



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE
Projet de Fin d'Etudes

Licence Sciences & Techniques
Sciences Biologiques Appliquées et Santé
(LST - SBAS)

Les infections urinaires : Diagnostic biologique et profil épidémiologique.

Elaboré par :

- Mlle. Sihame BAHI

Encadré par :

- Pr . El Houssaine HARKI -FST Fès-
- Dr .Zahra BENNANI -CKLAB Fès-
- Phd. Abderrazak ABOULGHAZI -CHU-Fès-

Soutenu le : 10 juillet 2021

Membres de jury:Pr. El Houssaine HARKI

Pr.Wifak BAHAFID

Dr.Zahra BENNANI

Stage effectué à : laboratoire AL Kawtar Fès

Année universitaire 2020-2021

Remerciements

*Je tiens tout d'abord à présenter mes sincères remerciements à
Pr El Houssaine Harki. pour son encadrement et sa contribution précieuse au
bon déroulement du programme de SBAS.*

*Je tiens également à communiquer mes plus vives compliments et
remerciements au **Dr Zahra Bennani** médecin spécialiste ,respponsable du
laboratoire d'analyses médicales **AL KAWTAR**.*

*Je tiens à remercier vivement **Pr. Said HALOTI** coordinateur de la filière
Sciences Biologiques Appliquée et Santé, qui était très disponible tout au long de
la formation, et de nous avoir offert des possibilités pour que ce travail aboutisse.
Je remercie **Mr. Abderazzak ABOULGHAZI** pour ses conseils judicieux et le suivi
permanent de ce travail.*

*Mes remerciements s'adressent également au **Pr. Wifak BAHAFID**
d'avoir accepté de contribuer par leurs remarques l'amélioration de ce
travail.*

*Je remercie également tout le personnel de labortoire **AL KAWTAR**
(Widad,meryem,laila,moussa)*

De leur soutien et encouragement durant toute la période de stage.

Merci



DEDICACES

A ma Chère Mère Khadija

A mon Père Abdelaziz

Qu'ils trouvent en moi la source de leur fierté

A qui je dois tout

A ma sœur SALMA et mon frère M'HAMMED

A qui je souhaite un avenir radieux plein de réussite

A tous les gens m'aiment

Asmae, Nisrine, Souad, Hanae, Zineb, ikram, Zineb, Olaya.....

A tous ceux qui me sont chers

Liste des abréviations :

AMC : Amoxiline + Acide Clavulanique

AMK : amikacin

AMP : ampicillin

AMX : Amoxiline

ATM: Aztreonam

CAZ : ceftazidime

CEP : cephalosporins

CF : céfalotine

CFM : Cefixime

CHL : Chloramphenicol

CIP : Ciproflaxine

CLED: Cystine Lactose Electrolyl Deficient

CMI : concentration minimale d'inhibition

CN : céfalexine

COL : Colistine

COT : Co-trimoxazole

CTR : ceftriascone

CTX : Céfatoxime

CXM : Céfuroxime

ECBU : Examen Cytobactériologique des Urines

ERY: erythromycin

ETP : ertapenem

FOS : fosfomycine

FOX : cefoxitin

FT : nitrofurantoine

GEN : Gentamicine

ID : identification

IPM : imipénème

IU : Infection urinaire

L : lincomycine

LEV : Levofloxacin

Mc : mecillinam

MH : Mueller-Hinton

NAL : Nalidixic acid

NOR : Norfloxacin

OFX : OFLOXACIN

OX : oxacilline

PIP : pipéracilline

PNA : pyélonéphrite aigüe

PTZ : piperacillin-tazobactam

S : streptomycine

TE : tétracycline

TEIC : Teicoplanin

TIC : ticarcilline

VA : vancomycine

Listes des tableaux :

Tableau 1: constituants des urines	7
Tableau 2: physiopathologie urinaire	7
Tableau 3 : Classification des antibiotiques	13
Tableau 4: composition du milieu de culture CLED agar:	22
Tableau 5: Identification morphologique colonies bacteriennes sur CLED agar.....	24
Tableau 6: nombre et pourcentage des ECBU positive selon l'age.....	27

Liste des figures :

Figure 1: schéma de l'anatomie de l'appareil urinaire chez la femme (a) et chez l'homme (b)	03
Figure 2: urines à différents aspects	04
Figure 3: Illustration de la production d'urine	05
Figure 4: Forme topographique 3D des localisations des infections urinaires.	08
Figure 5 : coloration de gram d'Escherichia coli Obj .microscope x 100	10
Figure 6: colonies d'Escherichia coli sur milieu(CLED) après incubation à 37°C pd 24 h...	10
Figure 7: coloration de Gram Klebsiella pneumoniae Obj .microscope x 100	10
Figure 8: colonies de Klebsiella pneumoniae sur milieu CLED après incubation 24h à 37C .	10
Figure 9 : coloration de Gram de Proteus Obj .microscope x 100	11
Figure 11: colonies de Proteus sur milieu (CLED)	11
Figure 11.: Pseudomonas aeruginosa au Gram Obj .microscope x 100.	11
Figure 12: colonies Pseudomonas aeruginosa sur CLED	11
Figure 13: Stréptococcus au gram Obj . microscope x 100	12
Figure 14: Colonie de staphylococcus sur PBC à 37°C pendant 24 h)	12
Figure 15: Stréptococcus au gram Obj .microscope x 100	12
Figure 16: Colonie de Stréptococcus avec zone d'hémolyse sur GS à 37°C pendant 24 h)...	12
Figure 17: structure de paroi d'une bactérie à gram négative et bactérie à gram positive.....	14
Figure 18: illustration des mécanismes de sensibilité et de résistances des bacteries	16
Figure 19: bandelette urinaire	20
Figure 20 : observation microscopique de la coloration de gram	21
Figure 21: milieu de culture CLED agar	23
Figure 22: Technique d'ensemencement d'une urine sur la gélose CLED	23
Figure 23 : antibiogramme Sur milieu de MH	25
Figure 24 : PHOENIX™	26
Figure 25: répartition des ECBU demandés selon le sexe	28
Figure 26: Répartition des ECBU positives selon le sexe	28
Figure 27: Répartition des germes responsables des IU	29
Figure 28 : Profil de sensibilité d'Escherichia coli aux antibiotiques testés	29
Figure 29: Profil de résistance et de sensibilité des enterococcus aux antibiotiques testés	30
Figure 30: Profil de résistance et de sensibilité de pseudomonas aux antibiotiques testés	30
Figure 31: Profil de résistance et de sensibilité de klebsiella pneumonia aux antibiotiques testés	31

Résumé

Les infections urinaires sont un véritable problème de santé publique en raison du réservoir de bactéries multi-résistantes qu'elles représentent. Il existe quatre types l'infection urinaire : la cystite, l'urétrite infectieuse, la pyélonéphrite, la prostatite.

L'examen cyto bactériologique des urines (ECBU) nous à permis de mettre en évidence la présence de leucocytes, hématies et des cristaux. La bactériologie ainsi que les galeries biochimiques nous ont permit l'identification des germes impliqués dans l'infection urinaire: *E. coli* et *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter sp*, *Proteus mirabilis* et *Pseudomonas aeruginosa*.

L'antibiogramme a indiqué un profil de sensibilité d'*E. coli*, *Proteus mirabilis* et *Pseudomonas aeruginosa* envers les différents antibiotiques testés. Par contre nous avons remarqué que *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter sp* présentaient une importante résistance.

Les mots clés : Infection urinaire, cystite, examen cyto bactériologique des urines, antibiogramme.

Table des matières :

Introduction :	1
Chapitre I : Revue Bibliographique	2
I. Anatomie du système urinaire :	3
1. Appareil urinaire supérieure :.....	3
a. les reins :	3
b. les uretères :	4
2.Appareil urinaire inférieure :	4
a. la vessie :.....	4
b. l 'urètre :.....	4
II. les urines :	4
1. définition :.....	4
2.Physiopathologie des urines :	5
a. Physiologie de formation des urines	5
III. Pathologie des urines :	6
IV. Les Infections urinaires :	8
1. Définition	8
2. Types.....	8
3. Manifestations cliniques :	8
a. La pyélonéphrite aiguë :.....	9
b. La cystite.....	9
c. La prostatite	9
d. L'urérite :	9
V. Les bactéries pathogènes impliqués dans les Infections Urinaires :	9
1. Les agents étiologiques :	9
1.1. Les entérobactéries :	9
a. <i>Escherichia coli</i> :	10
b. <i>Klebsiella</i>	10
c. <i>Proteus</i>	11
d. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> :	11
e. <i>Staphylococcus aureus</i> :.....	11

f.	<i>Les Streptocoques</i> :	12
VI.	Antibiothérapie et résistance aux antibiotiques :	12
1.	Definition :	12
2.	Classification et cibles :	13
3.	Mécanismes d'action :	14
a.	<i>Action sur la synthèse de la paroi bactérienne</i> :	14
b.	<i>Action sur la membrane cytoplasmique</i> :	15
4	.La résistance aux antibiotiques :	15
	Chapitre II : Partie pratique	17
I.	Matériel et méthodes :	19
4.	ECBU :Examen Cytobatériologique des urines	20
1.	Antibiogramme :	25
	: Résultats et discussion	27
I.	Profil épidémiologique au cours de la période de stage :	28
1.	Population étudiée :	28
1.1.	Répartition des IU selon le sexe :	28
1.2.	Répartition des résultats positifs des ECBU selon l'âge :	28
1.3.	Répartition des germes responsables des infections urinaires :	29
1.4.	Profil des résistance des germes aux antibiotique :	29
a.	<i>Escherichia coli</i>	29
b.	<i>Enterococcus</i>	30
c.	<i>Pseudomonas</i> :	30
d.	<i>Klebseilla pneumoniae</i>	31
	Conclusion :	32
	Références bibliographiques:	33

Présentation de la structure d'accueil

Notre formation acquise à la Faculté des Sciences et Techniques de Fès a été complétée par un stage de fin d'études qui s'est déroulé dans le laboratoire AL KAWTAR d'analyses médicales à Fès.

Laboratoire AL KAWTAR d'Analyses Médicales

C'est l'un des laboratoires privés les plus connus à Fès, il regroupe de nombreux professionnels de la santé : 3 techniciens de laboratoire, 2 préleveuse. On y trouve aussi 1 personne à la réception, et 1 femme de ménage.

Il contient 5 paillasse pour répondre aux demandes d'analyses des différents services.

La paillasse d'hématologie : regroupe 2 personnes, où s'effectue :

- L'hémogramme : pour la numération formule sanguine (NFS)
- Coloration MGG : pour les frottis sanguins
- Détermination de la vitesse de sédimentation (VS)
- Le test de Coombs direct (TDA) et indirect (TDI)
- Détermination du temps de céphaline activé (TCA) ...

La paillasse de biochimie et immunochimie : regroupe 3 personnes, où s'effectue :

- Electrophorèse des protéines plasmatiques dans le sang (EPP)
- Immunofixation (IF) : pour la recherche des anticorps dans le sérum du patient
- Polymérase Chain Réaction (PCR)
- Ionogramme...

La paillasse de sérologie : regroupe 2 personnes :

- Test de troponine
- Test VDRL-TPHA pour la Syphilis ;
- Test de l'hépatite C...

La paillasse de bactériologie /parasitologie : regroupe 3 personnes :

- Examen Cyto-Bactériologique des Urines (ECBU)
- Les analyses des liquides biologiques (Liquide pleural, articulaire,..)
- La copro-parasitologie
- Prélèvements vaginales (PV)...

Introduction

L'infection urinaire (IU) est une pathologie bactérienne fréquente qui constitue un problème majeur de santé publique et un motif principal de consultation médicale [1], Cette infection est souvent considérée comme banale et bénigne avec une fréquence mondiale estimée à 150 millions par an et 3-4 millions au Maroc [2], mais elle peut avoir des conséquences pathologiques sévères et entraîner des complications graves, notamment des atteintes rénales. [3].

L'examen cyto bactériologique des urines (ECBU) est l'analyse biologique qui permet de diagnostiquer toute infection urinaire et d'identifier son (ses) germes responsables afin de poser le traitement le plus efficace. Son interprétation est simple mais dépend aussi de la qualité de sa réalisation, son recueil ainsi que son acheminement vers le laboratoire qui doivent être effectués dans des conditions strictes et selon un protocole bien défini [4].

Le médecin doit prescrire un antibiotique de façon empirique, en choisissant celui le plus efficace. Ceci est réalisé grâce à la méthode de l'antibiogramme permettant de faire la distinction entre une souche bactérienne résistante et d'autre sensible à l'antibiotique testé [5].

Afin de pouvoir approfondir nos connaissances pour les infections urinaires et de rapporter les techniques et les résultats des Examens bactériologiques des infections urinaires chez les patients hospitalisés au sein d'un établissement sanitaire privé, on a réalisé un stage de fin d'étude au sein d'un laboratoire CKLAB-Fès recevant les prélèvements auprès l'établissement précité.

Les objectifs de notre travail sont :

- ❖ Mettre le point sur les techniques de diagnostic bactériologique des urines au sein du laboratoire d'analyses médicales.
- ❖ Décrire le profil épidémiologique des infections urinaires chez les malades hospitalisés.
- ❖ Evaluation des niveaux de résistance de la souche des germes isolée par rapport aux antibiotiques.

Chapitre I :
Revue Bibliographique

L'infection urinaire étant d'origine bactérienne, le traitement est basé sur la prise d'un antibiotique permettant d'éliminer la bactérie. Toutefois, il existe des bactéries qui résistent aux effets de ces antibiotiques ce qui limite le choix de ces derniers.

I. Anatomie du système urinaire :

Appareil urinaire est un ensemble d'organes assurant la filtration puis l'évacuation des déchets du catabolisme de l'organisme sous forme liquide « **urine** ». Il comprend une succession d'organes rétro et sous-péritonéaux : **les reins**, qui fabriquent l'urine, et les voies excrétrices urinaires extrarénales constituées par les deux **uretères** qui transportent l'urine, la **vessie** qui la stocke et **l'urètre** miction qui aboutit à l'évacuation périodique et contrôlée des urines [6].

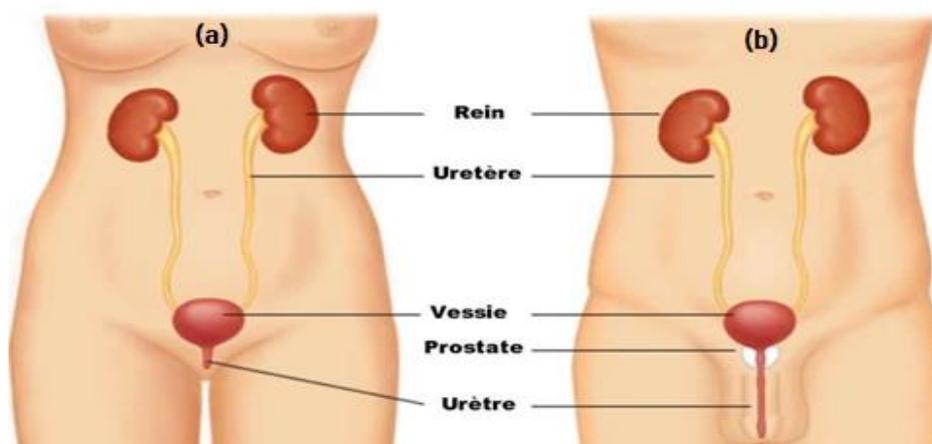


Figure 1 : Schéma de l'anatomie de l'appareil urinaire chez la femme (a) et chez l'homme (b)

1. Appareil urinaire supérieure :

a. les reins :

le rein est un organe vital ayant de multiples fonctions dont la régulation de la tension artérielle, il est surtout l'un des principaux organes de détoxification. Il assure par filtration et excrétion d'urine l'équilibre hydroélectrolytique (homéostasie) du sang et de l'organisme en général. Le corps humain possède deux reins fixés sous les côtes, chaque rein pèse environ 150g et mesure 12cm de haut ,7cm de large et 3cm d'épaisseur. Sa face interne concave présente une dépression ou hile, où les vaisseaux sanguins, les nerfs et l'uretère se rassemblent [7] .

Le rein est entouré de trois couches de tissus qui le protègent et le maintiennent : un tissu externe conjonctif dense, une couche moyenne de tissu adipeux, et au contact du rein, un tissu fibreux transparent ainsi une capsule [8] .

b. les uretères :

Chez l'adulte, les uretères sont des conduites fines mesurant d'habitude 22 à 25 cm de long avec un diamètre de 3mm [9].

Ils acheminent l'urine dès sa formation dans les bassinets jusqu'à la vessie. Cette fonction est facilitée par la structure de leur paroi, qui est formée de trois couches tissulaires superposées :

- Une couche interne, dite la muqueuse, qui sécrète du mucus la protégeant contre l'érosion.
- Une couche musculaire intermédiaire, constituée de fibres musculaires lisses longitudinales et circulaires.
- Une couche externe fibreuse, faite de tissu conjonctif.

C'est grâce à l'activité péristaltique de la couche musculaire que l'urine progresse dans l'uretère jusqu'à la vessie [10].

2.Appareil urinaire inférieure :

a. la vessie :

La vessie est l'organe dont la fonction est de stockage de l'urine terminale produite par les reins puis son évacuation. C'est un réservoir musculo-membraneux, extensible, sa contenance est variable, 300 ml en moyenne. Elle est fermée par un sphincter, un muscle en forme d'anneau qui commande l'ouverture et la fermeture de la vessie [11].

b. l'urètre :

L'urètre est le canal qui achemine l'urine de la vessie vers l'extérieur. Il a une fonction excrétrice des urines, Son anatomie est différente dans les deux sexes [12] :

- **l'homme** : l'urètre permet aussi le passage de sperme à partir des orifices d'abouchement des canaux éjaculateurs. Ce canal va du col de la vessie à l'extrémité de la verge et mesure environ 16 cm. Il traverse d'abord la prostate puis pénètre dans le corps spongieux.
- **la femme** : l'urètre étend du col de la vessie à la vulve et mesure environ 3cm.

I.les urines

1. définition :

Le terme "urine" est issu du latin *urina*. c'est un liquide biologique composé de déchets de l'organisme, elle est sécrétée par les reins par filtration du sang, puis par récupération des molécules de l'urine « primitive » pour former l'« urine définitive », qui sera expulsée hors du corps par le système urinaire [13].



Figure 2 : Urines à différents aspects

2. Physiopathologie des urines :

a. Physiologie de formation des urines :

La formation urine se déroule selon trois étapes principales : la filtration glomérulaire, la réabsorption et la sécrétion. Ces processus garantissent que seuls les déchets et l'excès d'eau sont évacués de l'organisme [14] .

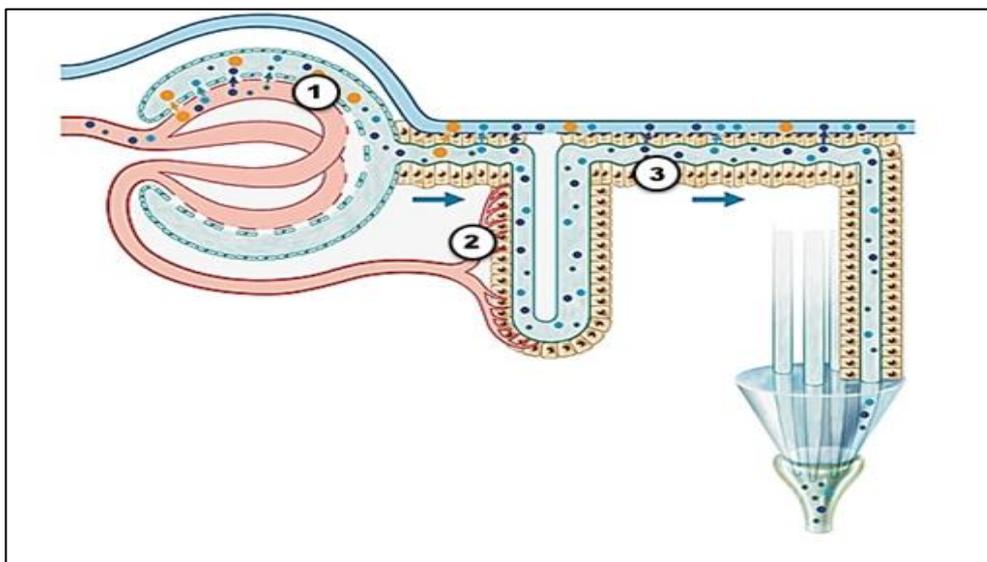


Figure 3 : Illustration de la production d'urine

Etape I (la filtration glomérulaire) : Le glomérule se charge de filtrer le sang des capillaires glomérulaires et de former l'urine primitive, appelée également *ultrafiltrat*. Lorsque le sang circule dans le glomérule, la pression sanguine pousse l'eau et les solutés issus des capillaires dans la capsule de Bowman en le faisant passer par une membrane de filtration qui permet à l'eau et aux petits solutés de passer, mais retient les cellules sanguines et les protéines de grande taille. Ces éléments demeurent dans la circulation sanguine. Le filtrat (le liquide étant passé à travers la membrane) quitte la capsule glomérulaire pour s'acheminer plus dans le *néphron*.

Le filtrat en résultant contient des déchets, mais également d'ions essentiels, de glucose, d'acides aminés et de protéines de plus petite taille. Lorsque le filtrat quitte le glomérule, il se jette dans le **tubule rénal**.

Etape II (la réabsorption tubulaire) : Au fur et à mesure de son déplacement, les substances nécessaires ainsi qu'une petite quantité d'eau sont réabsorbées à travers la paroi du tubule dans les capillaires adjacents. Cette réabsorption des nutriments vitaux provenant du filtrat constitue la deuxième étape de la création d'urine.

Etape III (La sécrétion) : Les nutriments et l'eau sont réabsorbés dans les capillaires. Quant aux ions hydrogène et des ions considérés comme des déchets quittent les capillaires pour intégrer le tubule

rénal. Ce processus porte le nom de **sécrétion**. Les ions sécrétés s'associent au filtrat restant et se transforment en urine.

L'urine s'écoule du tubule du néphron et rejoint un tube collecteur. L'urine quitte alors le rein en passant par le bassinnet et les uretères, puis atteint la vessie.

b. Composition Générale des urines :

Chaque individu produit 1-1,5 litre d'urine par jour en 4-5 fois et excrète en moyenne 500 litre d'urine par an [11]. Les urines sont composées de :

- Eau : environ 95%
- Composés organiques : environ 2% du volume total.
- Urée : produit terminal du catabolisme des protéines représente un taux de 2 %
- Créatinine : produit terminal du catabolisme de la créatine musculaire 0,1 %
- Acide urique : 0,03 % produit terminal du catabolisme des acides nucléiques
- Acide hippurique.
- Uribilirubine

II. Pathologie des urines :

A l'état anormal, on peut observer soit une diminution de volume (une oligurie), soit une augmentation de volume (une polyurie) sa couleur peut être jaune paille ou incolore traduisant une néphrite interstitielle chronique ou brunâtre en cas d'un ictère ou bien rouge sanglant au cours d'une hématurie.

L'urine anormale a une odeur de pomme au cours de l'acétonurie. et son acidité peut augmenter chez les diabétiques ou diminuer en cas des insuffisances rénales.

Comme pathologies urinaires on peut citer :

- ✓ **Hématurie** : présence de sang dans les urines, se traduisant par une coloration rose ou rouge suivant l'importance de l'hématurie. La présence de sang dans les urines peut traduire une infection de la vessie, de la prostate, de l'urètre ou des reins.
- ✓ **Leucocyturie** : les leucocytes (globules blancs) sont normalement présents dans les urines en quantité inférieure à 10000 par ml. Son augmentation peut être un indicateur d'une infection des voies urinaires comme une pyélonéphrite (infection due à la présence de pus dans les bassinets) ou une prostatite (inflammation de la prostate due à une infection) .
- ✓ **Oligurie** : diminution importante du volume des urines. Dans ce cas, la quantité d'urine émise est inférieure à 12 ml par vingt-quatre heures.
- ✓ **Anurie** : arrêt total de la sécrétion d'urine. L'oligurie et l'anurie sont le témoin d'une insuffisance de fonctionnement des reins (insuffisance rénale) généralement aiguë (survenant sur une période relativement courte) [15].

Ces dernières sont bien citées dans le tableau suivant :

Tableau 1 : Constituants des urines :

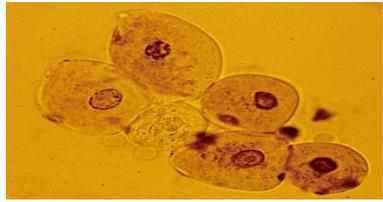
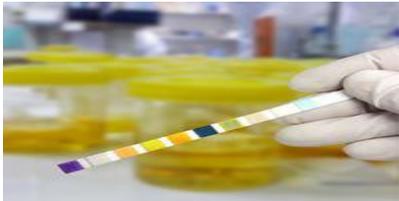
Constituants	Types	Valeurs normales
<p>Eléments cellulaires</p> 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Cellules épithéliales ▪ Cylindres ▪ Hématies ▪ Leucocytes ▪ Cristaux 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Rare cellules ▪ 1à2cylindres hyalins. ▪ Inférieur à 10000/ml ▪ Inférieur à 5000/ml ▪ Absence
<p>Eléments organiques</p> 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Acide urique ▪ Urée ▪ Créatinine ▪ Urobiline 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 0,35à 1g/ 24H ▪ 10à 35g/24 H ▪ 0,5 à 2,5g/24H ▪ 0,5à 3,5 mg/24 heure
<p>Eléments minéraux</p> 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Sodium ▪ Potassium- ▪ Chlore ▪ Calcium 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 50à150mmol/24 ▪ 50à100m mol/24 h ▪ 120 à 250 /24h ▪ 100à 400mg/24h
<p>Eléments chimiques anormaux</p> 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Glucose ▪ Protéines ▪ Corps cétoniques 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Absence ▪ < 0.05g/24 heure. ▪ Absence.

TABLEAU 2 : PHYSIOPATHOLOGIE URINAIRE

	Etat normal	Diminution	Augmentation
Volume	20 ml/kg de poids 1300 à 1500 ml par 24h.	<500 ml constitue l' oligurie : au cours des maladies infectieuses	>2000ml ml par 24h. polyurie : au cours du diabète et les néphrites interstitielles.
Couleur	Jaune citrin plus ou moins foncé.	Jaune paille ou incolore : néphrite interstitielle chronique.	Orange à brun dans le cas d'un ictère, Rouge au cours de l'hématurie
Odeur	Peu prononcée.	Odeur de pomme au cours de l'acétonurie.	
pH	5 à 8	S'abaisse (acidité augmentée) chez les diabétiques.	Augmente (acidité diminuée) dans les insuffisances rénales.

III. Les Infections urinaires :

1. Définition

L'infection urinaire est l'agression du tractus urinaire par un ou plusieurs bactéries ou levures, générant une réponse inflammatoire, des symptômes cliniques de nature et d'intensité variables selon le patient. Elle est dite communautaire lorsqu'elle n'est pas acquise dans une structure de soins contrairement à l'infection urinaire nosocomiale [16]. Elle se manifeste le plus souvent par des douleurs ou brûlures lors de la miction, parfois par des douleurs abdominales et de la fièvre.

2. Types

a. Infections endogènes.

Les infections endogènes ou auto-infections sont des infections par les germes saprophytes d'origine digestive et dont le risque est plus important lorsqu'il existe une incontinence anale ou une diarrhée, ou au cours d'une procédure invasive de soins (sondage vésical, cathétérisme...) et lors d'hospitalisation du fait de l'immobilisation et de la situation de dépendance du patient.

b. Infections exogènes.

Les infections d'origine exogène sont des infections causées par des germes qui sont transmis soit par manutention, soit par du matériel ou des instruments mal désinfectés ou bien par l'environnement hospitalier (eau, air, surface, alimentation...). En réalité, la majorité de ces infections sont évitables.

3. Manifestations cliniques :

Selon la localisation de l'infection, on peut distinguer :

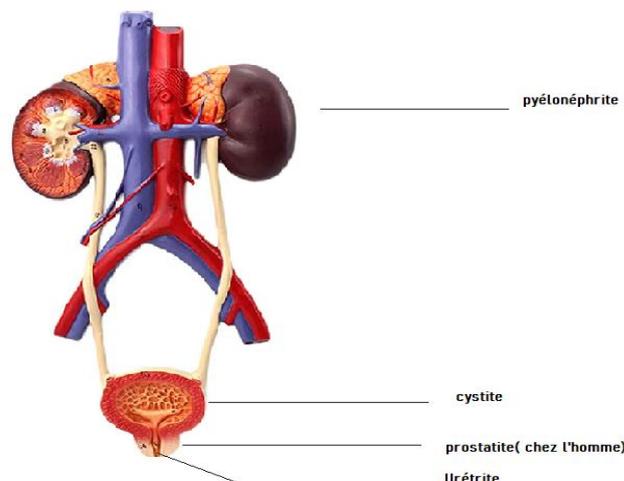


Figure 4 : Forme topographique 3D des localisations des infections urinaires.

a. La pyélonéphrite aiguë :

La pyélonéphrite aiguë (PNA) ou infection urinaire haute est une infection urinaire bactérienne avec atteinte du parenchyme rénal ; il s'agit d'une néphrite interstitielle microbienne, atteignant le parenchyme par voie ascendante, à partir de la vessie puis l'uretère, puis le bassinet. Elle peut être cause de lésions rénales et de diffusion systémique.

b. La cystite

Une cystite ou infection urinaire basse est une inflammation de la vessie le plus souvent d'origine bactérienne, bénigne, toujours d'origine ascendante. Elle peut être totalement asymptomatique, révélée par l'examen microscopique des urines (cas fréquent pendant la grossesse).

Et elle ne s'accompagne jamais de fièvre.

c. La prostatite

Infection aiguë ou chronique de la prostate. Une prostatite est une infection génito-urinaire du parenchyme prostatique due à la présence de micro-abcès et à l'inflammation importante de la prostate, fréquente affectant les hommes de tout âge, avec une fréquence particulière chez l'adulte plus de 50 ans. Caractérisée par :

- ✓ Polykiurie : un trouble de la miction qui peut avoir des origines très diverses. Cette envie fréquente d'uriner peut survenir le jour et/ou la nuit
- ✓ Brûlures mictionnelles.
- ✓ Pyurie : désigne la présence de pus dans les urines.
- ✓ Fièvre pseudo grippale : 39-40°C

d. L'urétrite :

Il s'agit d'une infection sexuellement transmissible courante chez les hommes et les femmes caractérisée par :

- ✓ Dysurie avec brûlures mictionnelles.
- ✓ Écoulement urétral.
- ✓ Parfois une hématurie typiquement initiale.

IV. Les bactéries pathogènes impliqués dans les Infections Urinaires :

1. Les agents étiologiques :

1.1. Les entérobactéries :

Il s'agit d'une vaste famille de bactéries qui sont rencontrées quotidiennement en bactériologie médicale et qui sont en majorité des pathogènes du tube digestif humain et d'autres sont des colonisateurs normaux (*Escherichia coli*, *Klebsiella* sp ...) bien qu'ils soient également présents dans l'environnement [16].

Ce sont des bacilles Gram négatif aéro-anaérobies ayant les caractéristiques suivantes :

- ✓ Immobiles ou mobiles grâce à des péritriches ou cils disposés tout autour du corps bactérien .
- ✓ Poussent sur des milieux ordinaires .
- ✓ Réduisent des nitrates en nitrites.
- ✓ Utilise les sucres par voie fermentative.

Parmi les enterobactéries les plus connus on peut citer :

a. Escherichia coli :

Cette bactérie possède des caractères biochimiques permettant de la différencier des autres espèces. Il s'agit de la production d'indole à partir de tryptophane et l'absence d'utilisation de citrate comme source de carbone. Elle est un hôte normal du tube digestif de l'homme et des animaux. Chez l'Homme, elle est majoritaire des bactéries de la matière fécale [17]. Elle joue le rôle d'une bactérie commensale mais peut devenir pathogène suite à l'acquisition des facteurs de virulence[18].

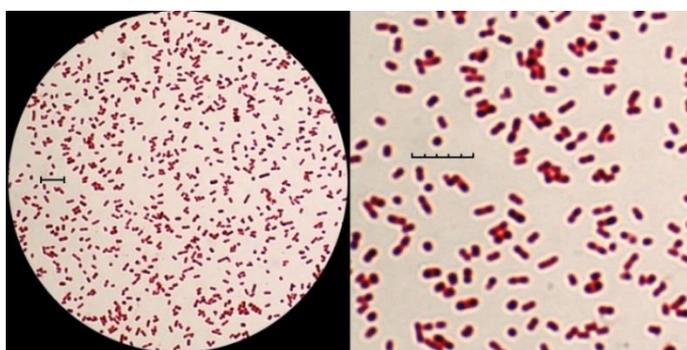


Figure 5 : Coloration de gram d'Escherichia coli Obj .microscope x 100 (**Crédit :** Vetbac.org)



Figure 6 : Colonies d'Escherichia coli sur (CLED)

b. Klebsiella

Ce genre d'enterobactéries est sporulées, possédant l'enzyme urease, ne possèdent pas d'oxydase et capables de fermenter le glucose avec production de gaz[17]. Elles se différencient des autres bactéries par leur immobilité constante et son regroupement en diplobacilles.[18] on distingue 2 espèces les plus isolées en bactériologie médicale : Klebsiella oxytoca et Klebsiella pneumoniae à la coloration de gram sont des bactéries à Gram négatif .

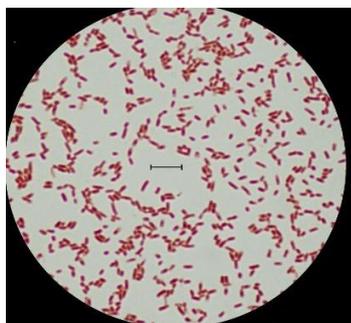


Figure 7 :Coloration de Gram Klebsiella pneumoniae Obj .microscope x 100



Figure 8 :Colonies de Klebsiella pneumoniae sur milieu CLED après incubation 24h à 37C

c. *Proteus*

Le genre *Proteus* est composé de plusieurs espèces, les plus connues *Proteus vulgaris* et *Proteus mirabilis* qui sont mobiles grâce à des flagelles. Ce sont des bacilles à gram négatif très polymorphes capables de fermenter le lactose, Ces bactéries dégagent une odeur désagréable caractéristique. Ce sont des bactéries pathogènes opportunistes [19].

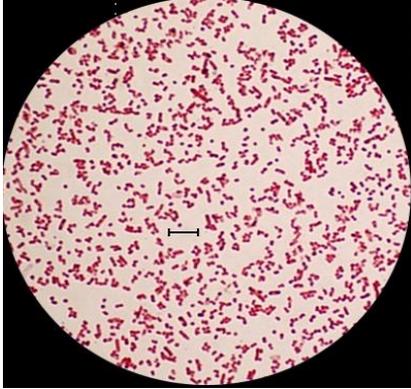


Figure 9 : Coloration de Gram de *Proteus*
Obj .microscope x 100

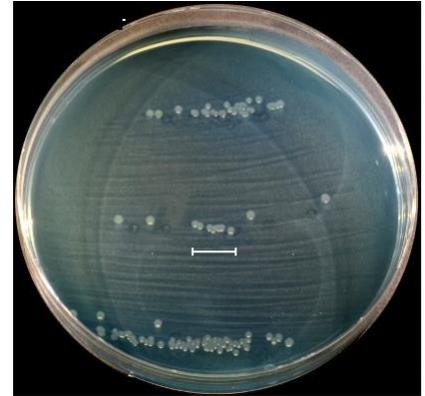


Figure 10 : Colonies de *Proteus* sur milieu (CLED)

d. *Pseudomonas aeruginosa* :

C'est une bacille mobile grâce à une ciliature monotriche, produit des chromogènes qui la distingue de autres bactéries, appelés pyoverdine et de la pyocyanine. Elle possède une catalase et oxydase positives, une uréase, nitrate réductase et citrate réductase positives[20].elle est très répandue dans dans l'environnement, elle survit dans l'eau et sur le sol. Elle fait partie de la flore du transit de l'homme.[21]

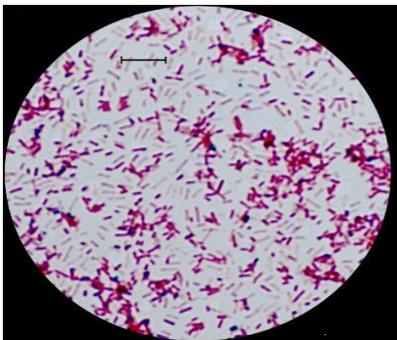


Figure 11 : *Pseudomonas aeruginosa* au Gram
Obj .microscope x 100



Figure 12 : Colonies *Pseudomonas aeruginosa* sur CLED

e. *Staphylococcus aureus* :

Ce sont des Cocci à Gram positif, qui se cultivent sur des milieux ordinaires à une température de 37°C durant 24h. Elles se présentent en colonies lisses, rondes, opaques, bombées de couleur jaune dorée sur milieu Chapman. Elle possède une coagulase (Enzyme capable de coagulée le plasma humain en quelques heures) et l'enzyme catalase avec un aspect de grappes qui la distingue des autres espèces de staphylocoques [22]. Ces bactéries sont très répandues chez l'homme et dans de nombreuses espèces animales. Chez l'homme environ un tiers des sujets sont des porteurs sains (principalement les fosses nasales) et les zones humides (aisselle, périnée) [23].

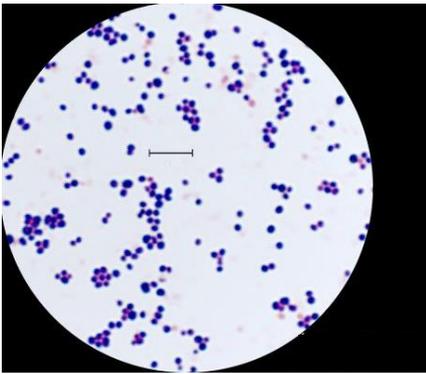


Figure 13 : Coloration de Gram de staphylococcus



Figure 14 : Colonie de staphylococcus sur

PBC à 37°C pendant 24 h)

f. Les Streptocoques :

Ce sont des Coccis ovoïdes à Gram positif formant un aspect caractéristique de courtes chainettes ,anaérobies aérotoleérantes ,possédant une puissante activité catalytique (catalase positive) et n'ont pas d'oxydase mais aussi des. Ces bactéries sont impliquées en pathologie humaine. Elles sont retrouvées partout dans l'environnement, dans les téguments, les muqueuses de l'homme et des animaux. Les streptocoques ont une température optimale de croissance qui varie entre 35C° et 37C°. Leur croissance est favorisée par une atmosphère riche en CO2 et se développe sur des milieux riches type gélose Columbia additionné de sang ou on peut assister à des fomes typique d'hémolyses [24].

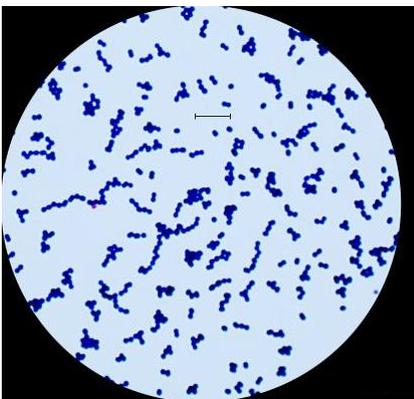


Figure 15 : Stréptococcus au gram Obj .
microscope x 100

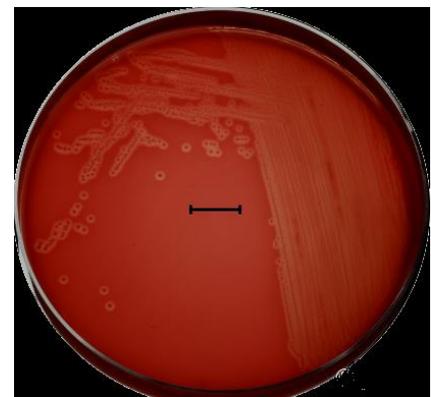


Figure 16:Colonie de Stréptococcus avec zone d'hémolyse sur GS à 37°C pendant 24 h)

V. Antibiothérapie et résistance aux antibiotiques :

1. Définition :

L'organisation mondiale de la santé définis les antibiotiques : des médicaments utilisés pour traiter et prévenir les infections bactériennes. La résistance survient lorsque les bactéries évoluent en réponse à l'utilisation de ces médicaments. Ce sont les bactéries, et non les êtres humains ou les animaux, qui deviennent résistantes. Elles peuvent alors provoquer chez l'homme ou l'animal des infections plus difficiles à traiter que celles dues à des bactéries non résistantes. Ces différents agents sont

caractérisés suivant leurs propriétés, s'ils peuvent empêcher le développement et la multiplication de la bactérie on dit qu'ils sont Bactériostatiques. Si au contraire ils détruisent les bactéries ils sont nommés agent Bactéricides.

- ✓ L'état de la bactériostase se définit comme une atteinte de la croissance bactérienne, dans ce cas le nombre de bactéries formées en présence d'antibiotique est inférieur à celui de la croissance en absence d'antibiotique. Mais à la limite le nombre de bactérie sera égal un nombre de bactérieensemencée. Donc il n'y a pas de destruction bactérienne mais il n'y a pas de développement non plus.
- ✓ L'état bactériocidie est une destruction, une mort accélérée des bactéries sous l'effet d'antibiotiques, il reste au bout de 24H moins d'un germe pour 10000 bactériesensemencées.

2. Classification et cibles :

le système le plus utilisé repose sur la classification de familles d'antibiotiques, cette classification est proche de l'utilisation en clinique. En outre les produits d'une même famille, ont le même mécanisme d'action, le même spectre d'activité, et les mêmes effets indésirables. Donc c'est une classification acceptée au niveau clinique. Cette classification comprend un grand nombre de familles (voir tableau).les plus utilisées sont :

Tableau 3 : Classification des antibiotiques

BIOLOGIQUES :	SYNTHETIQUES :
<ul style="list-style-type: none"> • Bêta-lacatamines • Aminosides • Tétracyclines • Polypeptides-cycliques • Phénicolés • Macrolides • Lincosamides • Rifampycines 	<ul style="list-style-type: none"> • Sulfamides • Quinolones • Nitrofuranes • Nitro-imidazoles

3. Mécanismes d'action :

Les agents anti-bactériens agissent à un niveau bien précis dans les cycles cellulaires, les agents perturbent ou inhibent certaines biosynthèses essentielles, structures constantes à la vie bactérienne

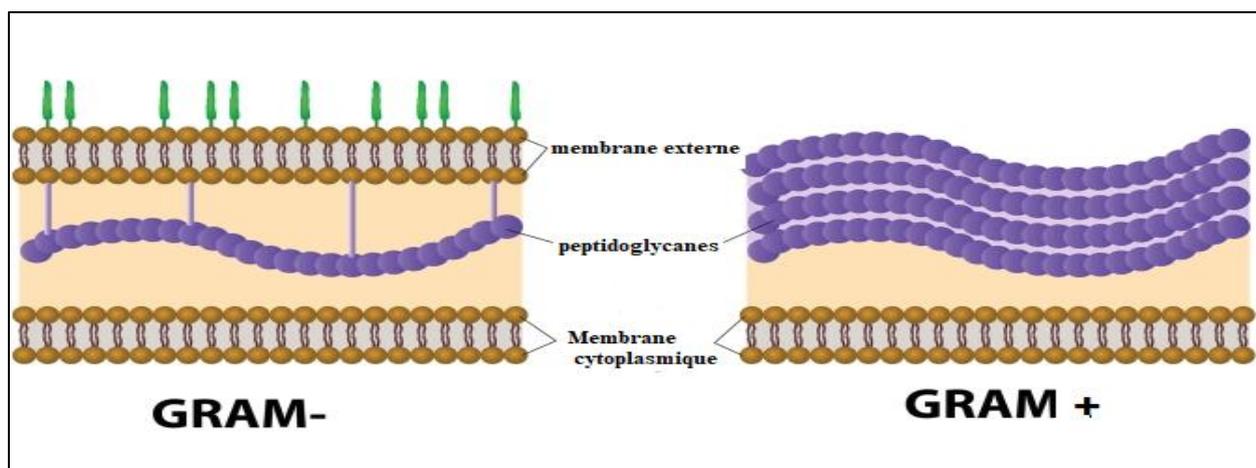


Figure 17 : structure de paroi d'une bactérie à gram négative et bactérie à gram positive.

Chez les bactéries à Gram positif, le peptidoglycane est la partie la plus externe de la bactérie. Il est plus épais que chez les bactéries à Gram négatif et entoure la membrane cytoplasmique de la bactérie. Chez les bactéries à Gram négatif, la paroi contient un élément supplémentaire, la membrane externe, laquelle entoure le peptidoglycane, plus fin que chez les bactéries à Gram positif. Le peptidoglycane constitue une structure tridimensionnelle spécifique au monde bactérien. Il est essentiellement composé de chaînes glucidiques reliées par des ponts tétrapeptidiques conférant à la bactérie sa forme, sa rigidité et lui permettant de résister à la forte pression osmotique intracytoplasmique. Il est synthétisé par les PLP (protéines liant la pénicilline correspondant à trois types d'enzymes : transpeptidases, carboxypeptidases et glycosyltransférases) et dégradé par les autolysines.

a. Action sur la synthèse de la paroi bactérienne :

Ces antibiotiques perturbent différentes phases de la synthèse de peptidoglycane qui est le squelette des bactéries lui donnant sa forme et sa rigidité, les antibiotiques agissent différemment dans les 3 phases de synthèse :

- **La première phase** : les agents antibactériens comme cyclosérine qui est un antibiotique de synthèse ou la fosfomycine interviennent, il inhibe la formation de la chaîne centrale, donc la formation de paroi.
- **La deuxième phase** : Les agents antibactériens comme vancomycine inhibent l'action enzymatique de transglycosylase et la bacitracine inhibe la réaction de déphosphorylation).
- **La troisième phase** : Les β -lactamines fixées sur les Phospholipides bloquent leur activité donc les molécules de peptidoglycane ne sont pas terminées. De plus les β -lactamines inactivent

le système de répression d'enzymes autolytiques logées dans la paroi. Ceci entraîne la lyse de la cellule bactérienne.

b. Action sur la membrane cytoplasmique :

La membrane cytoplasmique qui recouvre le cytoplasme constitue une barrière osmotique et joue un rôle vital pour la cellule. Elle est aussi le siège des enzymes de métabolismes respiratoires et de transport actif (présence de perméases).. Les antibiotiques comme les polymyxines se fixent sur la membrane cytoplasmique ce qui induit une désorganisation de cette structure cela détruit l'intégrité de la membrane et provoque la fuite des substances intracellulaires et engendre la mort de la bactérie.

c. Action au cours de la réplication de l'ADN :

La mitomycine forme des ponts entre les deux chaînes de l'hélice d'ADN et empêche leur séparation, cela bloque l'action de l'ADN polymérase responsable du processus de réplication (Le blocage de la réplication ainsi que les étapes suivantes, provoquent la mort de la cellule bactérienne. Les quinolones ou novobiocine sont deux autres exemples dans ce groupe d'agents antibactériens qui inhibent cette fois-ci la synthèse de l'ADN au cours de la réplication. polymérase et cette fixation empêche l'initiation de la synthèse de l'ARN.

d. Action sur la synthèse des protéines :

Plusieurs grandes familles d'antibiotiques inhibent la synthèse des protéines à partir d'ARNm et ils sont tous d'origine biologiques. Par exemple : la tétracycline, l'aminoside, les macrolides, les phénicolés et les lincosamides. Inhibant la traduction de l'ARN messager en protéine, les tétracyclines et les aminosides. Agissent directement la sous unité 30S des ribosomes.

e. Action par inhibition compétitive :

L'utilisation de l'association des antibiotiques permet une désorganisation de synthèse des substances bactériennes (PAB) induisant sa mort, exemple de l'association d'un sulfamide et d'une triméthoprime,[26]

4 .La résistance aux antibiotiques :

La résistance des bactéries peut être naturelle, elle concerne alors toutes les souches d'un genre ou d'une espèce et détermine le phénotype sauvage de résistance. Comme elle peut également être acquise. Elle est alors retrouvée dans une proportion plus ou moins importante des souches d'une espèce et est variable dans le temps. Dans ce cas, la transmission est verticale ou horizontale (entre bactéries via des éléments génétiques mobiles).

Les voies d'acquisition des résistances sont de plusieurs types : transformation bactérienne, transduction par bactériophages, conjugaison bactérienne pour le transfert de plasmides.

L'acquisition de plusieurs gènes par une bactérie entraîne une résistance à plusieurs classes d'antibiotiques habituellement appelée multirésistance.

Il existe quatre principaux mécanismes de résistance : imperméabilité bactérienne, modification de la cible, inactivation de l'antibiotique, efflux actif.

a. *L'imperméabilité bactérienne* est impliquée dans la résistance naturelle des bacilles à Gram négatif aux glycopeptides (vancomycine), molécules de grande taille ne pouvant pas entrer dans les porines de la membrane externe de ces bactéries. L'imperméabilité est également impliquée dans la résistance acquise des bactéries, par exemple celle de *Pseudomonas aeruginosa* à l'imipénème..

b. *La modification de la cible de l'antibiotique* entraîne une perte d'activité de celui-ci. Un exemple incontournable est la résistance acquise de *Staphylococcus aureus*, pathogène humain très répandu, à la méticilline.

c. *L'inactivation enzymatique de l'antibiotique*. La bactérie peut acquérir des gènes de résistance codant des enzymes nommées β -lactamases et capables d'hydrolyser le noyau β -lactame des β -lactamines, les transformant en produits inactifs. Chez les bacilles à Gram négatif. Des systèmes de pompes à efflux permettent également d'éliminer l'antibiotique en dehors de la bactérie. Ce mécanisme de résistance est particulièrement impliqué dans les résistances naturelles et acquises.[27]

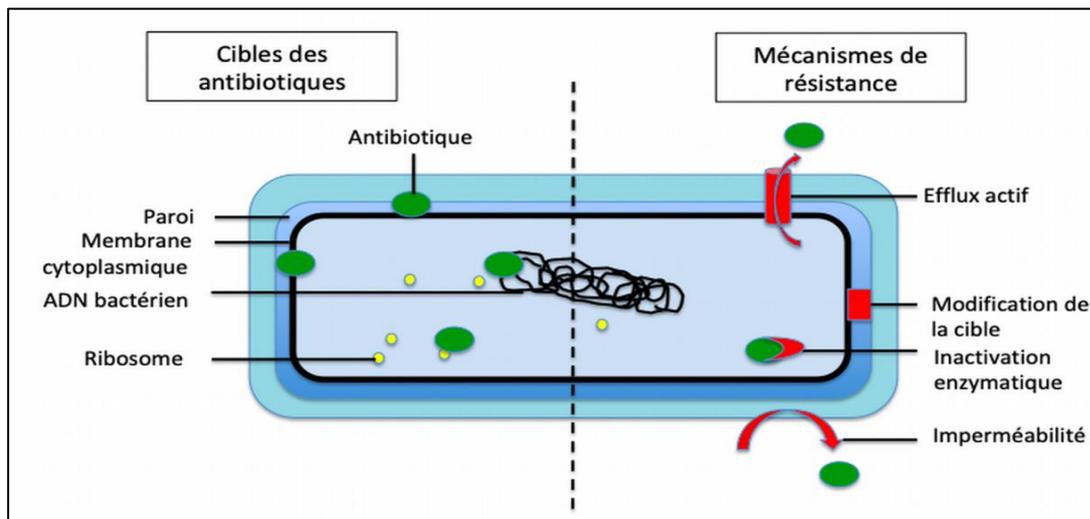


Figure 18 : illustration des mécanismes de sensibilité et de résistances des bactéries

Chapitre II :
Partie pratique

Matériels et Méthodes

L'examen cyto-bactériologique des urines (ECBU) est l'un des examens biologiques les moins invasifs et les plus réalisés comme diagnostique de ce type d'infection. Il se caractérise par une analyse quantitative de la culture de l'urine associée à une analyse quantitative de la leucocyturie.

I. Matériel et méthodes :

1. Lieu et période du stage

Cette étude a été réalisée au sein du laboratoire du Laboratoire d'analyses médicales ALKAWTAR relevant de clinique AL KAWTAR Fés , qui s'est déroulée du 24 Avril au 18 Juin 2021.

Concernant les données épidémiologiques, elles se datent à une période de 6 mois allant du 1 janvier au 1 juin 2021.

2. Echantillonnage et recueil des urines

Les échantillons d'urine analysés au cours de ce stage ont été prélevés chez des patients hospitalisés ou consultants à titre externe au centre du diagnostic de l'établissement . Les urines sont recueillies de préférence le matin après un lavage soigneux des organes génitaux avec une solution antiseptique. Les urines du deuxième jet sont recueillies dans un pot stérile. Ce dernier comporte impérativement une étiquette avec nom et prénom du malade, ainsi que la date de prélèvement. Les conditions de réalisation de l'ECBU doivent être optimales pour éviter la contamination du prélèvement [28]. Chez :

- ✓ **Patient non sondé** : le prélèvement doit être effectué si possible au moins 4 heures après la miction précédente (permet un temps de stase suffisant dans la vessie). Le premier jet est habituellement éliminé pour ne recueillir que les 20-30 ml suivants dans un flacon stérile sans en toucher le bord supérieur.
- ✓ **Patient sondé** : le recueil se fait par ponction après désinfection sur le site spécifique du dispositif de sonde (jamais à partir du sac collecteur).
- ✓ **Patient incontinent non sondé** : le recueil se fait par sondage « aller-retour » chez la femme et par collecteur pénien voire cathétérisme sus-pubien chez l'homme.
- ✓ **Chez le nourrisson** : on peut utiliser une poche plastique stérile appliquée sur la peau soigneusement nettoyée et qui ne devra pas rester en place plus de 30 min.

Un ECBU doit être effectué avant toute antibiothérapie. Les urines recueillies dans un récipient stérile doivent êtreensemencées rapidement pour d'éviter toute prolifération bactérienne. 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 ;

3. Fiche de renseignements

Les renseignements qui accompagnent le prélèvement sont indispensables ; ils permettront d'améliorer la qualité de l'analyse et son interprétation (Dennis et *al.*, 2007). Ils comprennent, l'âge

et le sexe du patient, le mode et l'heure du prélèvement, les antécédents d'infection urinaire, les traitements en cours .

4. ECBU : Examen Cytobactériologique des urines .

L'examen cytotbactériologique des urines (ECBU) est l'analyse microbiologique la plus fréquemment réalisée en laboratoire. On peut le définir comme un examen d'urines prescrit dans le cadre d'un diagnostic ou du suivi d'une infection du tractus urinaire, celui-ci étant normalement stérile.

L'analyse permet principalement de rechercher la présence d'une infection urinaire, de déterminer les germes responsables et d'adapter ainsi le traitement antibiotique. Il comprend les étapes suivantes :

a. Examen direct

L'examen direct ou macroscopique de l'urine homogénéisée permet de visualiser les urines par l'œil d'apprécier la limpidité, l'aspect, la couleur des urines, et la présence ou l'absence de pus ou de sang. Son intérêt reste limité. En effet, le caractère trouble d'une urine ne signe pas systématiquement la présence d'une infection et peut simplement refléter la présence de cristaux et aussi de réaliser une **bandelette urinaire (BU)** présentant des zones réactives permettant de rechercher dans l'**urine** : les nitrites, les protéines, le glucose, les corps cétoniques, l'urobilinogène et la bilirubine mais aussi d'estimer la densité ou le pH. permettent de dépister :



Figure 19 : la bandelette urinaire

- une leucocyturie par détection de la leucocyte estérase produite par les polynucléaires neutrophiles.
- une bactériurie par détection des nitrites qui témoignent de la présence de bactéries, essentiellement les entérobactéries qui ont une nitrate-réductase capable de transformer les nitrates en nitrites.

En cas de détection d'une leucocyturie et/ou de nitrites, la bandelette est considérée comme "positive".

b. Examen cytologique

- **Examen cytologique quantitatif**

L'examen cytologique des urines permet de dénombrer les éléments cellulaires (aspect quantitatif) dans un hématimètre. Au préalable, les urines ont été homogénéisées, puis à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, une goutte d'urine est déposée entre cellule de Malassez et une lamelle puis observée au microscope optique à l'objectif (40X). Cette cellule permet de dénombrer les différents éléments (leucocytes, hématies, cellules épithéliales, cristaux, levures,..) contenus dans un volume donné d'urine à analyser. Les résultats sont exprimés par ml .

En cas d'infection urinaire, le processus inflammatoire se traduit le plus souvent par la présence de :

- > 10.000 leucocytes /ml, parfois en amas
- > 10.000 hématies /ml témoins de microhémorragies

Examen cytologique qualitatif

La coloration de Gram réalisée à partir du culot de centrifugation permet d'observer les microorganismes éventuellement présents et oriente le choix des milieux de culture selon leurs morphologies et leurs affinités aux colorants .

La coloration de gram comprend les étapes suivant :

1. Coloration par le violet de gentiane ou cristal violet. Laissez agir de 30 secondes à 1 minute, puis rincez à l'eau
2. Mordançage au lugol (solution iodo-iodurée) : recouvrez de lugol et laissez agir le même temps que le violet de gentiane ; rincez à l'eau déminéralisée.
3. Décoloration (rapide) à l'alcool (+acétone). Cette l'étape est la plus importante de la coloration. Versez goutte à goutte l'alcool ou un mélange alcool-acétone sur la lame inclinée obliquement, et surveillez la décoloration qui doit être rapide. Le filet doit être clair à la fin de la décoloration. Rincez abondamment avec de l'eau déminéralisée pour stopper la décoloration. Attention, l'utilisation abusive de l'alcool aura pour conséquence de rendre toutes les bactéries Gram négatif.
4. Recoloration à la safranine ou à la fuchsine. Mettez de l'eau distillée sur la lame et quelques gouttes de fuchsine. Laissez agir de 30 secondes à 1 minute. Lavez doucement à l'eau déminéralisée. Séchez la lame sur une platine chauffante à 50 °C.
5. Observez avec une goutte d'huile à immersion objectif 100 (grossissement ×1000).

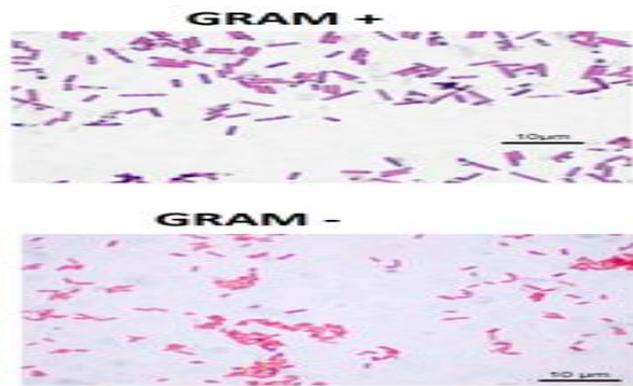


Figure 20 : observation microscopique de la coloration de gram

- **Examen bactériologique**

La mise en culture répond à un double objectif : isolement et numération des bactéries. C'est la seule méthode qui permet une identification exacte des microorganismes qui colonise l'urine. Une très grande majorité de bactéries responsables d'infection urinaire ne sont pas exigeantes et sont cultivées sur gélose ordinaire. Durant notre stage ; on a utilisé la gélose nutritive CLED agar (Cystine Lactose Electrolyte Deficient) dont la composition est la suivante :

Tabelau 4 : composition du milieu de culture CLED agar



Figure 21 : milieu de culture CLED agar

Composition de la gélose CLED	
Peptone	4,0 g
Extrait de viande	3,0 g
Peptone pepsique de viande	4,0 g
L-Cystine	0,128 g
Lactose	10,0 g
Bleu de bromothymol	0,02 g
Agar	13,0 g
pH	7,3
Eau distillée	qsp 1 L

C'est un milieu de culture bactériologique non sélectif utilisé pour l'isolement, la numération et la différenciation des micro-organismes urinaires dont le principe est le suivant :

La fermentation du **lactose** en acide est mise en évidence par le virage du vert au jaune de l'indicateur de pH, le bleu de bromothymol.

La **cystine** favorise la croissance des coliformes donnant habituellement de petites colonies sur d'autres milieux.

La **déficience en électrolytes** réduit l'envahissement du milieu par les Proteus.

- **Ensemencement des urines**

A l'aide d'une anse calibrée, une goutte d'urine est ensemencée sur une gélose nutritive. L'isolement des différents germes est effectué sur des milieux d'isolement solides qui permettent d'obtenir des colonies isolées. Ces derniers permettent également d'effectuer les tests d'identification ou d'étudier la sensibilité aux antibiotiques des bactéries d'intérêt médical.

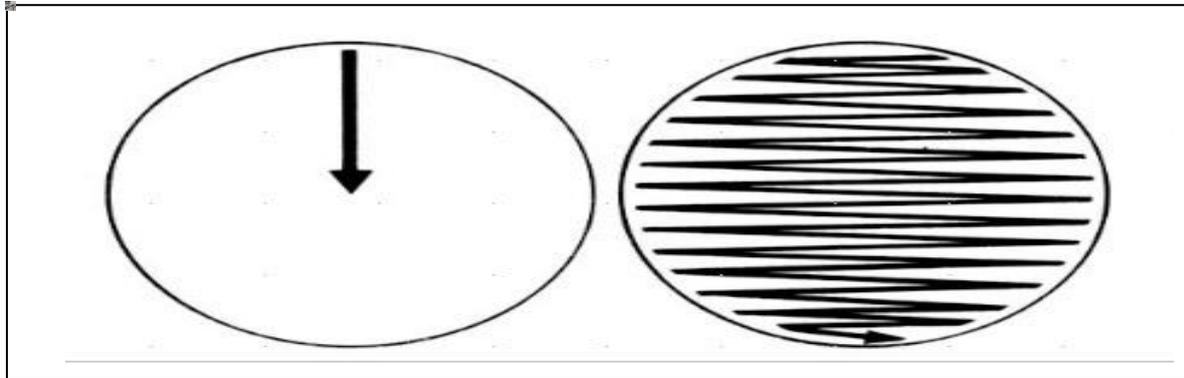


Figure 22 : Technique de culture des urines sur CLED au laboratoire de bactériologie

gélose la plus couramment utilisée est le milieu CLED. Ce milieu permet la croissance et l'isolement de la plupart des bactéries responsables des

Ainsi, les urines sont ensemencées dans ce milieu en utilisant la méthode d'ensemencement par stries (figure 24,25). Cette technique permet d'isoler les différentes bactéries contenues dans l'échantillon étudié.

Après incubation pendant 18 à 24 heures à 37°C, l'étude de la morphologie

- **Identification**

Les colonies isolées avaient subi des tests d'identification biochimique. La coloration de Gram est réalisée en premier lieu selon les circonstances cliniques. Cet examen, est réalisé sur des urines non centrifugées présentant un ou plusieurs critères cytologiques d'infection. Il nous a permis :

- ❖ Une orientation diagnostique rapide : choix éventuel de milieux ou de conditions de culture spécifiques.
- ❖ D'objectiver facilement la contamination de l'urine par une flore de proximité : La présence éventuelle de cellules épithéliales, en particulier chez la femme, signe le plus souvent un prélèvement de mauvaise qualité ; La présence de lactobacilles évoque aussi une contamination vaginale.

Par la suite, les bactéries isolées sont identifiées en utilisant la gélose Brilliance qui est un milieu chromogène (bactéries en couleur) permettant un ensemencement direct à partir d'échantillons cliniques tout en offrant des performances supérieures aux milieux de culture traditionnels.

Tableau 5 : Identification morphologique colonies bacteriennes sur CLED agar

Milieu	Morphologie des colonies	Couleur	Aspect	Bactérie suspectée
CLED	Grandes colonies de 2mm de diamètre.	Jaunes	Mâtes	<i>E. coli</i>
	Grandes colonies de 2 mm de diamètre.	Jaunes	Muqueuses	<i>Klebsiella pneumonia</i>
	Grandes colonies de 1 à 2mm de diamètre en œil de poisson.	Brunâtres à halo bleu		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	Petites colonies de 1mm de diamètre	Jaunes pâles	Mâtes	<i>Entérocooccus</i>
	Très petites colonies de Diamètre < 0.5mm.	Jaunes pâles	Mâtes	<i>Staphylococcus</i>

1. Antibiogramme :

- **Technique manuelle**

L'antibiogramme est l'étape finale de l'ECBU, il permet de tester sur les germes isolés et responsables de l'infection leurs sensibilités aux antibiotiques qui seront prescrit pour le traitement. Elle consiste à déposer à la surface d'une gélose Muller Hinton

des disques imprégnés des différents antibiotiques testés. , on ensemence uniformément la surface de la gélose avec le micro-organisme à étudier. L'inoculum doit être calibré (opacité équivalente à 0,5 sur l'échelle de Mac Farland). Après une incubation de 24 à 72 heures en anaérobiose à 37°, les disques

apparaissent entourés d'une zone d'inhibition diamètre, on mesure ces diamètres, puis on Les compare avec le tableau de références des diamtres d'ihibition(annexe1) pour déduire une souche

sensible, intermédiaire ou résistante. Cette méthode est la plus simple, la plus rapide et la plus utilisée.



Figure 23 :Antibiogramme sur milieu MH

- **Technique Automatique**

Au laboratoire du stage l'identification et l'antibiogramme sont automatisés sur l'automate " Phoenix™ Automated Microbiology System" (figure 27) est conçu pour une identification rapide et d'un antibiogramme cliniquement significatif des bactéries pathogènes responsables des infections humaines. Le système comprend un instrument, des logiciels, des panneaux jetables, bouillons pour ID et antibiogramme, et un indicateur d'antibiogramme. L'instrument a la capacité de contenir 100 panneaux de tests. Les panneaux jetables de tests contiennent 136 puits de microdilutions. Les panneaux sont en lecture en intervalle de 20 minutes. Les concentrations minimales inhibitrices, et les interprétations des catégories sont générées. Les résultats définitifs sont disponibles en 2 à 12 heures pour l'ID et 4 à 16 heures pour l'antibiogramme [35].(materiel et protocoles voire annexe2).

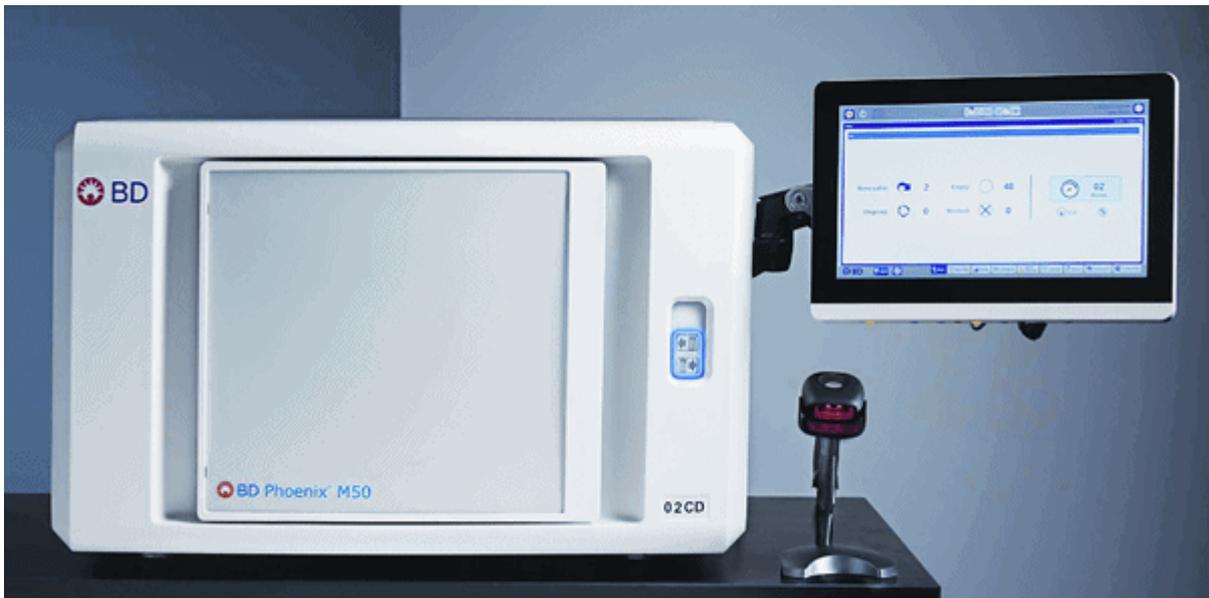


Figure24 : PHEONIX M50 Pour identification et antibiogramme

Résultats et discussion

I. Profil épidémiologique au cours de la période de stage :

1. Population étudiée :

Nous avons mené une étude prospective durant une période de deux mois s'étendant du 24 avril à 18 juin 2021 Celle-ci a porté sur tous les examens cyto bactériologiques urinaires réalisés au Laboratoire ALKAWTAR d'Analyses Médicales de Fès. L'effectif étudié comprenait 106 échantillons ECBU des patients hospitalisés dans la clinique ALKAWTAR.

1.1. Répartition des IU selon le sexe :

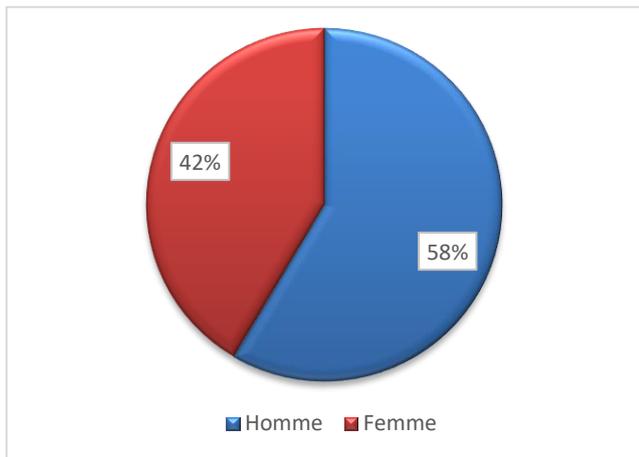


Figure 25: Répartition des ECBU demandés selon le sexe

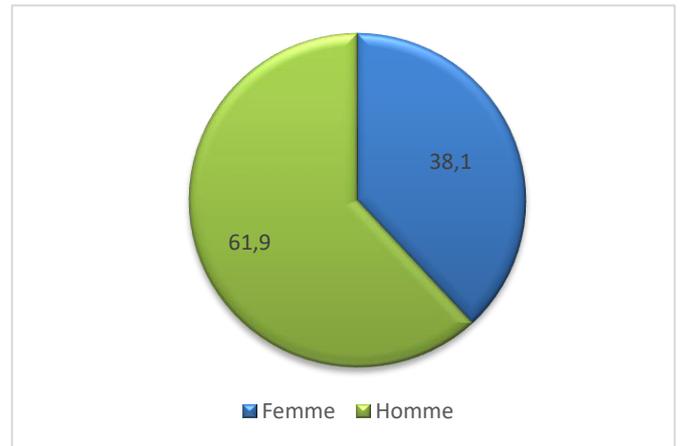


Figure 26: Répartition des ECBU positives selon le sexe

D'après les résultats de répartition des ECBU demandés selon le sexe et la positivité selon le sexe sur la figure 28 et 29 respectivement, on note que le taux des demandes était presque égale entre femmes (42%) et hommes (58%). Par contre le taux des ECBU positifs a été observé chez des patients masculins avec un taux de 62% par rapport à celui des patients féminins qui ne dépasse pas 38% (voir figure 29).

1.2. Répartition des résultats positifs des ECBU selon l'âge :

Tableau 6 : Nombre et pourcentage des ECBU positive selon l'âge

	Âgés > 40 ans	15-40 ans	Enfants <15ans	Total
Patients hospitalisés	19	1	1	21
Pourcentage	90.47%	4.76%	4.76%	100%

D'après le tableau 5 des résultats de répartition des ECBU positifs selon l'âge on remarque que plus de 90% des infections urinaires sont plus fréquentes chez les personnes âgées (>40 ans)

Cela peut être expliqué par certaines modifications physiologiques chez les personnes âgées. En effet l'IU est souvent associée à une hypertrophie bénigne de la prostate chez l'homme ou à une inflammation due à la stagnation des urines dans la vessie et voire même d'une mauvaise hygiène intime.

1.3. Répartition des germes responsables des infections urinaires :

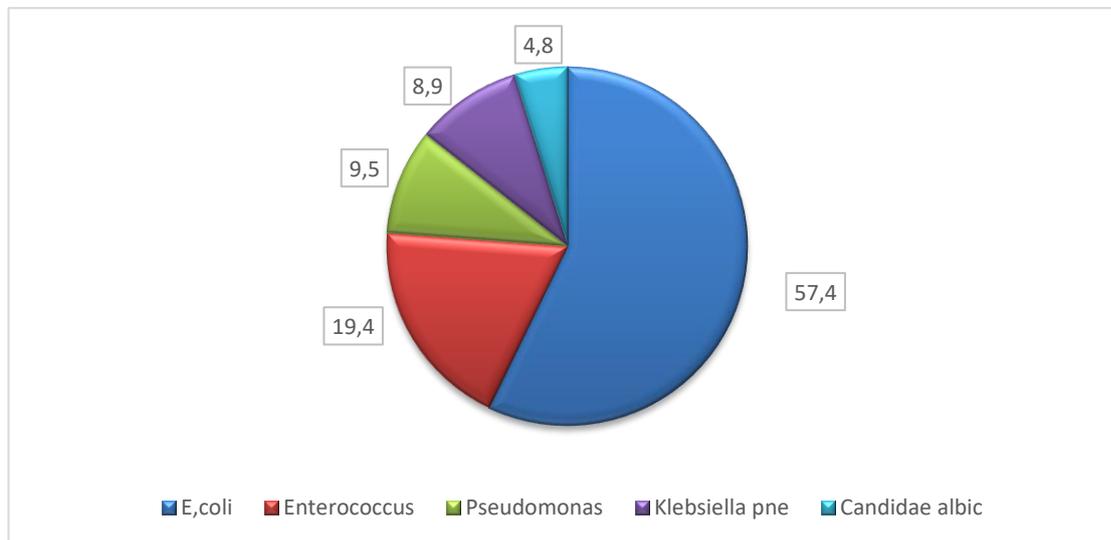


Figure 27 : Répartition des germes responsables des IU

La bactérie Escherichia coli est le germe le plus isolé au cours des infections urinaires par un taux de 57%, suivie par Enterococcus faecalis qui représente 19,4%, et puis le pseudomonas aeruginosa et la Klebsiella pneumoniae avec un taux respectivement de 9,5% et 8,9% , à noter que le candida albicans reste le germe le moins isolé aux ECBU avec un taux de 4,8%

1.4. Profil des résistance des germes aux antibiotique :

a. Escherichia coli

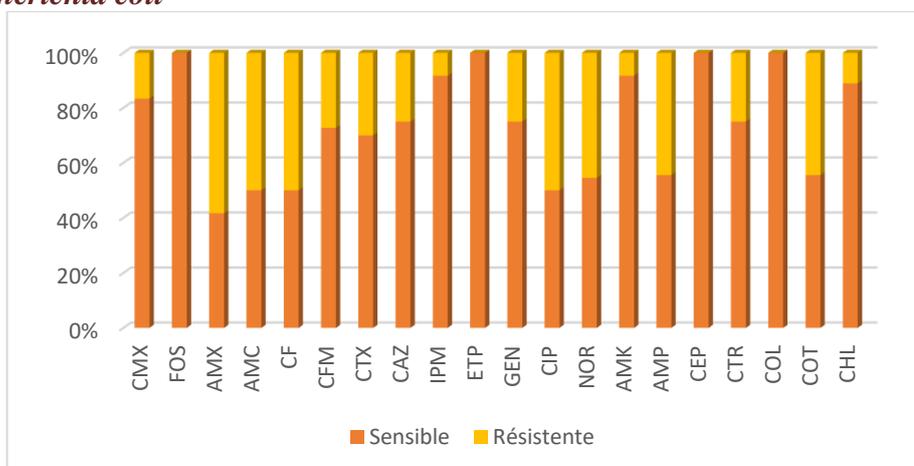


Figure 28 : Profil de sensibilité d'Escherichia coli aux antibiotiques testés

Escherichia coli est le germe le plus isolé dans les urines, il a été sensible aux antibiotiques suivants Ertapénème , Fosfomycine , céfipine , colistine, Chloramohénicol , Céfuroxine ,Céfixine

, céfotaxine , Céftazidime , imipénème ,Gentamycine , Amikacine et à Ceftriaxone avec des taux de sensibilité qui varie de 70% à 100% , ces antibiotiques peuvent être prescrits en première intention pour traiter l'infection urinaire . Cependant, il y a une légère résistance aux Quinolones (Ciprofloxacine 50%, Norfloxacine 45%,) .

b. Enterococcus

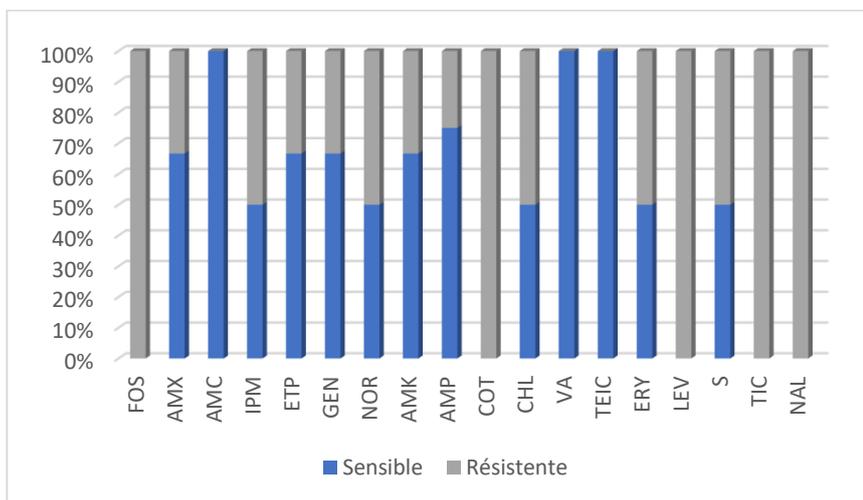


Figure 29 : Profil de résistance et de sensibilité des enterococcus aux antibiotiques testés

Les enterococcus représentent 19% des germes isolés dans l'urine. Ce germe est sensible avec un pourcentage de 100% aux : Amoxicilline +acde clavulanique , vancomycine , et teicoplanine ; et il est résistant avec un pourcentage de 100% aux : fosfomycine , triméthoprine ,levofloxacine , ticarcilline et l'acide nalidixuque .

c. Pseudomonas :

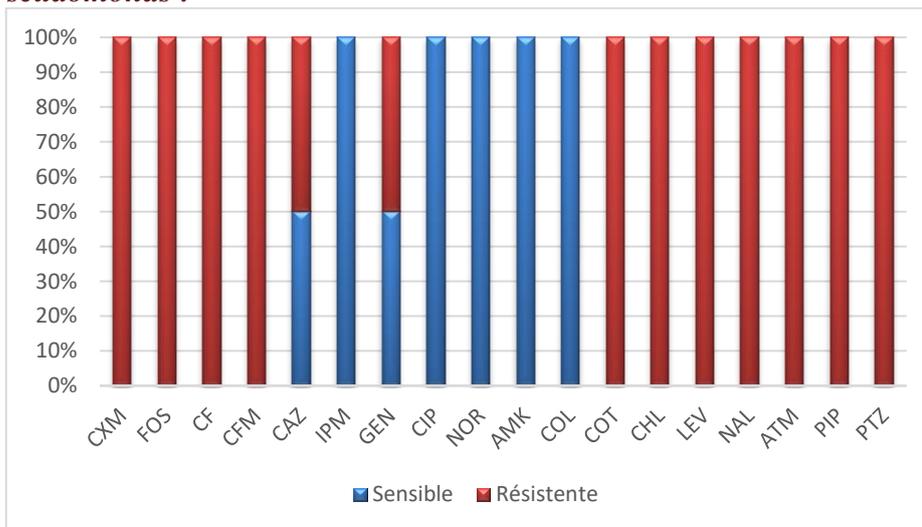


Figure 30 : Profil de résistance et de sensibilité de pseudomonas aux antibiotiques testés

Pseudomonas aeruginosa a une sensibilité élevée avec un pourcentage de 100% aux : ciprofloxacine , norfloxacine , amikacine et colistine ils sont aussi sensible avec un ourcentage de

50% aux ceftazidime et aux gentamycine ; pour les autres antibiotiques les pseudomonas ont une résistance de 100%.

d. *Klebsiella pneumoniae*

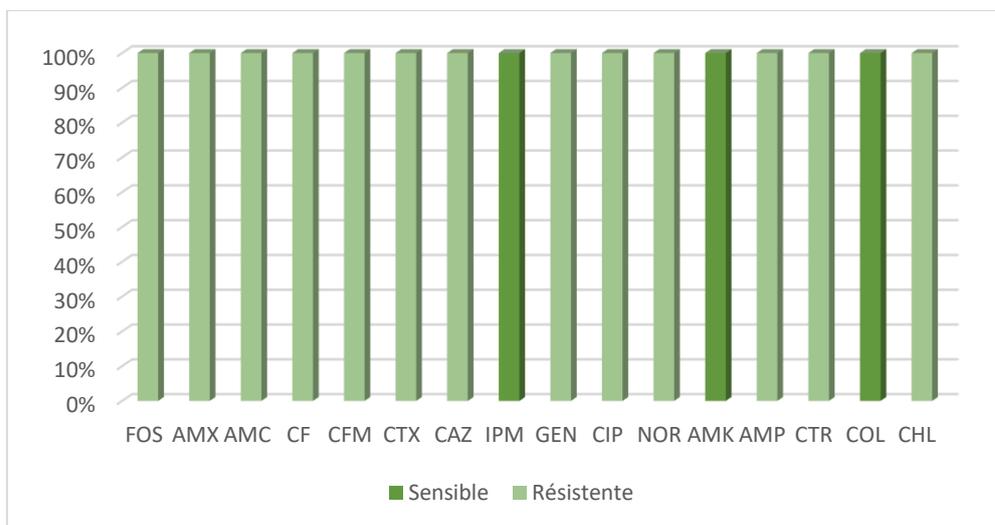


Figure 31 : Profil de résistance et de sensibilité de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques testés

Les Klebsielles dont l'espèce *Klebsiella pneumoniae* est isolée avec un taux de 10% au cours des infections urinaires. On note que ce germe a une sensibilité très importante aux antibiotiques suivants : imipénème, Gentamycine, Amikacine avec un pourcentage de 100%. Alors qu'il est résistant aux autres antibiotiques.

Conclusion :

L'infection urinaire demeure partout dans le monde une pathologie très fréquente , c'est l'un des principaux motifs de consultation , d'exploration microbiologique et de prescription des antibiotique avec pour cette dernière , les conséquences sur le cout des soins et du développement de résistances bactériennes .

Ce travail avait pour objectif de déterminer la prévalence des micro-organismes impliqués dans les infections urinaires et d'étudier leur sensibilité vis-à-vis de plusieurs antibiotiques.

Pour traiter ces infections, les médecins s'appuient sur le résultat de l'examen cytbactériologique des urines (ECBU).

L'ECBU est un examen capital dans le diagnostique et dans la surveillance de l'évolution d'une infection urinaire, il consiste à réaliser un examen microscopique qui permet l'estimation de la réaction leucocytaire, l'isolement, l'identification des bactéries infectantes et l'étude de leur sensibilité vis-à-vis des antibiotiques.

A'la lumière des résultats obtenus il en ressort que les hpmmes sont les plus exposé aux infections urinaire aves 61.90% comparé aux femmes 38.09% . les perspnnes âgées sont fortement exposés aux infections urinaires et représentent une tranche non négligeable .

Nos résultats ont montrés que :

- le taux de positivité De ECBU est de l'ordre de 23%.
- les bactéries Gram négatif, dont la famille des entérobactéries, occupent une grande partie des germes en cause avec au 1er rang l'espèce E. coli (57%), suivie par les enterococcus 19%.
- La plupart des germes ont montré une résistance élevée aux pénicillines, relativement élevée aux céphalosporines, et une sensibilité très importante à l'imipénème.

En conclusion une meilleur 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 d l'écologie du service , est aussi un paramètre fondamental à prendre en compte pour éviter l'éclosion d'épidémies hospitalières.

Références bibliographiques:

1. Zahir, H., Draiss, G., Rada, N., Abourrahouat, A., Ait sab Imane, Et all Écologie microbienne et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées d'infections urinaires chez l'enfant au Maroc. Revue Francophone Des Laboratoires, (511), 65–66 , 2019
2. Bertholom, C. Épidémiologie des infections urinaires communautaires et nosocomiales 2016.
3. cahier de formation permanente Catherine Dupeyron Bactériologiste, Hôpital Albert Chenevier, Créteil, France.16 mars 2006
4. zaiz samira ,these doctorat ne 95 année :Le profil bactériologique de l'infection urinaire chez l'enfant FMPM merrakech 2008 .
5. Elbouti A, Rafai M, Chouaib N, et al. Evaluation des prescriptions antibiotiques au service des urgences de l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V. Pan Afr Med J
6. mémoire de fin d'étude : ECBU ,walid et yacine bougattoucha Ecole de formation paramédicale skikda Algérie 2010
7. Le Corps Humaine ; Etude, Structure Et Fonction Le Rôle Infirmier Dans La Pratique Clinique –Brookker- 2eme édition ; Edition de boeck, anglaise
8. Imedecin.com anatomie-pathologie du rein , 2000 - 2021
9. Cours anatomie système urinaire ,université Rennes II 2020.
10. Essabar Laila, Intérêt de la chirurgie dans la prise en charge du MGU primitif chez l'enfant . FMPF Rabat Année 2012.
11. Semiologie Uro-génitale 3 ème année Médecine Edition 2007 Directeur de l'UFR d'urologie : Pr HACHIMI Mohamed FMPRabat
12. Chalopin, J-M. Chabannes,Urologie Néphrologie ; Clinique Et Soins Infirmiers ; Edition Lamarre, France.2008 .
13. AIT MILOUD Khalid these n° 39 l'infection urinaire : Experience du laboratoire de microbiologie de l'hospital des spécialité Rabat , année 2011

14. Stonybrook University School of Medicine. The Body Online
/home/bodyonline/thebodyonline.net
15. Bruyère et al., Cystites aiguës Progrès en Urologie (2008) 18 Suppl. 1, S9-S13
16. Lagha N, Abdelouahid DA, Hassaine H. Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de β lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de Laghouat. Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen Année 2015.
17. Fauchère et al. Bactériologie générale et médicale Ellipses, 2002
18. Ayad and kahoul J. Mater. Environ. Sci. 7 1288-1297 ISSN : 2028-2508 CODEN: JMESC(4) (2016)
19. Konare S. (2018). Sensibilité aux antibiotiques des souches d'Entérobactéries isolée en 2016 au laboratoire de Biologie Médicale et Hygiène Hospitalière du CHU du Point. Thèse de doctorat en pharmacie. Université des Sciences des Techniques et des Technologies de Bamako .99pp.20)(Kientega, 2012
20. Bogaerts P. , Verroken A. , Jans B. , Denis O. , Glupczynski Y. ; La propagation mondiale de New Delhi métallo- β -lactamase 1. Lancet Infect Dis 10: 831- 832 .2010
21. Trypticase Soja et Muller Hinton . <https://www.clinisciences.com/>
22. Charles Nauciel, Jean-Louis Vildé Bactériologie médicale 2eme edition 2005)
23. Madjmaa O, Boulmaize H., 2016. Isolement et caractérisation des souches d'entérocoques multirésistants en clinique au niveau de CHU khellilAmrane. Mémoire de Master : Microbiologie en secteur biomédical et vétérinaire. Université A.Mira Bejaia.
24. Touati M., 2013. Antibio-résistance des bacilles à Gram négatif non fermentants isolés au niveau des services de réanimation du CHU Annaba, Thèse en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en microbiologie, Université Badji Mokhtar-Annaba, Algérie, 156 p
25. Jehl F, Chomarat M, Tankovic J, Gérard A. 2012. De l'antibiogramme à la pres 27Cantón R, Horcajada JP, Oliver A, Garbajosa PR, Vila J. 2013. Inappropriate use of antibiotics in hospitals : the complex relationship between antibiotic use and antimicrobial resistance. Enferm Infecc Microbiol Clin 31 Suppl 4 :3–11cription. bioMérieux S.A
26. Diagnostic et antibiothérapie des I.U. bactériennes communautaires de l'adulte, 2014
27. Nicolle LE, Harding GKM, Kennedy J, McIntyre M, Aoki F, Murray D. Urine specimen collection with external devices for diagnosis of bacteriuria in elderly incontinent men. J Clin Microbiol 1988;26: 1115–9
28. [Ixbio.fr/lexamen-cyto-bacteriologique-des-urines-ecbu](http://dx.doi.org/10.1016/j.actpha.2016.03.014)
2016 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés
<http://dx.doi.org/10.1016/j.actpha.2016.03.014>
29. . Communiqué Spectra n° 160 (Juin/ Juillet 2007) - Fluro-cytomètre en flux pour l'analyse de l'ECBU. www.sysmex.fr
30. Bruyère F, Cariou G, Boiteux JP et al. CIAFU. Généralités. Progrès en urologie. 2008;18(Suppl 1):S4-8
31. J. W. Snyder1, 2, G. Munier 2 and C. Johnson 2 - University of Louisville School of Medicine1 and University of Louisville Hospital2 • Louisville, KY www.bd.com