résistantes ou pili de type P se lient aux récepteurs glycolipidiques présents sur la membrane des cellules rénales (Dobrindt, 2010), Ils sont donc un facteur de virulence à l'origine de pyélonéphrites (AFSSAPS, 2008).

Ces adhésines permettent la colonisation, l'invasion mais aussi la formation du biofilm où les bactéries adhèrent entre elles en couche et sont ainsi protégées. Leur fixation aux cellules urothéliales peut aussi induire une apoptose et une exfoliation. L'accès aux tissus plus profonds est ainsi facilité (Dhakal *et al.*, 2008).

D'autres facteurs de virulence sont présents chez *E. coli*. Les siderophores (aérobactine, entérobactine) sont sécrétés par les bactéries pour chélater le fer. Ainsi les bactéries captent le fer de l'hôte et l'utilisent pour leur croissance (Ulett *et al.*, 2013).

Des toxines ont également un rôle important. Le facteur cytotoxique nécrosant détruit les cellules de l'épithélium urinaire, associée à l' α -hémolysine, qui lyse les érythrocytes, cela contribue au phénomène inflammatoire, perturbe la cascade de signalisation cellulaire et induit l'apoptose de la cellule hôte, libérant des nutriments dont le fer, essentiel à la croissance et à la survie bactérienne (Dhakal *et al.*, 2008). Ces toxines facilitent ainsi l'invasion et la dissémination dans la cellule hôte (Ulett *et al.*, 2013).

b. *Klebsiella pneumoniae*

De même pour UPEC, *K. pneumoniae* utilise des pili de type 1 afin de coloniser la vessie (Gerlach *et al.*, 1989), *K. pneumoniae* code de nombreux autres pili y compris les pili de type 3, qui jouent également un rôle important dans la colonisation, la formation de biofilm et la répétition des épisodes infectieux (Struve *et al.*, 2008 ; Guiton *et al.*, 2012 ; Murphy *et al.*, 2013).

c. *Proteus mirabilis*

Après l'attachement initial, *P. mirabilis* produit un Proteus-like résistant au mannose (MR/P), qui facilite la formation de biofilm et la colonisation de la vessie et des reins, il joue un rôle primordial lors de la formation de biofilm sur les sondes urinaires (Armbruster et Mobley, 2012).

Les fimbriae de type *P. mirabilis* (**PMF**) sont importants pour la colonisation de la vessie et des reins. Les fimbriae non agglutinantes (**NAFs**) sont capables de s'attacher aux cellules uroépithéliales *in vitro* ; **TaaP** (autoagglutinine trimérique autotransporteur de *Proteus*), pour l'infection de la vessie, et **AipA** (adhésion et invasion médiée par l'autotransporteur de *Proteus*), pour l'infection des reins (Armbruster et Mobley, 2012).

P. mirabilis produit également une enzyme uréase puissante, qui hydrolyse l'urée en dioxyde de carbone et en ammoniac qui entraîne une alcalinisation de l'urine (Thomas et Tolley, 2008).

3.4.1.2. Bactéries à Gram positif

a. Staphylocoques

Les espèces staphylococciques qui causent des infections urinaires peuvent être divisées en trois : *Staphylococcus aureus*, *S. saprophyticus* et autres staphylocoques à coagulase négative (Walsh et Collyns, 2017).

S. aureus peut représenter une contamination par la flore périnéale ; ou être due à la propagation hématogène, impliquant le rein, d'un foyer ailleurs résultant de «descendant» urinaire (Bonnett *et al.*, 2015), parfois la source peut être la prostate (Walsh et Collyns, 2017).

S. saprophyticus provoque rarement des infections chez les hommes ou les femmes plus âgées. Il a une unique protéine d'adhésion, **UafA**, qui facilite son adhésion à l'uroépithélium cellules. Il produit de l'uréase, ainsi que diverses protéines de transport, qui lui permettent de survivre et de se multiplier (Flores-Mireles *et al.*, 2015).

b. Autres staphylocoques à coagulase négative

Les infections dues à ces organismes sont presque entièrement réservées aux patients hospitalisés avec des problèmes urologiques sous-jacents généralement avec un portage de cathéter à demeure. 90% de ces infections sont due à *Staphylococcus epidermidis*. Cet organisme, bien qu'il soit peu virulent chez un hôte en bonne santé, il est bien adapté d'adhérer à des matières étrangères (ex. cathéter urinaire) et former un biofilm. Il peut produire des autolysines qui se lient directement aux plastiques et autres composés ; et des produits bactériens tels que la protéine associée à l'accumulation,

protéine homologue **Bap**, l'adhésion du polysaccharide intercellulaire et l'ADN extracellulaire contribuent à la formation du biofilm (Bonnett *et al.*, 2015).

3.4.1.3. Autres microorganismes

a. *Candida*

Les espèces de *Candida* sont une flore commensale humaine normale, elles sont également capables de former des biofilms sur les surfaces prothétiques (Bonnett *et al.*, 2015).

b. *Mycobacterium tuberculosis*

Les reins peuvent être impliqués dans la propagation hématogène d'organismes de *M. tuberculosis* à partir d'un site ailleurs, généralement situé dans le poumon (Bonnett *et al.*, 2015).

3.4.2. Facteurs liés à l'hôte

Certains facteurs sont liés à l'hôte et qui sont considérés comme facteurs de risque tels que : les rapports sexuels, l'utilisation de spermicides, diurèse insuffisante, lithiase urinaire, sténose de l'urètre, hypertrophie bénigne de prostate, reflux vésico-urétéral, ménopause et grossesse, vêtements moulants, constipation, infection génitale, défaut d'hygiène périnéale (Sabbah, 2015), anomalies de l'arbre urinaire (cancer, tumeur), sondage, diabète et immunodépression (Berthélémy, 2014).

3.5. Mécanismes de défense de l'hôte

3.5.1. Le flux permanent d'urine et le péristaltisme

L'urine produite par les reins est collectée à la sortie des papilles rénales par 2 à 3 calices majeurs (supérieur, moyen et inférieur), eux-mêmes formés par la confluence de calices mineurs. Ces calices majeurs se réunissent et forment le bassinnet aussi appelé pelvis rénal. Grâce au péristaltisme, l'urine est transportée vers la vessie à travers l'uretère (Hickling *et al.*, 2015).

3.5.2. La jonction urétéro-vésicale

Les uretères, tubes-musculaires ayant pour origine la jonction pyélorétérale parcourent l'espace rétro-péritonéal et s'abouchent dans la vessie en traversant de

manière oblique sa paroi formant ainsi la jonction urétéro-vésicale (Hickling *et al.*, 2015).

3.5.3. Caractéristiques physico-chimiques de l'urine

L'osmolarité, le pH et la teneur en acide organique de l'urine protège l'arbre urinaire de sa colonisation par les agents pathogènes (Caron, 2003).

3.5.4. La miction

Si une pullulation microbienne intravésicale parvient toute fois à se produire, la miction suivante permet d'éliminer 99.9% de la population bactérienne (Caron, 2003).

3.5.5. L'urètre

Du fait de sa longueur comprise entre 13 et 20 cm l'urètre, de l'homme est un moyen de défense contre l'ascension des bactéries provenant de la flore périnéale. L'urètre de la femme, plus court (entre 3.8 et 5.1cm) la protège moins (Hickling *et al.*, 2015).

3.5.6. La flore vaginale

Le vagin de la femme en âge de procréer est peuplé par une flore riche en lactobacilles produisant de l'acide lactique. Cet acide empêche la croissance des bactéries uropathogènes et leur colonisation de l'arbre urinaire (Hickling *et al.*, 2015).

3.5.7. Les sécrétions prostatiques

Chez l'homme, les sécrétions prostatiques ont des propriétés antibactériennes, elles permettent d'inhiber la croissance des bactéries (Caron, 2003).

3.5.8. Facteurs limitant l'invasion de la muqueuse

Plusieurs facteurs limitent l'invasion de la muqueuse (Caron, 2003) :

- La présence d'inhibiteurs de l'adhésion bactérienne à la surface de l'urothélium (protéines de Tamm-Horsfall, mucopolysaccharides) ;
- L'existence d'un effet bactéricide local indépendant de la réponse inflammatoire et de la réponse immunitaire ;
- Le processus d'exfoliation des cellules infectées.

3.6. Diagnostic

Le diagnostic d'une IU repose sur l'existence d'un tableau clinique évocateur, d'une bactériurie et d'une leucocyturie significatives objectivé par chimie des urines et examen cytot bactériologie des urines.

3.6.1. La bandelette urinaire (BU)

C'est une bandelette réactive détectant la présence de leucocytes à partir de 10000 leucocytes /ml (témoin de la réaction inflammatoire) et de nitrite (produit par les entérobactéries uniquement) à partir de 100000 bactéries /ml, toutes les bactéries ne produisent pas de nitrite car certaines sont dépourvues de nitrate réductase (exemple *Pseudomonas sp.*). C'est un examen d'orientation caractérisé par :

- Chez la femme symptomatique, l'absence simultanée de leucocyte et de nitrites présente une très bonne valeur prédictive négative (>95%) en l'absence d'immunodépression, une BU négative doit faire rechercher un autre diagnostic ;
- Chez l'homme, une BU positive pour les leucocytes et/ou nitrites à une bonne valeur prédictive positive (>85%) en revanche, une BU négative ne permet pas d'éliminer une infection urinaire (Pilly, 2018).

La bandelette positive ne signe pas forcément la présence d'une IU (Bouvet, 2010).

3.6.2. Examen cytot bactériologique des urines

L'examen cytot bactériologique des urines (ECBU) est un examen explorant les infections urinaires basse (asymptomatiques, cystites) ou leurs complications, les infections urinaires hautes (pyélonéphrites, prostatites) (Pasquier *et al.*, 2017).

L'ECBU est indispensable devant toute suspicion clinique d'IU, à l'exception de la cystite simple, il n'est pas recommandé de réaliser d'ECBU, de contrôle en cas d'évolution satisfaisante d'IU.

3.7. Traitement

La prise thérapeutique des infections urinaires diffèrent selon la localisation haute ou basse de l'IU, le traitement comportait :

- Des règles hygiéno-diététiques (boissons abondantes >1,5 L ; mictions complètes ; hygiène périnéale et vaginal correcte, éviter de port de pantalons trop serrés et de sous vêtement en fibres synthétiques, régulariser le transit intestinal) (Berthélémy, 2014) ;
- Des antibiotiques (ATB): on utilise des ATB bactéricides (Fosfomycine-Trometamol, FluoroQuinolone, Céphalosporine de 3^{ème} génération) adapté à l'antibiogramme et la durée. La durée du traitement était de 8-15 jours ;
- La surveillance de l'évolution était réalisée par des ECBU de contrôle au troisième jour du traitement et après son arrêt (Bourquia *et al.*, 1992).

3.8. Epidémiologie

L'IU est l'une des infections les plus fréquentes : elle est la plus fréquente en pathologie liée aux soins, la seconde en pathologie communautaire après les infections respiratoires. La prévalence est plus grande chez les patients âgés hospitalisés ou vivant en institution qu'à domicile, elle augmente aussi avec la durée d'hospitalisation (Congy, 1994).

Les IU sont fréquentes dans tous les pays :

- Elles sont plus fréquentes chez la femme surtout au début de l'activité sexuelle et après la ménopause ; la source des germes étant essentiellement d'origine digestive alors les facteurs favorisant sont les troubles du transit (constipation) et (diarrhées) une hygiène inadaptée (toilette périnéale insuffisante, essuyage d'arrière en avant, mictions retenues) et une hydratation et des mictions insuffisantes ;
- Chez l'homme les IU sont plus rares, l'incidence augmente à 50 ans avec l'apparition des problèmes prostatiques et chez l'enfant : une IU doit faire évoquer une malformation urologique (Pichard, 2002).
- Chez le sujet âgé, le risque d'infection urinaire augmente. Entre 65 et 70 ans, 20% des femmes et 5% des hommes peuvent être atteints. Après 80 ans, 20 à 50 % des femmes et 20% des hommes risquent d'avoir une IU (Congy, 1994).

Chapitre 2

Matériel et méthodes

1. Lieu et la période d'étude

Notre étude a été réalisée au niveau de l'hôpital Sliman Amirat, situé dans la commune d'Ain M'Lila wilaya d'Oum El Bouaghi. Les échantillons d'urine analysés ont été prélevés à partir de patients de plusieurs catégories avec un nombre total de 193 échantillons. L'étude s'est étendue sur une période de 8 semaines, du 14 février au 14 avril 2018 au niveau du laboratoire central section Bactériologie-Parasitologie.

2. Prélèvement

Le but est de recueillir des urines non contaminées par la flore commensale vaginale et/ou urétrale (AFSSAPS, 2007).

La quantité des bactéries présentes dans les urines et dépend largement des méthodes et des conditions de prélèvement et des conservations des urines.

2.1. Précaution de prélèvement

La méthode de recueil la plus fréquemment utilisée est celle du (milieu de jet) il s'agit d'éliminer les premiers 20 ml d'urine pour ne recueillir, dans un récipient stérile, que les urines du deuxième jet en prenant soin de ne pas toucher le bord supérieur du récipient on identifie le récipient avec le nom, prénom, date et heure de collecte (SPILF, 2015).

Chez l'homme et le garçon : après nettoyage du méat urinaire, les urines du second jet sont recueillies de façon stérile. Mais chez la femme et la fillette : le prélèvement est précédé d'une toilette périnéale soignée fait d'avant en arrière pour éviter les contaminations fécales avec plusieurs compresses humectées de sérum physiologique. Pour nourrisson : après un nettoyage de la région périnéale et désinfection locale, un collecteur est placé au moyen d'un adhésif. Concernant les patients sondés, l'urine est prélevée dans la sonde, à la seringue de 5 ml (Caquet, 2010).

2.2. Conditions de transport et de conservation

Dans l'idéal, les urines recueillies dans un récipient stérile doivent êtreensemencées dans les 20 minutes. Elles ne doivent jamais être conservées plus de 2 heures à température ambiante ou, à défaut, conservées à 4°C pour une durée maximale de 24 heures. Des

milieux de transport contenant de l'acide borique permettent de conserver les urines à température ambiante pendant 48 heures (SPILF, 2015).

3. Manipulation

La manipulation se fait par plusieurs techniques pendant 3 jours pour une identification précise. On commence par une étude macroscopique et biochimique des urines durant le premier jour ; puis une étude cytobactériologique des urines qui prend trois jours.

3.1. Examen macroscopique des urines

L'examen macroscopique de l'urine homogénéisée permet d'apprécier :

- La limpidité ou le caractère trouble d'une urine qui ne signifie pas systématiquement la présence d'une infection et peut simplement refléter la présence de cristaux ;
- La coloration de l'urine : une urine jaune clair est normale mais une autre coloration peut être pathologique ou des urines colorés (d'origines alimentaires ou médicamenteuses) (Marieb, 2008).

3.2. Analyse biochimique des urines

L'intérêt essentiel de l'analyse biochimique des urines par la bandelette urinaire réside dans sa possibilité de réalisation au lit du malade et dans sa valeur prédictive négative.

Chez un patient non sondé, son excellente valeur prédictive négative (VPN) permet d'éliminer le diagnostic lorsqu'elle est négative, en évitant ainsi la réalisation d'un ECBU inutile (Puisieux, 2012).

Le test se compose d'une bandelette présentant des zones réactives de chimie sèche permettant de rechercher dans l'urine la présence qualitative et/ou semi-quantitative de différents paramètres tels que les leucocytes, les nitrites, le pH, les protéines, le glucose, les corps cétoniques, l'urobilinogène, la bilirubine, les érythrocytes (ou le sang) et la densité urinaire.

Dans la pratique, l'urine est correctement homogénéisée en tournant lentement, à plusieurs reprises, le gobelet. La bandelette est immergée une seconde (au maximum) dans l'urine en humectant entièrement toutes les zones réactives, (figure 03) la lecture doit se faire après 1 et 2 minutes.

La lecture de la bandelette urinaire est effectuée visuellement en comparant les couleurs de réaction à l'échelle colorimétrique indiquée sur l'emballage. La lecture des résultats concernant les nitrites, les protéines, le glucose, le pH, les corps cétoniques, l'urobilinogène, la bilirubine et le sang, est effectuée après une minute. C'est après deux minutes qu'il convient de lire les résultats relatifs aux leucocytes.

La détection des leucocytes urinaires repose sur la mise en évidence des estérases, des polynucléaires neutrophiles qui prolifèrent lors d'un phénomène inflammatoire. Si cette activité est présente, une coloration rose à violette apparaîtra selon que le résultat est négatif, traces, positif +, ++, ou +++. Le seuil de détection des leucocytes à la bandelette est de 10 000/ml (AFSSAPS, 2015 ; Nathanson, 2015).

La détection des nitrites urinaires repose sur la mise en évidence des nitrites (réaction de Griess) issue de la transformation des nitrates en nitrites par des bactéries possédant une nitrate réductase. Il s'agit principalement des entérobactéries, *Escherichia coli*, *Proteus*, et certains staphylocoques. Le composé final est rose dans le cas d'un résultat positif (AFSSAPS, 2015 ; Nathanson, 2015).

L'hématurie et la glycosurie : la présence d'une hématurie ou une glycosurie n'est pas une aide au dépistage de l'infection urinaire, car la valeur de ces paramètres n'a pas été suffisamment étudiée (Nathanson, 2015).

Il est à noter que l'interprétation des réactions chimiques peut entraîner des « faux positifs », du fait de la consommation de certains médicaments, un apport alimentaire important en nitrites ou très coloré (betterave rouge), de grandes quantités de vitamine C ou de traces d'antiseptiques.

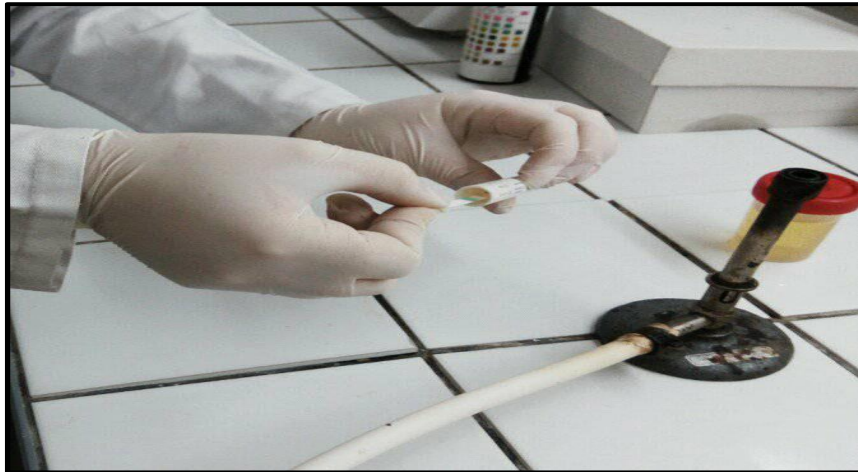


Figure 03 : Réalisation de l'examen à la bandelette urinaire.

3.3. Examen cytobactériologique des urines

L'examen cytobactériologique des urines consiste en un prélèvement aseptique des urines dans un récipient stérile, l'ECBU comprend deux étapes :

- Un examen cytologique qui consiste à examiner l'échantillon d'urine au microscope. Cela permet de compter les leucocytes et les hématies, de noter la présence possible de cristaux et de germes ;
- Un examen bactériologique qui consiste à mettre en culture l'échantillon d'urine sur des milieux spécifiques afin de pouvoir qualifier, quantifier et évaluer la sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme) du germe possiblement identifié. Cette étape nécessite entre 24h et 72h avant de pouvoir rendre des résultats complets.

La réalisation de l'ECBU comprend les différentes étapes indiquées dans la figure 4.

3.3.1. Examen cytologique

3.3.1.1. Examen cytologique quantitatif

L'examen cytologique quantitatif consiste à étudier au microscope les différents types de cellules retrouvées dans l'urine (hématies, leucocytes, et cellules épithéliales, cristaux, parasites, bactéries, levures) sur la cellule de Malassez en dénombre les différents éléments figurés contenus dans un volume donné de l'urine a étudié :

- Leucocytes : le seuil de significativité diffère suivant les situations ;

- Cylindres : peuvent être hyalins, hématique (inclus d'hématies), leucocytaires (inclus de leucocytes), ou granuleux (inclus de leucocytes lysés) ;
- Autres cellules : il est important d'identifier la présence de cellules épithéliales ou de cellules rénales ;
- Cristaux : les cristaux fréquemment retrouvés sont des cristaux d'urate (fréquent pour *Proteus spp*) de phosphate ammoniac-magnésien (*Corynebacterium urealyticum*), ou d'oxalate de calcium, d'autres cristaux peuvent être identifiés (Pasquier *et al.*, 2017).
- On peut trouver aussi dans les urines des levures, Trichomonas, spermatozoïdes, œufs de parasites, ou bactéries.

Pour dénombrer les cellules, on place une lamelle de verre sur la cellule de Malassez, sur laquelle on dépose deux gouttes de la suspension d'urine. Après avoir attendu quelques minutes pour que les cellules sédimentent, on peut compter le nombre de cellules dans 10 rectangles. Le nombre des éléments présents est rapporté au ml.

L'observation microscopique est faite à l'objectif x10 pour repérer la position du quadrillage, et aussi pour vérifier l'homogénéité de la répartition des cellules à compter ; et observer ensuite à l'objectif x40 pour réaliser le comptage (1 rectangle par champ).

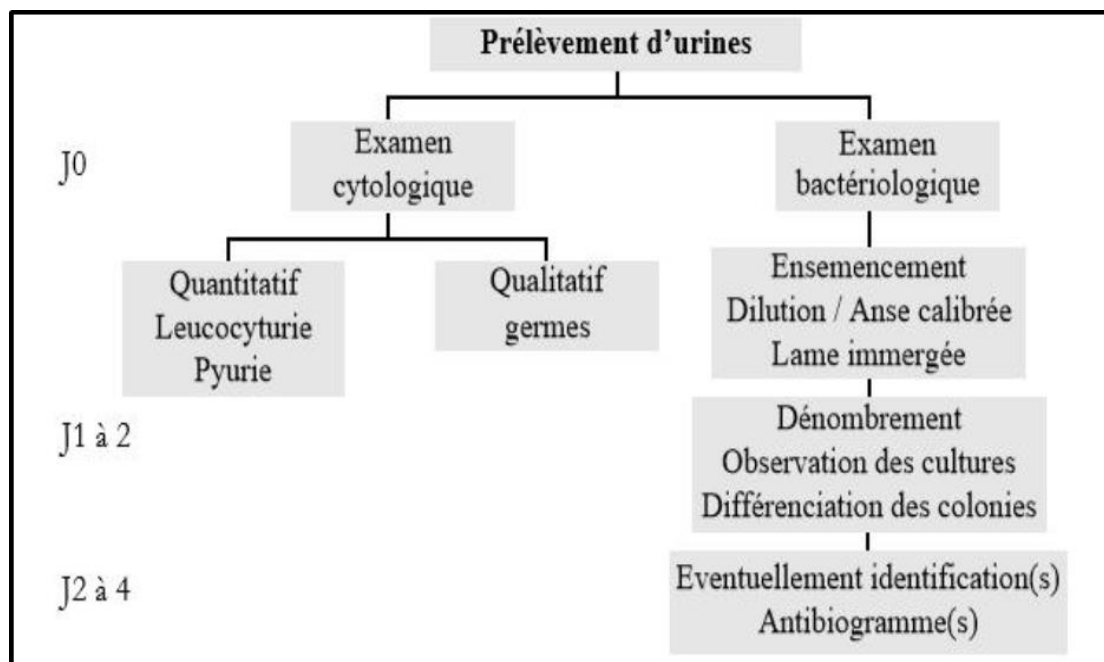


Figure 04 : Schéma récapitulatif des différentes étapes de l'ECBU (Le REMIC, 1998).

3.3.1.2. Examen cytologique qualitatif

L'examen cytologique qualitatif permet d'observer les éventuels microorganismes présents et orienter le choix des milieux de culture selon leurs morphologies et leurs affinités tinctoriales par réalisation de la coloration de Gram (annexe 1), et un autre examen peut être réalisé avec la coloration au bleu de méthylène. L'observation se fait au microscope optique à l'objectif à immersion (x100).

3.3.2. Examen bactériologique

L'examen bactériologique permet de préciser l'espèce bactérienne ; de quantifier la bactériurie et d'effectuer un antibiogramme.

L'examen cytologique a un rôle important dans le choix du milieu de culture ; le milieu le plus utilisé est la gélose nutritive (GN) (annexe 2), la majorité des bactéries responsables de l'infection urinaire peuvent être cultivées sur ce milieu. On utilisera une gélose au sang s'il y a présomption de bactéries exigeantes.

L'ensemencement doit répondre au double objectif : de dénombrer les bactéries, et d'isoler la ou les bactéries en cause en obtenant des colonies bien distinctes les unes des autres.

Il existe plusieurs méthodes d'ensemencement : la méthode originale de Kass, la méthode simplifiée de Véron, la méthode de la lame immergée et la méthode de l'anse calibrée (cette méthode est actuellement la plus utilisée, parce qu'elle est simple et ne nécessite pas une dilution préalable).

Dans la pratique, l'urine est homogénéisée puis l'ensemencement se fait sur une GN, en prélevant une goutte de l'échantillon à l'aide d'une pipette Pasteur qui est déposé sur la surface de la GN, ensuite les stries sont tracées par une autre pipette Pasteur stérile. La lecture se fait après 18 à 24 heures d'incubation à 37°C.

Selon l'observation de la coloration de Gram, d'autres milieux peuvent être ensemencés tels que : la gélose au sang (*Corynebacterium urealyticum*), gélose chocolat (*Haemophilus sp...*), Sabouraud (*Candida sp.*).

L'observation macroscopique des cultures se fait en décrivant la forme et la taille des colonies, l'opacité et l'aspect de la surface, ainsi que la consistance et la pigmentation des colonies.

Si la culture est positive l'identification de l'espèce est réalisée. Si la culture est négative on conclue donc qu'il n'y a pas d'infection urinaire.

3.3.2.1. Identification bactérienne

En fonction de l'aspect macroscopique des colonies bactériennes, de la morphologie des bactéries après coloration, etc... le bactériologiste s'oriente vers une famille bactérienne ou un genre bactérien en particulier. Dans le cas échéant il peut compléter sa présomption de genre bactérien par des tests d'orientation (type respiratoire, recherche de la catalase et de l'oxydase).

a. Recherche de la catalase

La recherche de cette enzyme est utilisée pour l'identification des bactéries à Gram positif et pour le staphylocoque.

Certaines bactéries ont la faculté de dégrader le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 . En présence d'une bactérie productrice de catalase, on observe à partir d' H_2O_2 une libération d'oxygène gazeux selon la réaction suivante :



b. Recherche de la coagulase

Le test de la coagulase est utilisé pour différencier *Staphylococcus aureus* (positif) du staphylocoque négatif à la coagulase. La coagulase est une enzyme produite par *S. aureus* qui convertit le fibrinogène (soluble) dans le plasma en fibrine (insoluble).

Dans un tube à hémolyse stérile, 1 ml de plasma sanguin additionné de 1 ml d'une suspension bactérienne de la souche à étudier sont déposés. Le mélange est incubé à 37°C pendant 4 à 5 heures.

La réaction est considérée comme positif lorsque le plasma est coagulé, donc le fibrinogène a été transformé en fibrine, cela permet de confirmer que le germe est un *Staphylococcus aureus*. Si le plasma ne coagule pas, cela indique une espèce autre que *Staphylococcus aureus*.

c. La galerie biochimique API 20E

La galerie API 20E est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux.

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

- **ONPG** : Ce test permet de rechercher la présence d'une enzyme intracellulaire β -galactosidase (ONPG hydrolase) qui permet l'hydrolyse du lactose en glucose et galactose.
- **ADH** : Les souches qui possèdent l'ADH (Arginine dihydrolase) vont acidifier le milieu en fermentant le glucose (virage au jaune). Cette acidification favorise l'activité de l'arginine dihydrolase qui va dégrader l'arginine et libérer l'ammoniac ce qui entraîne une alcalisation du milieu qui se manifeste par un virage de l'indicateur de pH au violet.
- **LDC** et **ODC** : Les décarboxylases bactériennes sont des enzymes qui catalysent les réactions de décarboxylation des acides aminés. Elles sont mises en évidence grâce aux produits alcalins formés (amines) détectés à l'aide d'un indicateur de pH. Ces enzymes ont un intérêt pour l'identification bactérienne (différenciation des entérobactéries et autres bacilles à Gram négatif).
- **CIT** : Seules les bactéries possédant un citrate perméase peuvent utiliser le citrate comme seule source de carbone. La lecture de l'utilisation du citrate comme seule source de carbone est possible grâce à la présence d'un indicateur de pH (le bleu de bromothymol) et un seul composé carboné (citrate de sodium).

- **H₂S** : La mise en évidence de la production d'H₂S se fait grâce à la présence de thiosulfate de sodium et de citrate ferrique (fer III). En effet, chez une souche dite H₂S positif, le thiosulfate est réduit en anaérobiose en H₂S. L'H₂S formé se combine avec citrate de fer présent pour former un précipité de sulfure de fer noir.

- **URE** : L'uréase est une enzyme hydrolysant l'urée. Dans le cas d'une uréase positive, la coloration rouge se traduit par une alcalinisation du milieu suite à l'hydrolyse de l'urée et la formation du carbonate d'ammonium. Si le milieu persiste orange cela signifie qu'il n'y ait pas d'alcalinisation et le test est alors négatif.

- **TDA** : On recherche une enzyme, la Tryptophane Désaminase, en mettant en évidence la désamination du tryptophane en acide indole-pyruvique et NH₃, révélé par un précipité brun caractéristique après ajout du chlorure de fer.

- **IND** : Après addition du réactif de Kovacs dans la cupule, le diméthyl-amino-4-benzaldéhyde contenu dans le réactif de Kovacs réagit avec l'indole, produit de l'activité de la tryptophanase, et forme un composé coloré en rouge.

- **VP** : La mise en évidence de la production d'acétoïne au cours de la fermentation par la voie du butane-diol en présence de réactif VP (en ajoutant quelques gouttes du réactif VP1 et le même volume du réactif VP2), l'acétoïne donne une coloration rouge au milieu. La lecture s'effectue après quelques minutes.

- **GEL** : La gélatinase est une enzyme qui hydrolyse le collagène (gélatine) en acide aminés ou en peptides.

- **GLU** : On recherche l'utilisation (par voie oxydative ou fermentative) du glucose, se traduisant par une modification du pH du milieu faisant virer l'indicateur coloré de pH présent.

- **MAN** : On recherche l'utilisation (par voie oxydative ou fermentative) du mannitol, se traduisant par une modification du pH du milieu faisant virer l'indicateur coloré de pH présent.

- **INO** : On recherche l'utilisation (par voie oxydative ou fermentative) de l'inositol, se traduisant par une modification du pH du milieu faisant virer l'indicateur coloré de pH présent.
- **SOR** : On recherche l'utilisation (par voie oxydative ou fermentative) du sorbitol, se traduisant par une modification du pH du milieu faisant virer l'indicateur coloré de pH présent.
- **RHA** : On recherche l'utilisation (par voie oxydative ou fermentative) du rhamnose, se traduisant par une modification du pH du milieu faisant virer l'indicateur coloré de pH présent.
- **SAC** : On recherche l'utilisation (par voie oxydative ou fermentative) du saccharose, se traduisant par une modification du pH du milieu faisant virer l'indicateur coloré de pH présent.
- **MEL** : On recherche l'utilisation (par voie oxydative ou fermentative) du melibiose, se traduisant par une modification du pH du milieu faisant virer l'indicateur coloré de pH présent.
- **AMY** : On recherche l'utilisation (par voie oxydative ou fermentative) du amygdaline, se traduisant par une modification du pH du milieu faisant virer l'indicateur coloré de pH présent.
- **ARA** : On recherche l'utilisation d'arabinose se traduisant par une modification du pH du milieu faisant virer l'indicateur coloré de pH présent.
- **OX** : Ce test permet de mettre en évidence l'enzyme cytochrome oxydase des bactéries. En présence d'oxygène atmosphérique et de cytochrome C, l'enzyme de la bactérie oxyde le réactif phénylènediamine pour former un composé violet, l'indophénol.



Figure 05 : La galerie API 20E

Pour préparer l'inoculum, on utilise un tube contenant 5ml d'eau physiologique stérile ou d'eau distillée stérile sans additif. À l'aide d'une pipette, on prélève une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé en utilisant préférentiellement des cultures jeunes (18 à 24 heures) et on réalise une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu (opacité 0.5 sur l'échelle de Mc Farland), cette suspension doit être utilisée extemporanément.

Afin d'inoculer la galerie, le fond et le couvercle de la boîte d'incubation sont réunis. Quelques millilitres d'eau distillée sont répartis dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide, la galerie est placée ensuite dans la boîte d'incubation.

On introduit la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide de la même pipette (pour éviter la formation de bulle au fond des tubes, on fait poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule, et en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant).

Selon les tests, certaines cupules sontensemencées entièrement, d'autres sont seulementensemencées dans la partie anaérobie ; de la vaseline stérile peut permettre de réaliser le test en anaérobiose :

- Pour les tests GEL, VP et CIT on remplit tube et cupule ;
- Pour les autres tests, les remplissages fait uniquement dans les tubes (non les cupules) ;
- Pour les tests ADH, LDC, ODC, H₂S, URE, l'anaérobiose est créée en remplissant les cupules par l'huile de vaseline. Enfin on referme la boîte d'incubation et on incube à 37°C pendant 18 à 24 heures.

La lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture (Annexe 2).

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

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

- Pour le test GLU et après la lecture du résultat on peut déduire la présence du nitrate réductase en ajoutant une goutte des réactifs NR1 et NR2.

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

L'identification est obtenue soit par une approche dichotomique, soit par utilisation du codage API (profil numérique) ou par approche probabiliste utilisant un logiciel d'identification Apiweb, en entrant manuellement au clavier le profil numérique à 7 chiffres (annexe 4).

3.3.2.2. Antibiogramme

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

L'antibiogramme se fait sur gélose Mueller-Hinton (pour les germes exigeants on rajoute 5% de sang) (annexe 2) coulée en boîte de Pétri sur une épaisseur de 4mm.

L'inoculum est préparé à partir d'une culture pure et jeune de 18h sur milieu gélosé. Les colonies de la bactérie à étudier sont prélevées à la pipette pasteur, puis introduites dans un tube à bout rodé contenant 10 ml d'eau distillée stérile pour former une suspension. Par la suite, l'inoculum est ajusté à l'étalon 0.5 de Mac Ferland (10^8 UFC/ml). Pour l'ajustement une quantité de la première suspension est prélevée puis introduite dans un autre tube à bout rodé contenant 10ml d'eau distille, cette suspension servira à l'ensemencement.

Il existe deux différentes méthodes d'ensemencement : ensemencement du milieu par inondation de toute la surface de la gélose avec 3 ou 5ml de la suspension bactérienne, et ensemencement du milieu par écouvillonnage.

La technique d'ensemencement par écouvillonnage est celle utilisée dans cette étude, elle consiste à faire tremper l'écouvillon stérile dans la suspension et l'essorer sur les parois internes du tube, la boîte est ensemencée en traçant délicatement des stries par l'écouvillon sur toute la surface de la gélose, la boîte est tournée et ensemencée plusieurs fois de façon à croiser les stries, le séchage est inutile.

Les disques d'antibiotiques choisis sont posés à la surface de la gélose en les appuyant légèrement à l'aide de la pince stérile, on en faisant attention à ne pas chauffer les disques par la pince flambée, les différents disques doivent être distants d'environ 30mm (figure 06). Les boîtes sont ensuite laissées à une température ambiante pendant 30 minutes sur la paillasse pour permettre la diffusion de l'antibiotique dans la gélose. Les boîtes sont ensuite incubées pendant 18 à 24 heures à 37°C.

Après incubation, les diamètres de la zone d'inhibition (en mm) sont mesurés à l'aide d'un pied à coulisse métallique. Ces diamètres permettent donc de classer la bactérie dans l'une des trois catégories (Sensible, Résistante, ou bien Intermédiaire) (annexe 05).

Chapitre 3

Résultats et

discussion

1. Examen macroscopique des urines

Après homogénéisation des urines. L'observation à l'œil nu nous a permis de détecter les anomalies de l'aspect des urines. Les urines sont normalement limpides avec une couleur jaune claire. Sur les échantillons analysés, trois types d'aspect macroscopiques ont été détectés : urine claire, légèrement trouble et trouble avec des couleurs variées (rouge, rose ...) (figure 06).



Figure 06 : Les différents aspects des urines.

- Une urine claire est due à une hydratation ce qui signifie que la personne boit suffisamment de liquides, cela veut dire que la personne est en bonne santé.
- L'aspect trouble des urines est le plus souvent dû à la présence de bactéries. Il reflète aussi la présence des cristaux et de quelques éléments (protéines, cellules épithéliales ...).
- L'apparition d'une couleur autre que jaune de l'urine peut être causée par certains aliments ou la présence de pigments biliaires (couleur brun acajou) ou de sang.

Donc le caractère trouble et le changement de couleur d'une urine ne signifient pas systématiquement la présence d'une infection, il peut aussi s'agir d'un autre problème de santé ou bien des signes bénins et réversibles provoqués par une consommation excessive de certains aliments d'origine animale riches en phosphate comme le fromage et la viande rouge, ou à la prise des médicaments (oxalate de Calcium) et les sels amorphes.

2. Analyse biochimique des urines

L'examen par les bandelettes urinaires détermine la valeur du pH et la présence de nitrites et leucocytes dans l'urine.

Le pH normal des urines varie de 4,5 à 7,8 en fonction de l'alimentation et des modifications du pH sanguin. En cas d'infection urinaire, et en particulier à germes uréasiques, il y aura une alcalinisation intempestive.

En cas d'infection urinaire on note la présence de leucocytes et de nitrites, mais l'absence de ces derniers dans l'échantillon d'urine ne signifie pas l'absence d'une infection urinaire.

3. L'examen cyto bactériologique des urines

3.1. Examen cytologique

3.1.1. Examen cytologique quantitatif

Notre examen de l'urine entre lame et lamelle à l'objectif x 40 a permis le dénombrement des différents éléments telles que les leucocytes, les hématies, les cristaux et quelques bactéries en forme de cocci ou de bacilles (figure 07) qui ont été présents dans un volume donné. Le nombre des éléments cytologiques est rapporté au ml.

Dans la majorité des cas, la présence des cristaux ne correspond pas à un état pathologique, on pourra mettre en évidence, dans l'urine acide : des urates, cristaux d'acide urique, ou oxalates de calcium et dans l'urine alcaline : phosphates, carbonates de calcium, ou urates d'ammonium (Balédent, 1999). Mais quand il y'a dans l'urine un triple phosphate c'est un indice d'infection urinaire active ou antérieure, s'accompagne presque toujours de phosphates amorphes.

Selon le REMIC (1998), la présence des cellules épithéliales d'origine vaginale signifie une contamination et entraîne le rejet de l'examen, la présence de plus de 3 cellules/ μ l d'urine suggère une possible affection tubulaire.

Pour les globules rouges et les globules blancs, le dénombrement est important pour déterminer l'infection (figure 07). Le nombre normal des globules rouges est inférieur à 50000/ml, au-dessus, ils sont le témoin d'un saignement. Pour

les globules blancs, le nombre normal est inférieur à 10^4 /ml, au-dessus, ils sont le témoin d'une infection probable. L'infection urinaire se caractérise le plus souvent par la présence de plus de 50 000 leucocytes par ml.

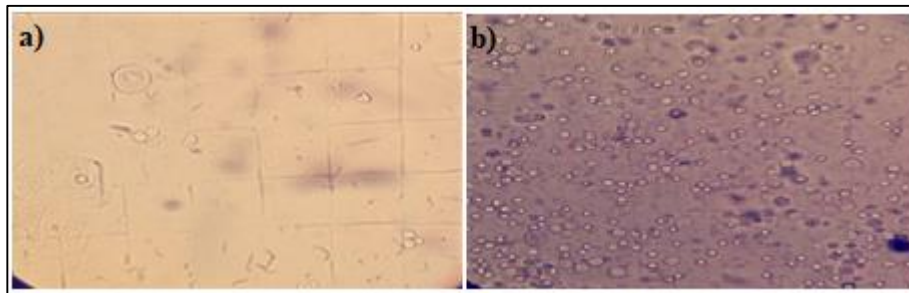


Figure 07 : Observation microscopique des éléments cytologiques sous microscope optique (G x400).

a) Cellules épithéliales, levure et des bacilles, b) des globules blancs et des hématies.

3.1.2. Examen cytologique qualitatif

La coloration de Gram permet la détection d'une bactérie et la détermination de son Gram ainsi que sa morphologie.

D'après notre étude, on a trouvé que la majorité des bactéries sont des bacilles à Gram négatif (BGN) et dans certains cas des cocci à Gram positif (CGP).

3.2. Examen bactériologique

L'urine étant normalement stérile, tous les micro-organismes isolés sont potentiellement pathogènes, mais les contaminations par la flore fécale ou génitale sont fréquentes d'autant plus si les prélèvements sont mal faits ou mal conservés.

3.2.1. Dénombrement des cultures

Le dénombrement de colonies sur la boîte est traduit en nombre de germe par ml d'urine. Depuis les travaux de KASS, l'interprétation des cultures s'effectuait de la manière suivante :

- Bactériurie $< 10^3$ UFC/ml, signifie que l'examen est négatif donc absence d'infection.
- Bactériurie $> 10^5$ UFC/ml, signifie que l'infection est probable.
- Bactériurie entre 10^3 et 10^4 , signifie une zone d'incertitude (valeurs à contrôler si besoin).

3.2.2. Observation des cultures et différenciation des colonies

Après incubation des boîtes de Pétrie on a observé :

- Des boîtes négatives : aucun développement bactérien, cela veut dire que l'ECBU est négatif et absence d'infection ;
- Des boîtes contaminées : développement de plusieurs types de microorganismes indiquant que l'urine est contaminée ;
- Des boîtes positives : développement d'un seul type de microorganisme avec un nombre supérieur à 10^5 UFC/ml d'urine indiquant ainsi la présence d'infection urinaire.

Parmi les colonies qui ont été isolées sur la GN à partir des différents échantillons d'urines, les plus fréquemment observées sont des colonies de forme rondes, avec un contour lisse ou rugueux, de surface bombée ou plate, d'aspect muqueux ou crémeux, de grande taille ou de taille moyenne, de couleur blanchâtre ou beige, opaque ou translucide.

On a pu isoler sur le milieu Hektoen certaines entérobactéries comme *E. coli*, *Enterobacter cloacae* et *Klebsiella pneumoniae* les colonies sont de couleur jaune saumon (Figure 08).

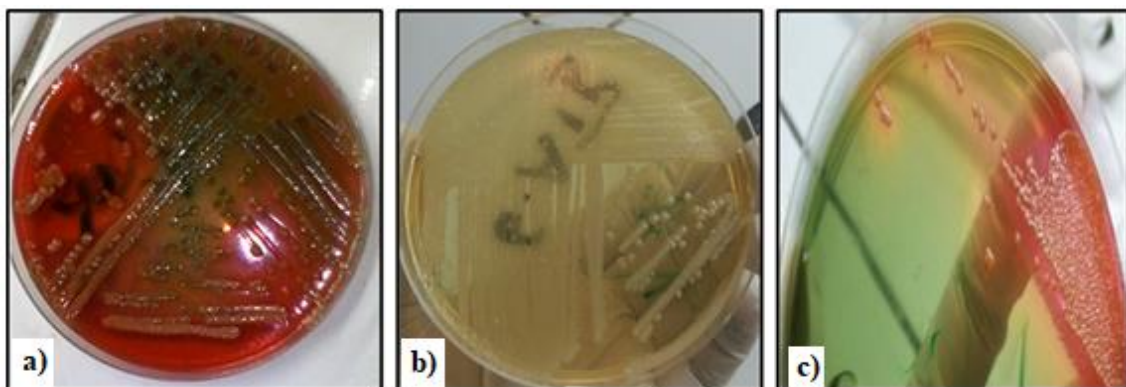


Figure 08: Aspect macroscopique des colonies bactériennes appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* après 24h d'incubation.

a) *K. pneumoniae* sur le milieu Hecktoen ; b) *E. coli* sur GN ; c) *E. cloacae* sur Hecktoen.

3.2.3. Identification bactérienne

a) Test de la catalase

L'action directe de la catalase est mise en évidence par un dégagement gazeux immédiat résultant de la décomposition de l'eau oxygénée.

Les résultats ont montré que les bactéries à Gram négatif sont catalase positif, cependant les bactéries à Gram positif sont catalase négatif tel que Staphylocoque à coagulase négatif.

b) Test de la coagulase

Ce test est utilisé spécifiquement pour l'identification des staphylocoques. D'après les résultats obtenus on a détecté la présence d'un staphylocoque à coagulase négatif qui est incapable de coaguler le plasma et donc le fibrinogène ne se transforme pas en fibrine.

c) La galerie biochimique API 20E

On a pu identifier 11 espèces bactériennes qui ont causé les infections urinaires chez 38 personnes. Parmi les espèces identifiées, la majorité d'entre elles appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae*, telles qu'*E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *K. ornithinolytica*, *K. oxytoca*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Providencia stuartii*, *Citrobacter koseri*. D'autres espèces n'appartenant pas à la famille des *Enterobacteriaceae* ont été identifiées aussi telles que *Pseudomonas aeruginosa*, et Staphylocoque à coagulase négatif.

Les levures ont été détectées directement dans l'examen cytologique mais elles ne sont pas identifiées dans cette étude.

Tableau 02: Caractères biochimiques de quelques espèces identifiées.

Test		ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
<i>E. coli</i>	S1	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+
	S2	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+
<i>Klebisella pneumoniae</i>	S1	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	S2	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+
	S3	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>K. ornithinolytica</i>		+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>K. oxytoca</i>		-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Proteus mirabilis</i>		-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-
<i>Enterobacter cloacae</i>		+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
<i>Serratia marcescens</i>		+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Providencia stuartii</i>		-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>Citrobacter koseri</i>		+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+

Voici quelques exemples des résultats d'identification de certaines bactéries par la galerie API 20E.



Figure 09 : Résultat d'identification d'*E. coli*.



Figure 10 : Résultat d'identification de *Klebsiella pneumoniae*.



Figure 11 : Résultat d'identification d'*Enterobacter cloacae*.



Figure 12 : Résultat d'identification de *Klebsiella ornitholytica*.



Figure 13 : Résultat d'identification de *Proteus mirabilis*.

3.2.4. Résultat et interprétation de l'antibiogramme

Chaque espèce bactérienne a été testé par des antibiotiques spécifiques, le diamètre de la zone d'inhibition est mesuré et comparé aux diamètres critiques conformément aux normes CLSI (2011) (annexe 5) pour déterminer si la bactérie isolée est sensible, intermédiaire ou résistante aux antibiotiques testés.

D'après les résultats obtenus on a constaté qu'*Escherichia coli* résiste à l'ampicilline, la ticarcilline, la pipéracilline et la céfazoline. Mais elle est totalement sensible à la tobramycine, la céfoxitine, la céfotaxime, l'aztréonem et l'acide nalidixique.

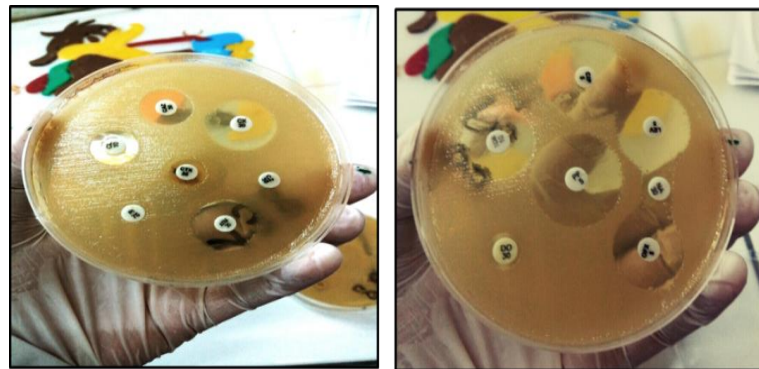


Figure 14: Résultats de l'antibiogramme d'*E. coli*.

Concernant *K. pneumoniae*, on a constaté une résistance à l'ampicilline, la ticarcilline et la pipéracilline ; par contre l'espèce a marqué une sensibilité aux céfotaxime, aztréonem et acide nalidixique.

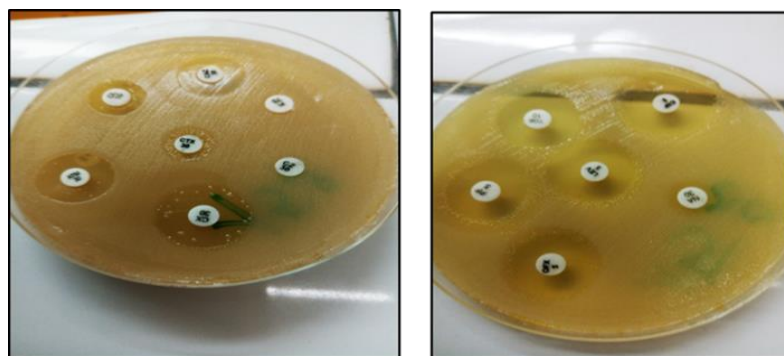


Figure 15 : Résultats de l'antibiogramme de *K. pneumoniae*.

Pour *P. mirabilis*, les résultats ont montré que cette bactérie est résistante à la colistine, l'ampicilline, la ticarcilline. Par contre elle est sensible à tous les antibiotiques

suivants : cefotaxime, céfoxitine, aztéonem, amikacine, ciprofloxacine, acide nalidixique, levofloxacine.



Figure 16 : Résultats de l'antibiogramme de *Proteus mirabilis*.

Enterobacter cloacae a montré une résistance à la céfazoline la ceflazidime et une sensibilité à l'aztréonam, l'acide nalidixique, la céfoxitine, et la ciprofloxacine.

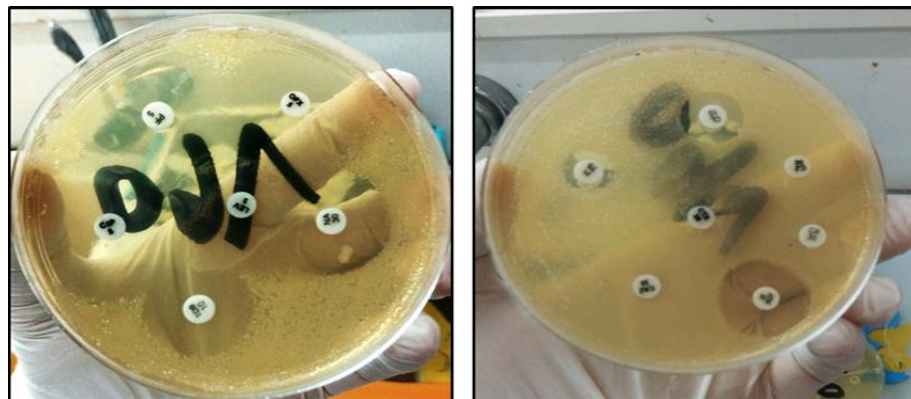


Figure 17 : Résultats de l'antibiogramme d'*Enterobacter cloacae*.

Le staphylocoque à coagulase négatif a enregistré une résistance à la pénicilline, l'oxacilline, l'ampicilline et une sensibilité à la rifampicine, la fosfomycine, la colistine, et l'acide fusidique.

Les résultats de l'antibiogramme de *P. aeruginosa* ont montré une résistance à la ticarcilline et à la pipéracilline, mais ils ont montré une sensibilité à la céftazidime, l'aztréonem, la ciproflaxacine et la colistine.

Citrobacter koseri, autre bactérie isolée et identifiée, a marqué une résistance à l'amoxicilline et la ticarcilline et une sensibilité à la pipéracilline, la céfalotine, la céfoxitine, et l'aztréonam.

Serratia marcescens résiste généralement à l'amoxicilline, la céfalotine, et la céfoxitine, par contre elle est sensible aux piperacilline, ticarcilline et aztréonem.

Providencia stuartii résiste naturellement à l'amoxicilline + l'acide clavulanique, la ticarcilline, et la colistine, elle est sensible à l'ampicilline.

4. Résultats épidémiologiques

4.1. Répartition des échantillons selon le résultat de la culture

Les échantillons des urines analysés au cours de notre étude ont été prélevés à partir des patients de sexe féminin et masculin de différente tranche d'âge, avec un nombre total de 193 échantillons, dont 118 cas négatifs, 37 contaminés et seulement 38 positifs. En termes de pourcentage nous avons trouvé :

- 19.69% des cas se sont révélés positifs sur les boites ensemencées. Le nombre de bactéries est enregistré à plus de 10^5 UFC/ ml d'urine ;
- 61.14% des cas ont montré un résultat négatif, en ne donnant aucun développement bactérien sur les boites ensemencées, ceci indique l'absence d'infection ;
- 19.17% des cas se sont révélés contaminés, en donnant plusieurs types de microorganismes développés sur les boites ensemencées, ceci est peut-être dû aux méthodes incorrectes de prélèvements (figure 18).

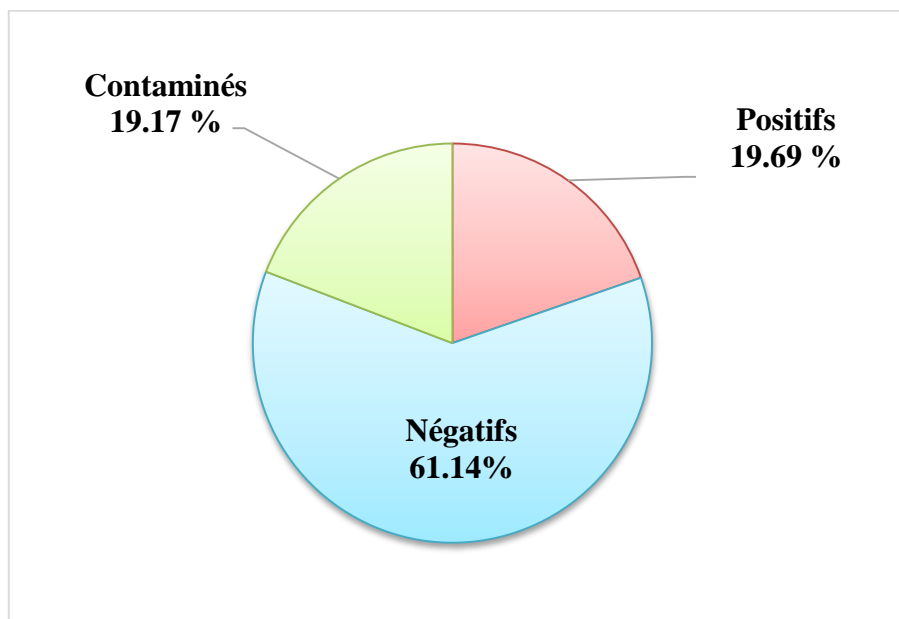


Figure 18 : Répartition des échantillons selon le résultat de la culture.

4.2. Répartition des éléments cytologiques selon la positivité et la négativité de l'ECBU

Les tableaux 3 et 4 montrent le pourcentage de la présence des éléments cellulaires dans l'examen cytologique pour les ECBU positifs et négatifs. (ECBU positifs = 38, ECBU négatifs = 118).

Tableau 03 : Répartition des éléments cytologiques chez les patients d'ECBU négatifs.

Elements cytologiques	Leucocytes	Hématies	Germes	Cristaux	Cellules épithéliales	Absence des éléments cytologiques
Nb ECBU négatif	46	27	6	OC 10 ACU 1 UA 3	40	42
%	38.98	22.88	5.08	11.86	33.90	35.59

OC : Oxalate de calcium ; UA : Urates amorphes ; ACU : Acide urique.

D'après les résultats obtenus, on a constaté que même dans le cas d'un ECBU négatif, les éléments cytologiques peuvent exister.

La présence des leucocytes avec un pourcentage de 38.98% et des hématies avec 22.88% n'indique pas dans tous les cas un signe d'infection. Ainsi, la présence des germes avec un faible pourcentage 5.08% indique que les germes existent dans l'urine mais avec un nombre inférieur à 10^5 UFC/ml.

La présence ou l'absence des cristaux et des cellules épithéliales n'influencent pas sur la positivité ou la négativité de l'ECBU.

La détection de tous les éléments cytologiques dans un ECBU signifie une infection urinaire.

Dans 84.21% des cas positifs, il y avait présence des leucocytes qui signifie qu'il y a une réponse immunitaire par production des leucocytes. L'absence des leucocytes dans un ECBU positif signifie que l'infection est au début.

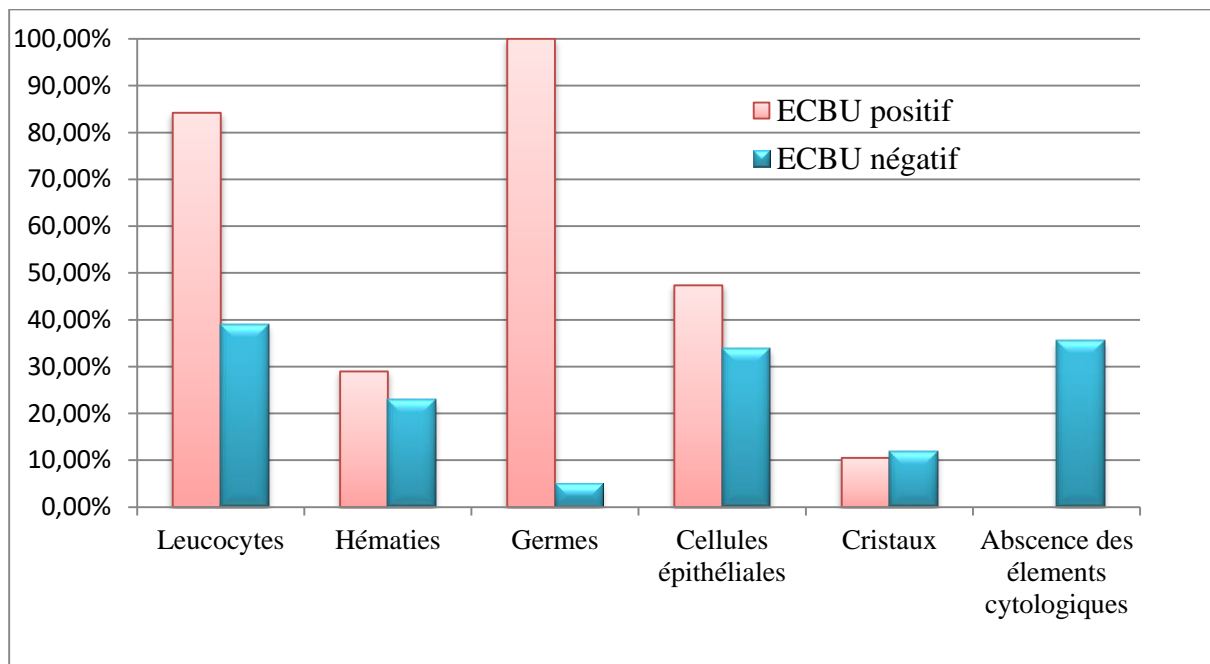
Tableau 04 : Répartition des éléments cytologiques chez les patients d'ECBU positifs.

Elements cytologiques	Leucocytes	Hématies	Germes	Cristaux	Cellules épithéliales	Absence des éléments cytologiques
Nb ECBU positif	32	11	38	OC 3 UA 1	18	0
%	84.21	28.94	100	10.52	47.36	0

OC : Oxalate de calcium ; UA : Urates amorphes

Dans 100% des cas positifs on a détecté la présence de germes ce qui signifie que l'IU est forcément confirmée par présence d'une culture mono-microbienne.

D'après nos résultats on a constaté que les éléments cytologiques dans un ECBU positif sont supérieurs d'un ECBU négatif (figure 19).

**Figure 19 :** Pourcentage des différents éléments de l'examen cytologique.

4.3. Répartition des infections urinaires selon le sexe

Les résultats des infections urinaires montrent que les femmes (84%) sont plus touchées que les hommes (16%). Cette répartition indique clairement que les femmes

sont plus vulnérables aux infections urinaires que les hommes. Ceci est probablement en relation avec l'anatomie de l'appareil urinaire de la femme (figure 20).

Les relations sexuelles peuvent également provoquer des infections urinaires chez les femmes parce que les bactéries sont parfois poussées dans l'urètre (CFMC, 2010).

L'utilisation d'un diaphragme peut provoquer une infection parce qu'il exerce une pression contre l'urètre et qu'il devient difficile de vider complètement la vessie. L'urine qui reste longtemps dans la vessie va favoriser la croissance bactérienne et l'apparition d'infections (CFMC, 2010).

La grossesse rend aussi la femme plus vulnérable à l'infection en raison du fait de porter le bébé applique une pression sur les uretères et la grossesse comporte aussi des changements hormonaux (CFMC, 2010).

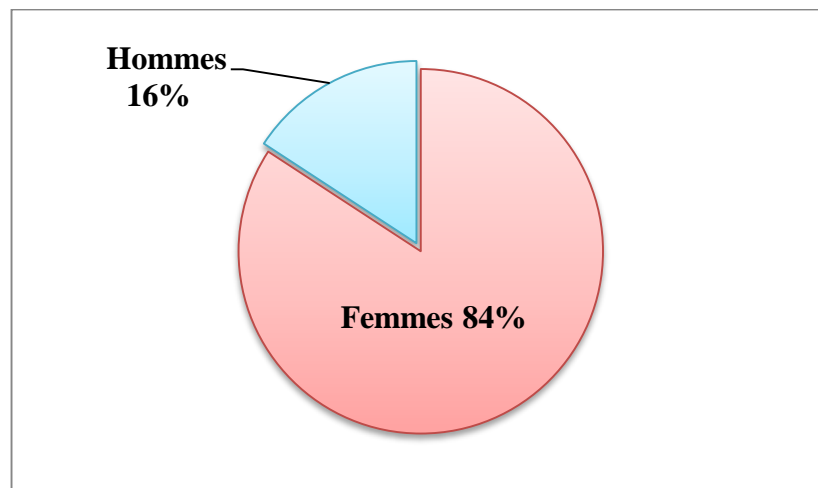


Figure 20 : Répartition des infections urinaires selon le sexe.

4.4. Répartition des infections urinaires selon les patients hospitalisés et non hospitalisés

39.47% des ECBU demandé à réaliser, provenant de l'hôpital à des patients hospitalisés qui ont eu d'incontinence urinaire après le délai de 48 heures d'hospitalisation. Donc on constate que les patients prennent une infection urinaire nosocomiale. Parmi les causes de la propagation d'infection urinaire nosocomiale est probablement le manque d'hygiène des équipements de l'hôpital.

Cependant, 60.53% des patients ayant une infection urinaire sont non hospitalisés. On constate que l'épidémiologie de l'IU ne se limite pas aux patients hospitalisés mais aussi elle diffuse entre les gens non hospitalisés et devient plus fréquent.

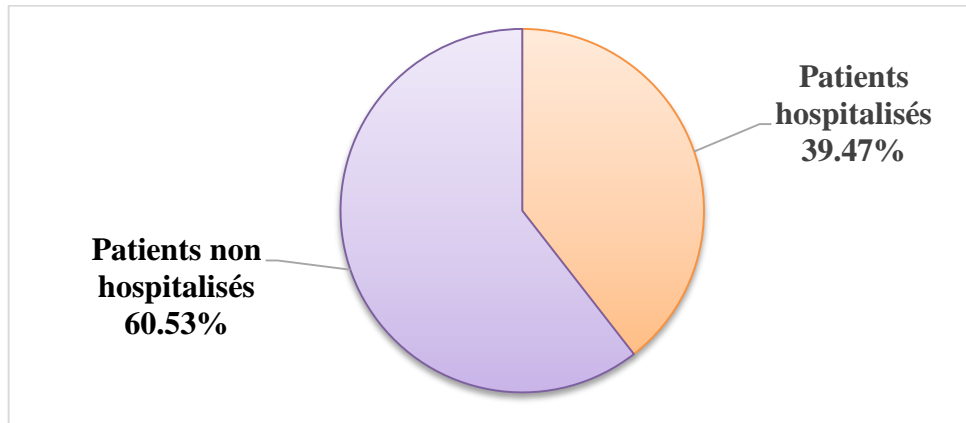


Figure 21 : Répartition des infections urinaires selon l'état du patient.

4.5. Répartition des infections urinaires nosocomiales selon les services

La figure 22 montre la répartition des IU nosocomiales selon les services. Le service de médecine interne coté femmes occupe la première position (33.34%), suivi par le service de médecine interne coté hommes (20%), les services de la gynécologie, la réanimation et les urgences médicales (13.33%), et en dernière position le service de de la chirurgie coté femmes (6.67%).

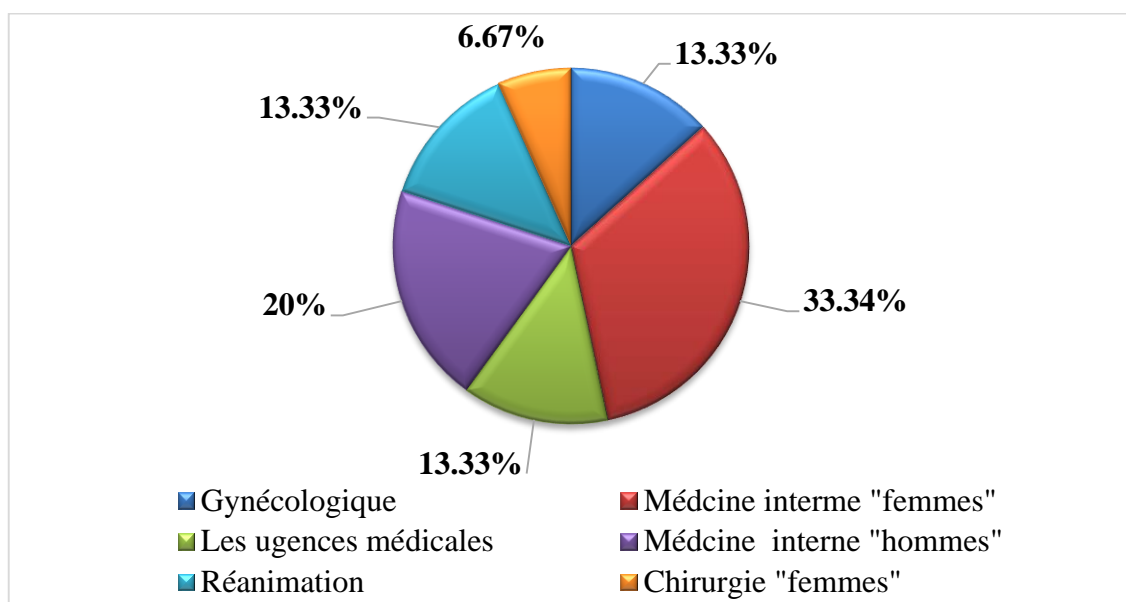


Figure 22 : Répartition des IU nosocomiales selon les services.

4.6. Répartition des souches isolées

Au cours de notre étude 38 germes ont été isolés. La plupart de celles-ci appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* : *Escherichia coli* est de loin la bactérie la plus fréquemment isolée (44.74%), suivie de *Proteus mirabilis* (13.17%), et de *Klebsiella pneumoniae* (10.53%).

On trouve aussi des germes isolés avec un pourcentage de 5.26% pour chaque espèce telle que : *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, et de levure.

On a pu isoler également Staphylocoque à coagulase négatif, *Serratia marcescens*, *Citrobacter koseri*, *Klebsiella ornithiolytica*, *Providencia stuartii*, et *Klebsiella oxytoca* de 2.63% pour chaque espèce (figure 24).

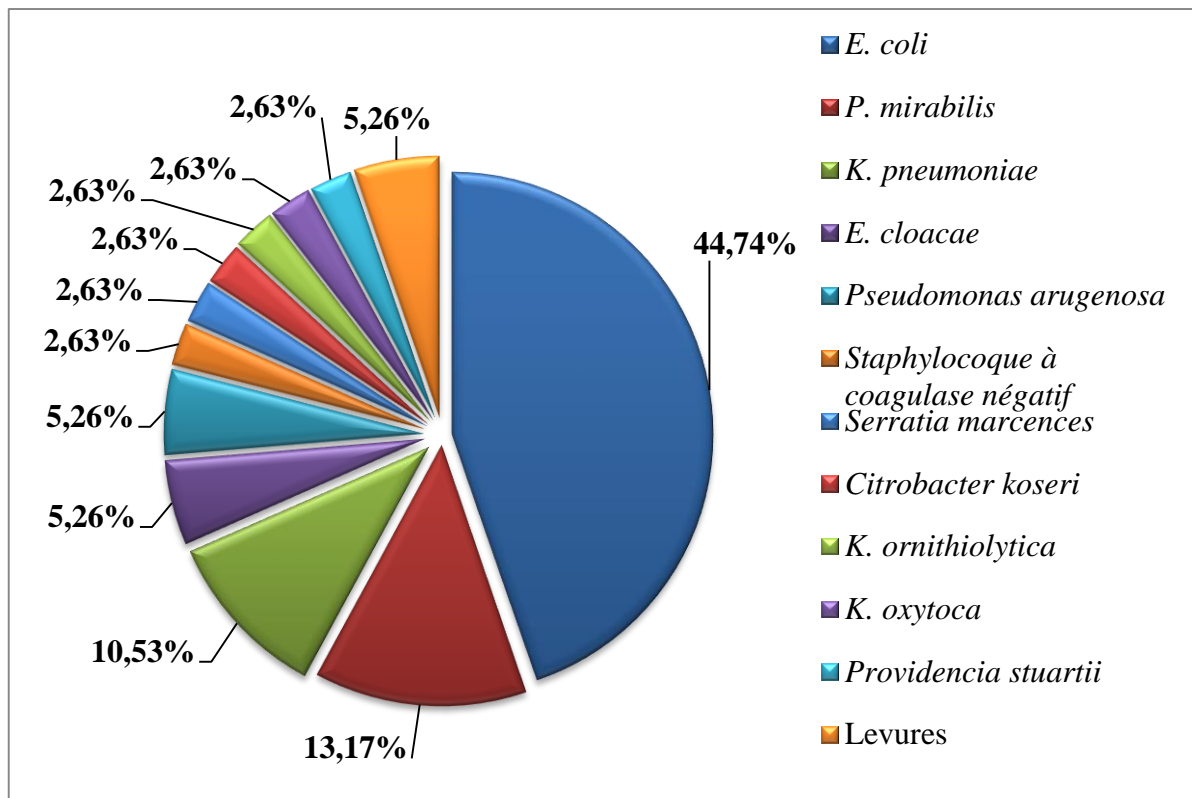


Figure 23 : Répartition des IU selon les souches isolées.

4.7. Répartition des entérobactéries parmi les germes isolés

Nos résultats ont montré que 87% des germes isolés sont des entérobactéries (figure 24). Ces résultats sont en accord avec ceux de Raghu (2016) qui a affirmé que la majorité des IU sont causées par les entérobactéries.

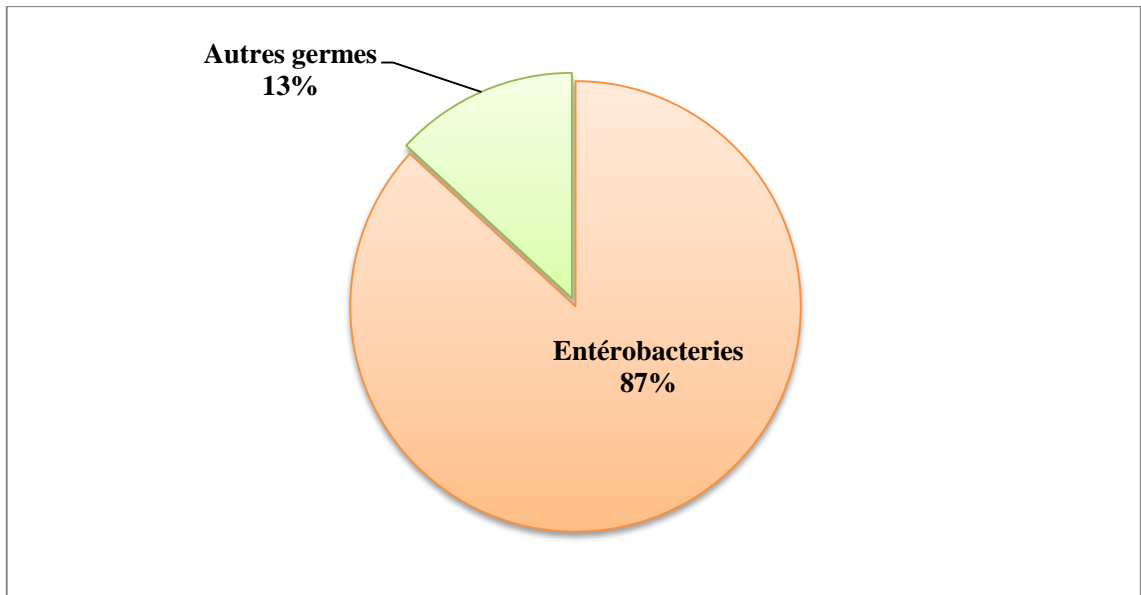


Figure 24 : Répartition des entérobactéries parmi les germes isolés.

4.8. Répartition d'*E. coli* parmi les entérobactéries isolées

D'après la figure 25 on constate que *E. coli* représente le pourcentage le plus élevé (52%) des entérobactéries responsables des infections urinaires. Ce résultat confirme celui de Raghu (2016).

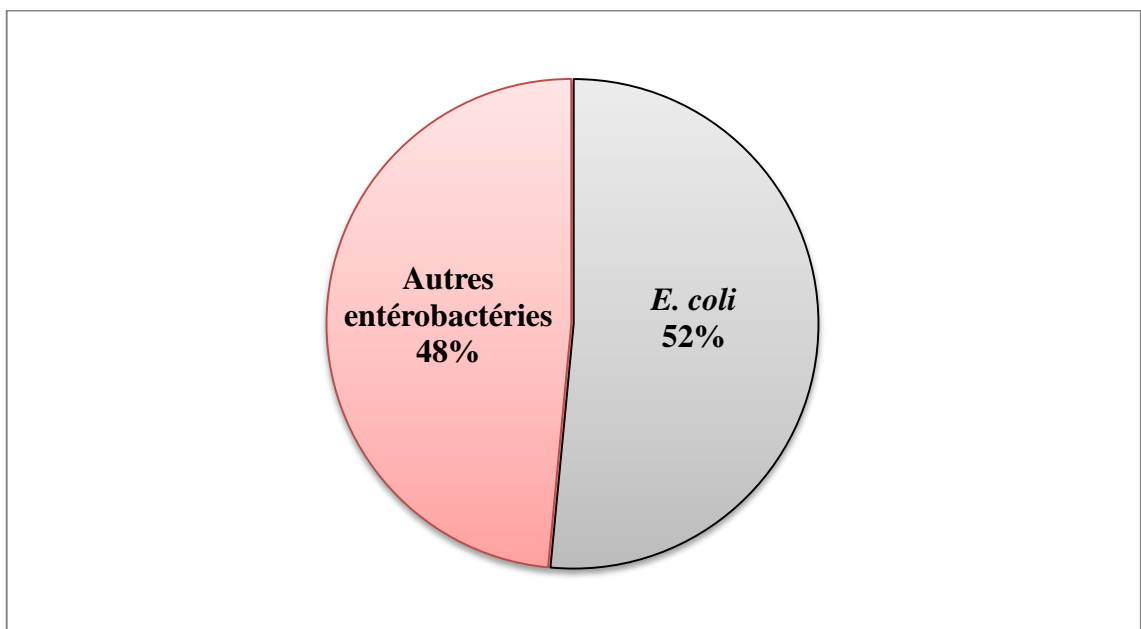


Figure 25 : Répartition d'*E. coli* parmi les entérobactéries isolées.

Conclusion

Notre étude a permis d'identifier les germes responsables des IU et de tester leurs profils de sensibilité aux antibiotiques.

A la lumière des résultats obtenus, il en ressort que sur 193 échantillons prélevés, 38 se sont révélés positifs. A ce stade l'utilisation de la galerie biochimique API 20E a permis la mise en évidence et l'identification de 38 bactéries responsables des IU en se basant sur le profil métabolique.

Les résultats obtenus ont montré que les bacilles à Gram négatifs occupent la première place dans les infections urinaires, où nous avons révélé une prédominance des entérobactéries (87%), dans la majorité des cas c'était *E. coli* (44,73%), suivi de *Proteus mirabilis* (13.15%), et de *Klebsiella pneumoniae* (10.52%). *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, Staphylocoque à coagulase négatif, *Serratia marcescens*, *Citrobacter koseri*, *Klebsiella ornithiolytica*, *K. oxytoca*, *Providencia stuartii* et des levures ont été également identifiées.

Le sexe le plus touché par les IU est le sexe féminin avec un pourcentage de 84%.

Les différents antibiogrammes effectués ont révélé qu'*E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Proteus mirabilis* présentent une sensibilité à la colistine. Les antibiotiques les plus inefficaces sont l'ampicilline, la ticarcilline, l'acide nalidixique et la cefazoline.

En conclusion une meilleure identification des facteurs favorisant l'infection urinaire et leur prévention pourrait permettre de réduire d'une façon significative le taux de ces infections, car la prévention demeure le meilleur moyen de lutte. Le reflet d'une politique générale d'hygiène, allant des soins infirmiers lors de la pose de la sonde jusqu'à la gestion rigoureuse de l'écologie du service, est aussi un paramètre fondamental à prendre en compte pour éviter l'écllosion d'épidémies hospitalières.

Références Bibliographiques

Abalikamwe F., 2004. Investigation sur les bactéries responsables des infections urinaires et leur diagnostic par l'étude comparative. Mémoire [en ligne], Kigali Health Institute (KHI) - Licence en sciences médicales. Kigali-Rwanda. Disponible sur : <https://www.memoireonline.com/03/11/4359/Investigation-sur-les-bacteries-responsables-des-infections-urinaires-et-leur-diagnostic-par-le.html> consulté le 10 mai 2018.

Ach, 2000. Appareil urinaire. Disponible sur :

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

AFSSAPS, 2008. Recommandations de bonne pratique : diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires chez l'adulte. [En ligne] <http://www.infectiologie.com/site/medias/documents/consensus/afssaps-inf-urinairesadulte-argumentaire.pdf> consulté le 2 mars 2018.

Armbruster C.E. et Mobley H.L., 2012. Merging mythology and morphology: the multifaceted lifestyle of *Proteus mirabilis*. *Nature Rev. Microbiol.* 10: 743–754.

APPIT, 1994. Maladies infectieuses. Infections urinaires. Paris: Editions 2M2 : 149-158.

Balédent F., 1999. Les cristaux urinaires. France: Développement et Santé (139) Disponible sur <http://documentation.ledamed.org/IMG/html/doc-10820.html> consulté le 1 mai 2018.

Bennett J-E., Dolin R. et Blaser M-J., 2015. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. 8^{ème} édition. Philadelphie: Elsevier Saunders. 3904p.

Berthélémy S., 2014. Une patiente souffrant d'une infection urinaire. *Actual. Pharm.* 53 :41–44.

Bigot P., 2017. Infections urinaires : relecture des nouvelles recommandations, Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires de l'adulte, Service d'Urologie.

- Bonacorsi S., 2007.** Examen cyto bactériologique des urines (ECBU). In Denis F, Ploy Mc, Martin C, Bingen E, Quentin R, Bactériologie Médicale : Techniques usuelles. 2^e édition, Paris : Elsevier Masson : 179-186.
- Botto H., 2003.** Infections urinaires nosocomiales de l'adulte. *Médecine Mal. Infect* : 365–366.
- Bourghini T., Schenker M. et Kessler D., 2002.,** Fiche technique Bandelette réactive urinaire.
- Bourquia A., Ramdani B., Sahni K. et ZAID D., 1992.** Profil de l'infection urinaire dans un service de néphrologie. *Médecine du Maghreb*.p 11.
- Brunner L.S., Bare B., Smeltzer S. et Suddarth D.S.,2011.** Soins infirmiers en médecine et chirurgie volume 4 : Fonctions rénale et reproductrice.5^e édition. De Boeck Supérieur : 1645-1646.
- Brandstätter H., François A., Bréchet A.C. et Huttner A., 2013.** INFECTIONS URINAIRES, hôpital universitaire de Genève : 1-12.
- Brizon H., 1998.** DPAS: un an pour réussir sa formation, Paris : Heures de France :163-168.
- Bruyère F. et Boiteux J.P., 2011.** Épidémiologie, diagnostic et traitement des cystites aiguës isolées ou récidivantes de l'adulte. *Encycl. méd.-chir. Urol* :1-11.
- Bruyère F., Carion G., Boiteux J.P., Hoznek A., Mignard J.P., Escaravage L., Brenard L., Sotto A., soussy J., Coloby P., et le CIAFU., 2008.** Généralités sur les infections urinaires : Progrès en Urologie, France. S4-S8.
- Butreau-Lemaire M., Botto H., 1997.** Infections urinaires nosocomiales. Progrès en urologie : 674–682.
- Caquet R., 2010.** 250 examens de laboratoire : prescription et interprétation, 11^eédition, Elsevier Masson : 130- 132.
- Caron F., 2003.** Physiopathologie des infections urinaires nosocomiales : *Médecine Mal Infect*: 438-446.

CASFM, 2012. Résistance naturelle chez les entérobactéries. [en ligne] Disponible sur : « http://www.sfm-microbiologie.org/UserFiles/files/casfm/CASFM_2012.pdf » consulté le 11 juin 2018.

CLSI, 2011. . Performance standards for antimicrobial susceptibility testing ; twenty-first informational supplement : 159-160.

CMFC, 2010. Les infections urinaires–Un problème courant chez la femme [en ligne] Disponiblesur :« <http://www.cfpc.ca/ProjectAssets/Templates/Resource.aspx?id=3809&langType=3084> » Consulté le 20 mai 2018.

Congy F., 1994. Guide pratique de psychiatrie.Heures de France.p164.

Dhakal B.K ., Kulesus R.R. et Mulvey M.A., 2008.Mechanisms and consequences of bladdercell invasion by uropathogenic*Escherichia coli*, Eur. J. Clin. Invest : 2–11.

Dobrindt U., 2010.VirulenzfaktorenuropathogenerErreger,Urologe :598– 605.

Eddi A.,2010.Composition des urines, docteurcllic [en ligne]. Disponible sur : « <http://www.docteurcllic.com/encyclopedia/composition-des-urines.aspx> »Consulté le 24 avril 2018.

Flores-Mireles A.L., Walker J.N., Caparon M.et Hultgren S.J., 2015. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. Nat. Rev. Microbiol: 269–284.

Gerlach G.F., Clegg S. et Allen B.L., 1989.Identification and characterization of the genes encoding the type-3 and type-1 fimbrialadhesins of *Klebsiella pneumoniae*.*J. Bacteriol*: 1262–1270.

Goldstein FW., 1991. Place actuelle des tests rapides de détection de l'infection urinaire. Méd Mal Infect : 68-72.

Guiton P.S., Cusumano C .K., Kline K.A., Dodson K.W., Han Z., JanetkaJ.W., HendersonJ.P., CaparonM.G. et Hultgren S.J .,2012.Combinatorial small-molecule therapy prevents uropathogenic*Escherichia coli* catheter-associated urinary tract infections in mice. Antimicrob. Agents Chemother : 4738–4745.

- Gupta K. et Stamm W.E., 1999.** Pathogenesis and management of recurrent urinary tract infections in women. *World J Urol*: 415-420.
- Haertig A. et Conort P., 1991.** Urologie-Inp 8 : volume 8, nouveaux programme : Heures de France, Paris. p 30.
- Hickling D.R. Sun T.T. et WU X.R., 2015.** Anatomy and physiology of the Urinary Tract. Relation to Defense. *Microbial Infection* .3(4): 10.1128.
- Jacobsen S.M. et Shirliff M.E., 2011.** *Proteus mirabilis* biofilms and catheter-associated urinary tract infections. *Virulence* : 460-465.
- Jacobsen S.M. Stickler D.J., Mobley H.L. et Shirliff M.E., 2008.** Complicated catheter-associated urinary tract infections due to *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*. *Clin. Microbiol* : 26–59.
- John L., Bruschi M., et FACP. 2014.** Urinary Tract Infection in Males. Practice Essentials.
- Le REMIC, 1998.** Référentiel en microbiologie médicale. Première édition. Edition 2m2. Disponible sur : bacterioweb.univ-fcomte.fr/bibliotheque/remic/02-ECBU.PDF
- Marieb E., 2008.** Biologie humaine : Principes d'anatomie et de physiologie. 8^e Édition. Paris : Pearson : 549-555.
- May O., 2011.** Maladies infectieuses, paris : Vernazobres-Gregoire:128-129.
- Moreddu F., 2007.** Le conseil associé à une demande spontanée, Volume 2 – France. 144p.
- Murphy C.N., Mortensen M.S., Krogfelt K.A. et Clegg S., 2013.** Role of *Klebsiella pneumoniae* type 1 and type 3 fimbriae in colonizing silicone tubes implanted into the bladders of mice as a model of catheter-associated urinary tract infections. *Infect. Immun* : 3009–3017.
- Nathanson S., 2015.** Dépistage de l'infection urinaire par la bandelette urinaire, 18 (2):91-96.

- Nevers P., 2017.** Sémiologie des altérations de l'état de santé. 1^e édition. De BoeckSuperieur : 137-138.
- Nielubowicz G.R. et Mobley H.L., 2010.** Host–pathogen interactions in urinary tract infection. *Nature Rev. Urol.* 7: 430–441.
- Pasquier C., Grosjean J., Clavé D. et Archambaud M., 2017.** Bactériologie et virologie pratique. 3^e édition. De Boeck Superieur : 25-27.
- Pichard E., 2002.** Malin Trop Afrique : manuel de maladies infectieuses pour l'Afrique, John LibbeyEurotext, paris, p 233.
- Pilly E., 2018.** ECN. Pilly: maladies infectieuses et tropicales : Infections urinaires de l'adulte, Paris : ALINEA Plus :141-144.
- Prudhomme C., Jeanmougin C. et Geldreich M.A., 2010.** Mémento de stage de l'infirmière : Urologie-néphrologie. 2^e édition. Paris : Maloine, 127p.
- Puisieux F., 2012.** Le livre de l'interne : Gériatrie. Lavoisier Msp. p 487.
- Ramé A. et Thérond S., 2007.** Anatomie et physiologie. Muriel Chabert. Elsevier Masson. p. 244 ; p. 248.
- Raghu F., 2016.** Epidémiologie de la résistance chez les entérobactéries isolées sur les ECBU réalisés dans un service d'urgence. Thèse de doctorat. Université Paris Diderot - Paris 7. 80 p.
- Rioux C., 2010.** Infections urinaires, in Bouvet É. Guide d'antibiothérapie pratique. Lavoisier MSP : 124, 130.
- Robin, J., 2014.** Examen cyto bactériologique des urines. Infection urinaire. [En ligne] informations médicales. Disponible sur <http://www.infectionurinaire.org/ECBU> Consulté le 15 avril 2018.
- Sabbah L., 2015.** 638 - Infection urinaire, in: Méga Guide STAGES IFSI. 2^e Édition. Paris : Elsevier Masson, 2025 p.
- Schäffler A. et Menche N., 2004.** Anatomie physiologie biologie. 2^e édition. France : Maloine. p 372.

Schmiemann G., Kniehl E., Gebhardt K., Matejczyk M.M. et Hummers-Pradier E., 2010. The diagnosis of urinary tract infection: a systematic review. *Dtsch. Ärzteblatt Int* :361-366.

SPILF., 2014. Mise au point sur diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires de l'adulte. pp 7-8 ; pp : 22-24. Disponible sur <http://www.infectiologie.com/UserFiles/File/spilf/recos/infections-urinaires-spilf-argumentaire.pdf> consulté le 1 mars 2018.

SPILF., 1991. Deuxième conférence de consensus en thérapeutique anti-infectieuse. Antibiothérapie des infections urinaires. *Med Mal Infect*:51- 54.

Struve C., Bojer M. et Krogfelt K.A., 2008. Characterization of *Klebsiella pneumoniae* type 1 fimbriae by detection of phase variation during colonization and infection and impact on virulence. *Infect. Immun*: 4055–4065.

Thirion D.J. et Williamson D., 2003. Les infections urinaires : une approche clinique *Pharmactuel*: 248-249.

Thomas B. et Tolley D., 2008. Concurrent urinary tract infection and stone disease: pathogenesis, diagnosis and management. *Nat Clin Pract Urol*: 668-675.

Ulett G.C., Totsika M., Schaale K., Crey A.J., Sweet M.J. et Schembri M., 2013. Uropathogenic *Escherichia coli* virulence and innate immune responses during urinary tract infection. *Curr. Opin. Microbiol*: 100-107.

Walsh C. et Collens T., 2017. The pathophysiology of urinary tract infections. *Surg. Oxf* : 293–298.

Les annexes

Coloration de Gram

- Réaliser un frottis ou un étalement avec une colonie.
- Fixer la préparation à la flamme sans dépasser 50 - 60° (brièvement supportable à la main), ce qui les sèche puis laisser refroidir la lame
- Déposer quelques gouttes de solution de violet de gentiane (ou Cristal violet) sur le frottis fixé pendant 1min
- Laver à l'eau en transvasant les lames ou sous le robinet ;
- Déposer quelques gouttes de Lugol sur le frottis 1min ;
- Laver à nouveau à l'eau ;
- Décolorer jusqu'à disparition de la couleur violette dans l'alcool en faisant couler goutte à goutte sur la lame inclinée ;
- Laver à l'eau ;
- Déposer quelques gouttes de la fuchsine 1 min ;
- Laver à l'eau et sécher à l'air libre ;
- Observer à l'objectif x 100, en immersion avec de l'huile à immersion.

Coloration au bleu de méthylène

- Réaliser un frottis ou un étalement sur une lame puis fixer à la chaleur et refroidir la lame ;
- Verser quelques gouttes de bleu de méthylène phéniqué, attendre 1 min ;
- Rincer la lame et laisser sécher à l'air libre ;
- Observer à l'objectif x 100, en immersion avec de l'huile à immersion.

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

Gélose Mueller-Hinton

Infusion de viande de bœuf.....	300ml
Peptone de caséine.....	17,5g
Amidon de maïs.....	1, 5g
Agar.....	5.0g

pH= 7.4

Réactif de Kovacs

P-dimethyl aminobenzaldéhyde.....	7g/l
Alcool amylique.....	75ml
Acide chlorhydrique concentré	20ml

Réactif de Voges-Proskauer**- VP I**

Hydroxyde de Potassium.....	40g/l
Eau.....	100ml

- VP II

Alpha-naphtol	6 g/l
Ethanol	100ml

Réactif TDA

Perchlorure de fer	3,4g/l
Eau distillée stérile	100ml

Violet de Gentiane

Violet gentiane.....	01g
Ethanol à 90%.....	10ml
Phénol.....	02g
Eau distillée.....	100ml

Lugol

Iode.....	01g
Iodure de potassium.....	02g
Eau distillée.....	300ml

Fuchsine

Fuchsine basique.....	01g
Alcool éthylique à 90°.....	10ml
Phénol.....	05g
Eau distillée.....	100ml

Bleu de méthylène

Bleu de méthyle.....	01g
Eau distillée.....	20ml
Acide lactique.....	20g
Glycérol.....	40g
Phénol.....	20g

Tableau des différents paramètres de la bandelette urinaire (Borghini *et al.*, 2002).

Paramètre	Principe de méthode	Valeur seuil	Pathologie
Leucocytes	Mise en évidence de l'activité des estérases dans les leucocytes granulaires	10 leucocytes / μL	Infections
Nitrite	Mise en évidence des nitrites obtenus par l'activité des nitrate-réductases de certains germes.	0,3 mg/L (7 $\mu\text{mol/L}$)	Infections à Entérobactéries
pH	Mise en évidence du pH par la présence de plusieurs indicateurs chromogènes	5,0	Calculs rénaux
Protéines	Mise en évidence de l'albumine grâce au virage de couleur d'un indicateur de pH	60 mg/L (albumine)	Dysfonctionnement rénal
Glucoses	Mise en évidence du glucose par la méthode	glucose-oxydase / peroxydase 0,4 g/L (2,2 mmol/L)	Diabète
Corps cétoniques	Mise en évidence des corps cétoniques (acide acétylacétique et acétone) par le principe de la réaction colorimétrique de Légal	0,05 g/L (0,5 mmol/L)	Diabète
Urobilinogène	Mise en évidence de l'urobilinogène grâce à un sel de diazonium qui forme un dérivé azoïque rouge	4 mg/L (7 $\mu\text{mol/L}$)	Maladies du foie et des voies biliaires
Bilirubine	Mise en évidence de la bilirubine grâce à un sel de diazonium qui forme un dérivé azoïque coloré	84 mg/L (14 $\mu\text{mol/L}$)	Maladies du foie et des voies biliaires
Sang (2 échelles : 1 pour érythrocytes et 1 Pour hémoglobine)	Mise en évidence de l'hémoglobine et de la myoglobine par l'activité de la peroxydase et le virage d'un indicateur	Erythrocytes >5 Ery/ μL hémoglobine, érythrocytes lysés, myoglobine > 10 Ery/ μL	Calculs rénaux, tumeurs
Poids spécifique	Mesure de la densité par détection de la concentration des ions de l'urine	1,000 kg/L	Dysfonctionnement rénal

Tableau : Interprétation bactériologique-clinique de l'ECBU (John *et al.*, 2014)

Leucocyturie N/ml	Bactériurie N/ml	Interprétation et conduite à tenir
<10⁴	<10⁴	Urine normale, non infectée.
<10⁴	>10⁴	IU, habituellement mono-microbienne, la présence de plusieurs espèces bactériennes, possible chez un porteur d'une sonde à demeure, signe le plus souvent une contamination intrinsèque.
<10⁴	>10⁵	La discordance entre l'absence de réaction cellulaire et l'importance de la bactériurie fait évoquer plusieurs hypothèses : infection débutante, 10 ⁴ à contamination du prélèvement avec mise en culture tardive, infection sur un terrain particulier (immunodéprimé). Un nouveau prélèvement est nécessaire.
<10⁴	10⁴ à 10⁵	Contamination intrinsèque par prélèvement incorrect probable, mais l'origine infectieuse ne peut être écartée. Un nouveau prélèvement est nécessaire.
>10⁴	<10⁴	La leucocyturie sans germes évoque la possibilité d'infection par une espèce bactérienne nécessitant une recherche spéciale qu'il faut entreprendre, essentiellement le Bacille de Koch, mais il peut s'agir d'une infection traitée par antibiotique ou d'une cause non bactérienne.

Tableau d'identification de la galerie API 20E

Test	Composants actifs	QTE (mg/cup)	Réaction /enzymes	Négatif	Positif
ONPG	2-nitophényl βD-galactopyranoside	0.223	β-galactosidase	Incolore	Jaune ⁽¹⁾
<u>ADH</u>	L-arginine	1.9	Arginine DiHydrolase	Jaune	Rouge/orangé ⁽²⁾
<u>LDC</u>	L-lysine	1.9	Lysine décarboxylase	Jaune	Rouge /orangé ⁽²⁾
<u>ODC</u>	L- Ornithine	1.9	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge /orangé ⁽²⁾
CIT	Trisodium citrate	0.756	Utilisation de citrate	Vert pale /jaune	Bleu vert /bleu ⁽³⁾
H ₂ S	Sodium thiosulfate	0.075	Production d'H ₂ S	Incolore /grisâtre	Dépôt noir /fin liseré
<u>URE</u>	Urée	0.76	Uréase	Jaune	Rouge /orangé ⁽²⁾
TDA	L-tryptophane	0.38	Tryptophane Désamynase	<u>TDA/ immédiat</u>	
				Jaune	Marron-rougeâtre
IND	L-tryptophane	0.19	Production d'indole	<u>JAMES/ immédiat</u>	
				Incolore vert pâle/ jaune	Rose
VP	Sodium pyruvate	1.9	Production d'acétoïne	<u>VP1+VP2/ 10 min</u>	
				Incolore-rose pale	Rose, rouge ⁽⁵⁾
GEL	Gélatine	0.6	Gélatinase(Gélatine)	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	1.9	Fermentation / Oxydation (Glucose) ⁽⁴⁾	bleu / bleu-vert	Jaune –jaune gris
MAN	D-mannitol	1.9	Fermentation / Oxydation (Mannitol) ⁽⁴⁾	bleu / bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	1.9	Fermentation /oxydation (Inosole) ⁽⁴⁾	bleu / bleu-vert	Jaune
SOR	D-sorbitol	1.9	Fermentation/oxydation (sorbitol) ⁽⁴⁾	bleu / bleu-vert	Jaune
RHA	L-rhamnose	1.9	Fermentation/oxydation (rhamnose) ⁽⁴⁾	bleu / bleu-vert	Jaune

SAC	D-saccharose	1.9	Fermentation/oxydation (saccharose) ⁽⁴⁾	bleu / bleu-vert	Jaune
MEL	D-melibiose	1.9	Fermentation /oxydation (melibiose) ⁽⁴⁾	Bleu / Bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	0.57	Fermentation /oxydation (Amygdaline) ⁽⁴⁾	Bleu / Bleu-vert	Jaune
ARA	L-arabinose	1.9	Fermentation /oxydation (Arabinose) ⁽⁴⁾	Bleu / Bleu-vert	Jaune
OX	(Voir notice du test Oxydase)		Cytochrome-oxydase	(Voir notice du test Oxydase)	

(1) Une très légère couleur jaune est également positive

(2) Une couleur orange apparaissant après 36-48 H d'incubation doit être considérée négative.

(3) Lecture dans la cupule (Zone aérobie)

(4) La fermentation commence dans la partie intérieure des tubes, l'oxydation commence dans la cupule.

(5) Une légère coloration rose apparaissant après 10 minutes doit être lue négative.

- Les quantités indiquées peuvent être ajustées en fonction des titres des matières premières.
- Certaines cupules contiennent des composants d'origine animale, notamment des peptones.

Tableau : Résistance naturelle chez les entérobactéries (CASFM, 2012).

	AM	AMC	TIC/PIP	C1G	FOX	CIT	MA	CXM	TET	COL	FT
<i>E. cloacae</i>	R	R		R	R	R					
<i>C. koseri</i>	R		R								
<i>S. marcescens</i>	R	R		R			R	R		R	
<i>P. mirabilis</i>									R	R	R
<i>P. stuartii</i>	R	R		R				R	R	R	R

R : résistance naturelle

AM : Amoxicilline ; AMC : Amoxicilline + Acide Clavulanique ; TIC : PIP ; C1G : Céphalosporines de 1^{ère} génération ; FOX : Céfoxitine ; CIT : Cépôtétan ; MA : Céfamandole ; CXM : Céfuroxime ; GM : Gentamicine ; TET : Tétracyclines y compris la tigécycline ; COL : Colistine, Polymyxine B ; FT : Nitrofuranes.

Tableau des valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Pseudomonas arugenosa* (CLSI, 2011).

Antibiotiques Testés	Charge des disques	Diamètre critique (mm)			CMI critiques (µg/ml)		
		R	I	S	R	I	S
Amoxicilline+ Acide clavulanique*	20/10 µg	≤13	14-17	≥18	≥32/16	16/8	≤8/4
Céftiofur*	30 µg	≤17	18-20	≥21	≥8	-	≤4
Gentamicine**	10 µg	≤12	13-14	≥15	≥16	8	≤4
Espèce équine	10 µg	≤12	13-15	≥16	≥8	4	≤2
Espèce canine	10 µg	≤12	13-15	≥16	≥8	4	≤2
Tobramycine	10 µg	≤12	13-14	≥15	≥16	8	≤4
Enrofloxacin	5 µg	≤16	17-22	≥23	≥2	-	≤0.25
Aviaire (poulet et dinde)	5 µg	≤16	17-22	≥23	≥2	0.5-1	≤0.25
Espèce canine chien	5 µg	≤16	17-22	≥23	≥4	1-2	≤0.5
Espèce féline (chat)	5 µg	≤16	17-22	≥23	≥4	1-2	≤0.5
Colistine	10 µg	≤14	15-17	≥18	≥8	4	≤2

*Antibiotique testé seulement pour la recherche des β-lactamases.

** Antibiotique testé uniquement dans le cadre de l'épidémiologie-surveillance.

Tableau des valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour les entérobactéries (CLSI, 2011).

Antibiotiques Testés	Charge des disques	Diamètre critique (mm)			CMI critiques (µg/ml)		
		R	I	S	R	I	S
Amoxicilline	10µg	<13	14-16	>17	>32	16	<8
Amoxicilline + Ac. Clavulanique	20/10 µg	<13	14-17	>18	>32/16	16/8	<8/4
Ampicilline	10µg	<13	14-16	>17	>32	16	<8
Amikacine	10 µg	<14	15-16	>17	>64	32	<16
Gentamicine	10 µg	<12	13-14	>15	>16	8	<4
Cefoxitine	30 µg	<14	15-17	>18	>32	16	<8
Ticarcilline	75 µg	14	/	15	129	/	54
Colistine	/	/	/	/	/	/	/
Ciprofloxacine	5 µg	<15	16-20	>21	>4	2	<1
Acide nalidixique	30 µg	<13	14-18	>19	>32	/	<16

Tableau des valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylococcus spp.* (CLSI, 2011).

Antibiotiques Testés	Charge des disques	Diamètre critique (mm)			CMI critiques (µg/ml)		
		R	I	S	R	I	S
Pénicilline	10 UI	≤ 28	-	≥ 29	≥ 0.25	-	≤ 0.12
Pénicilline + Novobiocine	10UI/30 µg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 4/8	2/4	≤ 1/2
Amoxicilline + Acide clavulanique	20/10 µg	≤ 19	-	≥ 20	≥ 8/4	-	≤ 4/2
Oxacilline <i>S. aureus</i> SCN	1 µg	≤ 10 ≤ 17	11-12 -	≥ 13 ≥ 18	≥ 4 ≥ 0.5	- -	≤ 2 ≤ 0.25
Céfoxitine*** <i>S. aureus</i> <i>S. lugdunensis</i>	1 µg	≤ 21	-	≥ 22	≥ 8	-	≤ 4
Erythromycine	30 µg	≤ 13	14-22	≥ 23	≥ 8	1-4	≤ 0.5
Néomycine/ Kanamycine	15 µg	≤ 13	14-17	≥ 18	≥ 64	32	≤ 16
Gentamicine**	10 µg	≤ 12	13-14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4
Enrofloxacin	5 µg	≤ 16	17-22	≥ 23	≥ 4	1-2	≤ 0.5
Sulfisoxazole	250 ou 300 µg	≤ 12	13-16	≥ 17	≥ 512	-	≤ 156
Triméthoprim + Sulfaméthoxazole	1.25/23.75 µg	≤ 10	11-15	≥ 16	≥ 4/76	-	≤ 2/38
Tétracycline	30 µg	≤ 14	15-18	≥ 19	≥ 16	8	≤ 4
Vancomycine**	30 µg	≤ -	-	≥ 15	≥ 16	4-8	≤ 2
Bacitracine	130 µg	≤ 15	-	≥ 15	≥ 2	-	≤ 2
Clindamycine	2 µg	≤ 14	15-20	≥ 21	≥ 4	1-2	≤ 0.5

*Antibiotique testé seulement pour la recherche des B-lactamases.

** Antibiotique testé uniquement dans le cadre de l'épidémiologie-surveillance.

Les infections urinaires à Ain M'lila

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Ecologie Microbienne

Les infections urinaires (IU) constituent un véritable problème de santé publique. Elles représentent le second site d'infections bactériennes après l'arbre respiratoire, et le premier site d'infections bactériennes nosocomiales.

Notre étude ayant pour but d'isoler et d'identifier les germes responsables des IU et de tester leurs profils de sensibilité aux antibiotiques, et aussi l'étude des caractéristiques épidémiologiques des infections urinaires dans la région d'Ain M'Lila, Wilaya d'Oum El Bouaghi.

Le diagnostic des IU repose essentiellement sur l'ECBU qui doit être pratiqué avant toute antibiothérapie. Il repose sur un examen microscopique minutieux et une interprétation rigoureuse de la culture bactérienne.

Dans notre étude, nous avons identifié 38 microorganismes. La plupart d'entre eux appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* dont l'*Esherichia coli* est de loin la bactérie la plus fréquemment isolée (44.72%), suivie de *Proteus mirabilis* (13.15%), et de *Klebsiella pneumoniae* (10.52%). Nous avons trouvé aussi d'autres microorganismes tels que : *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, Staphylocoque à coagulase négatif, *Serrratia marcescens*, *Citrobacter koseri*, *Klebsiella ornithiolytica*, *K. oxytoca*, *Providencia stuartii* et aussi des levures.

L'étude de la résistance des bactéries isolées aux différents antibiotiques a montré une variabilité selon les souches.

Les résultats épidémiologiques montrent une prédominance féminine avec un pourcentage de 84% et que 39.47% des malades ont une infection urinaire nosocomiale.

Mots clés : Infection urinaire, Examen cyto bactériologique des urines, *Enterobacteriaceae*, Antibiogramme.

Laboratoire : Laboratoire central de l'hôpital Sliman Amirat, Ain M'Lila, Oum El Bouaghi

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : BOUBEKRI Karima	(Maître de conférences -UFM Constantine).
Rapporteuse : GACI Meriem	(Maître-assistante -UFM Constantine).
Examinatrice : RIAH Nassira	(Maître de conférences -UFM Constantine).

Date de soutenance : 21/06/2018