

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche



Université Aboubekr-Belkaid Tlemcen
Faculté de Médecine
Département de Pharmacie
Laboratoire de Microbiologie – CHU Tlemcen –

Mémoire de Fin d'Etude

Présenté par :

Melle KORAIB Hafsa

Melle LOUZIM Habiba

Mr KHAL Djamal-Eddine

Les infections urinaires chez la femme.

Promoteur:

Dr BENABADJI B.

Année Universitaire: 2011 – 2012

Boit: 644 1615.4-100/01
République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche



Université Aboubekr-Belkaid Tlemcen

Faculté de Médecine

Département de Pharmacie

Laboratoire de Microbiologie – CHU Tlemcen –

Mémoire de Fin d'Etude

Présenté par :

Melle KORAIH Hafsa

Melle LOUZIM Habiba

Mr KHAL Djamal-Eddine

Les infections urinaires chez la femme.

Promoteur:

Dr BENABADJI B.

Année Universitaire: 2011 – 2012

Remerciements

Nous adressons nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire.

Nous adressons nos vifs remerciements à notre promoteur Monsieur BENABADJI Bakir pour nous avoir permis d'effectuer notre mémoire sous sa direction et la possibilité qui nous a offert de travailler sur ce sujet passionnant.

Nous souhaitons remercier particulièrement Monsieur BELAYACHI Kamel, Médecin spécialiste en urologie, pour son aide et sa gentillesse.

Nous tenons à remercier chaleureusement Monsieur KORIB Salaheddine et Monsieur SAIDI Mohammed Alaeddine qui nous ont toujours aidé et encouragé.

Nous remercions du fond de nos cœurs Melle BELMIR Sarrah, Mme SENOUCI BEREKCI Samira et Melle BENGUEDIH Asma pour leur aide, encouragement, patience et gentillesse.

Enfin, nous adressons nos remerciements à toute personne qui a participé de près ou de loin pour l'accomplissement de ce travail.

Dédicace

Nous dédions ce travail à

Nos parents pour leurs encouragements incessants et leur soutien moral, que Dieu les protège et trouve dans ce travail la preuve modeste d'une reconnaissance infinie et d'un profond amour.

Nos frères et sœurs pour leur disponibilité, leur soutien moral et encouragements incessants, d'être coopératifs et assumer à nos places certaines de nos responsabilités familiales.

Nos fiancés pour leur présence et soutien moral, et nos belle-familles pour leur soutien et gentillesse. Que Dieu les protège et leurs donne une vie pleine de réussite et de bonheur.

Nos collègues que nous avons travaillés et échangés de bons moments avec, que Dieu les gade et réalise leurs vœux.

Résumé

Les infections du tractus urinaires (ITU) constituent un motif fréquent de consultation et de prescription médicale en pratique courante. En effet, en plus des infections urinaires gravidiques et nosocomiales, les voies urinaires représentent le second site d'infections communautaires après l'appareil respiratoire.

Ayant une relation étroite avec l'âge, le sexe et la présence simultanée de pathologies diminuant les défenses immunitaires, et suivant les caractères qui définissent le pouvoir pathogène des germes responsables, les ITU sont représentées essentiellement par les cystites et les pyélonéphrites qui peuvent tous les 2 être simples ou compliquées.

La colonisation des voies urinaires et la récurrence sont d'une fréquence importante chez la femme, aggravées par les variations physiologiques et hormonales qu'engendrent la grossesse et la ménopause.

Etant facile et orientant, le diagnostic des ITU sous toutes leurs formes commence le plus souvent par le test aux bandelettes réactives, permettant de déterminer la nécessité ou non de la réalisation de l'examen cytobactériologique des urines (ECBU).

De ce fait, ECBU est l'examen microbiologique le plus demandé en ville. Il permet le diagnostic de certitude des ITU en isolant le micro-organisme responsable et en déterminant ces caractères biochimiques et sa sensibilité aux antibiotiques.

Théoriquement, du fait que l'urine est normalement stérile, son interprétation est facile, mais en pratique, le résultat repose sur la combinaison de plusieurs paramètres d'où la nécessité d'une rigueur absolue dans les différentes étapes de sa réalisation, commençant par le prélèvement qui est le plus sujet à l'erreur sans oublier l'antibiogramme.

Les conditions du prélèvement, la standardisation des méthodes diagnostiques utilisées et la réalisation de la lecture interprétative par du personnel expérimenté conditionnent la fiabilité des résultats qui, eux, orientent le choix du traitement.

Suivant le type d'atteinte et les facteurs de risques associés, le traitement repose essentiellement sur l'antibiothérapie. Une variété de molécules est utilisée dont la durée du traitement et les modalités d'administration de diffèrent.

Dans le but d'avoir un bon pronostic, et pour éviter les récurrences, l'association au traitement de mesures d'hygiène et de prévention tel l'hydratation suffisante et la miction fréquente donnent de meilleurs résultats.

Table des matières

Introduction	1
Partie I : Physiologie/ Physiopathologie	2
1- Physiologie de l'appareil urinaire	2
1-1- Système urogénital féminin	2
1-2- Rein	3
2- Physiopathologie : Les infections urinaires	4
2-1- Définition	4
2-2- Signes cliniques	4
2-3- Classification	5
2-3-1- Selon le microorganisme causal	5
2-3-2- Selon la porte d'entrée du germe	5
2-3-3- Selon la clinique	6
2-3-4- Selon le contexte	7
2-4- Complication	7
2-5- Facteurs de risque	9
2-6- Mécanisme d'installation d'ITU	11
2-7- Germes en cause	12
Partie II : Matériel et méthodes	13
1- Prélèvements	13
1-1- Matériel	13
1-1-1- Récipient stérile	13
1-1-2- Matériel spécialisé	13
1-2- Méthodes	13
1-2-1- Cas général : adulte non sondé coopératif	13
1-2-2- Cas particuliers	14
1-3- Acheminement et conservation	15
1-4- Critères du rejet d'un prélèvement	15
2- Etude biochimique	16
2-1- But	16
2-2- Principe de la méthode	16

2-3-	Paramètres étudiés -----	16
2-4-	Mode d'utilisation -----	17
2-5-	Interprétation des résultats-----	17
2-6-	Interprétation du test -----	17
2-6-1-	Intérêts du test -----	17
2-6-2-	Limites du test-----	17
3-	Examen cytobactériologique des urines (ECBU)-----	19
3-1-	Définition de l'ECBU -----	19
3-2-	Indication -----	19
3-3-	Méthodes-----	19
3-3-1-	Etude macroscopique-----	19
3-3-2-	Etude microscopique en état frais -----	20
	a- Préparation du frottis-----	20
	b- Etude qualitative-----	20
	c- Etude quantitative -----	23
3-3-3-	Etude bactériologique -----	26
	a- Dénombrement des germes urinaires -----	26
	b- Ensemencement-----	32
	c- Identification -----	34
3-3-4-	Antibiogramme-----	44
	a- But -----	44
	b- Méthode par diffusion -----	44
	c- Sources d'erreur -----	48
3-3-5-	Examen complémentaire : hémoculture -----	49
	a- But -----	49
	b- Méthode-----	49
	c- Résultats et interprétation -----	50
3-4-	Interprétation de l'ECBU -----	51
3-4-1-	Fréquence d'ECBU non-interprétable -----	51
3-4-2-	Conséquences -----	51
	Partie III : Traitement/ Prévention : -----	52
1-	Traitement-----	52
1-1-	Nécessité de traitement -----	52

1-2- Approche thérapeutique -----	52
1-2-1- Hydratation -----	52
1-2-2- Phytothérapie -----	52
1-2-3- Analgésiques-----	52
1-2-4- Antiseptiques urinaires-----	52
1-3- Traitement antibiotique-----	53
1-3-1- Arbre de décision -----	53
1-3-2- Schémas thérapeutiques -----	54
a- Bactériurie asymptomatique -----	54
b- Cystites-----	54
c- Pyélonéphrites -----	54
d- Cas particuliers -----	54
1-4- Traitement des candidoses urinaires-----	57
1-4-1- Candidoses asymptomatiques-----	57
1-4-2- Candidoses symptomatiques-----	57
1-4-3- Molécules utilisées -----	57
2- Prévention-----	60
 Conclusion -----	 61
 Références bibliographiques -----	 62

Introduction

Introduction :

La microbiologie est une science qui s'intéresse à l'étude des microorganismes représentés par les bactéries, les virus, les champignons et les parasites unicellulaires.

Chez l'être humain, suite à l'interaction (Hôte – Microorganisme) qui met en contact les défenses immunitaires de l'hôte et le pouvoir pathogène du microorganisme, les quatre éléments cités antérieurement constituent les acteurs principaux causant tout type d'infections, notamment les infections urinaires qui feront l'objet de ce travail.

Au cours de ce mémoire, les infections du tractus urinaire vont être envisagées d'un point de vue clinique définissant les ITU et citant ces types, symptômes et facteurs favorisants, d'un point de vue biologique parlant du diagnostic au laboratoire se basant sur les techniques standardisées, et d'un point de vue pharmacologique illustrant le traitement de ces infections sans oublier le côté prévention.

Partie I

Physiologie/Physiopathologie

1- Physiologie de l'appareil urinaire :

1-1- Système urogénital féminin :

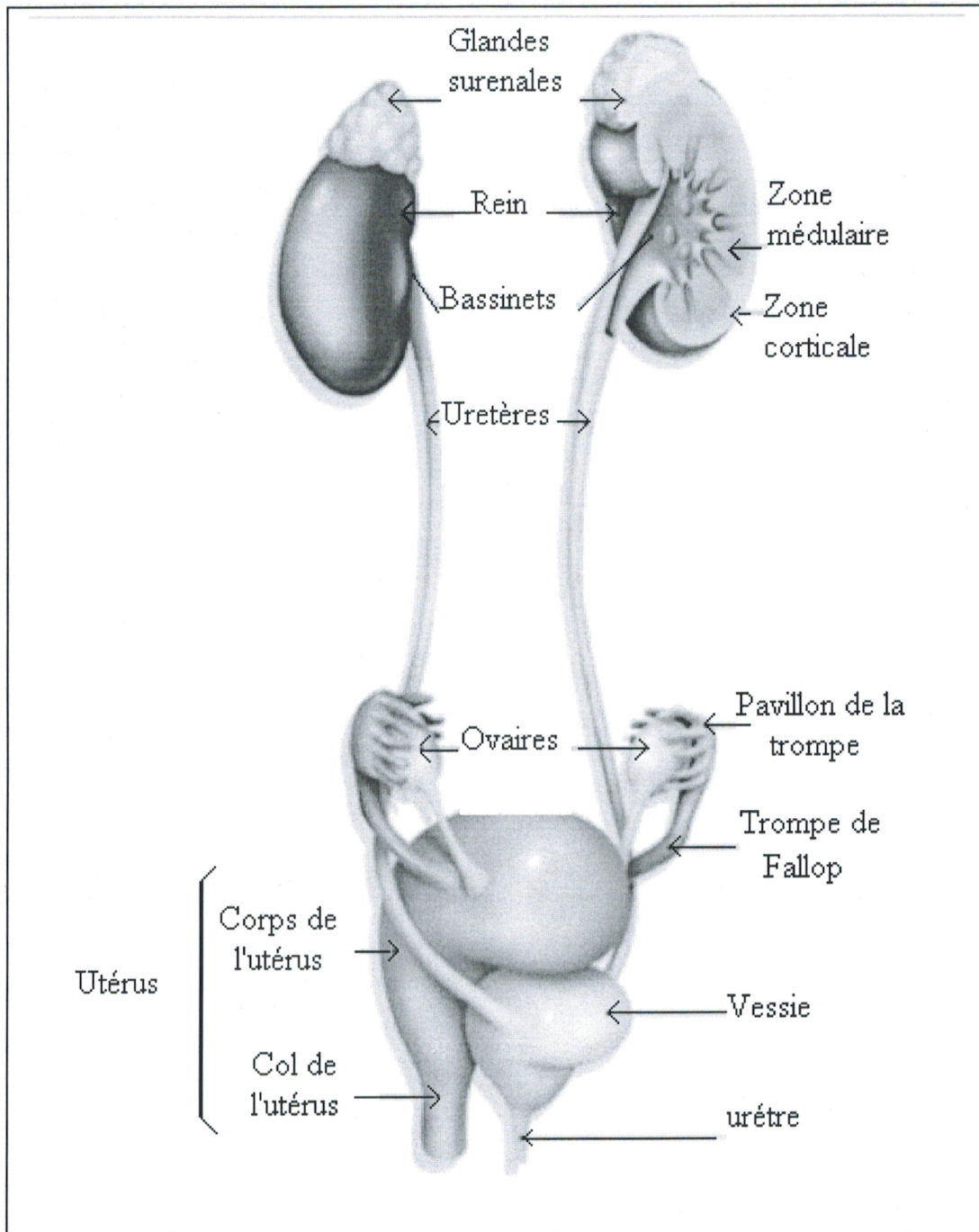
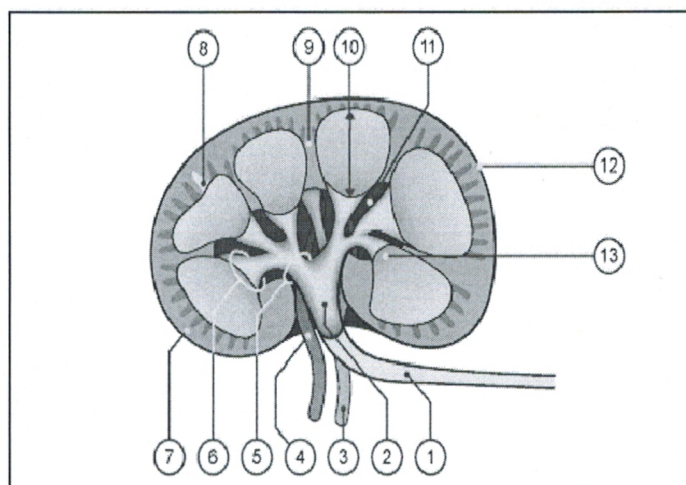


Figure N°1 :L'appareil urogénital féminin. [42]

1-2- Rein :**a- Anatomie du rein :****Figure N°2 : Composition du rein humain. [44]****Légende :**

- 1-uretère
- 2-bassinets
- 3-veine rénale
- 4-artère rénale
- 5-grand calice
- 6-petit calice
- 7-corticale

- 8-Irradiation médullaire.
- 9-Colonne de Bertin.
- 10-Pyramide de Malpighi (pyramide rénale)
- 11-Sinus rénal.
- 12-Capsule rénale.
- 13-Papille rénale.

b- Rôle du rein : [44]

- 1- Maintenir l'homéostasie :** le maintien de l'équilibre hydro-électrolytique et acido-basique de l'organisme.
- 2- Eliminer les déchets endogènes :** ils des différents métabolismes essentiellement des produits azotés, urée (catabolisme des protides), créatinine, bilirubine, hormones.
- 3- Détoxifier et éliminer les déchets exogènes :** les toxines, les antibiotiques, les médicaments et leurs métabolites.
- 4- Sécréter certaines hormones :** (fonction endocrinienne) telles que la rénine et l'érythropoïétine.
- 5- Activer la vitamine D3 :** par hydroxylation en sa forme active (1,25 dihydroxycholécalférol).
- 6- Participer aux fonctions métaboliques :** néoglucogenèse (20% en cas de jeun).

1- Physiopathologie : Les infections urinaires :**1-1- Définition :**

Les infections urinaires regroupent un ensemble hétérogène d'infections de l'un des constituants de l'arbre urinaire ou de ses annexes. Leur point commun est l'agression du tissu urinaire par des micro-organismes conduisant le plus souvent à une réponse inflammatoire.

1-2- Signes cliniques :**2-2-1- Signes généraux :**

- Brulures mictionnelles.
- Douleurs pelviennes ou lombaires.
- Hyperthermie.
- Urine trouble, foncée, nos abondante.

2-2-2-Cystites aiguës non compliquées :

- Une dysurie (besoin douloureux d'uriner et difficulté à la miction).
- Pollakiurie (petites mictions fréquentes).
- Les ténésmes vésicaux (mictions douloureuses à la suite de contractions de la vessie et de l'urètre).
- Une hématurie (présence de sang dans les urines).
- Brulures mictionnelles.

2-2-3-Cystites compliquées de la femme non ménopausée et ménopausée :

- Idem cystites aiguës non compliquées.

2-2-4-Prostatites aiguës :

- Signes fonctionnels urinaires.
- Douleurs pelviennes.
- Fièvre.

2-2-5-Pyélonéphrites aiguës non compliquées :

- Fièvre.
- Douleurs de la fosse lombaire et/ou angle costo-lombaire.
- Troubles digestifs.
- Signes fonctionnels urinaires.

1-3- Classification :**2-3-1- Selon le microorganisme causal :**

- a- **Bactérienne** : *Escherichia coli*, *protes.spp*, *pseudomonas.spp*,
- b- **Fongique** : *Candida albicans* ou candida non-albicans.
- c- **Affections parasitaires** : type bilharziose urinaire à *Schistosoma mansoni*.

2-3-2- Selon la porte d'entrée des germes :

- a- **Ascendantes** : constituent les ITU les plus fréquentes :

- **Urétrite** :

Une urétrite est une infection de l'urètre, causée le plus souvent par *Chlamydia trachomatis* ou *Neisseria gonorrhée*, entraînant une dysurie et une pyurie sans bactériurie. [39]

- **Cystite** :

Une cystite est une inflammation de la vessie. La cystite est le plus souvent d'origine bactérienne (colibacilles, naturellement présents dans l'intestin); mais peut aussi être due a un agent toxique : traitement anticancéreux ou radiothérapie. C'est une affection fréquente chez la femme, car elle possède un urètre court, ce qui augmente le risque d'infection urinaire. [37]

- **Pyélonéphrite** :

Une pyélonéphrite est une infection bactérienne des voies urinaires hautes, touchant donc le bassinet (pyélite) et le parenchyme rénal (néphrite), compliquant ou s'associant à une infection et/ou inflammation des voies urinaires basses. [37]

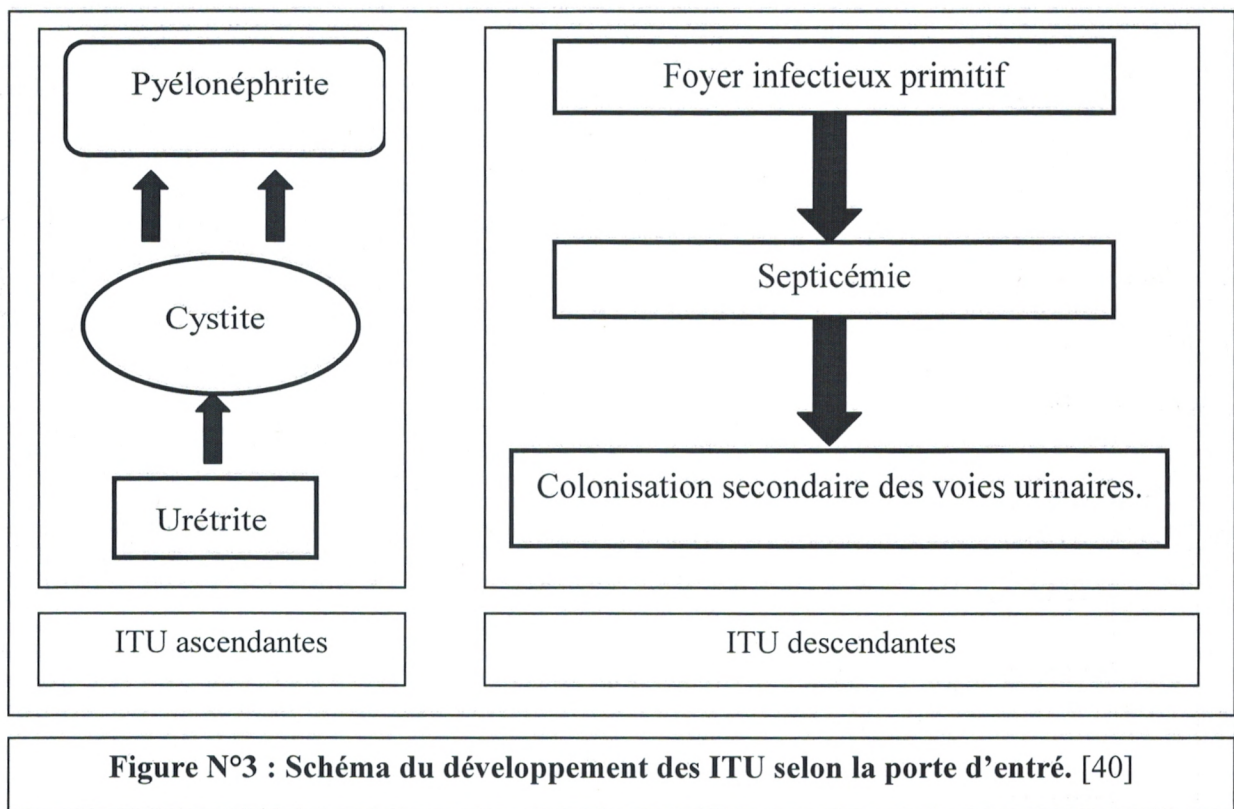
La contamination des voies urinaires se fait par voie ascendante à partir des flores digestive, génitale et cutanée. Les germes les plus fréquemment rencontrés sont des BGN types entérobactéries, *Escherichia coli* en tête. La pyélonéphrite est plus fréquente chez les femmes de 15 à 65 ans mais peut également se rencontrer à tout âge, ainsi que chez les hommes.

→Remarque :

En absence de traitement adéquat, l'urétrite peut se développer en cystite qui elle-même peut donner une pyélonéphrite. (Figure N°3)

Les urétrites et les cystites n'induisent pas de fièvre tandis que les pyélonéphrites sont des infections pyrogènes.

- b- **Hématogènes (Descendantes)** : résultent de la dissémination dans tout l'organisme par un germe provenant d'un foyer infectieux, causant dans un premier temps une septicémie puis la colonisation de tous les tissus y compris l'appareil urinaire. [40]



2-3-3- Selon la clinique :

a- Bactériurie asymptomatique :

Colonisation de la vessie ou de l'urètre par des germes donnant ainsi une urine vésicale infectée mais sans pour cela donner des manifestations cliniques. [39]

Bien qu'elle soit qualifiée de bénigne dans le cas de la femme jeune non gravide, la bactériurie asymptomatique pourrait se compliquer en septicémie ou un choc septique d'où la nécessité de la surveillance voire de traitement précoce chez la femme enceinte. [20]

b- Infection urinaire simple (non compliquée) :

Ce sont les ITU survenant chez un patient ne présentant pas un facteur de risque de complication. Elles concernent essentiellement les femmes sans terrain particulier et sans comorbidité, comprenant les cystites aiguës simples et les pyélonéphrites aiguës simples. [13]

c- Infection urinaire compliquée:

Ce sont des ITU survenant chez un patient présentant au moins un facteur de risque pouvant aggraver l'infection et rendre le traitement plus complexe. Elles regroupent les cystites compliquées et les pyélonéphrites compliquées.

La flore bactérienne est moins uniforme que dans les ITU non compliquée, et les taux de résistance aux antibiotiques sont plus élevés expliquant la fréquence élevée des récurrences. [13]

d- Infection récidivante :

Chez la femme jeune, non gravide et en bonne santé, elle se traduit par au moins 3 périodes d'infections urinaires par an, s'agissant soit de primo-infection persistante ou le plus souvent d'une nouvelle infection chaque fois. [13]

2-3-4- Selon le contexte :**a- Infections urinaires communautaires : [37]**

- Causées par E. coli au premier rang : 60-80 % toutes formes cliniques confondues.
- Aggravées par l'antibio-résistance croissante et préoccupante.
- Le plus souvent sont des infections ascendantes.
- Très rarement des pyélonéphrites hématogènes.
- Les prostatites vénériennes sont exceptionnelles.

b- Infections urinaires nosocomiales : [37]

- Les espèces responsables et antibio-résistance développée est très différentes.
- Dues essentiellement aux gestes spécialisés bouleversant des mécanismes de défense physiologiques tel le sondage vésical (60 à 80 % des IUN).

c- Infections urinaires sexuellement transmises :

- Elles sont représentées essentiellement par des cystites.
- Résultent d'une activité sexuelle fréquente après une période d'abstinence.
- « Les cystites de lune de miel » sont les plus rencontrées.

d- Infections urinaires chez l'immun-déficient :

- Les greffés rénaux sous immunosuppresseurs, les cancéreux sous chimiothérapies, les diabétiques... présentent tous un risque de développer des infections urinaires à complication rapide du fait de leurs défenses immunitaires affaiblies.
- Sont essentiellement les candidoses urinaires à *Candida albicans*.

1-4- Complication :**Cas général :**

- Une infection urinaire basse type cystite peut évoluer sans vers une pyélonéphrite.
- Un passage du germe (bactérie) dans la circulation sanguine engendre une septicémie.

Chez l'homme : [37]

Toute infection urinaire doit faire appel à la recherche d'une atteinte de la prostate qui est une affection fréquente chez l'homme âgé (hypertrophie ou hyperplasie bénigne de la prostate). Si la prostate se développe trop, elle peut resserrer l'urètre et ainsi perturber l'écoulement de l'urine, ce qui rend la miction difficile et douloureuse, voire complètement impossible dans des cas extrêmes.

Chez la femme enceinte :

Les infections urinaires gravidiques peuvent être à l'origine de diverses complications [20]:

2-4-1- Maternelles :

- Septicémie :
 - Fréquente.
 - Favorisée par l'existence d'un obstacle.
 - Risque de choc toxique ou septique si le germe en cause est un bacille Gram (-).
- Pyélonéphrite gravido-toxique :
 - Exceptionnelle.
 - Cause une altération de l'état général grave, un collapsus oligo-anurique et un ictère.
 - Pronostic sévère : Le risque élevé de toxémie nécessite la surveillance de la fonction rénale.
- Récidives :
 - En fin de grossesse, suite à l'accouchement ou ultérieurement.
 - Rechute : réinstallation du même germe identique (Il faut rechercher un foyer parenchymateux ou un obstacle).
 - Réinfection : causée par un autre germe.
- Néphrite interstitielle chronique :
 - Avec apparition progressive d'une insuffisance rénale chronique et d'une hypertension artérielle.
- Autres :
 - Néphrite interstitielle chronique Avec apparition progressive d'une insuffisance rénale chronique et d'une hypertension artérielle.
 - Phlegmon péri-néphrétique.
 - Pyo-néphrose.
 - Nécrose papillaire (Le diabète augmente la fréquence d'atteinte).
 - Maladie thromboembolique.
 - Insuffisance rénale transitoire.

2-4-2- Foetal :

- Accouchement prématuré :
 - Surtout si fièvre.
 - Même en cas d'infection urinaire asymptomatique.
- Mort périnatale :
 - Par l'infection, la fièvre et la prématurité.
 - Risque important si l'infection est haute non ou tardivement traitée.

- Infection néonatale :

- Possibilité de passage des germes in utero par voie hématogène.
- Au cours de l'accouchement par contact direct.

- Hypotrophie :

- Faible poids à la naissance même si l'accouchement est à terme.
- Surtout si l'infection est de type chronique asymptomatique.

1-5- Facteurs de risque : [01],[02]**2-5-1- Age avancé :**

- L'incontinence : L'incapacité de la vessie de se dilater pour contenir l'urine formée.
- Les dysfonctionnements mictionnels.
- Le sondage urinaire.

2-5-2- Sexe féminin :

- Sur le plan anatomique : l'urètre féminin est court (3-4 centimètres) et topographiquement proche du vagin et du périnée qui sont régulièrement colonisés par des bactéries d'origine fécale ; par opposition, l'urètre masculin est long de 20 centimètres environ et est moins exposé aux infections.
- De plus, le désordre hormonal chez la femme ménopausée, et spécialement le déficit en œstrogène favorise l'installation des infections urinaires.

2-5-3- Facteurs génétiques :

- Phénotype non sécréteur de facteur Lewis des groupes sanguins ABO.
- Antécédents maternels d'ITU, avec plus de risque pour les femmes.
- Certaines ITU de l'enfance.

2-5-4- Facteurs anatomiques :

- Anomalies génito-urinaires fonctionnelles (résidu post-mictionnel, incontinence...) et anatomiques (Prolapsus...) liées à l'âge favorisent les ITU des femmes ménopausées.
- Rétrécissement et calculs urétraux (surtout chez l'homme),
- Colonisation du gland et du prépuce chez les hommes non circoncis. (!!!)
- Les anomalies congénitales sont le premier facteur de risque d'ITU chez l'enfant.

2-5-5- Facteurs comportementaux :

- Rapports sexuels fréquents et récents.
- Utilisation de contraceptifs mécaniques (diaphragme vaginal, spermicides et préservatifs).
- Mictions différées après rapports sexuels.
- Règles hygiéno-diététiques non respectées.

2-5-6- Immunodépression :

- Prise récente d'antibiotique (surtout pour les infections urinaires fongique).
- Traitement anticancéreux et prise d'immunosuppresseurs.
- Infection par VIH.
- Femme enceinte (première complication médicale de la grossesse –voir N.B).
- Nouveau-né (incapacité de produire ces propres immunoglobulines).
- Sujet diabétique, atteint d'athérosclérose...

2-5-7- En milieux hospitalier :

- Pour les patients : possibilité de contracter des infections urinaires d'origine nosocomiale suite à une intervention chirurgicale.
- Certains actes médicaux tel le sondage urinaire ou l'endoscopie augmente la fréquence d'avoir des infections urinaires.
- Pour le personnel travaillant : risque de contamination possible.

Tableau N°01 : Infections pouvant être contractées suite à une instrumentation ou une opération.

Site d'infection	Evénements mineurs	Evénements majeurs
Plaies chirurgicales	Infection superficielle de la plaie	-Infection profonde. -Abcès profond/abdominal.
Voies urinaires	Bactériurie asymptomatique, colonisation	-Infection fébrile urogénitale -Pyélonéphrite -Perte de tissu rénal
Autres sites urogénitaux	-Epididymite. -Bactériémie.	-Prostatites bactériennes aiguës. -Septicémie.

N.B : Il est à signaler que l'état gravidique favorise les infections urinaires en raison de : [20]

- **Facteur mécanique :**
 - Compression par l'utérus gravide surtout à droite par dextro-rotation de l'utérus.
 - Reflux vésico-urétéral favorisé par l'étirement des uretères.
- **La progestérone :**
 - Inhibe le péristaltisme des voies urinaires.
 - Diminue le tonus sphinctérien urétero-vésical favorisant le reflux et la stagnation des urines.
- **Les œstrogènes :**
 - Hyperhémie du trigone => adhérence des germes sur l'urothélium.
- **Facteur chimiques :**
 - Alcalinisation des urines gravidiques et la glycosurie physiologique.

1-6- Mécanisme d'installation d'ITU :**Infection du tractus urinaire :**

Rupture d'équilibre entre les moyens de défense de l'hôte et les facteurs de virulence du pathogène.

2-6-1- Facteurs de virulence du germe : [10]**- Les adhésines :**

Les pili ou (fimbriae) sont des structures bactériennes qui permettent aux uropathogènes d'adhérer à l'urothélium. Plusieurs types sont rencontrés :

Adhésines type mannose sensibles :

- Pili type (I) : caractérisés par un faible pouvoir d'adhérence mais contribuent quand même au pouvoir pathogène surtout dans le cadre de la colonisation (Infections asymptomatiques).

Adhésines type mannose résistantes :

- Pili type (P) : les déterminants majeurs de l'adhésion, ils sont indispensables à la colonisation et à l'invasion du haut appareil.

- Pili type (X) : encore mal connus.

- La production des hémolysines.

- **Les aérobactines** : est un système de chélation utilisé par E. coli pour acquérir le fer.

- **Les antigènes capsulaires (K)**.

- **Les antigènes (O)** : contenues dans les liposaccharides bactériennes → les endotoxines.

2-6-2- Moyens de défense de l'hôte :**- Liés à la physiologie de l'appareil urinaire :**

- Volume de flux urinaire (1,5l/j)

- Miction régulière et fréquente de la vessie (4-5/j)

- Intégrité et perméabilité de la muqueuse.

- Liés à l'urine : [35]

- Grandes variations de l'osmolarité.

- pH urinaire acide.

- Absence d'éléments nutritifs : glucose.

- Facteurs biologiques : [35]

- Cytokines.

- Immuno-modulateurs.

- Protéines d'adhésion.

- **Secrétions** : vaginale chez la femme et prostatique chez l'homme.

1-7- Germes en cause :

Plusieurs germes présentent la capacité d'être uropathogènes, dont le type d'atteinte, la fréquence et la gravité sont différentes selon les facteurs de virulence.

Tableau N°02 : Les germes responsables des ITU. [39]

Bacilles Gram négatif	- <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Protes.spp</i> , <i>Providentia.spp</i> ; <i>Serratia.spp</i> . - <i>Citrobacter.spp</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter.spp</i> → ces trois derniers sont responsables des infections nosocomiales.
Bacilles Gram positif	-Streptocoque D (Entérocoques). -Staphylocoque (doré, blanc et saprophyticus).
Germes anaérobies	RARES
Infections systémiques	Brucella, Leptospires, <i>Salmonella typhi</i> .
Autres	<i>Chlamydia.spp</i> , Mycoplasme.
Infections levuriennes	<i>Candida.spp</i> (essentiellement <i>C.albicans</i>)
Infections parasitaires	<i>Trichomonas vaginalis</i> .

Tableau N°03 : Les germes impliqués dans les différentes atteintes.

Bactériurie asymptomatique	- <i>E. coli</i> → Fréquent mais moins virulent que dans les ITU.C, et les ITU.NC. - <i>Staphylococcus epidermidis</i> . - <i>Enterococcus.spp</i> et Streptocoques B.
ITU non compliquées de la femme	- <i>E. coli</i> → Acteur principal. - <i>Staphylococcus saprophyticus</i> . - <i>Klebsiella pneumoniae</i> . - <i>Protes mirabilis</i> .
ITU compliquées	- <i>E. coli</i> → Germe le plus dominant. - <i>Serratia.spp</i> , <i>Klebsiella.spp</i> , <i>Citobacter.spp</i> . - <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . - <i>Enterococcus.spp</i> . - <i>Staphylococcus epidermidis</i> . - <i>Candida albicans</i> .

Partie II

Matériel et méthodes

Le diagnostic des infections urinaires orienté par la chimie des urines se base sur la réalisation d'un examen cytot bactériologique des urines dont le recueil doit remplir certains critères.

1- Prélèvements :

IMPORTANT : La qualité du prélèvement conditionne la qualité et l'interprétation de l'examen.

1-1- Matériel :

1-1-1- Récipient stérile :

Dans le cas de l'adulte non sondé coopératif, le recueil des urines se fait directement dans un pot en matière plastique, transparent et stérile. Le couvercle permet une fermeture assez étanche évitant le contact du prélèvement avec le milieu extérieur. Le récipient doit porter une étiquette permettant d'insérer le nom et prénom du malade, ainsi que la date du prélèvement. (Figure N°4)

En cas où l'acheminement du prélèvement au laboratoire nécessite du temps, il est recommandé d'utiliser des flacons boratés.

1-1-2- Matériels spécialisés :

- Collecteurs (Poche urinaire).
- Sonde urinaire (Homme, Femme, enfant).
- Gants purifiés, Seringues.
- Désinfectant : La Bétadine.

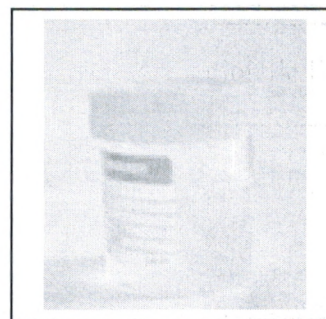


Figure N°04 :
Récipient stérile. [34]

1-2- Méthode :

1-2-1- Cas général : Adulte non sondé coopératif :

Après lavage hygiénique des mains et toilette soignée au savon ou antiseptique doux de la région vulvaire chez la femme et du méat chez l'homme suivi d'un rinçage :

- Eliminer le 1er jet (20 ml) d'urines pour ne recueillir dans un flacon stérile que les 20 ml suivants au minimum en prenant soin de ne pas toucher le bord supérieur du récipient.
- Fermer hermétiquement le flacon, l'identifier très précisément et le porter immédiatement au laboratoire accompagné de sa prescription et de l'heure du prélèvement. En cas d'empêchement, le placer pour quelques heures à + 4°C ou utiliser un tube "boraté".

→Remarques :

-*Chez l'homme* : Conserver le premier jet en cas de suspicion d'urétrite ou de prostatite.

-*Chez la femme* : Les pertes vaginales même minimales contaminent le prélèvement.

1-2-2- Cas particuliers :**a- Nouveau- né et nourrisson :**

S'il est impossible de recueillir l'urine à la volée au moment du change, un collecteur stérile spécifique est utilisé:

- Après désinfection soigneuse, déposer le dispositif (poche adhésive = collecteur).
- Le dispositif doit être changé systématiquement après 60 minutes s'il n'y a pas urine.
- Une fois la miction terminée, détacher le dispositif et transvaser les urines soigneusement dans un flacon stérile.

→Remarque :

Le collecteur permet d'éviter la contamination du prélèvement par des germes fécaux (risque élevé).

b- Sujet sondé à demeure :

- Eviter de découpler la sonde et la poche urinaire. Ne jamais ouvrir la tubulure.
- Il est préférable de prélever à partir d'une poche récente.
- Clamper la tubulure du collecteur pendant 10 à 15 min en aval du site de prélèvement.
- Aseptiser l'opercule du site de prélèvement puis aspirer utilisant une seringue ou un système sous vide.
- Transvaser dans un récipient stérile.
- Déclamper la tubulure et vérifier le bon écoulement de l'urine dans la poche.

c- Gestes spécialisés :

1-Urines du premier jet : Le recueil des urines du premier jet est intéressant en cas de :

- Suspicion d'infection urétrale ou prostatique (après un éventuel massage prostatique).
- Recherche de *Mycoplasma* ou de *Chlamydia trachomatis* par biologie moléculaire.

2-Prélèvement par ponction sus- pubienne : Après désinfection soigneuse des téguments, ponctionner directement l'urine dans la vessie à l'aide d'une seringue. Cette technique permet d'analyser l'urine tel quelle dans la vessie.

3-Prélèvement par cathétérisme urétéral : Il permet l'obtention d'urine provenant séparément du rein droit ou du rein gauche. Après désinfection de l'extrémité de la sonde.

d- Recherche de mycobactérie :

La recherche des mycobactéries dans les urines est un examen réalisé sous prescription spécifique, il doit être réalisé sur la totalité de la première miction matinale, après restriction hydrique pendant 3 jours de suite.

1-3- Acheminement et conservation : [19]

Les conditions de transport et de conservation des prélèvements urinaires doivent être standardisées afin d'éviter la multiplication bactérienne ex-vivo faussant l'interprétation du test.

- Le prélèvement urinaire doit être acheminé le plus vite possible au laboratoire s'il est réalisé ailleurs.
- A température ambiante, le prélèvement doit être analysé dans les 2 heures qui suivent le recueil des urines.
- Les prélèvements peuvent être conservés 24 heures à une température de 4 °C sans modification de la bactériurie.
- Les milieux de transport stabilisateurs utilisant l'acide borique permettent la conservation des prélèvements jusqu'à 48 heures à température ambiante.

1-4- Critères du rejet d'un prélèvement:

- Tout prélèvement sans notifications (nom du malade, heure de prélèvement).
- Tout prélèvement contaminé par de la matière fécale (cas des nourrissons).
- Tout prélèvement contaminé par des pertes vaginales (Fausse hématurie).

2- Etude biochimique :

2-1- But :

La chimie des urines est un test d'orientation réalisé par bandelettes réactives qui permettent une détection rapide des changements de multiples paramètres biologiques facilitant le diagnostic.

2-2- Principe de la méthode :

Les bandelettes réactives d'analyse urinaire sont des bandelettes en plastique portant des plages (zones de réactifs) dont la variation de la couleur indique la présence ou non, ainsi que le taux approximatif des paramètres en études en se référant à une échelle colorimétrique fournie par le fabricant (le plus souvent collée sur la boîte portant les bandelettes).

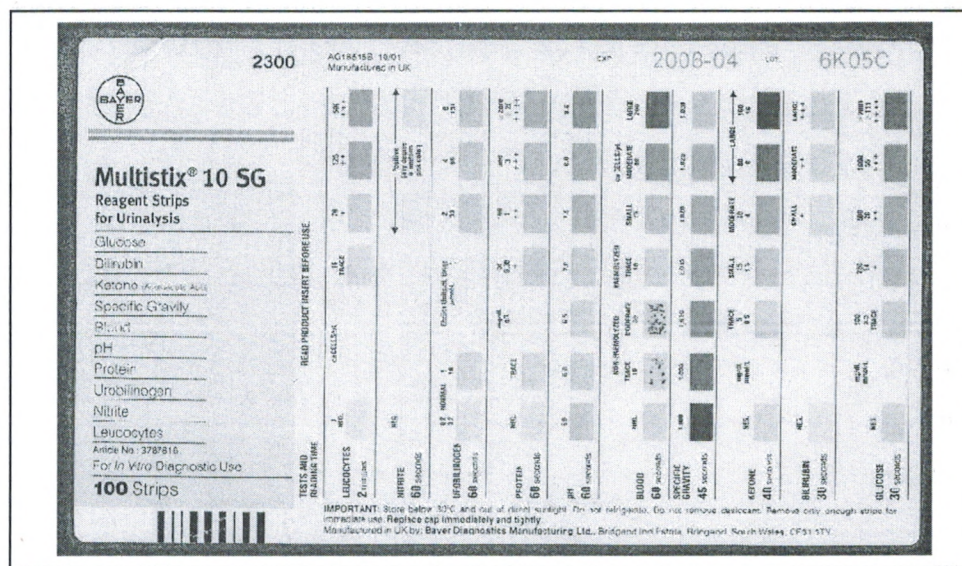


Figure N°05 : L'échelle colorimétrique de référence des bandelettes réactives.

2-3- Paramètres étudiés :

- **Acide ascorbique (Asc):** Vit C.
- **Glucose (Glu) :** Normalement absent, grand intérêt en endocrinologie.
- **Bilirubine :** témoigne une atteinte hépatique ictérique ou une hémolyse.
- **Corps cétoniques (Ket) :** témoigne une atteinte hépatique.
- **Densité urinaire (SG):** elle reflète la charge urinaire.
- **Sang (Blood) :** représenté par 2 plages, une pour les GR et l'autre pour l'hémoglobine.
- **pH :** Facteur influençant la prolifération bactérienne.
- **Protéines (Pro) :** présentes normalement à un certain seuil.
- **Urobilinogène (Uro):** Oriente le diagnostic vers le type de l'atteinte hépatique.
- **Nitrites (Nit):** Témoin d'infection urinaire, résulte de la réduction des nitrates.
- **Leucocytes (leu) :** leur présence révèle une infection avec inflammation possible.

2-4- Mode d'utilisation :

- Tromper la bandelette réactive complètement dans l'urine.
- Laisser régir quelques secondes.
- Lire en comparant les plages avec l'échelle colorimétrique.

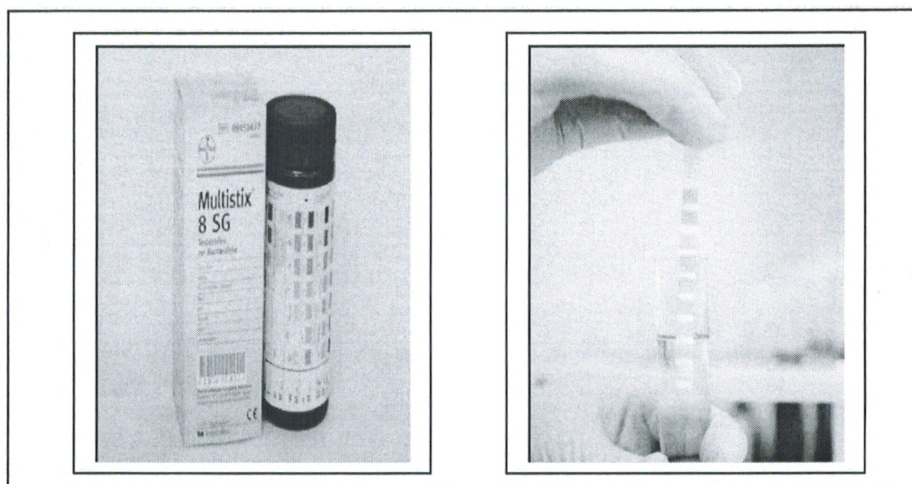


Figure N° 06 : Mode d'utilisation des bandelettes urinaires. [45]

2-5- Interprétation des résultats :

Le résultat obtenu est fonction de la concentration en élément étudié et le temps de réaction.

- Concentration en élément en étude : relation directement proportionnelle entre la teneur de l'urine en élément et l'accentuation de la coloration ou son virage.
- Temps de lecture : il varie de 30 à 120 secondes selon les réactifs utilisés pour la détection.

Tableau N° 04 : Le temps de lecture des paramètres analysés par les bandelettes urinaires.

<u>Temps de lecture</u>	30 secondes	40-45 secondes	60 secondes	120 secondes
<u>Paramètres</u>	ASC, GLU, BIL	KET, SG	BLO, pH, PRO, URO, NIT	LEU

2-6- Interprétation du test :**2-6-1- Intérêts du test :**

- Test rapide, permettant au clinicien un gain de temps.
- Facile, offrant une bonne orientation en cas d'urgence.

2-6-3- Limites du test :

Les résultats faussement négatifs sont liés essentiellement à la lecture de la plage nitrite qui peut être déterminée comme faussement normale dans les cas suivants [19]:

- Infections urinaires causées par des bactéries dépourvues de nitrate-réductase, c'est notamment le cas des Staphylocoques, Entérocoques, bacille pyocyanique, *Acinetobacter.spp* et *Mycobactérium tuberculosis*.
- Infections urinaires à faible inoculum bactérien ($< 10^4/ml$), la capacité de réduction des nitrates est inférieure à la valeur seuil de détection des nitrate dans les urine.
- Même avec un inoculum important d'une bactérie nitrate-réductase positive, une stase urinaire ou un régime alimentaire pauvre en nitrate (alimentation dépourvue de betterave, épinard, et navet) peut donner un résultat négatif.
- Une urine ayant séjournée moins de 3 heures dans la vessie, (durée considérée comme insuffisante pour la réduction de nitrate en nitrite) lors de pollakiurie ou d'incontinence.

Tableau N°05 : Influence de l'alimentation et de la prise des médicaments sur la chimie des urines.

	<u>Origine</u>	<u>Leucocyte estérase</u>	<u>Nitrate réductase</u>
<u>Résultats faux positifs</u>	Alimentaire	/	-Acide ascorbique ***
	Médicamenteuse	-Clavulanate -Imipenème.	-Céphaléxine,-Gentamicine. -Doxycycline.-Nitrofurantoine.
<u>Résultats faux négatifs</u>	Alimentaire	/	-Carence alimentaire en nitrate.
	Médicamenteuse	/	-Diurétiques

3- Examen cyto bactériologique des urines (ECBU):

3-1- Définition de l'ECBU :

Du fait de la fréquence des infections du tractus urinaire, l'examen cyto bactériologique des urines est l'un des examens les plus couramment réalisés dans un laboratoire de microbiologie [19]. Il permet le diagnostic de certitude des infections urinaires en isolant le micro-organisme responsable (bactérie ou levure), en l'identifiant et en déterminant l'action des antibiotiques sur le germe en étude (sensibilité, résistance).

3-2- Indication :

- Chez un malade présentant une symptomatologie d'infection urinaire (voir signes).
- Dans certaines circonstances cliniques : femme enceinte, diabète sucré, immunodépression, Malformations urologiques, sondage urinaire...
- Pour contrôler un traitement antibiotique d'une infection urinaire.
- Lors de la surveillance des infections urinaires récidivantes.
- Demandé comme bilan préopératoire, et lors de la surveillance postopératoire.
- En cas d'une fièvre supérieure à 39°C notamment chez le nourrisson.
- En cas d'une pyurie ou hématurie.
- Suite à une étude biochimique par bandelette réactive positive.

3-3- Méthodes :

L'ECB comporte plusieurs étapes qui sont dans l'ordre :

- 1-Etude macroscopique.
- 2-Etude microscopique.
- 3-Mise en culture.
- 4-Antibiogramme.

3-3-1- Etude macroscopique :

Rappelant que l'urine normale est claire de couleur jaune citrin, lors d'une infection urinaire, l'urine peut changer de couleur, d'aspect et même d'odeur [19]:

- **La couleur** : jaune paille (foncé), couleur hématique.
- **L'aspect** : trouble dont le degré est proportionnel à la densité microbienne.
- **Odeur** : nauséabonde surtout si le germe en cause est pyogène.
- **Corps étrangers** : présence de sédiments de couleur variable (blanchâtre pour les phosphates, rouge brique pour l'acide urique, et rose pour l'urate).

3-3-2- Etude microscopique en état frais :

Cette étape consiste à étudier la cytologie du prélèvement urinaire suivant 2 aspects :

- | | |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> - Aspect qualitatif : - Cellules. - Cylindres. - Cristaux. - Micro-organismes. | <ul style="list-style-type: none"> - Aspect quantitatif : - Leucocyturie. - Hématurie. |
|---|--|

a- Préparation du frottis :

Cette étape se réalise sur :

- Soit sur l'urine fraîchement émise en déposant une goutte entre lame et lamelle.
- Soit, préférentiellement sur un frottis de culot de centrifugation d'urine obtenu comme suit :
 - Homogénéiser l'urine en tournant le récipient doucement.
 - Remplir environ $\frac{3}{4}$ d'un tube à hémolyse.
 - Centrifuger pendant 5 minutes à 2000 tours/minutes.
 - Jeter le surnageant dans un bac d'eau de Javel en tournant le tube avec précaution.
 - Remettre le culot en suspension en aspirant et refoulant doucement par une pipette Pasteur.
 - Placer une goutte entre lame et lamelle.
 - Observer utilisant l'objectif (X 40).

b- Etude qualitative :

L'étude cytologique comporte la recherche des éléments suivants :

b-1- Cellules :

b-1-1-Leucocytes : au cours des infections urinaires, la multiplication bactérienne s'accompagne toujours par la mise en œuvre des réactions immunitaires. De ce fait, les leucocytes vont être non seulement sujets de numération approximative mais une détermination exacte de la leucocyturie.

Dans son aspect le plus intense, la réponse immunitaire donne naissance à une pyurie.

b-1-2-Hématies : En plus de la cystite hématurique, les traumatismes, les calculs, les tumeurs siégeant en un point quelconque de l'appareil urinaire, la tuberculose, les troubles de la coagulation peuvent tous engendrer une hématurie qui peut être :

- **Microscopique :** détectée seulement sous microscope.
- **Macroscopique :** l'urine prend une couleur rougeâtre (dite donc hématique).

Tous comme les leucocytes, les GR font eux même l'objet d'un décompte.

b-1-3-Cellules épithéliales :

- L'existence de quelques cellules épithéliales rénales et vésicales est fréquent à l'état normal, mais leur nombre s'accroît en cas de néphropathies tubulo-interstitielles aiguës.
- La présence de cellules épithéliales d'origine vaginale signe une contamination et entraîne le rejet de l'examen.

b-2- Cylindres :

Physiologiquement, seuls les cylindres hyalins sont trouvés dans l'urine, formés dans la lumière du néphron par précipitation de la muco-protéine physiologique de Tamm-Horsfall et éliminés normalement dans l'urine, ils sont donc non pathologiques. [19]

Le cylindre hyalin sert de squelette sur lequel se greffent différentes cellules donnant des cylindres pathologiques :

- **Cylindres leucocytaires:** signent une réaction inflammatoire aiguë du parenchyme rénal.
- **Cylindres épithéliaux:** formés des cellules de l'épithélium tubulaire lors d'une desquamation massive du néphron.
- **Cylindres granuleux:** agglomérat de débris cellulaires.
- **Cylindres cireux:** stade ultime de la dégénérescence des cylindres granuleux après une stase prolongée, témoignent une insuffisance rénale chronique avancée.
- **Cylindres hématiques (érythrocytaire):** amas de globules rouges fixés sur un squelette.

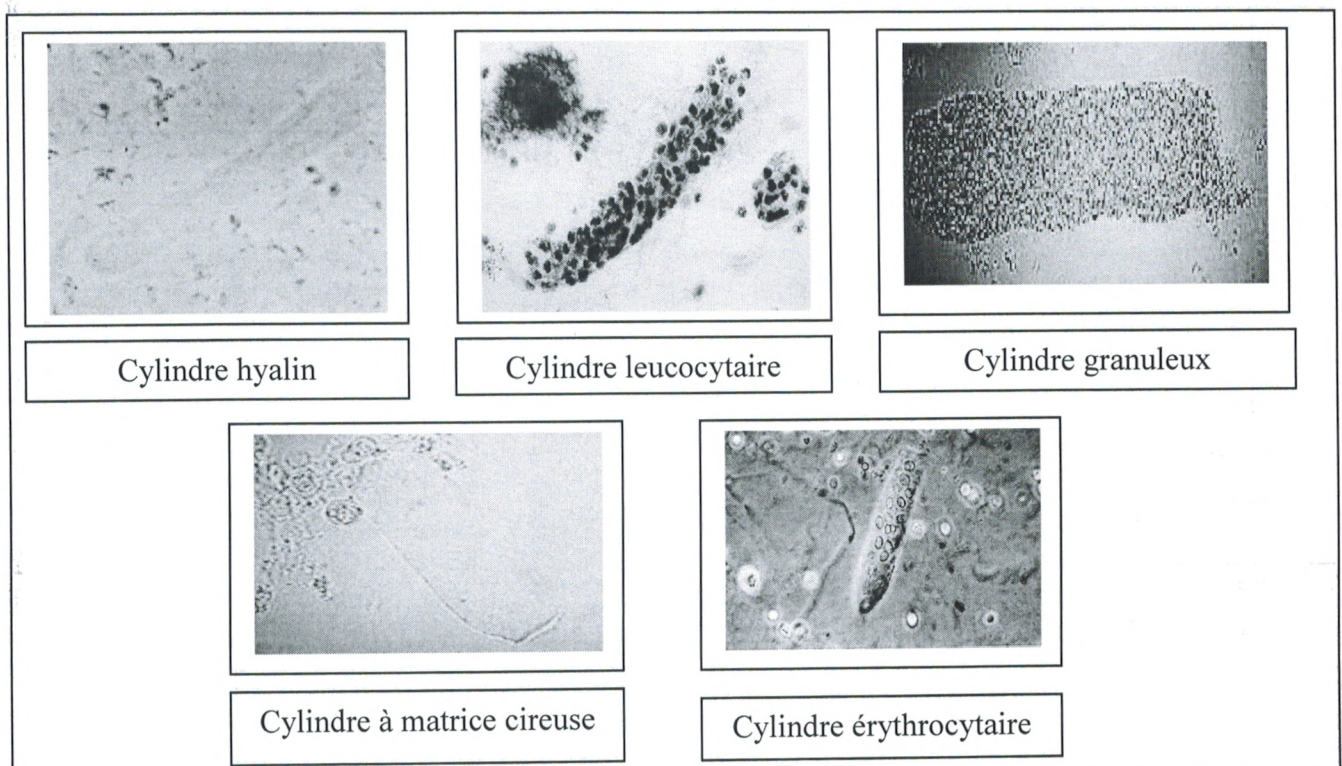


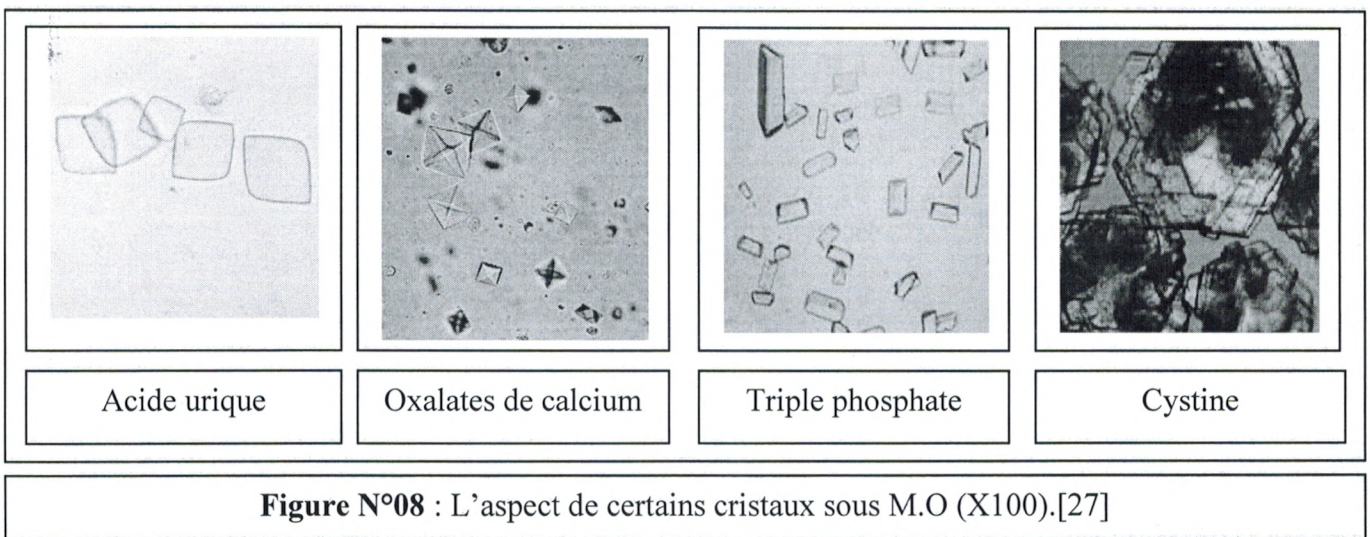
Figure N°07 : L'aspect des différents cylindres observés sous M.O (X100). [27]

b-3- Cristaux :**b-3-1-Cristaux d'origine endogène :**

L'urine contient normalement des cristaux tels les oxalates et les urates. Leur abondance suit le degré d'hydratation du patient. Leur présence n'est pas considérée comme pathologique. [19]

Par contre, certains cristaux anormalement trouvés dans les urines ou une teneur élevée en certains éléments couramment trouvés témoignent des atteintes :

- Phosphate ammoniaco-magnésien (triple phosphate).
- Cristaux rares de l'urine acide : Cystine, Leucine, Tyrosine...
- Cristaux du cholestérol.

**b-3-2-Cristaux iatrogènes (origine médicamenteuse) :**

Une cristallisation intra tubulaire des médicaments pourrait avoir lieu dans les situations suivantes:

- Surdosage.
- Déshydratation.
- Hypoalbuminémie.

Ex : Amoxicilline, Sulfamides, Indinavir, Produit de contraste, talc,...

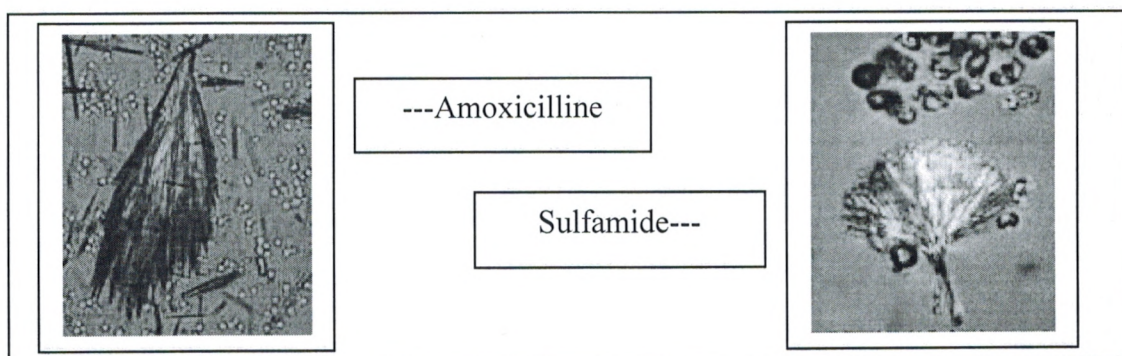


Figure N°09 : L'aspect de certains cristaux des médicaments sous M.O (X100).[27]

b-4- Micro-organismes :

L'urine est normalement stérile, toute présence de bactéries, de levures, de parasites (Trichomonas) ou d'œuf de parasites (Bilharziose) doit être notée.

S'il s'agit de bactéries, la détermination de la mobilité est demandée.

b-4-1- Méthode :

- Placer une goutte du culot de centrifugation entre lame et lamelle.
- Déterminer le nombre moyen de chaque élément par champ.

b-4-2- Interprétation :

Sous microscope optique, et suivant le nombre de particules par champ, le résultat sera apprécié en se référant à un tableau de cotation.

Tableau N°05 : Tableau de cotation. [28]

<u>Cotation</u>	<u>Quantification</u>	<u>Evaluation approximative</u>	<u>Observation (X40)</u>
0	Très rare ou absence de...	0 / mm ³	0 à 1 dans 30 à 40 champs
+	Quelques	10 éléments/ mm ³	1 pour 10 à 20 champs
++	Assez nombreux	100 éléments/ mm ³	1 pour 1 à 2 champs
+++	Nombreux	100 – 500 éléments/ mm ³	1 à 5 par champ
++++	Très nombreux	>500 éléments/ mm ³	+ de 10 par champ isolés ou en amas.

N.B :

- S'il est noté la présence de cellules altérées, le nombre réel de l'élément apprécié est supérieur à celui trouvé sur la lame.
- Si une part importante de leucocytes est altérée, on doit signaler que le pus est abondant.

c- Etude quantitative (semi-quantitative):

- **Leucocyturie :** Nombre de leucocytes par millilitre d'urine entière. (N< 4.10³/ml)
- **Hématurie :** Nombre de globules rouges par millilitre d'urine entière. (N< 3.10³/ml)

c-1-Méthode :

Le comptage des globules est réalisé sur une cellule de numération (cellule hématimètre) type Malassez, Thomas, Nageotte,...

c-1-1 Description de la cellule de Malassez:

La cellule Malassez est une lame en verre portant un quadrillage centralisé formé de 100 carrés (10X10) dont la moitié est divisée en 100 petits carrés.

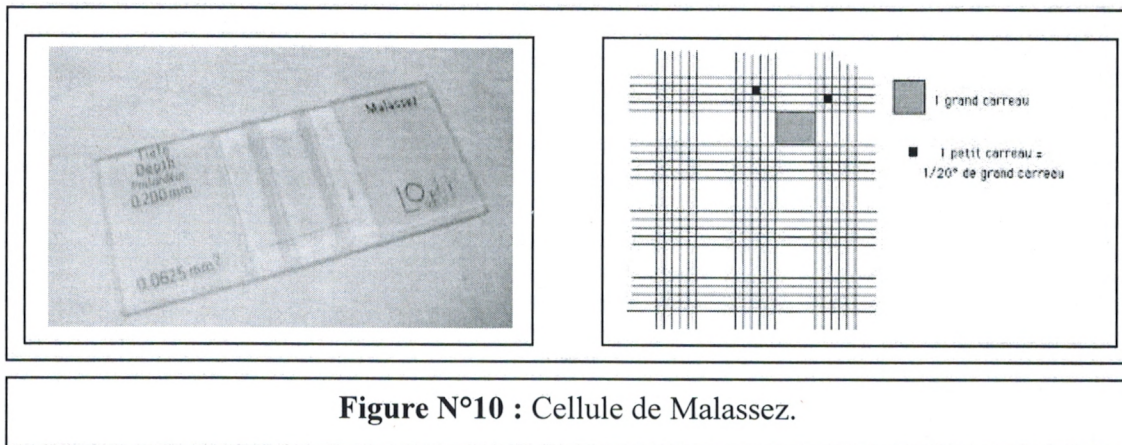


Figure N°10 : Cellule de Malassez.

c-1-2- Protocole expérimental :***Préparation de la lame :** (Figure N°11-a-)

- Imbiber la cellule utilisant de l'eau pour faciliter l'adhérence de la lamelle.
- Laisser une partie non couverte : c'est l'endroit où l'urine doit être déposée.
- L'urine se répartit sur la cellule par capillarité.

****Dénombrement des globules :**

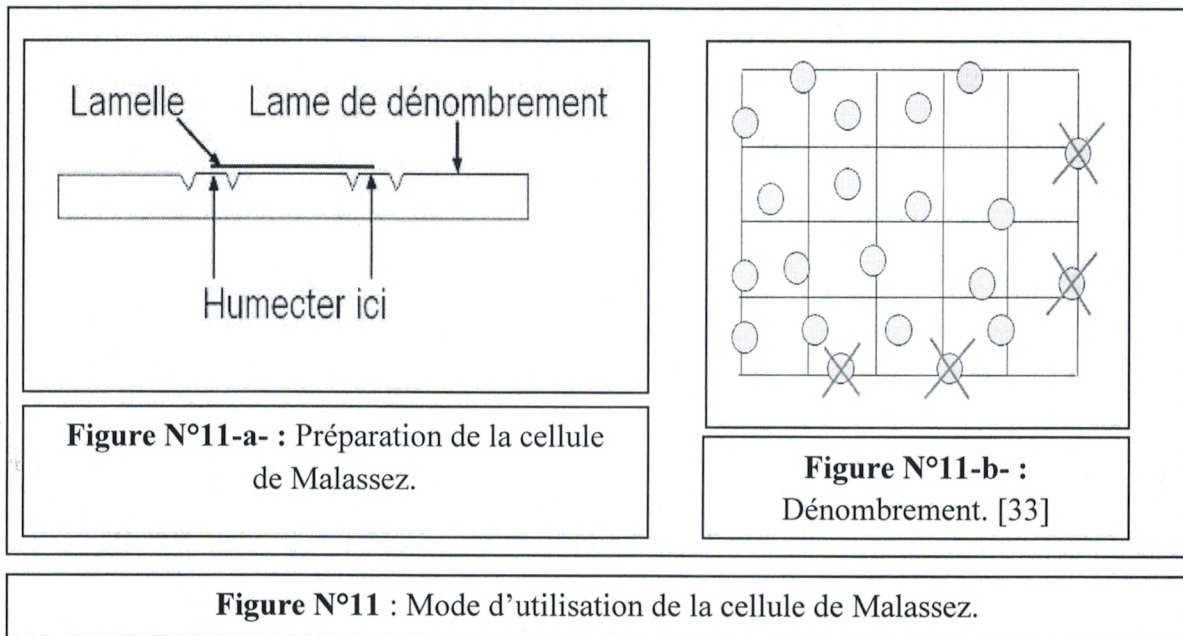
- Repérer sous microscope le quadrillage utilisant l'objectif (X10).
- Vérifier l'homogénéité de la préparation : une préparation à répartition non-homogène est considérée comme non-conforme pour réaliser le comptage.
- Compter les leucocytes en choisissant une ligne entière (= 10 grands carrés).

N.B : Lors du comptage : (Figure N°11-b-)

- Le nombre de globules trouvé est désigné par (n).
- Compter les cellules qui se trouvent dans le rectangle.
- Compter les cellules « à cheval » se trouvant sur une longueur et une largeur.

***** Déduction du nombre des cellules :**

- Le nombre total dans la cellule : $N = 10 \times n$ unité : cellule/mm³
- La globulurie = $N \times 100 \times$ facteur de dilution (si l'urine était diluée) Unité : cellule/ml.



→ **Remarque :**

Une fausse hématurie est observée en cas de contamination du prélèvement par du sang provenant du cycle menstruel chez la femme.

Il convient toute fois d'interpréter prudemment une leucocyturie négative ou faiblement positive, notamment chez des patients dont les défenses immunitaires sont affaiblies (nouveau-né de moins de 3 mois, femme enceinte, ...).

c-1-3-Interprétation des résultats :

L'étude cytologique peut être comme suite :

- Assez nombreuses, nombreuses, très nombreuses cellules épithéliales pavimenteuses,
→ Urine contaminée → Demande de réalisation d'un nouveau prélèvement.
- (Absence, rares, quelques polynucléaires) et (Absence, rares, quelques germes)
→ Pas de signe biologique d'infection urinaire. → Ne pas réaliser la suite du protocole (culture).
- (Assez nombreux, nombreux, très nombreux leucocytes) ± (Assez nombreux, nombreux, très nombreux germes)
→ Résultat positif → Poursuive l'analyse → Réaliser un ensemencement.
- (Assez nombreux, nombreux, très nombreux leucocytes) ± (contexte particulier)
→ Résultat positif → Poursuive l'analyse → Réaliser un ensemencement.

(Contexte particulier = immunodéprimés, nourrissons < 2 mois, atteinte néphrologique)

3-3-3- Etude bactériologique :

a- Dénombrement des germes urinaires:

Cette étape consiste à déterminer la bactériurie.

Bactériurie : C'est le nombre de bactéries présentes dans un ml d'urine entière.

La bactériurie peut être déterminée suivant 3 méthodes :

a-1-Technique de la lame immergée : (dispositif : DGU)

a-1-1-Description du dispositif :

Le système DGU est utilisé dans le but d'isoler, énumérer et orienter l'identification des germes responsables des infections urinaires.

Il est constitué de : (Figure N°12)

- **La lame** : lame porte-objet en matière plastique munie d'un quadrillage en reliefs (une grille) facilitant le dénombrement, les 2 faces sont recouvertes de milieux de culture stérile :

- Face (1) : gélose CLED.
- Face (2) : gélose Mac-Conkey.

- **Un flacon cylindrique** : (comparable à celui utilisé pour le recueil des urines), stérile, en matière plastique, permet la conservation de la lame, l'observation du développement de la culture est possible à travers ce flacon.

- Il est à signaler que la lame est fixée au couvercle du même flacon, cela facilite d'un côté le trempage de cette dernière dans le récipient contenant l'urine et prévient de l'autre côté le risque de contamination lors de la manipulation.

- Certaines lames à immergées contiennent en plus des 2 milieux de culture habituels (CLED et Mac-Conkey) un autre milieu plus sélectif.

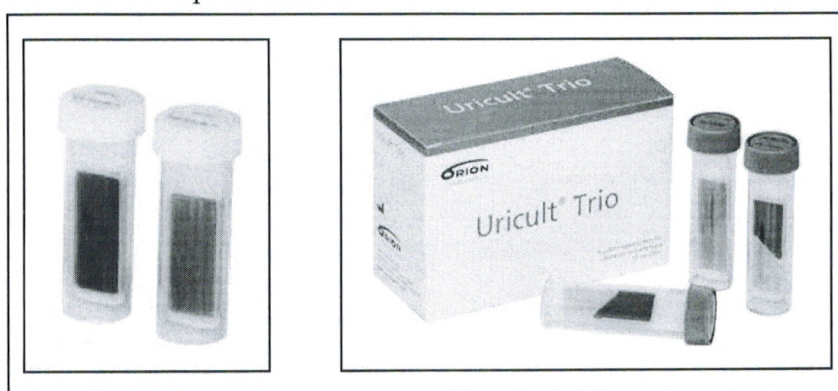


Figure N°12 : Aspect du dispositif DGU.

a-1-2-Milieus de culture :***La gélose CLED (Cystéine Lactose Electrolytes Déficient) [30] :**

Milieu non sélectif contenant en plus de peptone (4g), extrait de viande (3g), hydrolysât trypsine de caséine (4g), agar (15g) et l'eau distillée (qsp 1l) les éléments suivants :

<u>Composant</u>	<u>Teneur</u>	<u>Intérêt</u>
L-cystéine	0,128g	Acide aminé soufré favorisant la croissance des coliformes
Lactose	10g	Source de carbone qui met en évidence l'enzyme « lactase ».
Bleu de bromothymol	0,002g	Indicateur coloré de pH qui donne au milieu sa couleur verte, et met en évidence la fermentation du lactose par virage vers le jaune (acidification du milieu).

-- La déficience en électrolytes (spécialement NaCl) réduit le pouvoir envahisseur de Proteus.

****La gélose Mac-Conkey :**

Milieu sélectif pour les Gram (-), contenant en plus de peptone de caséine (17g), peptone de viande (3g), l'agar (13,5g) et l'eau distillée (qsp 1l) les éléments suivant :

<u>Composant</u>	<u>Teneur</u>	<u>Intérêt</u>
Lactose	10g	Source de carbone pour les germe lactase (+)
NaCl	5g	Milieu en équilibre ionique.
Sels biliaires	1,5g	Sélection des entérobactéries
Violet cristallisé	0,001g	Inhibiteur des germes Gram (+)
Rouge neutre	0,03g	Indicateur coloré du pH révélant la fermentation du lactose en virant du rouge au jaune.

a-1-3- Mode d'utilisation :

- Saisir la lame par l'intermédiaire du couvercle.
- Immerger complètement (les deux faces) dans l'urine.
- Laisser égoutter l'excès.
- Remettre et visser la lame dans le flacon.
- Incuber pendant 18h-24h à 37°C.

a-1-4- Résultat :***Dénombrement :**

Le dénombrement des germes se réalise sur la face CLED en comparant la densité des colonies à l'abaque associée aux dispositifs par le fournisseur.

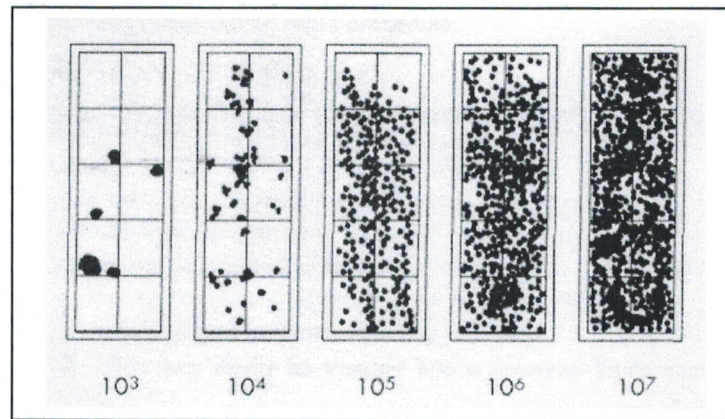


Figure N°13 : Abaque utilisée pour le dénombrement.

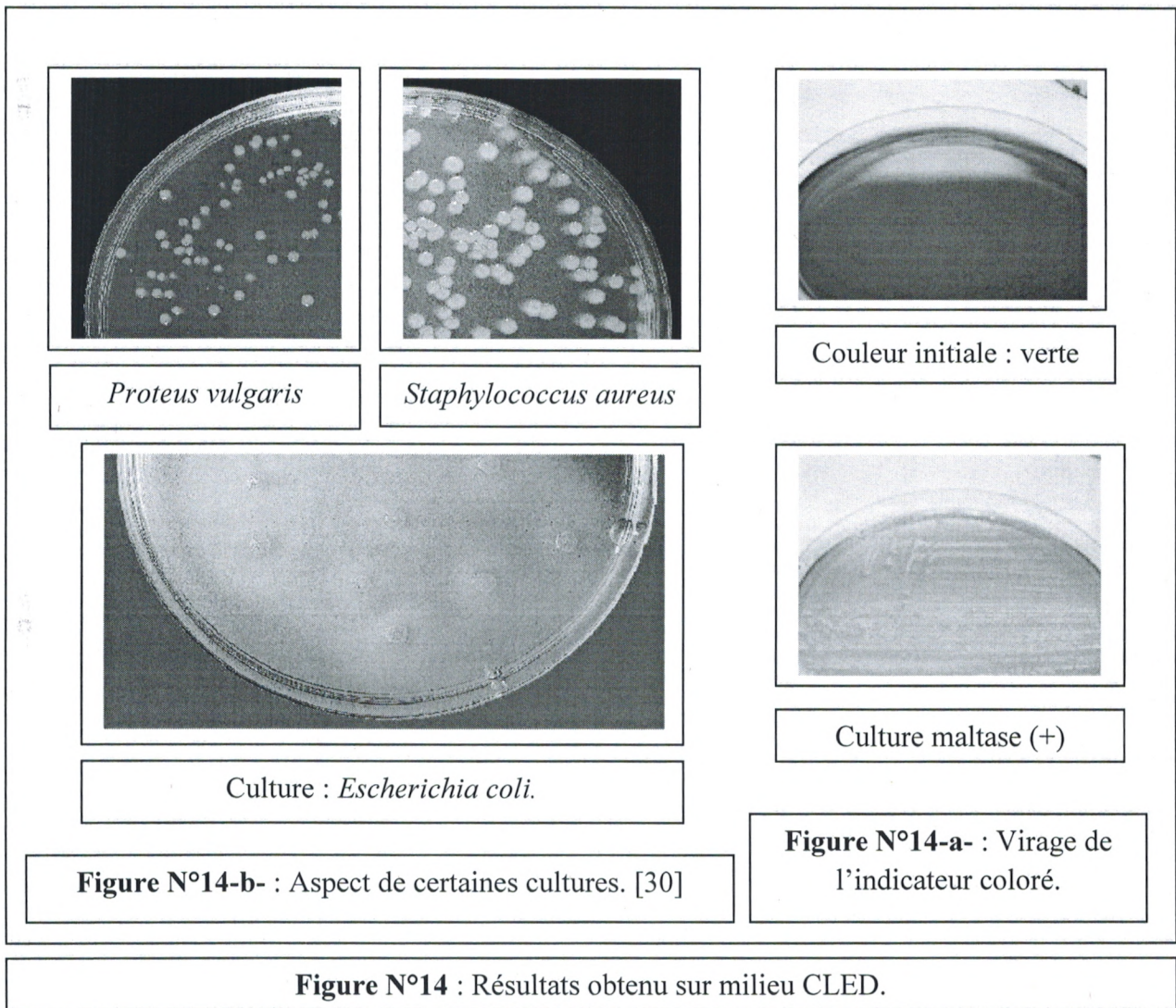
N.B : Les germes qui apparaissent sur la face CLED sont non-exigents.

****Orientation du diagnostic :****Sur la face CLED :**

- Fermentation du lactose:
 - Bactérie lactase (+) → Virage du milieu initialement vert au jaune.
 - Bactérie lactase (-) → Milieu vert (couleur initiale) ou bleu-vert.
- Aspect des colonies :

Tableau N° 08 : Aspect des colonies sur milieu CLED. [30]

<u>Aspect des colonies</u>	<u>Germes suspects</u>
Grandes colonies jaune d'or entourées d'un halo jaune.	<i>Escherichia coli, Citobacter</i>
Colonies à même aspect, mais plus visqueuses.	<i>Enterobacter.spp, Klebsiella.spp.</i>
Grandes colonies transparentes, entourées d'un halo bleu.	<i>Protes.spp, Serratia.spp</i>
Grandes colonies vertes, centre brunâtre entourées d'un halo bleu	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Petites colonies opaques, jaune pale. (sans halo)	Streptocoques
Très petites colonies opaque, jaunes. (sans halo)	Staphylocoques
Colonies grises, de petite taille. (sans halo)	Corynebactéries



Sur la face Mc-Conkey :

- Fermentation du lactose :

-Bactérie lactose (+) → Colonies de couleur rouge brique ou rose entourées d'un halo opaque résultant de la précipitation des sels biliaries.

-Bactérie lactose (-) → Colonies incolores.

Combinaison des résultats :

Tableau N°09 : Orientation sur le type du germe sur le dispositif DGU.

<u>Gram du germe</u>	<u>Gélose CLED</u>	<u>Gélose Mac-Conkey</u>
Bactéries G(+)	Croissance (+)	Croissance (+)
Bactéries G(-)	Croissance (+)	Absence (-)

a-2-Technique de numération en surface :**a-2-1- Principe :**

Cette méthode consiste à réaliser un dénombrement manuel sur une culture bien détachée.

a-2-2- Réalisation :

- Réaliser des dilutions sérielles d'ordre 10 de l'urine en étude.
- Prélever un volume V (0,1ml) de chaque préparation et la déposer sur une gélose CLED.
- Etaler utilisant une pipette pasteur en râteau.
- Incuber pendant 24 heures à 37°C.

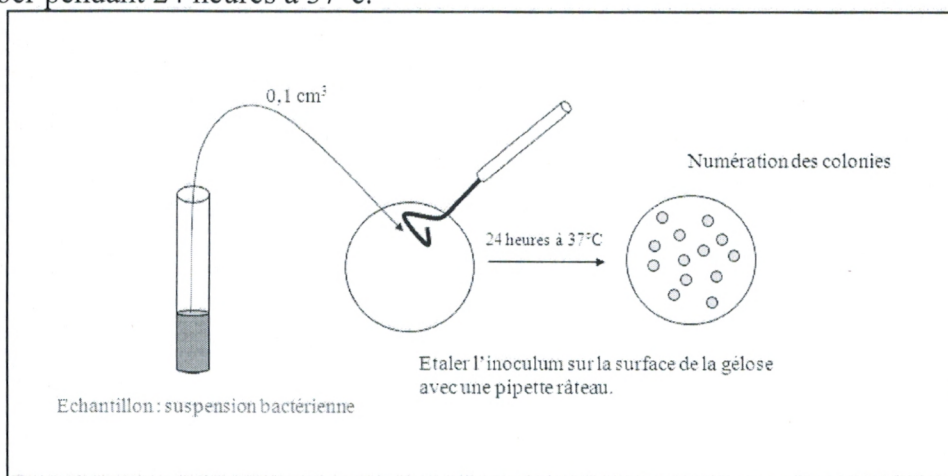


Figure N°15 : Technique d'ensemencement en surface. [33]

a-3-3- Résultat :

- Choisir la culture à colonies les plus espacées (détachées).
- Le dénombrement réalisé sur cette boîte donne : n colonies.
- Le résultat final est donné par la relation : $N = (n \cdot d) / V$ avec d= Facteur de dilution.
- L'unité : Colonie/ml ou UFC/ml ($ml = cm^3$).

a-3- Technique de l'anse calibrée :**a-3-1- Principe :**

La méthode consiste à ensemencer l'urine complète, le plus rapidement possible, sur une gélose BCP utilisant une anse calibrée de 10 ul suivant une technique standardisée. (Voir réalisation).

a-3-2- Milieu BCP :

La gélose BCP (bromocrésol pourpre) est un milieu de culture non spécifique permettant la croissance des bactéries non-exigentes et présentant la capacité de limiter le développement de *Proteus.spp.*

Tableau N°10 : Composition du milieu BCP bio Mérieux.

<u>Constituant</u>	<u>Teneur</u>	<u>Intérêt</u>
Extrait de viande de bœuf	3 g/l	Source d'azote.
bio-polytone	5g/l	
Lactose	10g/l	Source de carbone.
Bromocrésol pourpre	0.025 g/l	Indicateur coloré indiquant la fermentation du lactose.
Agar	10g/l	

N.B: La limitation d'envahissement des cultures par *Proteus.spp* est justifiée par l'absence de NaCl.

a-3-3- Réalisation : (Figure 16)

- Tremper l'anse calibrée verticalement dans l'urine préalablement homogénéisé.
- Décharger l'anse en faisant une strie sur l'un des rayons de la boîte Pétri. (1)
- Sans recharger, ensemercer toute la boîte en stries serrées perpendiculaires à la strie déchargente (celle du départ). (2)
- Incuber pendant 24h à une température de 37°C.

a-3-4- Résultat :

*Orientation pour l'identification des germes :

- *Fermentation du lactose :*

- Bactérie Lactose (+) → Colonies de couleur jaune.
- Bactérie Lactose (-) → Colonies de couleur bleu-violet.

- *Diamètres des colonies :*

- Bacilles Gram (-) → Colonies d'environ 1-2 mm de diamètre.
- Coccis Gram (+) → Colonies d'environ 0.5mm de diamètre.

N.B : D'autres cas peuvent être rencontrés :

- Diamètre inférieur à 0.5 mm → Streptocoques, corynébactéries, et même des levures.
- Diamètre trop petit → Colonies minuscules → Lactobacilles.

**Numération bactérienne : (Figure N°17)

Le dénombrement se réalise en comparant la boîte ensemercée à l'abaque de lecture associé.
Le résultat est donné soit en Bactérie/ml d'urine ou en UFC/ml (Unité Formant Colonie).

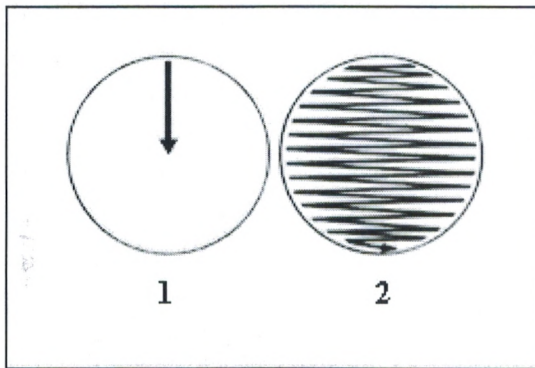


Figure N°16 :
Technique d'ensemencement par
anse calibrée. [28]

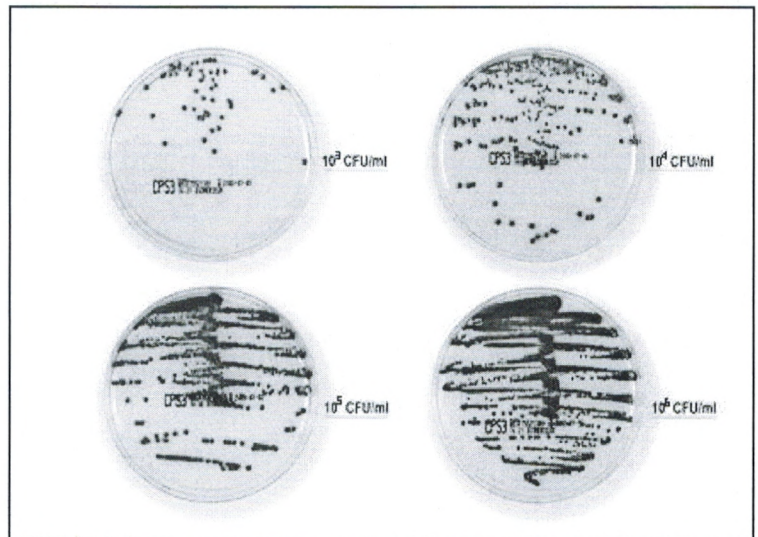


Figure N°17 : Abaque de dénombrement. [28]

b- Ensemencement : (Mise en culture)

IMPORTANT : L'isolement des bactéries sur des milieux de cultures généraux ou différentiels demeure souvent l'étape de base pour le diagnostic des infections bactériennes urinaires ou autres.

Remarque :

Dans le but d'identifier la souche en étude, un enrichissement dans un bouillon nutritif est pratiqué en cas d'une charge bactérienne faible.

b-1-Milieux de culture utilisés :

Les milieux de culture utilisés passent des milieux non spécifiques telle la gélose nutritive, aux milieux spécifiques différentiels selon la nécessité.

Tableau N° 11: Les milieux de culture les plus utilisés pour l'identification des germes.

<u>Milieu de culture</u>	<u>Composant spécifique</u>	<u>Germes qui se développent</u>
<u>Gélose Chapman (rouge)</u>	-NaCl en forte concentration.	Germes G (+) halophiles : -Staphylocoque. -Bacillus...
<u>Gélose Hektoen (verte)</u>	-Thiosulfate de sodium. -Bleu de bromothymol. -Fushine acide.	Salmonelles et shigelles.
<u>Gélose Drigalski</u>	-Desoxycholate de sodium. -Cristal violet.	G (-) non exigeants.

b-2-Techniques utilisées :

- L'ensemencement des boîtes de Pétri par stries séchées est la technique la plus utilisée.
- La technique par inondation peut être envisagée.

b-3-Interprétation des résultats :

En fonction des résultats de l'examen cytologique, du compte de germes et du nombre de colonies différentes obtenues après culture, plusieurs situations sont possibles :

b-3-1-Absence de colonies :

- *Absence de colonies sur les milieux de culture + germes à l'examen cytologique :*

→ Réincuber pendant 24h à 35°C (possibilité de germes à croissance tardive ou infection décapitée par une antibiothérapie récente).

→ Si absence de germes à 48 h, rendre « urine stérile ».

- *Absence de colonies + présence d'assez nombreux, nombreux, très nombreux leucocytes :*

→ Résultat positif → Envisager l'éventualité d'une antibiothérapie préalable. (D'après les renseignements cliniques, penser à *Mycobacterium tuberculosis*).

b-3-2-Une sorte de colonies :

- *1 sorte de colonie, < 10⁴ germes/ml* → Absence de culture bactérienne significative.

→ Infection débutante, ou contamination possible.

- *1 sorte de colonie, > 10⁴ germes/ml* → Culture bactérienne positive.

→ Poursuivre le protocole : identifier et réaliser l'antibiogramme du germe trouvé.

N.B : Selon le germe en cause ou le contexte clinique, le taux significatif de la charge bactérienne peut se différer, c'est notamment le cas des :

-Entérocoques → réaliser l'antibiogramme si on dénombre plus de 10⁵ germes/ml.

-Sujets paraplégiques porteurs d'une sonde à demeure, réaliser l'antibiogramme si 10⁷ germes/ml.

b-3-3-Deux sortes de colonies :

- *2 sortes de colonies, < 10⁵ germes/ml* → Absence de culture bactérienne significative.

- *2 sortes de colonies, > 10⁵ germes/ml* → Poursuivre le protocole avec 2 cas à envisager :

--Si l'une des colonies est majoritaire, l'autre germe constitue une contamination du prélèvement, donc, il faut identifier et réaliser l'antibiogramme du germe responsable des colonies majoritaires.

--S'il y a une équivalence, on identifie les 2 sortes et on réalise l'antibiogramme de chaque germe.

b-3-4-Plus de 2 sortes de colonies :

- < 10⁴ germes/ml → Urine contaminée, refaire le prélèvement.

- > 10⁵ germes/ml avec présence de leucocytes et absence de cellules épithéliales.

→ Réaliser l'identification et l'antibiogramme des deux colonies majoritaires.

IMPORTANT : La combinaison entre la cytologie (leucocyturie) et les résultats bactériologiques (bactériurie, type de colonies) oriente le diagnostic (type d'atteinte) et détermine la nécessité ou non de la poursuite de l'ECBU (Identification et antibiogramme).

Tableau N°12 : Résultat final de l'étude microscopique du prélèvement urinaire.

Critères à apprécier			Interprétation	Conduite à tenir
Leucocyturie	Bactériurie	Type de colonie		
-	-	0	Stérile : ECBU (-)	Aucune
+	-	0	-Prise d'antibiotique. -Bactérie exigeante (BK) -Leucocytes génitaux	A refaire avec des techniques plus adaptées
-	+	1	-Infection débutante. -Infection aseptique. -Contamination.	- A refaire. - A contrôler
+	+	1	Infection typique.	Poursuivre.
-	-	> 1	Contamination.	Aucune
+	-	≥2	Infection sur sonde ???	A contrôler.
-	+	≥2	Contamination.	Aucune.
+	+	≥2	Infection polymicrobienne	A refaire.

N.B : Cas particuliers :

**en obstétrique et chez l'enfant de moins de 6 mois, signaler la présence de *Streptococcus agalactiae* même si l'urine est contaminée.

**en gériatrie si numération > 10⁷ germes/ml et culture poly-microbienne :

→ Si premier prélèvement, rendre « urine contaminée »

→ Si prélèvement de contrôle, faire l'identification et l'antibiogramme sur la colonie majoritaire (si équivalence, identifier les 2 sortes + antibiogrammes).

c- Identification :

c-1-Coloration de Gram :

c-1-1- Intérêt :

Cette technique de coloration permet la distinction entre les bactéries G+ et les bactéries G-, cela facilite l'identification d'un côté et le choix du milieu de culture de l'autre côté. Cette coloration se réalise sur un frotti.

c-2-2- Méthode :***Préparation du frotti:**

- Déposer une goutte d'eau stérilisée sur une lame (si le milieu de culture est solide) utilisant une pipette Pasteur.
- Isoler une ou plusieurs colonies à partir d'une culture déjà préparée en utilisant une anse de platine déjà stérilisée par chauffage et refroidie rapidement.
- Etaler le prélèvement sur la lame.
- Laisser sécher à l'air libre.
- Fixer par passage rapide sur la flamme du bec benzène.

****Coloration:**

- Verser le violet de Gentiane - le cristal violet- sur la lame (1mn).
- Rincer avec de l'eau distillée.
- Verser le lugol -iodo ioduré- (permet la fixation du colorant) (1mn).
- Rincer avec de l'eau distillée.
- Verser de l'alcool et laisser pendant 30s.
- Verser la fuchsine -safranine- (30s).
- Rincer avec de l'eau distillée.
- Couvrir avec une lamelle.

c-2-3- Résultat :

Sous microscope à grossissement (X100), et en mettant l'huile d'immersion entre la lentille de l'objectif et la préparation (dont le but est d'améliorer la netteté), l'observation permet en plus de la distinction entre les G+ (coloration violette) et les G- (coloration rose), la détermination de la forme (bacilles, coques,..) et l'arrangement des bactéries (chaîne, grappe...).

→Remarque :

Etant consommatrice du temps, la coloration de Gram n'est pas actuellement réalisée de façon systématique. Cependant, sous demande de clinicien, il est important qu'elle soit effectuée. [14]

c-2-Galerie biochimique :**c-2-1-But :**

La réalisation de la galerie biochimique permet l'identification des bactéries en étudiant leurs matériels enzymatiques (mise en évidence d'un substrat dégradé ou d'un métabolite formé).

A l'exception de la recherche du type respiratoire, de la catalase et de l'oxydase qui sont des paramètres d'orientation, les autres caractéristiques biochimiques sont le plus souvent recherchées utilisant le système API ou les micro-galeries.

1- Type respiratoire :

1-1- Principe :

L'ensemencement d'un milieu de culture type Viande-Foie (VF) en tube (culot et pente) permet de déterminer le type respiratoire de la bactérie en étude grâce au virage de la coloration initialement rouge au jaune en raison de la fermentation du glucose que contient le milieu comme source d'énergie.

Il est à signaler que le milieu utilisé pour l'ensemencement doit être dépourvu de nitrate. Ce dernier quand il est présent, en subissant une réduction, permet le développement en anaérobiose de certaines bactéries aérobies comme *Pseudomonas aeruginosa*.

1-2- Réalisation : La recherche du type respiratoire se réalise comme suit :

- En s'aidant d'une pipette Pasteur, prendre une colonie bien distincte à partir d'une culture pure ou une goutte d'une suspension bactérienne préalablement préparée.
- Ensemencer le tube (VF) en pique centrale puis en stries sérés (culot et pente).
- Incuber à 37°C pendant 18 à 24h.

1-3- Lecture et interprétation : La détermination du type respiratoire se fait en appréciant l'étendue de la croissance bactérienne sur la culture.

Tableau N°13 : Détermination du type respiratoire.

<u>Croissance</u>	<u>Type respiratoire de la bactérie.</u>
Uniquement dans la zone superficielle (pente)	Bactérie aérobie stricte.
Uniquement dans la zone profonde du tube.	Bactérie anaérobie stricte.
Sur toute la gélose.	Bactérie aéro-anaérobie facultative.
En anneau ou en cylindre.	Bactérie micro-aérophile

2- Recherche de la catalase :

2-1- Principe :

La catalase est une enzyme qui permet la réduction de l'eau oxygénée (H₂O₂) en eau et oxygène. De ce fait, la mise en évidence de cette enzyme se réalisera en mettant en contact une colonie de la bactérie en étude avec de l'eau oxygénée.

Ce test est fortement préconiser en cas où la coloration de Gram révèle des cocci G(+).

2-2- Technique :

- Sur une lame en verre, déposer une goutte de l'eau oxygénée.
- Utilisant une pipette Pasteur, prélever une colonie pure et dissocier dans H₂O₂.

2-3- Lecture et interprétation :

Le résultat sera noté immédiatement après la mise en contact entre l'eau oxygénée et la colonie.

Tableau N°14 : Détermination de la présence de la catalase.

<u>Observation</u>	<u>Explication</u>	<u>Catalase</u>
Effervescence	Dégagement d'O ₂	Présence
R.A.S	Pas de réaction	Absence

→Remarque :

- En cas de catalase (-), il faut penser au *Staphylococcus aureus*.
- Du fait que le sang possède une activité catalytique, il est conseillé de ne pas prélever la colonie à partir d'une culture réalisée sur gélose au sang pour éviter les réactions faussement positives.

3- Recherche de l'oxydase :**3-1- Principe :**

Ce test met en évidence une enzyme cytochrome-oxydase capable d'oxyder un cytochrome C réduit. Donc, pour détecter cette enzyme, des réducteurs ayant le même potentiel oxydo-réducteur du cytochrome C sont utilisés. Ce test est fortement préconiser en cas où la coloration de Gram révèle des bacilles G(-).

3-2- Technique :

- Dans un tube à essai, mettre 1 ml d'eau physiologique.
- A l'aide d'une pipette Pasteur, faire dissoudre une colonie.
- Déposer le disque (OX) imprégné de réactif. (fourni par le fabricant).

→Remarque :

Le disque peut être remplacé par du papier filtre imbibé de 1 à 2 gouttes de réactif liquide préalablement préparé (Ex :N-diméthyle paraphénylène diamine dissout dans 1ml d'eau distillée).

Dans ce cas, le test sera réalisé sur une lame en verre, et la colonie sera déposée directement sur le fragment de papier filtre imbibé.

3-4- Lecture et interprétation :

Le test sera positif s'il y aura apparition d'une teinte rose violacé après 10minutes en maximum utilisant les disques (OX) et entre 20 à 60 secondes utilisant le réactif liquide.

c-2-2-Macro-galerie : (Galerie minimale en tubes)

Généralement, pour identifier sommairement les bactéries responsables des infections urinaires, et en plus des 3 tests mentionnés au début, l'utilisation de 3 autres tests (3 tubes) suffit :

- Tube d'urée-indole.
- Tube mannitol-mobilité.
- Tube Kligler.

1- Tube d'urée-indole :**1-1- Milieu de culture :**

C'est un milieu liquide jaune orangé, contenant l'urée, le tryptophane (acide aminé) et le rouge phénol comme indicateur coloré. Il permet de révéler 3 caractères qui sont :

- La présence de l'uréase (enzyme dégradant l'urée).
- La formation de l'indole.
- La présence du tryptophane désaminase (TDA).

1-2- Technique :

- Ensemencer 2 tubes d'urée-indole contenant chacun 2 ml du milieu par une colonie pure.
- Incuber à 37°C pendant 24 heures.
- Diviser l'un des tubes en 2 : 1 pour l'indole et l'autre pour la TDA.

1-3- Lecture et interprétation :

La visualisation des résultats nécessite l'ajout de certains réactifs.

Tableau N°15 : Réactifs additionnés pour la mise en évidence des réactions.

<u>Caractère</u>	<u>Réactif additionné</u>	<u>Résultat positif</u>
Uréase	2 gouttes VPI+ 2 gouttes VP II, attendre 10 minutes.	Virage de la coloration du jaune orangé au rose violacé.
Indole	2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs. Lire immédiatement.	Formation d'un anneau caractéristique rouge en surface.
TDA	2 à 3 gouttes du réactif TDA (perchlorure de fer). Lire immédiatement.	Virage de la coloration du jaune au brun plus ou moins foncé.

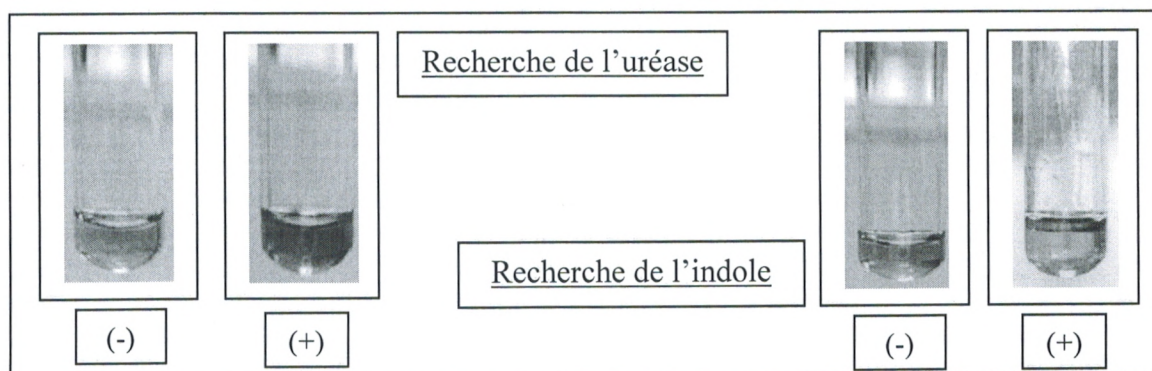


Figure 10 : Résultats obtenus lors de la recherche de l'uréase et de l'indole. [25]

2- Tube mannitol-mobilité :**2-1- Milieu de culture :**

C'est un milieu rouge en culot, contenant le mannitol comme source de carbone et le rouge phénol comme indicateur de pH ainsi que les nitrates de potassium. Il permet de révéler :

- L'assimilation du mannitol : par observation de la coloration du milieu.
- La mobilité : par observation de la manière de poussée des colonies.

2-2- Technique :

- Ensemencer par piqure centrale jusqu'au fond du tube utilisant une pipette Pasteur.
- Incuber à 37°C pendant 24h.

2-3- Lecture et interprétation :

La lecture se fait directement (Sans ajout de réactif).

Tableau N°16: Résultat obtenus sur tube Mannitol-Mobilité.

<u>Caractère</u>	<u>Résultat (-)</u>	<u>Résultat (+)</u>
Fermentation du mannitol	Culot reste rouge.	Culot vire au jaune.
Mobilité	Colonies le long de la piqure.	Colonies envahissant le tube.

3- Tube Kligler :**3-1- Milieu de culture :**

C'est un milieu de culture solide en tube (culot et pente), contenant le glucose et le lactose comme sources de carbone, le rouge phénol comme indicateur coloré et un système révélateur de production d'H₂S. Il permet la révélation des caractères suivant : la fermentation du glucose, la fermentation du lactose, la libération de gaz et la production d'H₂S.

3-2- Technique :

- Ensemencer le culot (piqure centrale) et la pente (stries serrées) par une colonie pure.
- Incuber à 37°C pendant 24h.

3-3- Lecture et interprétation :

Tableau N°17 : Résultat obtenus sur tube Kligler.

<u>Caractère</u>	<u>Résultat négatif</u>	<u>Résultat positif</u>
Fermentation du glucose.	Culot reste rouge.	Colot vire au jaune.
Fermentation du lactose.	Rente reste rouge.	Pente vire au jaune.
Libération de gaz	R.A.S	Bulles d'air, élévation du milieu.
Production d'H₂S	R.A.S	Noircissement entre le culot et la pente.

c-2-3- Plaques API :**1- Description :**

La galerie API est une version miniaturisée des tests biochimiques classiques destinés à l'identification des bactéries. L'exemple type est celui des entérobactéries qui sont identifiées par des plaques API 20 E.

A l'exception de la recherche du type respiratoire, le test de la catalase et de l'oxydase, les plaques API confèrent une meilleure identification des germes en étude.

Prenons l'exemple des plaques API 20E destinées à l'identification des entérobactéries qui compte 20 micro-tubes contenant des substrats sous forme déshydratée qui seront par la suite inoculés avec une suspension bactérienne reconstituant les milieux.

Tableau N°18 : Caractères biochimiques réalisés sur la plaque API 20E.

<u>Test</u>	<u>Caractère recherché</u>	<u>Substrat dégradé</u>
ONPG	Beta- galactosidase	Ortho-nitrophenyl galactoside
ADH	Arginine déshydrolase	L-Arginine
LDC	Lysine décarboxylase	L-Lysine
ODC	Ornithine décarboxylase	L-Ornithine
CIT	Assimilation du citrate	Citrate trisodique
H₂S	Thiosulfate réductase	Thiosulfate de sodium
URE	Uréase	Urée
TDA	Tryptophane désaminase	L-Tryptophane
IND	Production d'indole	L-Tryptophane
VP	Production d'acétoïne	Pyruvate de sodium
GEL	Gélatinase	Gélatine de bœuf
GLU	Assimilation du glucose	D-Glucose
MAN	Assimilation du mannitol	D-Mannitol
INO	Assimilation d'inositol	Inositol
SOR	Assimilation du sorbitol	D-Sorbitol
RHA	Assimilation du rhamnose	L-Rhamnose
SAC	Saccharose	D-Saccharose
MEL	Mélibiose	D-Melibiose
AMY	Amygdaline	Amygdaline
ARA	Arabinose	L-Arabinose

2- Méthode :**2-1- Préparation de la plaque :**

- Réunir fond et couvercle de la boîte d'incubation et répartir de l'eau dans les alvéoles.
- Eliminer l'excès d'eau distillée.
- Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

→ But : Créer une atmosphère humide dans le dispositif.

2-2- Préparation de la suspension bactérienne (inoculum):

- A partir d'une culture pure du germe en étude, réaliser une suspension bactérienne en suivant les recommandations associées au dispositif (densité de la suspension, liquide de dilution utilisé...).
- Homogénéiser utilisant un vortex.

→ Remarque : La suspension doit être utilisée dans les 15 minutes qui suivent la préparation.

2-1- Inoculation et incubation:

- Déposer dans chaque puits 150ul de la suspension bactérienne préparée → Tube rempli.
- Dans les cupules encadrées (CIT, VP, GEL), ajouter à nouveau 150ul de la suspension bactérienne. → Tube et cupule sont remplis.
- Créer une anaérobiose dans les tubes soulignés (ADH, LDH, ODC, URE et H₂S) en remplissant les cupules par de l'huile minérale.
- Refermer la boîte d'incubation et placer dans l'étuve à 35-37°C pendant 18 à 24h.

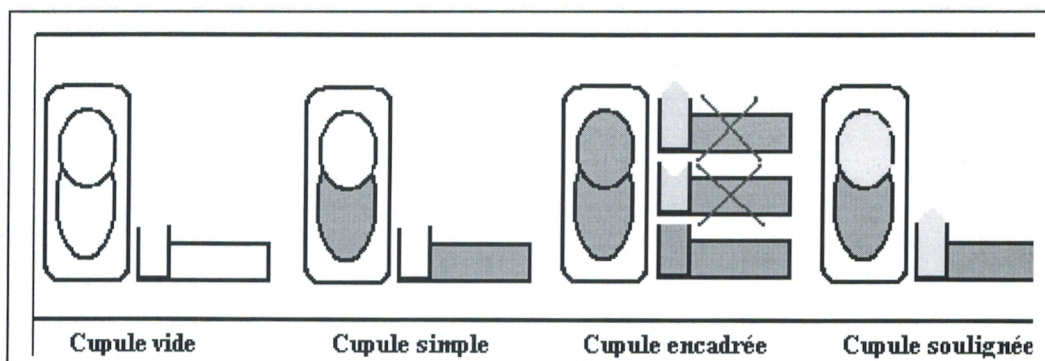


Figure N°11 : Mode de remplissage des cupules (Plaques API). [33]

2-4- Lecture :

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture.

Tableau N°18 : Résultats obtenus sur la plaque API 20E. [46]

Test	Résultat négatif	Résultat positif	Remarque
ONPG	Incolore	Jaune	Teinte jaune pale → Résultat(-)
ADH	Jaune	Rouge / Orangé	
LDC	Jaune	Rouge	
ODC	Jaune	Rouge / Orangé	
CIT	Vert pale / Jaune	Bleu vert /vert	Lire en anaérobie (haut de cupule)
H2S	Incolore ou grisâtre	Dépôt noirâtre et fin liseré	
URE	Jaune	Rouge orangé	
TDA	Jaune	Marron foncé	1 goutte de James / Immédiat.
IND	Jaune	Anneau rouge	1 goutte de Kovac. Attendre 2min.
VP	Incolore	Rose /Rouge	VP1+VP2. Attendre 10min.
GEL	Non diffusion	Diffusion du pigment noir	
GLU	Bleu /Bleu vert	Jaune	La fermentation des sucres commence par la partie la plus anaérobie des cupules (la partie la plus basse). Donc la lecture doit être réalisée du bas en haut. Une coloration jaune au fond indique un résultat positif.
MAN	Bleu /Bleu vert	Jaune	
INO	Bleu /Bleu vert	Jaune	
SOR	Bleu /Bleu vert	Jaune	
RHA	Bleu /Bleu vert	Jaune	
SAC	Bleu /Bleu vert	Jaune	
MEL	Bleu /Bleu vert	Jaune	
AMY	Bleu /Bleu vert	Jaune	
ARA	Bleu /Bleu vert	Jaune	

2-5- Identification :

L'identification est réalisée comme suit :

- **Utilisant le tableau d'identification :**

Toute réaction positive est représentée par un carré noir alors que les réactions négatives sont représentées par carrés non colorés. Chaque germe est caractérisé par sa propre ligne qui permet son identification.

- **Utilisant le catalogue analytique :**

Les tests sont regroupés en groupes de 3, une valeur de 1,2 ou 4 est indiquée pour chacun. Au sein du même groupe, additionner les nombres correspondant aux tests positifs. En fin, on obtient un nombre de 7 chiffres qui sert de code pour l'identification.

- **Utilisant un logiciel d'identification :**

C'est une méthode automatisée informatisée qui confère une grande performance à la technique.

c-2-4-Galerie sur microplaques :**1- Description :**

La galerie biochimique sur microplaques (96 puits) est une galerie miniaturisée où les milieux de culture sont déposés dans les puits de la microplaque. Cette méthode permet d'étudier plusieurs germes dans la même plaque, cela facilite la comparaison entre les résultats obtenus.

2- Méthode :

- Introduire les milieux de culture sélectionnés (liquides) à l'aide d'une micropipette, une pipette graduée stérile (1ml), ou une pipette Pasteur.
- La série de milieux peut être répétée permettant l'étude de plusieurs germes à la fois.
- Ensemencer chaque série de cupule avec le même germe utilisant une micropipette ou une pipette Pasteur. → Incuber pendant 24 heures à 37°C.
- Le virage de la couleur est un signe de la positivité de la réaction.
- Identifier le germe par la méthode de l'élimination successive.
- Se référer au livre d'API 20 E pour déterminer le germe.

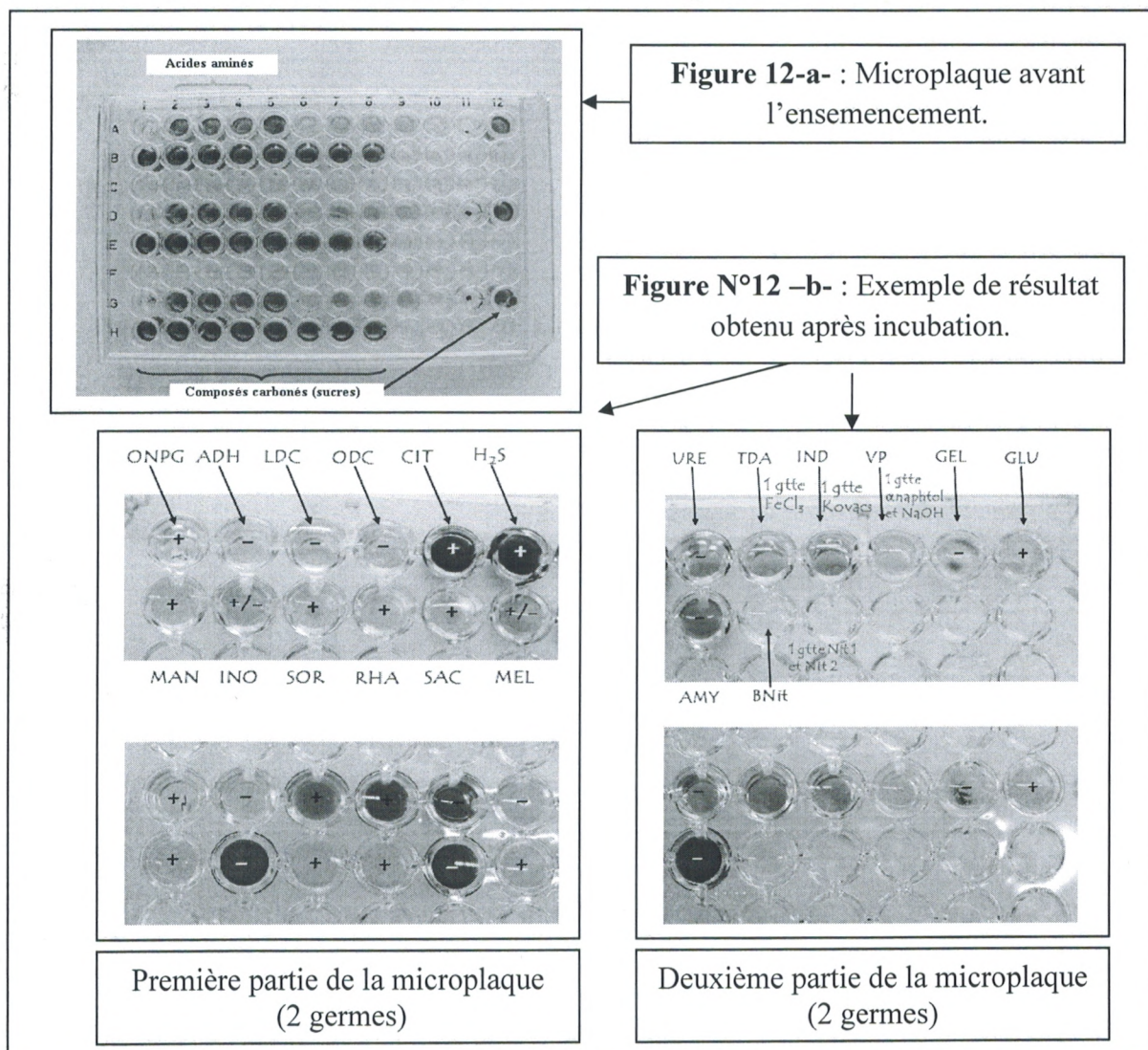


Figure N°12 : Galerie biochimique sur microplaque. [33]

3-3-4- Antibiogramme :**a- But :**

L'antibiogramme est un test prédictif qui permet de déterminer la capacité d'un ou de plusieurs antibiotiques à inhiber la croissance bactérienne in vivo.

b- Méthode par diffusion : (Méthode de Kirby-Bauer) :**b-1-Principe :**

Elle consiste à mesurer le diamètre de la zone d'inhibition de la croissance bactérienne vis-à-vis d'un panel d'antibiotiques déposés en disques imprégnés sur un milieu gélosé préalablement ensemencer par la souche en étude.

b-2-Matériels et réactifs :

-Milieu de culture : choisi en fonction du germe (suivant le genre).

Tableau N°19: Choix des milieux de culture pour antibiogramme.

<u>Milieu</u>	<u>Germe</u>
Muller –Hinton	- Entérobactéries. - Pseudomonas.spp. - Staphylocoques.
Muller-Hinton additionné de 5% de sang de mouton.	-Streptocoques.
Gélose chocolat additionné d'isovitalex	- Haemophilus.spp. - Neisseria.spp.

-Antibiotique : Disques en papier imprégnés d'antibiotiques.

-Ecouillons stériles ou pipettes.

b-3-Technique :**b-3-1-Préparation de l'inoculum :**

-A partir d'une culture pure de la souche en étude, prélever à l'aide d'une anse une colonie bien isolée, bien distincte.

-Emulsionner la colonie prise dans un tube à essai contenant de l'eau physiologique. (10ml le plus souvent.)

-Ajustement de la densité de l'inoculum à 10^5 UFC (0,5 sur l'échelle de Mac Farland) soit en ajoutant de l'eau physiologique soit un fragment d'une colonie.

→Remarque :

L'ajustement de la densité turbidité est une étape fortement recommandée dans le but de standardiser la méthode.

b-3-2-Ensemencement des boîtes de Pétri :

Il existe deux (2) techniques d'ensemencement :

***Ensemencement par inondation (méthode recommandée) :**

- Verser l'inoculum sur la boîte de Pétri.
- Eliminer l'excès en le jetant ou en l'aspirant par une pipette.
- Laisser sécher la boîte quelques minutes à la température ambiante, couvercle fermé.

****Ensemencement par écouvillonnage :**

- Tremper un écouvillon stérile sec dans l'inoculum.
- Eliminer l'excès en pressant l'écouvillon.
- Ensemencer en stries sur toute la surface de la boîte à 3 reprises.
- Enfin, passer l'écouvillon sur les bords de la gélose.
- Laisser sécher la boîte quelques minutes à la température ambiante, couvercle fermé.

b-3-3-Déposition des disques :

- A l'aide d'un dispositif distributeur de disques contenant une gamme d'antibiotiques dont le nom et la dose sont inscrits, faire une application.
- En cas d'absence de dispositif, utiliser une paire de pince stérile pour déposer chaque disque à part en respectant un minimum de distance (6 à 8 disques pour une boîte ronde, 16 pour la carrée).
- Appuyer légèrement sur chaque disque pour assurer un contact uniforme avec le milieu de culture.
- La température et la durée d'incubation varient en fonction du germe en étude mais le plus souvent, on incube à 37°C pendant 18 à 24 heures.

b-3-4- Lecture :

- Mesurer le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque.
- Comparer les valeurs trouvées à l'abaque fourni par le fabricant des disques.

Les tableaux associés définissent 3 zones délimitées par les concentrations qui déterminent les taux thérapeutiques: Concentration critique inférieure (C) et la concentration critique supérieure (c):

--**Zone de sensibilité (S):** la CMI d'ATB pour le germe en étude est plus faible que CCI (c).

--**Zone de sensibilité intermédiaire (I):** la CMI se situe entre les deux concentrations critiques.

--**Zone de résistance (R) :** la CMI de l'ATB est plus élevée que la CCS (C).

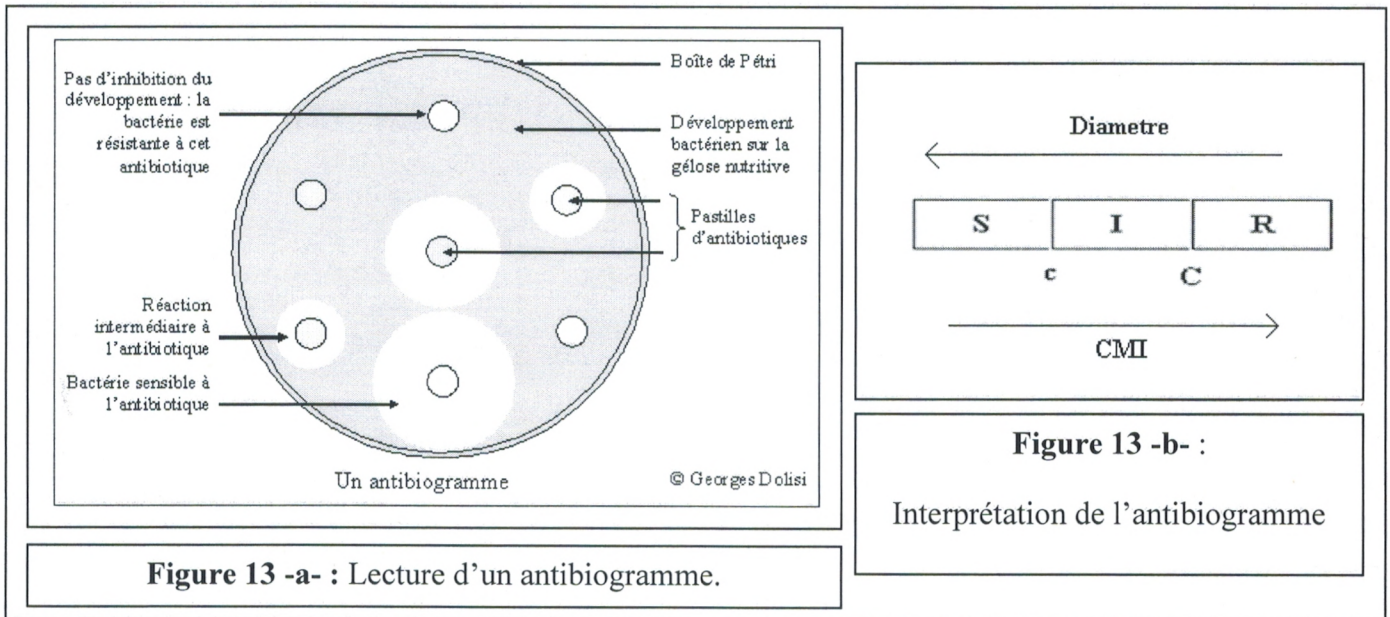


Figure 13 -a- : Lecture d'un antibiogramme.

Figure 13 -b- :

Interprétation de l'antibiogramme

Figure 13 : Lecture et interprétation d'un antibiogramme.

→ **Remarque :** Les classes (S), (I) et (R) sont prédictives du succès ou de l'échec thérapeutique.

b-3-5- Interprétation :

Trois situations possibles sont à envisager :

--**Germe résistant :** il ne sera pas atteint quelque soit la dose administrée ou la voie utilisée : La molécule est inefficace, elle est donc rejetée.

-L'ATB utilisé est inefficace sur le germe en étude naturellement ou par acquisition. Dans ce cas il y aura une croissance du germe même sur les disques déposés sur la gélose. (Diamètre nul).

-La CCM est très élevée par rapport à la CCS : la dose qui doit être administrée comme traitement est trop élevée, présentant une toxicité.

--**Germe sensible :** l'ATB utilisé est capable d'inhiber la croissance bactérienne efficacement. Il constituera donc un bon traitement par voie per os, et sans risque de toxicité.

--**Sensibilité intermédiaire :** le germe serait atteint par cet ATB soit en administrant une posologie élevée par voie générale, soit par voie locale, soit dans un compartiment où l'ATB se trouve physiologiquement concentré (ex : tissu adipeux, sang,...).

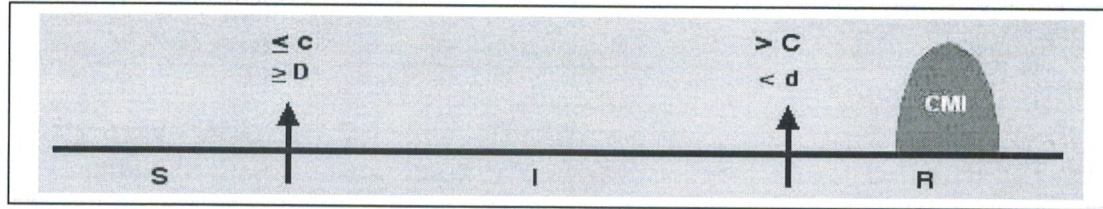


Figure N°14 - a- : CMI d'un germe résistant.

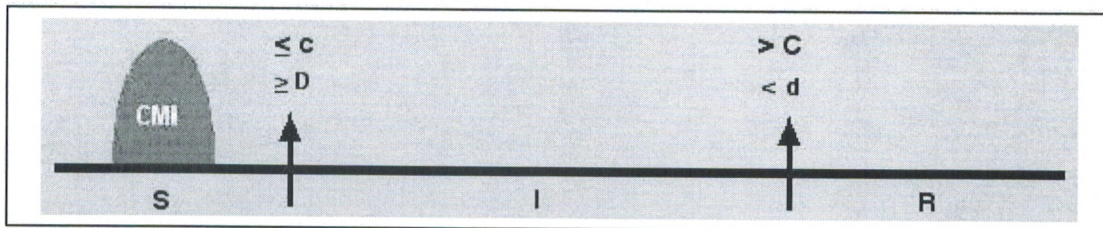


Figure N°14 - b- : CMI d'un germe sensible.

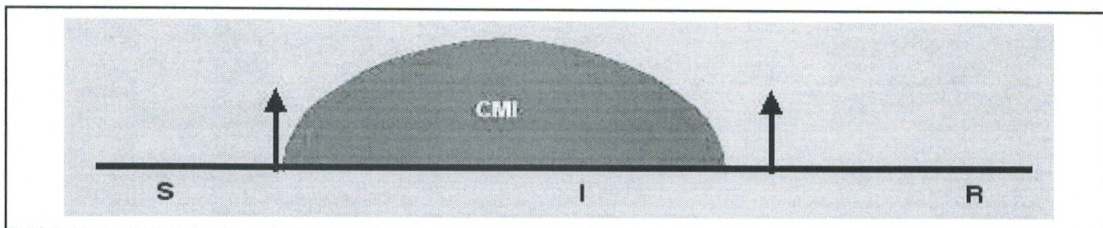


Figure N°14 -c- : CMI d'un germe à sensibilité intermédiaire.

Figure N°14 : Interprétation des CMI lors de la réalisation d'un antibiogramme. [24]

→Remarque :

- Une souche sensible ≠ Une espèce sensible.

Selon le spectre d'inhibition des antibiotiques, et selon la pharmacodynamie, les bactéries sont réparties en 3 classes :

-*Espèce habituellement sensible* : plus de 90% des souches sont sensibles.

-*Espèce modérément sensible* : plus de 90% des souches se situent dans la zone intermédiaire.

-*Espèce résistante* : au moins 50% des souches sont résistantes.

c- Sources d'erreur : [23]**c-1- L'inoculum :**

- Causes liées à l'Inoculum lui-même :
 - Non standardisation : une densité élevée donne de fausses résistances.
 - Présence de contaminant : la présence de 2 germes dont l'un est résistant.
- Causes liées à l'ensemencement :
 - Ensemencement par inondation irrégulière.
 - Ensemencement tardif : induisant une mort bactérienne.

c-2- Les disques d'antibiotiques :

- Date de péremption dépassée.
- Conditions de conservation non respectées : température et humidité.
- Mauvaise stabilité des disques : défaut de fabrication.
- Application non-uniformisée des disques sur la gélose.

c-3- Le milieu de culture :

- Lot défectueux, conditions de conservation non respectées (dessiccation).
- Présentation non standardisée : épaisseur insuffisante du milieu, surface non horizontale.
- Concentration inadéquate en NaCl et en cations divalents (Mg^{2+} , Ca^{2+}).
- Utilisation d'un milieu de culture inapproprié.
- Teneur élevée en thymidine.

c-4- Les conditions d'incubations :

- Durée d'incubation trop courte ou trop élevée.
- Température basse : ouverture fréquente des étuves.
- Dermes nécessitant une atmosphère particulière (CO_2 , O_2).

c-5- La lecture et l'interprétation :

- Lecture prématurée.
- Erreur de mesure ou l'interprétation.

c-6- Le contrôle de qualité :

- Absence de contrôle de qualité.
- Conservation défectueuse des souches de référence.

→ Remarque :

La méthode par dilution peut être aussi utilisée, mais elle est plus longue à mettre en évidence, consomme plus de réactif et nécessite plus d'espace du fait qu'elle est réalisée en tube.

3-3-5- Examen complémentaire : Hémoculture**a- But :**

La réalisation de l'hémoculture a pour but la recherche, voire confirmation de la présence de septicémie lors de :

- La suspicion d'une infection urinaire descendante.
- La suspicion d'une complication de l'infection urinaire ascendante.

b- Méthode :**b-1- Prélèvement :**

La ponction veineuse est la seule méthode fiable pour prélever du sang destiné à l'hémoculture.

- La peau doit être désinfectée par de l'alcool 70° et d'un dérivé iodé (2 minutes de contact pour avoir un maximum d'activité antiseptique) dans le but d'éviter la contamination par des germes saprophytes de la peau.
- Le prélèvement doit être réalisé dans des conditions maximales d'asepsie pour éviter la contamination du prélèvement et le risque.
- Le volume minimal recommandé chez l'adulte est de 10ml du fait de la faible densité bactérienne que présente le sang, celle de l'enfant est plus importante, un volume de 1 à 2 ml est largement suffisant.
- La réalisation de plusieurs prélèvements à un intervalle de temps d'au moins 30 minutes est recommandé afin de détecter les épisodes de bactériémie.

b-2- Ensemencement :

- Inoculer 2 flacons : un en aérobie et l'autre en anaérobie. Tout flacon présentant une turbidité avant l'ensemencement doit être éliminé.
- Le milieu de culture est un bouillon (liquide) qui permet de diluer le sang (en préférence au 1/10) afin de réduire l'activité antibactérienne du sérum (phagocytes, Anticorps, complément, lysozymes...) et les antibiotiques en cas de thérapie.
- L'anticoagulant de choix dans les bouillons de culture est le poly-anéthol sulfonate de sodium (SPS) à une concentration de 0,025 à 0,05% car il inhibe l'activité antibactérienne du sérum et la famille des aminosides.
- En cas de suspicion de *Neisseria.spp*, l'addition de gélatine à 1,2% est nécessaire car le SPS inhibe la croissance de certaines de ses souches.
- L'incubation à 35-37°c pendant 7 jours est suffisante en routine, la durée varie selon le germe suspect (jusqu'à 21 jours).
- L'inspection régulière des flacons est obligatoire, 2 fois par jours dans les 3 premiers jours, puis une fois par jours pour le reste. (détecter une croissance visible).

c- Résultats et interprétation :**c-1- Examen macroscopique des flacons :**

Les cultures stériles présentent un sédiment rouge formé de sang en dessous duquel le bouillon de culture forme un surnageant jaune transparent.

Tout milieu (flacon) qui présente l'un des signes suivants est considéré comme (positif) :

- Présence d'un dépôt en dessus de la couche du sang.
- Présence d'une turbidité uniforme ou partielle.
- Hémolyse.
- Coagulation du bouillon.
- Développement d'une surface pelliculeuse.
- Production de gaz.
- Développement de granulations blanchâtres.

Tableau N°20 : Orientation présomptive de la bactérie responsable en fonction de l'aspect des flacons. [26]

<u>Signe observé</u>	<u>Bactérie en cause</u>
<u>Turbidité</u>	Bacilles Gram (+) aérobies, Staphylocoques.
<u>Hémolyse</u>	Streptocoques, Staphylocoques, Clostridium.spp.
<u>Production de gaz</u>	Bacilles Gram (-) aérobies anaérobies.
<u>Coagulum</u>	Staphylococcus aureus.

c-2- Conduite à tenir vis-à-vis une culture positive :

La culture est considérée comme prélèvement, elle subira les mêmes étapes que l'urine :

- Réalisation d'une coloration de Gram.
- Repiquage sur milieu gélosé spécifique.
- Réalisation d'un antibiogramme.

→ **Remarque :** Concernant l'antibiogramme :

- En cas d'urgence, un antibiogramme non standardisé peut être directement réalisé à partir d'un flacon jugé positif utilisant le bouillon comme inoculum.
- Cet antibiogramme réalisé sur Muller- Hinton par écouvillonnage permet une lecture provisoire précoce après 6 à 8 heures d'incubation seulement.
- Le résultat présente un accord de 95% avec l'antibiogramme standardisé. (OMS)

3-4- Interprétation des résultats :

Pour pouvoir interpréter un ECBU, toutes les données dérivant des tests et examens réalisés précédemment doivent être collectées et corrélées entre elles dans le but de détecter les anomalies qui peuvent exister (contamination, personnels...).

Dans certaines situations, le résultat d'un UCBU pourrait être jugé comme non interprétable, de ce fait, pour pouvoir confirmer le résultat ou l'erreur, une nouvelle analyse serait pratiquée sur un nouveau prélèvement répondant bien sûr aux normes.

Parmi les situations dont l'ECBU est interprétable on note :

- Bactériurie $> 10^4$ /ml d'urine avec Leucocytaire $< 10^3$ /ml.
- Révélation suite à une culture que l'atteinte est poly-microbienne avec pour chaque germe, une charge bactérienne $> 10^4$ /ml.

3-4-1- Fréquence d'ECBU non-interprétable:

L'ECBU non interprétable semble plus fréquent chez :

- Les sujets âgés de sexe masculin.
- En cas d'utilisation d'un étui pénien pour recueillir les urines (ne permet pas le recueil du 2^e jet).

3-4-2- Conséquence :

Suite à un ECBU non interprétable, il est obligatoire de prescrire un 2^e ECBU. Cela génère :

- Une contrainte supplémentaire pour le malade.
- Une charge de travail supplémentaire pour le personnel manipulateur et clinicien.
- Une majoration du cout de prise en charge pour l'état.

Partie III

Traitement/ Prevention

1- Traitement :

1-1- Nécessité de traitement :

Suivant le type d'infection en étude et la comorbidité, l'administration d'un traitement peut être systématique et obligatoire dans le cas des ITU hautes et récidivantes comme elle peut être abandonnée en cas de colonisation sans facteurs de risque associés.

Tableau N°21 : Administration d'un traitement suivant l'atteinte urinaire. [17]

	<u>Bactériurie</u>	<u>Pyurie</u>	<u>Symptômes</u>	<u>Traitement</u>
Colonisation	+	-	-	-
Infection asymptomatique	+	+	-	+
Infection symptomatique	+	+	+	+
Inflammation sans infection	-	+	-	±
Symptômes sans infection	-	-	+	±

1-2- Approche thérapeutique :

1-2-1- Hydratation :

L'hydratation est une arme à double tranchant, car en augmentant le flux urinaire, elle permet de diluer la bactériurie, donc diminuer la prolifération bactérienne.

Mais, en parallèle, elle cause la dilution des agents antibactériens sécrétés comme moyens de défense par l'organisme, et peut même aggraver l'atteinte en cas d'obstruction des voies urinaires en engendrant une rétention. Donc, toute hydratation forcée est à éviter, elle doit être réalisée en cas de recommandation. [35]

1-2-2- Phytothérapie :

Le jus de canneberge est utilisé depuis l'antiquité pour prévenir et traiter les infections urinaires. Certaines études ont montrées que 2 composantes du jus, soit le fructose et les proanthocyanidines, semblent interférer avec l'adhésion bactérienne à l'épithélium urinaire. [35]

1-2-3- Analgésiques :

C'est un traitement symptomatique permettant la réduction des brûlures mictionnelles, la dysurie et les douleurs associées aux infections urinaires.

1-2-4- Antiseptiques urinaires : utilisation rare.

1-3- Traitement antibiotique :

IMPORTANT : Guidée par l'épidémiologie bactérienne, l'antibiothérapie des ITU s'envisage très différemment selon qu'il s'agit d'un schéma préventif ou curatif, et selon que la situation clinique est simple ou compliquée.

L'antibiotique à viser urinaire idéal doit répondre aux propriétés suivantes : [19]

- Agir sur les bactéries responsables.
- Etre peu affecté par la densité des bactéries.
- Ne pas sélectionner de résistances.
- S'éliminer sous forme active dans les urines.
- Atteindre des concentrations suffisantes dans le rein, les urines, la paroi vésicale, la prostate et éventuellement dans un calcul.
- Etre peu tributaire des conditions physico-chimiques de l'urine.
- Etre atoxique notamment pour le rein.

→ **Il n'existe pas, il faut donc choisir la molécule la plus adaptée selon les données cliniques.**

1-3-1- Arbre de décision :

La thérapie peut être commencée dès la suspicion d'une infection, donnant un antibiotique à large spectre, mais il doit être vite changé par un antibiotique répondant à l'antibiogramme réalisé.

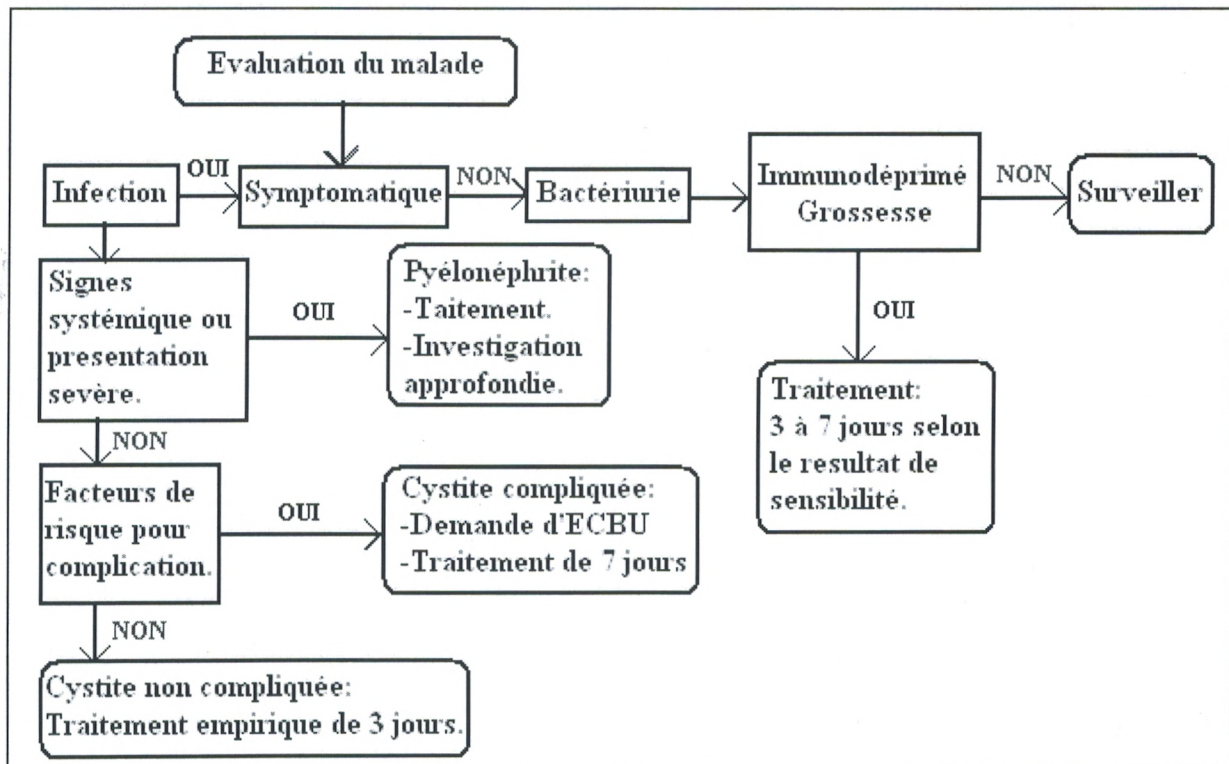


Schéma N°01 : Arbre de décision de l'administration d'une antibiothérapie. [35]

1-3-2- Schémas thérapeutiques : (Tableau N°22)**a- Bactériurie asymptomatique :**

- Les règles hygiéno-diététiques constituent la partie majeure de la réussite du traitement.
- Le traitement des bactériurie asymptomatique est assez long.

b- Cystites : (Tableau N°23)

- Le traitement des cystites se réalisera selon 3 volets :
 - Traitement minute (uni-dose) : donnant un ATB à élimination urinaire prolongée.
 - Traitement court (3 jours) : Quinolones Ière ou IIème génération, Bactrim...
 - Traitement long (7j-21j) : Les même ATB sur une durée plus prolongée.
- En cas de cystites récidivantes, en plus du traitement momentané de l'infection, un traitement prophylactique est associé pendant 3 à 6mois reposant par exemple sur Bactrim.

c- Pyélonéphrites : (Tableau N°24)

- En cas de pyélonéphrite simple, le traitement ATB repose sur :
 - Une monothérapie per os pendant 14j aux fluoroquinolones.
 - Une monothérapie IV de 48h aux fluoroquinolones ou céphalosporine III^{ème} génération.
 - Une bithérapie IV associant les 2 ATB pendant 48h puis relais per os pendant 14j avec un ATB qui répond à l'antibiogramme réalisé impérativement.
- En plus de l'antibiothérapie une cure de diurèse est associée.
- Pour la pyélonéphrite compliquée, le traitement consiste à :
 - Une bi-antibiothérapie associant à un aminoside un fluoroquinolone ou une céphalosporine pendant 3-5 j puis relais per os en monothérapie par un ATB adapté à l'antibiogramme pendant 3 à 4 semaines.
 - L'hospitalisation est nécessaire.
 - La surveillance est obligatoire : clinique + ECBU en J3, 1 semaine puis 4-6 semaines après l'arrêt du traitement.

d- Cas particulier :

- Certaines molécules sont à administration interdite chez la femme enceinte (Tableau N°25).
- Le cas de la femme enceinte est très délicat, nécessitant une prise en charge particulière :
 - Bactériurie asymptomatique : le traitement doit être court (3j), étalé à 7-10j en cas de nécessité, par B-lactamines le plus souvent.
 - Cystite et pyélonéphrite : les fluoroquinolones sont contre indiqués, traitement court.
 - Rechute : soit traiter coup-à-coup, soit une antibiothérapie prophylactique (B-lactamines).
- Surveillance obligatoire durant la grossesse et après l'accouchement.

Tableau N°22: Prise en charge thérapeutique par ATB lors des ITU. [36]

<u>Infection rencontrée</u>	<u>Traitement donné</u>
<u>Bactériurie</u> <u>asymptomatique</u>	-Pas de traitement sauf si sujet diabétique, immunodéprimé ou sondé. -Surveillance en cas de femme enceinte ou ménopausée.
<u>Cystite aiguë simple</u>	- Fosfomycine trométamol po (1 fois) sachet dose unique (3g). - Alternative : Nitrofurantoïne po 100 mg 3 x/j pendant 5 j
<u>Cystite aiguë</u> <u>avec comorbidités</u>	- Nitrofurantoïne po 100 mg 3 x/j pendant 7 j - Alternative : --Ofloxacéine, b po 200 mg x 2/j pendant 5 j. --Céfixime 200 mg x 2/j pendant 7 j
<u>Pyélonéphrite aiguë</u> <u>simple</u>	- Ceftriaxone iv, im ou s/c 1 g x 1/j pendant 10 à 14 j - Alternative : --Ofloxacéine, b 200 mg x 2/j pendant 7 j --Cotrimoxazole 800 mg x 2/j pendant 21 j
<u>Pyélonéphrite aiguë</u> <u>compliquée,</u>	- Ceftriaxone iv, im ou s/c 1 g x 1/j pendant 21 j - Alternative : --Ofloxacéine, b 200 mg x 2/j pendant 7 j --Cotrimoxazole 800 mg x 2/j pendant 21 j
<u>Infection urinaire sur</u> <u>sonde</u>	- Débuter une antibiothérapie probabiliste en fonction du site infecté (cystite, pyélonéphrite). - Changer la sonde après 3 jours de traitement efficace

Tableau N°23: Traitement des cystites aiguës non compliquées. [1]

<u>DCI, nom commercial</u>	<u>Schémas de l'AMM</u>	<u>Commentaires</u>
fosfomycine-trométamol - Monuril® - Uridoz®	3 g DU	• Très peu de résistance. • Molécule spécifique à cette indication. • Efficacité limitée sur <i>Staphylococcus saprophyticus</i> .
Fluoroquinolones - Ciprofloxacine - Loméfloxacine	500 mg DU 400 mg × 1/j 3 j	• Famille à épargner au regard de l'évolution des résistances et du bénéfice majeur dans d'autres indications. • DU : avantage observance, mais efficacité limitée sur <i>Staphylococcus saprophyticus</i> . • 3 jours : avantage efficacité.
Cotrimoxazole - Bactrim Forte®	3 cps DU OU 1 cp × 2/j 3j	• A éviter désormais du fait des résistances (de 15 à 40 % chez <i>Escherichia coli</i>).

Tableau N°24 : Traitement probabiliste des pyélonéphrites aiguës communautaires.[1]

<u>Classes/molécules</u>	<u>Caractéristiques</u>
céphalosporines de 3e génération :	- Résistances rarissimes (<< 1 %) - Performances très variables selon les sous-classes.
- <u>Parentérales à très large spectre</u> : Ceftazidime, Céfépime, Cefpirome	- Aucun intérêt (spectre trop large)
- <u>Parentérales « généralistes »</u> : Céfotaxime , Ceftriaxone.	- En traitement d'attaque IV/IM.
- <u>Orales</u> : Céfixime	- En traitement de relais. → C sériques/ C urinaires 50 X moindres que céfotaxime/ceftriaxone.
Fluoroquinolones :	- Résistances faibles mais émergentes, en particulier en cas d'antibiothérapie préalable. - Biodisponibilité élevée autorisant un traitement oral d'emblée pour les formes peu sévères. - Performances différentes selon les molécules :
- <u>Systémiques</u> : Lévofoxacine. Ciprofloxacine, Ofloxacine.	- A privilégier meilleur ratio concentration/CMI
- <u>Urinaires</u> : Loméfloxacine, norfloxacine.	- Coût moindre.
Monobactam : - Aztréonam	- Résistances rarissimes (<< 1 %). - Spectre étroit limité aux bactéries à Gram négatif. - Très peu d'allergie croisée avec les autres bêta-lactamines. - Voie parentérale (IV/IM) exclusive. - Coût élevé → Réservé à l'usage hospitalier.
Aminoglycosides : - Gentamicine - Nétilmicine - Tobramycine	- Résistances rarissimes (<< 1 %). - Bactéricidie rapide et intense mais néphrotoxique. - Utilisés en association avec une des trois classes précédentes pour certaines formes compliquées. - Par exception, monothérapie possible dans des situations de multiallergie.

Tableau N°25 : Utilisation des antibiotiques suivant le stade de la grossesse.

<u>Antibiotiques</u>	<u>1er trimestre</u>	<u>2ème trimestre</u>	<u>3ème trimestre</u>
-Pénicillines. - Céphalosporines. -Macrolides. - Polypeptidiques.	Oui	Oui	Oui
-Rifampicine. - Imidazolés.	Non	Oui	Oui
-Nitrofuranes.	Non	Oui	Non
-Tétracycline. - Aminosides. -Phénicolés. -Fluoroquinolones. -Sulfamides associés aux quinolones.	Non	Non	Non

1-4- Le traitement des infections urinaires à Candida :

Les levures *Candida.spp* et en particulier *Candida albicans* constituent l'agent le plus souvent responsable des infections urinaires fongiques qui surviennent essentiellement:

- Chez l'immunodéprimé dont les défenses se trouvent affaiblies.
- Chez l'immunocompétent suite à un traitement antibiothérapeutique prolongé d'une infections urinaires d'origine bactérienne.
- En milieu hospitalier causant des infections nosocomiales.

Tous comme les ITU bactériennes, les candidoses urinaires peuvent être asymptomatiques ou au contraire symptomatiques, la procédure donc se diffère :

1-4-1- Candidose asymptomatiques : (Schéma N°02)

Tout comme les ITU bactériennes asymptomatiques, c'est l'évaluation chez le patient des facteurs de risque associés qui justifie l'administration ou non d'un traitement antifongique.

1-4-2- Candidose symptomatiques : (Schéma N°03)

Le diagnostic, le traitement et le suivi suivent les mêmes étapes que les ITU bactériennes.

1-5- Molécules Utilisées : (Tableau N°26)

Le traitement se base essentiellement sur l'administration de fluconazole dont la durée varie entre 2 et 6 semaines selon la gravité de l'infection, suivit de l'amphotéricine B en alternative.

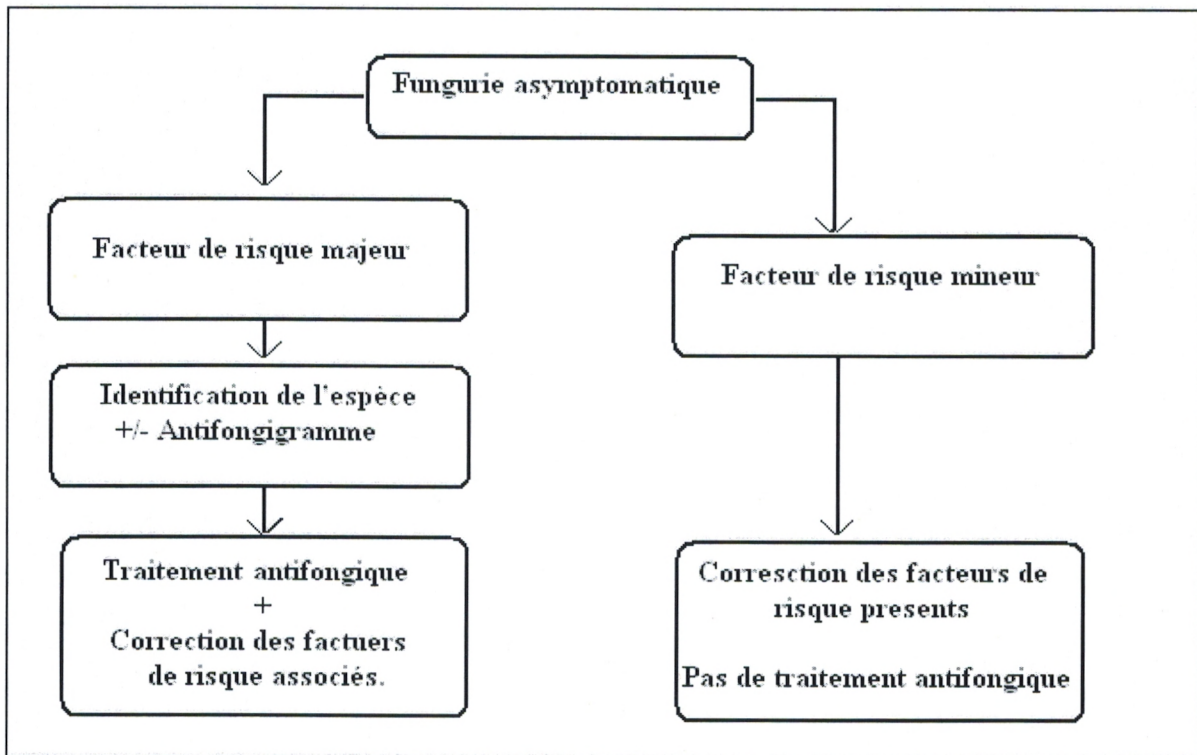


Schéma N°02 : Prise en charge d'un patient atteint d'une candidose asymptomatique.[6]

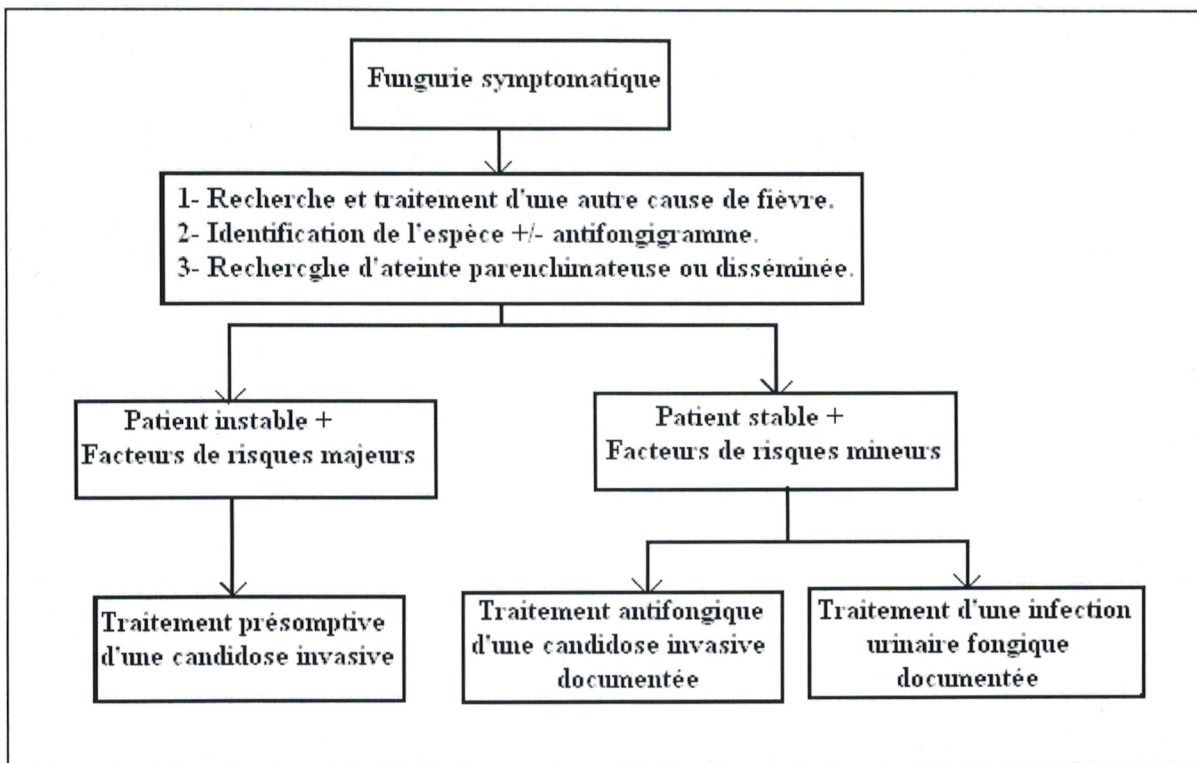


Schéma N°03 : Prise en charge d'un patient atteint d'une candidose symptomatique. [6]

Tableau N°26 : Traitement antifongique des candidoses urinaires à *C.albicans*, *C.tropicalis*, *C.parapsilosis* et *C.lusitaniae*. [6]

<u>Situation clinique</u>	<u>Traitement</u>	<u>Alternative</u>
Colonisation urinaire fongique ET patient à faible risque	-Correction des facteurs de risque. -Pas de traitement antifongique.	/
Colonisation urinaire fongique ET patient à haut risque	Fluconazole (Triflucan®) :400 mg en deux prises J1, puis 200 mg/j en 1 prise <i>per os</i> , pendant 14 jours.	Amphotéricine B déoxycholate (Fungizone®) :0,6 à 1 mg/kg/j en 1 IV pendant 14 jours.
-Cystite fongique -Pyélonéphrite fongique	-Fluconazole (Triflucan®) :400 mg/j en une injection IV par jour, à relayer <i>per os</i> dès que possible en 1 prise par jour, pendant 4-6 semaines. -Extraction chirurgicale ou endoscopique des éventuelles lithiases fongiques.	-Amphotéricine B déoxycholate (Fungizone®) : 1 mg/kg/j en 1 IV pendant 4-6 semaines. -Extraction chirurgicale ou endoscopique des éventuelles lithiases fongiques.

2- Prévention :

IMPORTANT : Les médicaments seuls n'ont jamais été suffisants dans le traitement des infections spécialement urinaires. Pour éviter les récurrences, les règles hygiéno-diététiques qui constituent la base de la prévention doivent être respectées.

Parmi les règles hygiéno-diététiques les plus recommandées à respecter on note : [38]

- Boire suffisamment: une hydratation de 2 à 2.5 l par jour permet d'éviter la stagnation de l'urine au niveau de la vessie.
- Eviter le port de vêtements trop moulants ou en synthétique, qui favorisent les phénomènes de macération.
- Concernant la toilette intime, trouver le bon équilibre entre trop ou pas assez ! car :
 - Une mauvaise toilette favorise la multiplication bactérienne.
 - Une toilette exagérée surtout par les produits trop décapants (gels douche et savons désinfectants) fait rompre l'équilibre de la flore vaginale et facilite l'installation des infections vaginales qui se complexent par les infections urinaires.
- Eviter les rapports sexuels traumatisants. Les préliminaires sont indispensables, qui favorisent une bonne lubrification vaginale.
- Prendre l'habitude d'uriner avant et après chaque rapport sexuel: cela permet d'éliminer immédiatement les quelques bactéries qui auraient pu s'introduire dans la vessie.
- Eviter les bouillons de culture microbiens que représentent certaines piscines, jacuzzi, saunas etc...

Conclusion

Conclusion :

Malgré sa facilité apparente et la clarté de ses étapes, les méthodes diagnostiques des infections urinaires aux laboratoires de microbiologie nécessitent une rigueur absolue du fait des grandes possibilités d'erreur qui peuvent être confrontées, surtout celles liées aux personnels effectuant les tests.

Afin d'éviter ce type d'erreur, le respect de bonnes pratiques de laboratoire, le suivi des protocoles standardisés et la formation continue des laborantins font la solution. Cela permettra non seulement une minimisation du cout pour le patient et un gain en réactifs et en temps pour le laboratoire, mais c'est essentiellement l'information fournie aux cliniciens suite à la réalisation de l'ECBU qui compte le plus et qui facilite la prescription du bon traitement.

Et, du fait que le traitement des infections du tractus urinaire repose le plus souvent sur l'antibiothérapie, le bon diagnostic permettra de choisir l'antibiotique ou l'association d'antibiotiques la plus efficace évitant ainsi la résistance des bactéries aux antibiotiques, le phénomène responsable d'un coté des infections nosocomiales en milieu hospitalier, et d'autre coté de la complication des atteintes chez les patients surtout les immunodéprimés.

Références bibliographiques

Références bibliographiques :

- 1- Caron F. et Etienne M. (2007) Prophylaxie et antibiothérapie curative des infections urinaires. Infections urinaires. 2^e éd Paris.
- 2- Grabe.M (2007) Facteurs de risques pour les infections urinaires en urologie. Infections urinaires. 2^e éd Paris.
- 3- Lobel B. (2007) Prise en charge des cystites chez la femme. Infections urinaires. 2^e éd Paris.
- 4- Lobel B. (2007) Prise en charge des pyélonéphrites aiguës chez la femme. Infections urinaires. 2^e éd Paris.
- 5- Colau J-C. (2007) Infections urinaires gravidiques. Infections urinaires. 2^e éd Paris.
- 6- Etienne M. et Caron F. Prise en charge des mycoses urinaires. Infections urinaires. 2^e éd Paris.
- 7- Chevrant-Breton L. (2007) Infections urinaires sexuellement transmissibles. Infections urinaires. 2^e éd Paris.
- 8- Organisation mondiale de la santé (2003) Basic laboratory procedures in clinical microbiology (2^e édition).
- 9- Organisation mondiale de la santé (2003) Stratégie mondiale pour la maîtrise de la résistance aux antimicrobiens.
- 10- Mauroy B., Beuscart C., Biserte J., Colombeau P., Cortesse A. Delmas V., Fendler J-P., Mangin P., Mouton Y., Tostain J. (1996) Infections urinaires chez la femme enceinte. *Progrès en urologie* ; 6 : 607-622.
- 11- Lavigne J-P. et Sotto A. (2005) Candiduries. *Progrès en urologie* ; 15 : 213-216.
- 12- Bruyère F. (2009) Prise en charge des infections urinaires non compliquées. *Progrès en urologies* ; 19 : 238-240.
- 13- Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (2008) *Médecine et maladies infectieuses* ; 28S : S203-S252.
- 14- Caron F. et Galperine T. (2008) Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires chez l'adulte. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé.
- 15- Hoznek A. (2004) Infections urinaires hautes et basses + parasitologie. Service d'Urologie CHU Henri Mondor. Créteil. France.
- 16- Dupeyron C. (1999) Examen cytot bactériologique des urines. *Développement et santé* n°141.
- 17- Société française de microbiologie (1998) Examen cytot bactériologique des urines. Référentiel en microbiologie clinique .1^e éd France.

- 18- Lavigne J-P. (2005) Infections urinaires : diagnostic, techniques et interprétation de l'examen cyto bactériologique des urines. Faculté de Médecine Montpellier- Nîmes. France.
- 19- Darbas H., Marchandin H., Bourgeois N. et Michaux- Charachon S. (2007) Diagnostic et suivi des infections urinaires : le bon usage de l'examen cyto bactériologique des urines. Faculté de Médecine Montpellier- Nîmes. France.
- 20- Infections urinaires au cours de la grossesse (anonyme) (2005). Faculté de Médecine Strasbourg. France.
- 21- Archambaud M. et Clave D. (2008) Diagnostic bactériologique direct une infection : Les prélèvements, principales bactéries en cause, interprétation : 3-6. Laboratoire de bactériologie-hygiène. Faculté de Toulouse- Rangueil. France.
- 22- Euzéby J-P. Abrégés de bactériologie générale et médicale. L'école nationale vétérinaire de Toulouse. France.
- 23- Zouatni B. Antibio gramme réalisation. Institut national d'hygiène du Maroc.
- 24- Archambaud M. (2009) Méthodes d'évaluation de l'activité des antibiotiques in vitro. Laboratoire de bactériologie-hygiène. Faculté de Toulouse- Rangueil. France.
- 25- Guillaume P-Y. (2004) Tests enzymatiques, antibiotiques et immunologiques.
- 26- Société française de microbiologie (1998) Hémoculture. Référentiel en microbiologie clinique .1^e éd France.
- 27- Lagier E. (2010) sédiment urinaire.
- 28- Terry O., Le Cam S. et Gille Y. (2006) Examen cyto bactériologique des urines.
- 29- Delahaye A. API 20E . www.arnobio2.com
- 30- Biokar Diagnostics. Gélose CLED. Biokar Diagnostics France.
- 31- Biokar Diagnostics. Gélose pour le comptage des germes de surface. Biokar Diagnostics France.
- 32- Biokar Diagnostics. Gélose pour dénombrement. Biokar Diagnostics France.
- 33- Sciences et techniques industrielles : cours en lignes. Académie de Montpellier. France.
- 34- Bodin L. Mieux lire et comprendre vos analyses. Ed Dauphin.
- 35- Daniel J.G. Thirion, Williamson D. (2003) Les infections urinaires : une approche thérapeutique. Pharmactuel Vol.36 n°5 :246-255.
- 36- (2011) Traitement anti-infectieux des infections urinaires
- 37- Université médicale virtuelle francophone. (2008) Infections urinaires de l'enfant et de l'adulte, leucocyturie.
- 38- Bitton A. Les cystites chez la femme : un fléau toujours d'actualité.

- 39- Loroy J., Faller J. P., Ruyer O., Henon T., Bertrand X., Bonniaud V. Infections urinaires de l'adulte : Bon usage de l'antibiothérapie en Franche-Comté.
- 40- Cours PDF en ligne : Infections urinaires.
- 41- Guide clinique et thérapeutique (Edition 2010).
- 42- Sanofi. Corps humain. Appareil génito-urinaire féminin.
- 43- Cours de 4^e année de pharmacie : Microbiologie médicale (2011).
- 44- Cours en ligne : le rein.
- 45- Bengeddih A. (2010) Les infections urinaires. Mémoire de fin d'étude de Pharmacie.UABB.Tlemcen
- 46- Techniques de laboratoire pour le diagnostic des bactéries phytopathogènes.

