REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DEL'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE YAHIA FARES DE MEDEA

Faculté des sciences

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de Master en Biologie

Spécialité : ***Microbiologie Appliquée***

Thème :

Isolement et identification des germes pathogènes chez les malades à sondes vésicales et l'étude de leur profil d'antibiorésistance

Présenté Par **:**

BELAIDI Abla

BELHADJ Chaimaa

Soutenue le **15/07/2021** devant le jury composé de :

Mr	**BOUCELKHA A.**	M C B	UNIV de Médéa	Président
Mme	**HOCEINI A.**	M C B	UNIV de Médéa	Examinateur
Mme	**ZERGOUG A.**	M C B	UNIV de Médéa	Promotrice

Année universitaire 2020/2021

Remerciements

En premier lieu nous tenons à remercier « **ALLAH** » notre créateur, pour nous avoir donné la force à accomplir ce travail ; ainsi que l'audace pour dépasser toutes les difficultés.

Nous tenons à remercier infiniment notre promotrice **Mme ZERGOUG.A** pour le privilège qu'elle nous a fait en acceptant de diriger ce travail sa gentillesse, sa modestie, ses conseils, sa riche expérience et l'accueil cordial qu'elle nous a toujours réservé nous à inspirer une grande admiration à son regard.

Nous tenons à remercier les membres du jury :

- Le président du jury **Mr BOUCELKHA**.**A** Qui nous a fait l'honneur de présider ce jury.
- A Mme **HOCEINI.A** pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Veuillez trouver ici nos remerciements les plus sincères Aux personnelles de laboratoire de microbiologie du EPSP de Médéa, et surtout le chef service **Mr HMIDA. KH** qui ont assuré notre formation durant le stage.

Aussi aux personnelles de l'hôpital Mohamed Boudiaf- Médéa et surtout les coordinateurs : **Mr RABOUH.I** et **Mr ITAHRI.A** et **Mr RAHMOUNI**.**M** Qui avons-nous aidé à réaliser la partie pratique de ce travail

Tous ceux qui nous ont aidé et encouragé de près ou de loin.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A **Dieu**, le tout puissant, qui m'a donné la force, la santé et le courage de réaliser ce précieux travail.

Mes chers **parents** dans mon cœur : qui me soutiennent dans ma vie..., les mots ne suffisent pas pour exprimer toute l'affection que je ressens pour vous deux ; Je te dois ma réussite, mon éducation. Tu seras toujours mon modèle et ma fierté, peu importe à quel point mes niveaux de réussite sont élevés.

A mes frères **Yacine, Abdelkarim** et **Salah Eddine**, pour l'amour, l'attention et l'aide qu'ils m'ont apportée.

A ma chère petite sœur **NajDlaa**, qui se tient avec moi dans toutes les difficultés, ma joie et tout ce qui est beau dans ma vie, je vous souhaite tous les succès

A mes cousins, **Yasser et Moussaab** et **Walid** qui m'ont aidé dans mon travail

Ames tantes **Souad Nadia Farida** et **Asia Oumaima** et **Aicha** que dieu leur donne une longue vie

Spéciale dédicace à mes chères copines : **Hafsa, Isham, Zineb**, Et ma chère binôme **Chaimaa,** Merci d'être l'épaule sur laquelle je peux toujours compter, je vous souhaite Tout le bonheur de monde et beaucoup de réussite Inchallh dans votre entreprise

A mes amis et à toutes les personnes qui j'aime... A tous ce qui m'ont apporté d'aide de près ou de loin.

Abla

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A **Dieu**, tout puissant, qui m'a donné la force, la santé et le courage de réaliser ce précieux travail.



A Mon chère père **Rachid**

Tes cosinelle m'ont suivi et m'ont permis d'atteindre le bout du chemin sois fier de moi aujourd'hui et vois à travers ce travail mon amour sincère et ma gratitude profonde

A Ma chère mère Boukhatem **Faiza**

Ma douce et tendre maman quoique je fasse, je ne pourrais te rendre ce que tu as fait pour moi si je suis arrivée là, c'est bien grâce à toi que dieu te donne longue vie et te protégé pour

A mes chères sœurs **Imen, fulla, Yasmin, Selma,** qui sont teints avec moi dans toutes les difficultés, mes joies et tout ce qui est beau dans ma vie, je vous souhaite tous les succès et A mes petites princesse **Maria** et **Celai** que dieu te protège inchallh

A mon oncle **Khaled** et sa femme **Bahia. Puisse** dieu vous accorde santé, longe vie et prospérité

A mes cousins, **Mahfoud, Yacine, Adnan, Adel, Hafida**je vous souhaites un avenir plein de joie, de réussites et surtout de santé

Spéciale dédicace à mes chères copines : **Hafsa, Ilham, Zineb**, Et ma chère binôme **Abla** Merci d'être l'épaule sur laquelle je peux toujours compter, je vous souhaite Tout le bonheur de monde et beaucoup de réussite Inchallh dans votre entreprise

A mes amis de promo microbiologie 2021 et à toutes les personnes qui j'aime... A tous ce qui m'ont apporté d'aide de près ou de loin.

Chaimaa

Résumé

Sur une période de 4 mois ,52 bactéries ont été isolées à partir de sondes vésicales et urines communautaire. L'examen cytobactériologique des urines nous a permis la détection des leucocytes, d'hématies et de germes. Grace à la galerie biochimique nous avons constaté que le germe le plus souvent isolé est un *Pseudomonas spp*, suivie par les Entérocoques et de *Staphylococcus aureus*

Les résultats du test de la sensibilité de ces isolats à certains antibiotiques utilisés en thérapeutique, confirment l'importance croissante de la résistance et la multirésistance des isolats aux antibiotiques et surtout aux bêtalactamines d'où l'importance d'un suivi régulier de cette évolution.

Cinq isolats de *S. aureus* et 9 autres appartenant à le genre *Pseudomonas* isolées à partir de 77 prélèvements de sondes urinaires récupérées des patients hospitalisés au niveau de EPH de Médéa ont été retenu pour étudier leur capacité à former un biofilm. La détection de biofilm sur la surface des sondes urinaires a été recherché par la méthode de culture de tissu en plaque (TCP), la méthode de production de slim par méthode Rouge Congo (RCA) et la méthode de diffusion des sondes urinaire sur gélose au sang. Ces 3 méthodes ont démontré de bons résultats.

Une étude comparative à l'antibiogramme a été réalisé afin de tester un produit naturel pouvant palier à ce problème d'antibiorésistance, consistant à voir l'effet antibactérien de 4 échantillons de miels (thym, montagne, sider et le chardon étoilé) vis-à-vis des isolats ayant préalablement démontré un caractère résistant à certains antibiotiques.

Les résultats obtenus démontrent clairement l'impact de ces produits sur la sensibilité bactérienne, cet effet inhibiteur a été constaté pour la plupart des échantillons testés avec une certaine variabilité d'un échantillon à un autre et d'un isolat à un autre et dans le temps.

Mots-clés : sondes vésicale, urinaire, antibiorésistance, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas spp* , biofilm.

Summary

Over a period of 4 months ,52 bacteria were isolated from community bladder and urine probe. Cytobacteriological examination of urine allowed us to detect leukocytes, red blood cells and germs. Thanks to the biochemical gallery we found that the germ most often isolated is a *Pseudomonas spp,* followed by *Enterococci* and *Staphylococcus aureus*

The results of the test of the sensitivity of these isolates to certain antibiotics used in therapy, confirm the increasing importance of the resistance and the multidrug resistance of isolates to antibiotics and especially to betalactamines, hence the importance of a regular monitoring of this evolution.

5 isolates of *S. aureus* and 9 others belonging to the species *Pseudomonas* isolated from 77 samples of urinary probes recovered from hospitalized patients at the level of EPH of Medea were retained to study their ability to form a biofilm. The detection of biofilm on the surface of urinary probes was sought by the plate tissue culture method (TCP), the slim production method by Congo Red method (RCA) and the method of diffusion of urinary probes on blood agar. These 3 methods showed good results.

A comparative study with the antibiogram was carried out in order to test a natural product that can overcome this problem of antibiotic resistance, consisting in seeing the antibacterial effect of 4 samples of honeys (thyme, mountain, sider and star thistle) with respect to isolates having previously demonstrated a resistant character to certain antibiotics.

The results obtained clearly demonstrate the impact of these products on bacterial sensitivity, this inhibitory effect was found for most of the samples tested with some variability from one sample to another and from one isolate to another and over time.

Key words: bladder probes, urinary, antibiotic resistance, *Staphylococcus aureus*, **.***Pseudomonas*, biofilm .

ملخص

على مدى فترة 4 أشهر ، تم عزل 52 بكتيريا من مجسات المثانة والبول المجتمعية. سمح لنا الفحص الخلوي للبول بالكشف عن الكريات البيضاء وخلايا الدم الحمراء والجراثيم. بفضل معرض الكيمياء الحيوية وجدنا أن الجرثومة المعزولة في معظم الأحيان هي P*seudomonas spp* ، تليها *Entérocoque* و *staphylocoque*

نتائج اختبار حساسية هذه المعزولات لبعض المضادات الحيوية المستخدمة في العلاج ، تؤكد الأهمية المتزايدة للمقاومة ومقاومة الأدوية المتعددة للمضادات الحيوية وخاصة beta lactamine، ومن هنا جاءت أهمية المراقبة المنتظمة لهذا التطور.

تم الاحتفاظ بـ 5 عزل من *s. aureus* و 9 آخرين ينتمون إلى الأنواع *Pseudomonas* المعزولة من 77 عينة من المجسات البولية المستردة من المرضى في المستشفى على مستوى مستشفى ولاية المدية لدراسة قدرتهم على تشكيل biofilm. تم البحث عن الكشف على الأغشية الحيوية على سطح المجسات البولية بواسطة طريقة زراعة الأنسجة في الصفيحة (TCP) ، وطريقة الكونغو الحمراء (RCA) وطريقة نشر المجسات البولية على أجار الدم. أظهرت هذه طرق 3 نتائج جيدة .

تم إجراء دراسة مقارنة مع المضاد الحيوي من أجل اختبار منتج طبيعي يمكنه التغلب على مشكلة مقاومة المضادات الحيوية هذه ، والتي تتكون من رؤية التأثير المضاد للبكتيريا لـ 4 عينات من العسل (الزعتر ، الجبل ، السدر وشوك النجوم) فيما يتعلق بالمعزولات التي أثبتت سابقا طابعا مقاوما لبعض المضادات الحيوية.

تظهر النتائج التي تم الحصول عليها بوضوح تأثير هذه المنتجات على الحساسية البكتيرية ، وقد تم العثور على هذا التأثير المثبط لمعظم العينات التي تم اختبارها مع بعض التباين من عينة إلى أخرى ومن عزل إلى آخر وبمرور الوقت.

الكلمات الرئيسية: تحقيقات المثانة ، البولية ، مقاومة المضادات الحيوية ، staphylococcus *aureus*، *pseudomonas*، biofilm

Sommaire

Remerciement

Dédicace

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste d'abréviation

Introduction……..……01

Partie bibliographique

Chapitre 1 : **généralités sur les infections urinaire suite aux sondages**

Partie *1* : les infections urinaires en générale

1l'appareil urinaire

1-1- Définition de l'urine……03

1-2- Caractères physicochimiques de l'urine……03

1-3- Constitution physiologique de l'urine……...03

1-4-comparaison entre urine normal et contaminé……04

1-5 Définition de l'appareil urinaire……..……04

A. Les reins ……04
B. Les uretères ……...04
C. La vessie ……05
D. L'urètre……...……05

2-Epidémiologie……..……06

3. Physiopathologie…….……...…….……07

3-1 Classifications des infections urinaires……07

1 Infection urinaires simple……07

2 Infection urinaire compliquées……07

3.2 Origine de l'infection 07

a) Infection endogène 07
b) Infection exogène 07

3.4. Voies de contamination de l'infection urinaire 08

3.4.1. Infection communautaire 08

a. . Voie ascendante …..…… 08
b. . Voie hématogène ……08
c. . Voie lymphatique ……08
d. . Extension à partir d'un autre organe ……...08

Partie 2 : les infections urinaires suite aux sondages

1 - L'objectif de sondage vésical ……..…….09

2 - Définition l'infection nosocomial…….……09

3- Mécanisme d'acquisition de l'infection urinaire liée aux sondes vésicales…..…..09

4 - Facteur de risque ……..….10

a. Les facteurs extrinsèques……...10
b. Les facteurs intrinsèques……10

5 - Les type et symptôme des infections urinaires nosocomial……...10

A. La cystite……10
B. L'urétrite infectieuse…….11
C. La pyélonéphrite……11
D. La prostatite aiguë…….11

6 Rôle des sondes at autres dispositifs dans la promotion de l'IU…….…..11

a. Altérations des moyens de défense vésicale ……..11

b. Perturbations du transit urinaire……12
c. Production d'un biofilm……12
7-Généralité sur les biofilms……12
8-1définitions……12
8-2lés étape de formation un biofilm ……12

Chapitre 2 : **les germes responsables d'infection sur sonde urinaire et biofilm**

1. Généralité sur les bactéries.....14
1.2. Classification 14
1-2-1 **Bacile a gram négative** ……..15
a - Escherichia coli 15
b - *Enterobacter clocea*……15
c- Proteus spp 16
d - *Pseudomonas* spp 16
1-2-2 Cocci a gram positive…….17
A *Staphylococcus spp*……...……17
B *Entérocoque …*……...…...18
C *Streptocoque spp*……...19
1 - candida albicans……...……..20
2-résistance d'antibiotique ……...……...…...20
2-1définition ……..…20
2-2 type de résistance ……....21
2-2-1 résistance naturelle ……21
2-2-2 résistance acquis……..……...21
3- mécanisme généraux de résistance ……22
3-1 imperméabilité de la membrane externe……22

3-2 imperméabilité de la membrane cytoplasmique…….22

3-2 imperméabilité par formation d'un biofilm……....22

Partie expérimentale

I. Matériel et méthode

1- matériel……..……..……23

2- Méthodes ……...…….……23

2-1 échantillonnage……...……..…23

2-2 recueil des urines ……...…….....23

2-2-1 chez les patients sondés ……23

2-2-2 chez les patients non sondés…… ….24

2-3 acheminement ……24

2-3 Etiquetage ……...24

3- bandelettes urinaire ……...24

4-définition de l'examen cytobactériologique……...25

4-1Examen macroscopique……..25

4-2 Examen microscopique ……25

4-3 Examen cytologique ……27

4-4 Examen bactériologique ……...28

a. Ensemencement ……...28
b. Incubation ……28
c. Dénombrement…….28

4-5 l'isolement et purification ……...28

5-Examen direct à l'Etat frais ……..29

6- Examen direct après coloration de gram……..29

7- identification biochimique …….30

7-1 teste catalase……..29

7-2 teste oxydase ……31

7-3 Teste coagulas ……..…….31

7-4 teste blastés ……...31

7-5 la galerie api 20^{E}……32

8- Antibiogramme…….....34

8-1 définition et principe……..34

8-2 Application de l'antibiogramme……34

9- conservations des souches……34

10 - détection de production de biofilm ……..35

10-1 détection de la production de biofilm sur milieu Rouge Congo……..36

10-2 Quantification visuelle d'un biofilm par diffusion sur gélose au sang……36

10-3 Méthode de plaque de culture de tissus (TCP)……37

11 – activité antibactérienne de miel ……..39

11-1 les échantillons de miel ……39

11-2 préparation des échantillons de miel ……...39

11-3 préparation de l'inoculum bactérien ……40

11-4 méthode des puits de diffusion ……40

11-5 la méthode de spectrophotométrie ……...41

11-6 Etude de la synergie entre extrait de miel et antibiotique…….……43

II. Résultat et discussion

1- Analyse des urines……...48

1-1 Examen macroscopique ……..48

1-2 bandelettes urinaires……49

1-3 Examen microscopique……49

2- Examen bactériologique ……50

3- les germe identifient selon la coloration de gram……53

4- identification bactérienne …….53

5- antibiogramme……56

5-1 *Entérobactéries* ……56

5-2 *Staphylococcus aureus* …….57

5-3 *Pseudomonasse* …….57

5-4 *Entérocoque* ……..58

6- détection de la formation de biofilm ……59

6-1 résultat de la formation de biofilm par méthode (RCA)……59

6-2 résultat de la formation de biofilm sur gélose ou sang …….60

6-3 résultat de la (TCP)……61

7- activité antimicrobienne de miel……63

7-1 résulta des puis ……..63

7-2 résultat de la synergie ……...68

7-3 résultat de spectrophotométrie……..70

Conclusion

Référence

Annexes

Liste des figures

Figure N°	Titre	Page
1	Anatomie De L'appareil Urinaire	3
2	Cycle (Biofilmisation – Planctonisation)	15
3	Prélèvement Des Urines Des Sondes Vésicales	24
4	Etude Chimie Des Urines Sur Bandelettes Urinaire	26
5	Étapes De L'examen Microscopique	27
6	Etapes De Coloration De Gram	29
7	Résultats Du Test Catalase	30
8	Résultat Du Teste Blastés	32
9	Ensemencement De La Galerie Api 20	33
10	Conservation A Court Terme Des Souches Dans Des Tubes De GN Incliné	35
11	Conservation A Longe Durée Des Souches Dans Les Eppendorf	35
12	Etapes De Formation De Biofilm Sur Gélose Au Sang	37
13	Etapes De La Méthode De Plaque De Culture De Tissus	38
14	Préparation Des Dilutions Du Miel	40
15	Technique De Puits De Diffusion	41
16	Etapes De La Méthode Spectrophotométrique	42
17	Méthode De Synergie	43
18	Répartition Les Nombres Des Prélèvements Dans Différents Services D L'hôpital De Médéa	45
19	Répartition Des Patients Selon Le Sexe	46
20	Répartition Les Cas Positifs Et Les Cas Négatifs Selon Le Sexe Chez Les Patients A Des Sondes Vésicales	46
21	Répartition Des Cas Positifs Et Les Cas Négatifs Selon Le Sexe Chez Les Patients Non Sondé	48
22	L'urine Trouble	49
23	L'urine Claire	49
24	L'urine Hématique	49
25	Les Déférentes Paramètre D'une Bandelette Urinaire	49
26	Le Virage De Couleur De Hektoene Lac +	51

27	*Entérobactérie* Lac – Sur l'Hektoene	51
28	*Staphylococcus* Sur Le Milieu Chapman	52
29	Aspet Des Colonies De *Pseudomonasse* Dans Cétrimide	52
30	Aspect Des Colonies D'entérocoques Sur BEA	52
31	Aspect Des Leveurs Sur Le Milieu Sabouraud	53
32	Bacille A Gram Négative (A) Et Les Cocci A Gram Positive(B)	53
33	Répartition Le Nombre Des Germe Trouvées	54
34	Représentation Graphique Du Taux De Résistance Et Sensibilité Des *Entérobactéries*	56
35	Représentation Graphique Du Taux De Résistance Et Sensibilité De Staphylococcus *Aureus*	57
36	Représentation Graphique Du Taux De Résistance Et Sensibilité De *Pseudomonas*	58
37	Représentation Graphique Du Taux De Résistance Et Sensibilité Des *Entérocoque*	58
38	Résultats De La Méthode RCA	60
39	Représenter Les Résultats : De La Diffusion De Biofilm Sur Les Sondes Urinaire	
40	Représenter Les Différentes Valeurs De La DO Des Pseudomonas Testé	61
41	Représenter Les Différentes Valeurs De La DO Des Staphylococcus Aureus Testé	62
42	Activité Antimicrobienne Du Miel De Thym	63
43	Exemple Des Déférentes Zones Obtenues Par Le Miel De Thym	64
44	Activité Antimicrobienne Du Miel De Sider	64
45	Exemple Des Déférentes Zones Obtenues Par Le Miel De Sider	65
46	Activité Antimicrobienne Du Miel De Chardon Montagne	65
47	Exemple Des Déférentes Zones Obtenues Par Le Miel De	66
48	Montagne	66
49	Activité Antimicrobienne Du Miel De Chardon Etoilé	67
50	Exemple Des Déférentes Zones Obtenues Par Le Miel De Chardon Etoilé	68
	Résulta De La Synergie Chez Les E. Coli, Porteuse, E. Cloacae	

51	Résulta De La Synergie Chez Les Pseudomonasse	69
52	Résistance Des Staphylococcus Aureus Dans Les Résultats De Synergie	69
53	Pourcentage D'inhibitions Des Miels Testés Envers La Souche Staphylococcus Aureus	70
54	Pourcentage D'inhibitions Des Miels Testés Envers La Souche Entérocoque	70
55	Pourcentage D'inhibitions Des Miels Testés Envers La Pseudomonasse	71
56	Pourcentage D'inhibitions Des Miels Testés Envers La Souche	71
57	Proteus	
	Pourcentage D'inhibitions Des Miels Testés Envers La Souche E.	72
58	Coli	
	Pourcentage D'inhibitions Des Miels Testés Envers La Souche E. Cloacae	72

La listes des tableaux :

Numéro de tableaux	Titre de tableau	Numéro de page
Tableau 1	Les principaux constituants de l'urine	6
Tableau 2	Préparation des concentrations des miels.	47
Tableau 3	Les nombres des prélèvements des différents services de l'hôpital de Médéa.	52
Tableau 4	Représente le total des prélèvements avec les cas positif et négatif.	52
Tableau 5	Représente le total des cas positif et cas négatif selon le sexe chez les patients sondé.	53
Tableau 6	Représente le total des cas positif et cas négatif selon le sexe chez les patients non sondé.	54
Tableau7	Représente les différent paramètre de la galerie Api 20 E des différent bactérie .	60
Tableau 8	Représente les résultat du miel testé sur les différent souches isolés.	69

Abréviation

% : pourcentage

ADN : acide désoxyribonucléique

API : Appareillage et Procédés d'Identification

ARN : acide ribonucléique

ATB : Antibiotique

BCP: Bromocrésol pourpre

BEA: bile-Esculine-Azide

BN: bouillon nutritive

Albicans : Candidaalbicans

C° : degré Celsius

CLCI: clinical laboratory standards institute

Cm : centimètre

DO: la DensitéOptique

Dos :densité optique de souche

Dot : densité optique de témoin

E. Coli :*Escherichia coli*

E. Cloacae *: Entérobacter cloacae*

E. Faecalis : *Entérocoque faecalis*

ECBU : examen cytobactériologique des urines

ELIZA: enzyme-linked immunosorbent assay

EPH :établissement public hospitalier

EPSP : établissement public de santé de proximité

G-: GRM negative

G+: GRMpositive

GN:gélose nutritive

H : heur

H2O: Eau

H2O2 : Eau oxygéné

I : Intermédiaire

If : infectieux

IU : Infection Urinaire

IUC : infections urinaires compliquée

IUS :infections urinaires simples

LAC-: lactose–

LAC+:lactose +

M:Masse

MCF: Mac Ferland

MH: Mueller Hinton

Mm :millimètre

O2: Oxygéne

ONPG: orta-nitro-phenyl galactoside

Orl : oto-rhino-laryngologie

P. Mirabilis : Proteus mirabilis

P.aeurogénosa : Pseudomonas aérogènosa

pH :potentiel Hydrogène

Post-op : post opératoire

R : Résistante

RCA : Méthode du rouge Congo agar

S : Sensible

TCP : Méthode de Plaque de culture de tissus

TDA:tryptophan désaminase

TSB :tryptic soy broth

UFC: Unité forment colonie

Umc : urgence médicale chirurgical

V:Volume

VP:reaction de voges-prostraevir

Introduction

Introduction

Depuis quelques années, de nombreux problèmes sont constaté en santé publique parmi lesquelles il y'a les infections urinaires en particulier les Infections nosocomiales.

D'après l'organisation mondiale de santé (OMS) ces infections nosocomiales sont l'une des principales causes de mortalité. En parallèle les infections urinaires dans les établissements hospitaliers en Algérie sont plus fréquentes et représentent dans la plupart des cas un facteur d'aggravation de la situation d'un malade engendrant un tableau clinique.

Aussi dans la classification des infections nosocomiales, il est mentionné que l'appareil urinaire est considéré comme le second site infectieux après celui de l'appareil respiratoire, elle est également la première cause d'infection, en moyenne 40% du totale d'infection nosocomiale, et 60-80% des sujets sondés ont une infection urinaire à cause de leur fragilité et manque d'application des règles d'hygiènes ; d'asepsie et mal surveillance lors de la pose d'une sonde vésicale.

Le diagnostic de cette pathologie est facile à réaliser cliniquement. Certains examens, tels que l'aspect macroscopique et l'examen des urines par bandelettes, réalisés au cabinet du médecin permettent de démarrer immédiatement un traitement thérapeutique. Mais son étiologie ne peut être affirmée que par l'examen cytobactériologique (E.C.B.U) qui est l'examen qui certifie une infection urinaire, et ce en isolant les microorganismes responsables et en étudiant leur profils d'antibiorésistance en déterminant la sensibilité ou la résistance de ces germes identifiés vis-à-vis des antibiotiques.

Ces derniers ont apporté un immense bénéfice à l'humanité, et ce en permettant de soigner de nombreuses infections bactériennes, en faisant diminuer considérablement la mortalité qui y été associée. Cependant, l'utilisation de ces molécules a rapidement été suivie par l'apparition d'une résistance bactérienne aux traitements.

Ponctuelles au départ, ces résistances représentent maintenant une menace mondiale croissante de la santé publique. De plus en plus de souches bactériennes deviennent multi-résistantes (BMR), et placent alors les soignants dans une situation d'impasse thérapeutique.

Ces infections contractées à l'hôpital impliquent le plus souvent la formation d'un biofilm résistant aux agents antimicrobiens et aux défenses immunitaires de l'hôte. D'après le RAISIN (Réseau d'alerte d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales en

France), 65% des infections bactériennes sont dues à la formation des biofilms qui constituent un véritable problème de santé publique.

Certains chercheurs essaient de trouver des alternatives de nature biologique afin de palier à ce problème de résistance, parmi lesquelles l'utilisation du miel par l'homme qui remontre aux temps les plus reculés de son histoire et fait partie indubitablement des aliments les plus anciens de l'humanité ; car c'est un remède pour chaque maladie.
Les miels peuvent être classer, selon l'origine locale, le mode d'obtention, le mode de traitement et la source alimentaire, de ce fait tous les miels ont des propriétés communes, mais chaque miel se caractérise par des propriétés thérapeutiques propre à lui vis-à-vis des micro-organismes pathogènes, c'est l'activité antimicrobienne du produit.

À cet effet notre étude a pour objectifs :

- D'étudier le profil microbiologique des patients atteints d'infections urinaires lié aux sondes vésicales, les comparer à ceux atteints d'infections urinaires communes puis déterminer et identifier les microorganismes pathogènes les plus courants, et par la suite étudier la capacité de quelques souches préalablement isolées à adhérer et à former un biofilm sur la surface de sonde urinaire.
- D'évaluer le profil d'antibiorésistance à l'égard de souches obtenues et le comparer à l'effet antimicrobien d'un produit naturel à savoir le miel.

Pour cela, nous aborderons le volet bibliographique comme première partie qui englobe le sujet du point de vue théorique, composé de deux chapitres. Le premier est consacré aux infections urinaires vésicales, le second est destiné à élucider le profil d'antibiorésistance et le comparer à un produit naturel. Quant à la deuxième partie, un travail expérimental a été réalisé afin d'atteindre les objectifs et la problématique du départ et ce en mettant l'accent sur les différents protocoles appliqués. Les résultats obtenus au cours de ce travail seront interprétés et discutés, suivie d'une conclusion et perspectives.

Chapitre 1

1. Appareil urinaire

1.1 Définition de l'urine

L'urine est un liquide biologique composé de déchets de l'organisme, elle est secrétée par les reins par filtration du sang, qui sera expulsée hors du corps par le système urinaire. (1)

1.2 Caractères physicochimiques de l'urine

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

• **Volume :** 1000-1600 ml en 24h. Ce volume peut être réduit de moitié environ à la suite de grandes chaleurs ou de divers exercices corporels.

• **Couleur :** jaune ambrée liée aux pigments qu'elle contient tels l'urochrome et l'Ur érythrine.

• **Limpidité :** l'urine normale fraichement émise renferme toujours des cellules épithéliales, du mucus de sédiment, et constitue le dépôt loconneux. Les leucocytes qu'elle contient peuvent également de façon légère diminuer sa clarté.

• **Odeur :** légère, cependant des bactéries peuvent transformer l'urée en carbonate d'ammonium (cas de cystite) et donner une odeur ammoniacale.

• **Poids :** déterminé à l'aide d'un pycnomètre l'urine recueillie 24h pèse environ1,020 kg (2)

1-3-Constitution physiologique de l'urine

L'urine d'une personne saine est composée de 95% d'eau dans laquelle les déchets du métabolisme sont dissous. Les principaux constituants sont mentionnés dans le tableau 1(3)

Tableau 1. Les principaux constituants de l'urine (Chouba *et al.*, 2006).

Principaux constituants d'urine	**Volume habituelles**
-Eau	950 g/l
-Urée	20 à 30 g/l
-Chlorure	6 à 10 g/l
-Sodium	5 à 6,5 g/l
-phosphatases	1,5 à 3 g/l
-Sulfate	2g/l
-Créatine	1 à 1,5 g/l
-Ammoniaque	0,5 à 1 g/l
-Acide urique	0,4 à 0,8 g/l
-Calcium	0,008 à 0,3 g/l

1.4-*comparaison* entre urine normal et contaminé

Le volume normal des urines est de 1300 à 1500 ml ; de couleur jaune citrin plus ou moins foncé, d'une odeur peu prononcée et de pH qui varie de 5 à 8. A l'état anormal, on peut observer soit une diminution de volume (une oligurie), soit une augmentation de volume (une polyurie) (4). Concernant la couleur, elle peut diminuer en jaune paille ou incolore traduisant une néphrite interstitielle chronique où augmenter en Brun acajou dans le cas d'un ictère ou bien rouge sanglant dans l'hématurie. L'urine anormale a une odeur de pomme au cours de l'acétonurie.et son acidité peut augmenter chez les diabétiques ou diminuer cas des insuffisances rénales (4)

1-5 Définition L'appareil urinaire

L'appareil urinaire est un ensemble d'organes assurant l'épuration du sang ainsi que la production et l'élimination de l'urine. L'appareil urinaire se compose de deux reins, des uretères, d'une vessie, d'un urètre et d'un méat urinaire (figure 1).

Il se forme et commence à fonctionner avant la naissance (5)

A. Les reins

Le corps humain possède deux reins fixés sous les côtes, ils sont en liaison avec l'artère rénale, par laquelle arrive le sang à filtrer.

Chez l'adulte, chaque rein pèse environ 150g et mesure 12cm de haut ,7cm de large et 3cm d'épaisseur. Sa face interne concave présente une dépression ou hile, ou les vaisseaux sanguins, les vaisseaux lymphatiques, les nerfs et l'uretère pénètrent dans le rein ou le quittent. [6].

Le rein est entouré de trois couches de tissus qui le protègent et le maintiennent : un tissu externe conjonctif dense, une couche moyenne de tissu adipeux, et au contact du rein, un tissu fibreux transparent ainsi une capsule. (7)

B. Les uretères

Les uretères transportent l'urine vers la vessie. Ce sont des conduits longs de 22 à 25cm et très fins, avec un diamètre de 3 mm

Ils partent de chaque rein et descendent en oblique vers la vessie.

La contraction des muscles de leur paroi assure la progression de l'urine. (7)

C. La vessie

La vessie stocke l'urine. C'est un réservoir musculo-membraneux, extensible, sa contenance est variable, 300 ml en moyenne. Elle est fermée par un sphincter, un muscle enforme d'anneau qui commande l'ouverture et la fermeture de la vessie. Par ailleurs le besoin d'urine se nomme miction [7].

D. L'urètre

L'urètre est le conduit qui achemine l'urine de la vessie vers l'extérieur [8]. Son aspect est différent dans les deux sexes [9]

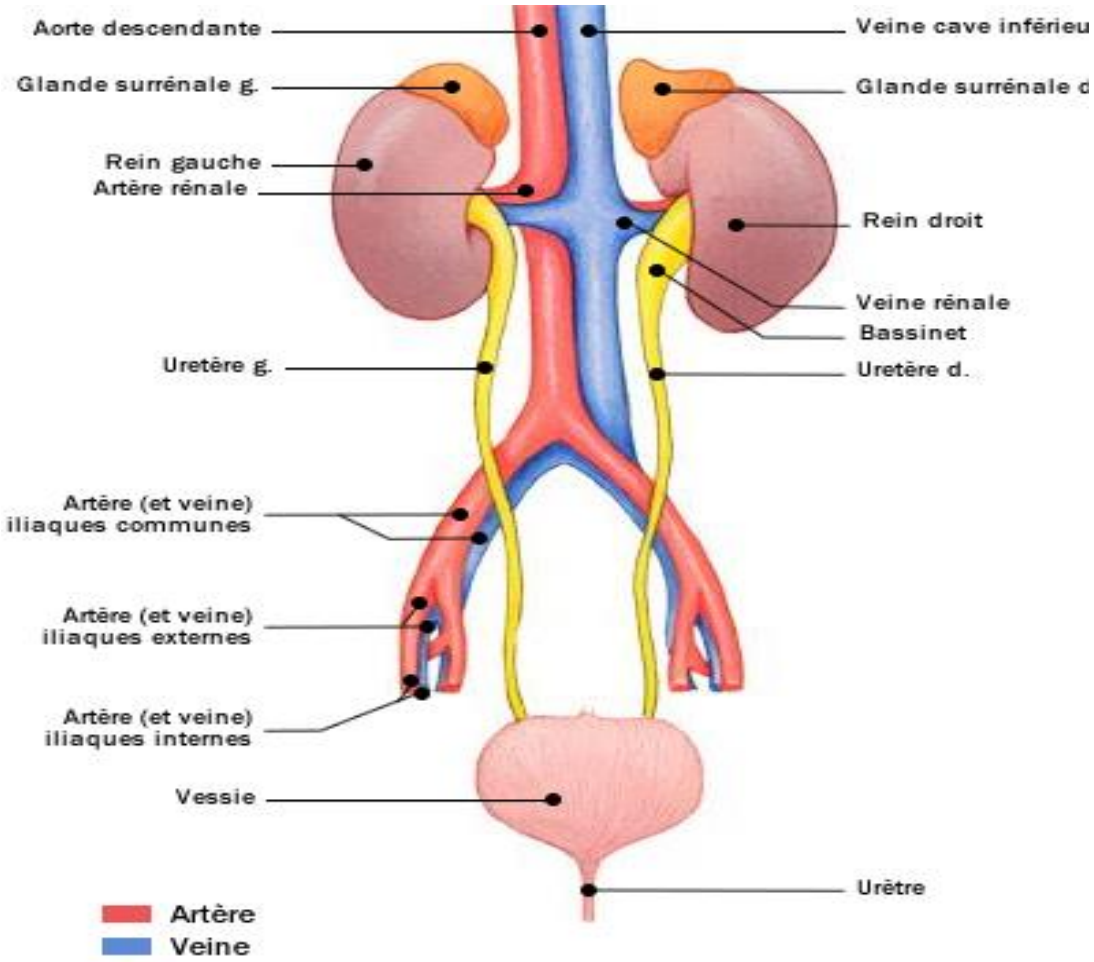


Figure1. Anatomie de l'appareil urinaire

2. Epidémiologie

L'IU est la première des maladies infectieuses non épidémiques. Elles sont, après les infections respiratoires, au second rang des motifs de consultation et de prescription d'antibiotiques. L'incidence de la maladie dépend de l'âge et du sexe. (10)

– Environ 2 % chez le nouveau-né et le nourrisson, avec une proportion d'une fille pour quatre garçons.

– Environ 1 % chez les enfants avec un garçon pour trois filles (rôle des vulvo-vaginites de la fillette).

– Chez la femme, la fréquence augmente avec l'âge, pour atteindre 8 à 10 % après la soixantaine.

– Environ 2 à 3 % des femmes adultes présenteraient un épisode de cystite par année, et 5 % auraient une bactériurie asymptomatique.

– 10 à 30 % des femmes auront une (des) infection(s) urinaire(s) au cours de leur vie (avec une fréquence très variable).

– Chez la femme enceinte, l'incidence d'IU et de bactériurie asymptomatique est semblable à celle rencontrée dans la population générale mais elle entraîne des conséquences plus importantes. Une bactériurie asymptomatique en début de grossesse peut évoluer vers une pyélonéphrite dans 13 % à 27 % des cas et entraîne souvent une hospitalisation et un risque d'accouchement prématuré. Même sans pyélonéphrite, des études suggèrent que la bactériurie asymptomatique peut augmenter le risque de complications comme le faible poids à la naissance, l'hypertension de grossesse et le travail prématuré (11)

– Chez l'homme, la fréquence est faible jusqu'à la soixantaine, puis elle s'élève à 4% du fait des obstacles cervicoprostatiques.

Les IU représenteraient : 1 à 2 % de l'activité des médecins généralistes. Les IU nosocomiales représentent 40 % des infections nosocomiales. (11)

La pathologie infectieuse urinaire est fréquente aussi bien en milieu communautaire qu'hospitalier. Elle constitue à ce titre une préoccupation de santé publique. Les données de la littérature montrent qu'E-coli est la bactérie prédominante dans l'IU.

3. Physiopathologie

3-1 Classification des infections urinaires Les IU sont divisées en deux classes :

1- Les infections urinaires simples (IUS)

Elles se développent chez des patients sans facteur de complication. En pratique, elles ne concernent que la femme jeune, sans terrain particulier, sans comorbidité et sans anomalie organique ou fonctionnelle de l'arbre urinaire. Les IUS comprennent les cystites aiguës simples et les pyélonéphrites aiguës simples. (12)

2- Les infections urinaires compliquées (IUC)

Elles surviennent chez des personnes ayant au moins un facteur de risque pouvant rendre l'infection plus grave et le traitement plus complexe qui peuvent être (12)

- les anomalies organiques ou fonctionnelles de l'arbre urinaire : résidu vésical, reflux, lithiase, tumeur, acte récent).
- certaines situations pathologiques : diabète, immunodépression, insuffisance rénale...
- certains terrains physiologiques : enfant, sujet âge avec comorbidité, grossesse.

3-2 Origine de l'infection

a) Infection endogène

Les infections endogènes ou auto-infections sont celles où le malade fait une infection à ses propres germes qui sont souvent d'origine digestive et dont le risque est d'autant plus important lorsqu'il existe une incontinence anale ou une diarrhée (13)

ou au décours d'une procédure invasive de soins (sondage vésical, cathétérisme…), ou en raison d'une fragilité particulière.

Ces cas ne peuvent qu'être majorés au cours de l'alitement à l'hôpital du fait de l'immobilisation et de la situation de dépendance du patient (14)

b) Infection exogène

Les infections d'origine exogène sont celles où le malade fait une infection à partir d'un germe qui lui a été transmis soit par manu-portage (via le personnel de soins ou plus rarement, directement d'un patient à un autre), soit par du matériel ou des instruments mal désinfectés, ou bien par l'environnement hospitalier (eau, air, surface, alimentation…). En réalité, la majorité de ces infections sont évitables (11)

3.4 Voies de contamination de l'infection urinaire

L'arbre urinaire est normalement stérile, à l'exception de la flore des derniers centimètres de l'urètre distal qui diverse et reflète à la fois la flore digestive, la flore cutanée et la flore génitale. (15)

3-4-1 Infection communautaire

Les micro-organismes atteignent l'appareil urinaire par différentes voies :

Ascendante essentiellement, mais aussi hématogène ou lymphatique, ou encore par extension à partir d'un autre organe.

a) Voie ascendante

L'infection par voie ascendante à point de départ urétral est la cause la plus fréquente de l'infection urogénitale de l'homme et de l'IU de la femme (14).

Il s'agit d'une contamination spontanée. La flore fécale étant la source habituelle des germes, les bactéries d'origine intestinale colonisent la région périnéale, la cavité vaginale et la partie distale de l'urètre. On incrimine comme facteurs de risque, la distance entre l'anus et le méat, une hygiène défectueuse, ou au contraire excessive, le type de protection menstruelle, de contraception, un déséquilibre hormonal après la ménopause ou un défaut de production cutanée d'anticorps antibactériens (15) Cependant, cette voie d'ascension est plus fréquente chez la femme que chez l'homme.

b) Voie hématogène

Cette voie est moins fréquente, les exceptions les plus notables étant constituées par la tuberculose, les abcès du rein et les abcès périnéaux. Par contre, il arrive souvent que les bactéries pénètrent dans la circulation sanguine au cours des infections aiguës du rein et de la prostate. Une bactériémie est davantage susceptible de venir compliquer une IU quand il existe des anomalies structurales et fonctionnelles que quand l'arbre urinaire est normal. (16)

c) Voie lymphatique

Elle est rare, mais les germes infectieux peuvent gagner la vessie et la prostate par les lymphatiques du rectum et du colon chez l'homme et les voies urogénitales féminines par les lymphatiques. (16)

d) Extension à partir d'un autre organe

Les abcès intra péritonéaux, spécialement ceux qui sont associés à une maladie inflammatoire de l'intestin, une suppuration pelvienne aiguë chez la femme peut permettre une extension directe des germes vers l'appareil urinaire (17)

***Partie 2* : les infections urinaires suite aux sondages**

1 Définition de sondage vésicale

Le sondage vésical est défini par l'introduction, d'une sonde stérile dans la vessie par l'urètre. Le sondage vésical à demeure est un geste invasif à risque infectieux nécessitant une asepsie rigoureuse dès la pose associée à la gestion du système clos pendant toute la durée du drainage. (18)

2 Définition l'infection nosocomial liée aux sondes vésicales

Les infections associées aux sondes urinaires sont les infections nosocomiales les plus courantes et ont un impact significatif sur la morbidité, la mortalité et les coûts de santé. Près de la moitié des patients L'intimé n'a pas expliqué formellement. De plus, le cathéter Restez en place plus longtemps que nécessaire En raison du manque de vigilance du personnel infirmier. Mais, La survenue d'une infection est étroitement liée à la durée du temps de détection. Des mesures simples pour améliorer la sécurité des patients comprennent le suivi des indications, l'examen de différentes alternatives et la réévaluation quotidienne du besoin de sondes***. (19)***

3 Mécanisme d'acquisition

Quatre mécanismes sont possibles ***:***

a. Acquisition lors de la mise en place de la sonde :

Les bactéries colonisant ses derniers centimètres de l'urètre peuvent être directement dans lors du sondage entrainé par la surface externe de la sonde (20)

b. Acquisition par voie endoluminale :

Cette voie de contamination était jadis dominante avec le système ouvert. Les infections urinaires nosocomiales restent évidements possibles en particulier en cas de violation du système clos**.** (20)

c. Acquisition pars voie extra luminale ou péri urétrale :

Qui est la voie de contamination dominante. Les bactéries d'origine digestive colonisent le périnée puis migrent vers l'urètre et la vessie par capillarité dans le fin film muqueux contigu à la surface externe de la sonde. L'incidence journalière de colonisation varie selon les

situations de 3 à 10 % par jour de sondage avec un risque cumulé de 100 % après 30 jours de sondage. (20)

d. Acquisition par voie lymphatique ou hématogène :

Cette porte d'entrée est incontestable mais certainement mineure. L'incidence journalière d'acquisition d'une infection urinaire nosocomiale sur sonde a beaucoup diminué avec les systèmes clos, variant selon les situations de 3% à 10% par jour de sondage, et avec un risque cumulé de 100% après 30 jours de sondage**.** (21***)***

4 Facteur de risque

a _Les facteurs extrinsèque

Les sondes vésicales sont responsables de 60 à 80 % des infections urinaires nosocomiales. La durée du sondage est également un facteur déterminant. Plusieurs mécanismes sont impliqués

* l'altération des moyens de défense vésicale par action mécanique sur l'endothélium.

* la perturbation du transit urinaire avec presque toujours un résidu minime.

* la production d'un biofilm qui soustrait les bactéries à l'action du système immunitaire et des antibiotiques.

b _ **Facteurs intrinsèques**

- Sexe : plus d'infections chez les femmes, mais une morbi-mortalité plus importante chez les hommes.
- Âge supérieur à 50 ans : le risque d'infection est multiplié par 2 après 65 ans, par 5 après 85 ans.
- Diabète : il peut influencer le volume de la miction et la nature des urines.
- Antibiothérapie préalable.
- Pathologie sous-jacente, notamment néoplasique.
- Diarrhée nosocomiale. (20)

5 Les type et symptôme des infections urinaires nosocomial

A- La cystite

Infection localisée à la vessie, le plus souvent d'origine bactérienne, bénigne, toujours d'origine ascendante. Souvent elle et due à une infection par *Escherichia coli* présent dans l'intestin. Plus rarement ; peut être due ou champignon *Candida albicans*. (22)

B - L'urétrite infectieuse

Si l'infection touche uniquement l'urètre, il s'agit souvent d'infection sexuellement transmissible courant chez les hommes et les femmes. Les germes en cous sont la clamidia et le gonocoque (23)

C - La pyélonéphrite

La pyélonéphrite : infection des reins, c'est une inflammation du bassinet (pyélite) plus suppuration du tissu rénal (néphrite). Elle est caractérisée par :

La douleur lombaire, unilatérale, irradie en avant et en bas,

Une fièvre à 40°C avec des frissons,

Pouls rapide,

Un syndrome inflammatoire est toujours présent, son absence doit faire reconsidérer le diagnostic.

La pyélonéphrite secondaire : à une anomalie urologique, souvent due à des germes multirésistants, peuvent s'accompagner de - sepsie, - créer des lésions rénales graves. **(24)**

D - La prostatite aiguë

La prostatite peut être aigue ou chronique selon la durée des symptômes et représente la plus courant UTI récurrent chez les hommes de tout âge, avec une fréquence particulière chez les jeunes adultes. Il présente généralement une douleur, une fréquence, une urgence et une dysurie périnéale ou scrotale. **(23)**

6 Rôle des sondes aux autres dispositifs dans la promotion de l'IU

a. Altérations des moyens de défense vésicale

Le cathéter peut endommager mécaniquement l'urothélium et la couche de glycosaminoglycanes (25).

La sonde urinaire et son ballonnet sont en effet une source constante d'irritation pour la muqueuse (26).

Lors des interventions ou des autopsies, des érosions sont fréquemment observées chez les patients ayant été traités avec un cathéter à ballonnet (26) favorisant l'adhésion des bactéries (27)

b. Perturbations du transit urinaire

La vessie sondée à demeure se transforme en un " dispositif de culture permanent ". En effet, Le drainage est souvent imparfait laissant un résidu vésical et la sonde est le support du Biofilm (25).

c. Production d'un biofilm

Qu'elles soient d'acquisition endoluminale ou extra luminale, les bactéries qui colonisent le cathéter croissent sous forme de micro colonies enchâssées dans un biofilm qui les protège. Le biofilm favorise à son tour l'adhésion des microorganismes aux corps étrangers, et constitue un sanctuaire les protégeant des mécanismes de défense de l'hôte et des agents antimicrobiens. Le biofilm peut se développer à la fois en intraluminal et en extra luminal, avec une progression le Plus souvent rétrograde (28).

Généralités sur les biofilms

Définition

Les biofilms microbiens sont une population naturelle de microorganismes intégrés dans une matrice visqueuse protectrice composée de divers types de polysaccharides, de protéines, d'acides nucléiques et de lipides de synthèse microbienne (54)

I-3- Étapes de formation d'un biofilm

Stoodley et al. (2002) décrivent le développement d'un biofilm comme un processus en cinq étapes (figure 2) :

Étape 1 fixation initiale réversible des cellules à la surface,

Étape 2 production d'EPS résultant en une fixation "irréversible" plus fermement adhérée,

Étape 3 développement précoce de l'architecture du biofilm,

Étape 4 maturation de l'architecture du biofilm,

Étape 5 dispersion de cellules uniques du biofilm. Synthèse bibliographique (55)

.

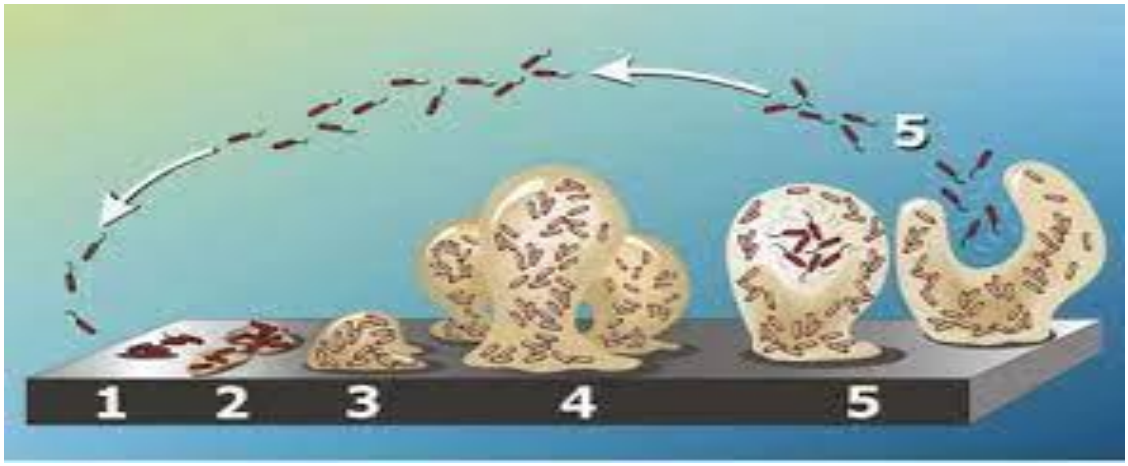


Figure 2 : Cycle « biofilmisation – planctonisation (56)

Lorsque les bactéries sont au voisinage d'une surface, des forces d'attraction physico-chimiques interviennent et conduisent à une interaction réversible avec la surface.

Dans un second temps, à mesure que les cellules se divisent, le nombre de bactéries associées à la surface augmente et l'adhésion devient irréversible.

Cette transition vers une adhésion irréversible correspond à la synthèse de structures à la surface de la bactérie, qui s'accompagne d'une profonde modification du profil d'expression des gènes

La troisième étape est caractérisée par la formation de micro colonies composées à la fois des bactéries initiales qui se divisent et de bactéries qui s'attachent sur le biofilm en formation.

Le stade de maturation correspond au développement des micro colonies et à la structuration du biofilm. Les espaces séparant les micro colonies deviennent les canaux du biofilm à l'intérieur desquels les fluides nutritifs peuvent circuler.

Certaines bactéries peuvent se détacher du biofilm mature et rentrer dans la phase de dissémination. Cette dernière étape permet la colonisation de nouvelles surfaces (57)

Chapitre 2

1. Généralité sur les Entérobactéries

Les entérobactéries constituent un grand groupe de bactéries ayant une forte similitude. La création de ce groupe a été proposée par Rahn en 1937 qu'il dénomma Enterobacteriacea. Si le nom de famille est toujours maintenu, en revanche le classement des bactéries dans la famille a beaucoup évolué (29). Actuellement, les entérobactéries sont classées sur la base du séquençage des ARN 5S et 16S dont 44 genres sont regroupés en cinq tribus, d'après leurs propriétés fermentatives : *Escherichia, Klebsiella, Proteus, Yersinia et Erwiniae* (67). Les genres les plus communément isolés en bactériologie clinique sont : *Citrobacter, Enterobacter, Escherichia , Hafnia , Klebsiella , Morgan_Ella, Proteus, Providences, Salmonella, Serratia, Shigella et Yersinia* (29).

1.1 Classification

Les bactéries sont classées de différentes manières :

1. **Noms scientifiques**

Les bactéries tout comme les autres êtres vivants, sont classées par genre et, à l'intérieur du genre, en espèces. À l'intérieur d'une espèce, il peut exister différents types appelés des souches.

2. **Coloration**

Les bactéries peuvent être classées selon la coloration qu'elles prennent après traitement par certaines substances chimiques (colorants). La coloration de Gram est un processus de coloration couramment utilisé. Certaines bactéries sont colorées en bleu. Elles sont dites gram positive D'autres sont colorées en rouge. Elles sont dites gram négative. La différence de coloration entre des bactéries Gram positives et des bactéries Gram négatives est due à des différences au niveau de leurs parois cellulaires.

3. **Formes**

Il existe trois formes de base permettant de classifier les bactéries : forme sphérique (coques), forme de bâtonnets (bacilles) et forme de spirale ou d'hélice (spirochètes).

4. **Besoin en oxygène**

La classification des bactéries est faite également suivant leurs besoins en oxygène pour vivre et se multiplier. Celles qui ont besoin d'oxygène sont dites aérobies. Celles qui ont du mal à vivre ou qui ne peuvent pas se multiplier en présence d'oxygène, sont sites anaérobies. Certaines bactéries appelées bactéries aéro-anaérobies facultatives peuvent vivre et se multiplier avec ou sans oxygène

5. **Caractéristiques génétiques :** Des examens spécialisés peuvent permettre de déterminer les différences au niveau des caractéristiques génétiques (génotype) des bactéries. (30)

1.1.1 Bacile gram négative

a. *Escherichia coli*

Escherichia coli, ou colibacille, est le terme le plus fréquemment rencontré dans les Infections urinaires. Il représente plus de 90% de la flore aérobie commensales du tube digestif. Chez le sujet alité, il peut envahir avec d'autres espèces commensales du tube digestif, les régions prés anales puis le revêtement cutané en particulier au niveau des plais **(31)**

Caractéristiques

Escherichia coli, hôte normale de l'intestin de l'homme et des animaux, est un bacille à gram négatif d'une taille moyenne de 4.1 x 2µ peu ou pas mobile. Il est de culture sur les milieux les plus simples, il donne des colonies opalescentes, rondes, lisses, d'environ 3-5 mm de diamètre. Les colibacilles possèdent une paroi, une capsule et des flagelles qui sont tous les traits antigéniques (31)**.** L'identification des colibacilles est basée sur des caractères positifs tels que la production d'indole (indole+) et le clivage du lactose (lactose+), ainsi que des caractères communs à toutes les *Entérobactéries* tels que la fermentation du glucose (avec production du gaz) **(31)**

b- *Enterobacter cloacae*

Le genre *Enterobacter* a pris une importance croissante du fait de son implication dans les infections nosocomiales.

C'est un pathogène opportuniste responsable d'infection urinaire bactériémie infection respiratoire. Infection tissulaire après une plaie souillée par de la terre, il est souvent associé à *Bacillus cereus*. Des septicémies dues à la contamination de préparations pour nutrition parentérale conservées au réfrigérateur ont été décrites.

Il est possible d'isoler *E. cloacae* dans la plupart des prélèvements effectués chez l'homme (urine, sécrétions bronchiques, plaie ou pus, hémoculture). Il est isolé aussi dans des aliments, du lait maternisé et l'eau de boisson (32)

Caractéristiques

Bacilles à Gram négatif, mobiles, non sporulés. Aéro-anaérobie. Cultive facilement sur milieux ordinaires à 37°C. Les colonies ont l'aspect classique des colonies d'entérobactéries. Elles ne sont pas pigmentées.

Oxydase -, catalase +Nitrates +, glucose +, lactose +, H2S -,

ONPG +, citrate +, indole -, VP +, ODC +, LDC -, ADH +, gélatinase –,

Sorbitol +, saccharose +.

Esculine et uréase permettent d'individualiser 2 sous espèces : *cloacae* et *dissolvens* (32)

c- *Proteus spp*

Les *Proteus* en général constituent des bactéries uropathogènes majeures : infections non compliquées du tractus urinaire, infections chez des patients prédisposés (altérations structurales du tractus urinaire, diabète, acte chirurgical). Les *Proteus* sont également retrouvés fréquemment dans les septicémies, surtout chez les personnes âgées. Les *Proteus* (surtout *P. mirabilis*) peuvent infecter la peau et les tissus (plaies, abcès divers).

Ce genre est souvent impliqué dans des infections nosocomiales, deux tiers des infections à *Proteus* sont d'origine hospitalière, les infections urinaires sont les plus fréquentes **(33)**

Caractéristiques

Bacilles mobiles à Gram négatif *P. vulgaris* cultive facilement sur milieux simples à 37°C. La plupart des souches (85 à 100%) essaiment sur gélose nutritive et gélose au sang et envahissent la gélose en formant des vagues concentriques cette propriété, liée à la mobilité importante, ne se produit pas sur les milieux dépourvus de Na Cl et sur les milieux sélectifs dépourvus de sels biliaires. C'est une Entérobactérie : oxydase -, catalase +, glucose +, nitratas +. Genre *Proteus* : lactose -, ONPG -, LDC-, TDA +, uréase +, H2S + (excepté *Proteus myxofaciens*, jamais retrouvé dans un prélèvement d'origine humaine), gélatinase + (environ la moitié des souches de *P. vulgaris* et *P. penneri* sont +).

Espèce *Proteus vulgaris* : indole +, esculine +, fermentation maltose et salicine, citrate variable. (33)

d – *Pseudomonas spp*

Le genre de *Pseudomonas* retrouve dans des habitats naturels comme le sol, l'eau douce, les eaux marines etc., mais il a également été isolé des instruments cliniques, (34)

Pseudomonas aérogènosa est un agent pathogène opportuniste qui est important dans l'étiologie de nombreuses maladies infectieuses humaines (35)

Les infections avec cette bactérie sont souvent accompagnées par un pus bleu, et la bactérie est communément isolé des spécimens cliniques (plaies, brûlures et infections des voies urinaires) (36)

Caractéristiques

Les *Pseudomonasse* sont des bacilles à Gram négatif, droits ou légèrement incurvés, de 0,5 à 1,0 µm de diamètre sur 1,5 à 5,0 µm (ou plus) de longueur, non sporulés. Ces bactéries sont généralement mobiles grâce à un ou plusieurs flagelles polaires (38)

La culture de cette bactérie est facile avec ou sans production de pigments, sur des milieux minéraux synthétiques avec une source simple de carbone : acétate, pyruvate et des milieux sélectifs à base de cétrimide que l'on peut additionner d'acide nalidixique.

Les colonies de *P. aérogènosa* sont polymorphes, soit large avec une partie centrale bombée et un contour irrégulier (œufs sur le plat), soit des petites colonies mates légèrement bombées avec un bord circulaire régulier, des colonies muqueuses bombées, opaques, visqueuses parfois coulantes. (39)

1.1.2cocci gram positive

A -*Staphylocoques*

Les *staphylocoques* ont été découverts par Pasteur et Koch en 1877-1878 à partir du pus de furoncle et d'ostéomyélite (40). Les *staphylocoques* à coagulase négatives sont des germes ubiquitaires (41). Ils peuvent vivre dans la nature comme saprophytes ou comme des commensales généralement inoffensives sur la peau, les tissus membranaires et les muqueuses de l'homme et des animaux (mammifères et oiseaux) (24)

Classification

Famille : *Micrococcaceae*

Genre : *Staphylococcus*

Espèce : *aureus* (43)

Caractéristique

Staphylococcus aureus est une Cocco bactérie Gram positif, catalase positive appartenant à la famille des *Staphylococcaceae* (44). Il a un diamètre d'environ 0,5 à 1,5 µm, est immobile, asporulé et facultativement anaérobique (sauf *S. aureus* anaérobiose); il est habituellement disposé en grappes. De nombreuses souches produisent des entérotoxines s*taphylococciques,* la toxine super antigénique du syndrome de choc toxique et des toxines exfoliatives. *Staphylococcus aureus* fait partie de la flore humaine et est surtout présent dans le nez et sur la peau (45)

.

b-*Entérocoque*

E. faecalis fait partie de la flore digestive de l'homme et des animaux. Il peut, par contamination de voisinage, coloniser la peau, notamment la région périnéale et le vagin. Comme les entérocoques, cette espèce peut se rencontrer dans l'environnement : (eaux usées, eau douce, sol), et contaminer les aliments.

E. faecalis est principalement responsable d'infections urinaires le plus souvent secondaires après explorations urologiques, d'endocardite évoluant sur une mode subaiguë, sur valves natives ou sur prothèses, et survenant après explorations digestives ou urologiques, d'infections intraabdominales (biliaires,) de suppurations diverses. Le caractère polymicrobien des surinfections à *Entérocoques* est fréquent (*entérobactéries* et anaérobies).

Comme tous les *Enterococcus,* cette espèce peut être sélectionnée par certains traitements antibiotiques (céphalosporines de 3° génération, qu'insolons). Les infections peuvent avoir un caractère nosocomial**.** (46)

- Classification

-Famille : *Micrococcaceae*

-Genre : *Enterococcus*

-Espèce : *faecalis **(46)***

Caractéristique

Coques d'aspect ovoïde en courtes chaînes, immobiles en bouillon et acapsulés.

Gram +. Anaérobies facultatifs aérobies tolérants Culture facile sur géloses au sang de mouton : les colonies sont généralement non hémolytiques ; une sous-espèce *E. faecalis* variété zymogènes est ı-hémolytique. Elles sont larges (0,5-1mm), opaques, blanchâtres, sans aucun pigment jaune. Croissance possible dans des conditions hostiles Pousse à 45°C comme tous les entérocoques. Des milieux sélectifs contenant des antibiotiques (acide nalidixique et colistine) permettent désélectionner les entérocoques d'un échantillon polymicrobien.

Oxydase -, Catalase -. Caractères des principales espèces du genre *Enterococcus*

Production de pyrrolidonyl-arylamidase production de leucine aminopeptidase esculine hydrolysée pousse sur milieu hypersalé à 6,5% de Na Cl pousse sur gélose biliée à 40%. hydrolyse de l'arginine résistant au tellurite de potassium fermentation des sucres : mannitol +, arabinose -, raffinose -, sorbitol +*(46)*

c-*streptocoque B*

Streptocoque b provoque l'infection maternelle de la femme enceinte et du post-partum :

Colonisation asymptomatique chronique ou intermittente des voies génitales, bactériurie asymptomatique

- Bactériémie, infections urinaires, chorioamniotite, endométrite dans les 48h suivant L'accouchement

Infection aigue de l'adulte en dehors de la grossesse (4/100,000 habitants**) :** touche surtout les personnes > 65 ans et les personnes atteintes de pathologies sous-jacentes (diabète, éthylique chronique, cancer, insuffisante hépatique, insuffisance cardiaque,(47)4spèce

- Classification

-Famille *Streptococcoceae*

-Genre : *Streptococcus*

-Espèce : *agalactie* (47)

Caractéristique

Streptococcus groupe b est une bactérie Gram positif anaérobie facultative (48). Il est habituellement disposé en paires ou en chaînes comptant jusqu'à 50 cellules ou plus, il a une forme ovoïde et mesure habituellement 0,5-1,0 par 1,0-2,0 µm (49). Il est β-hémolytique sur gélose au sang et possède 9 sérotypes différents (50)

1. Candida albicans

C. albicans est un microorganisme commensal qui fait partie des flores microbiennes endogènes gastro-intestinale, oropharyngée et génitale féminine (51) Cependant, il s'agit aussi chez l'humain d'un pathogène opportuniste (52) pouvant causer des affections potentiellement mortelles chez les sujets immunodéprimés comme immunocompétents (52)

- Caractéristique

Membre de la famille des *Candidaceae, Candida albicans* est un champignon diploïde et encapsulé1 classé parmi les polymorphes car il peut prendre l'aspect de levures ou l'aspect de pseudo-hyphes selon la température, le pH et les nutriments du milieu (53). La forme levure est associée à une production de blast conidies et est la forme de C. albicans la plus couramment observée. Les pseudo-hyphes sont quant à eux caractérisés par une absence des structures propres aux hyphes vrais (parois parallèles, septum, etc.), ces derniers prenant

l'allure de longs filaments et pouvant produire des chlamydospores aux parois épaisses (53). La reproduction asexuée se produit par bourgeonnement pour donner des blastoconidies (53)
Les colonies apparaissent de 48 à 72 heures après la mise en culture à 37 °C sur un milieu d'isolement des champignons, par exemple sur une gélose de Sabouraud.

2 Résistance aux antibiotiques

2-1Définition

Une souche est dite résistante lorsqu'elle se cultive en présence de concentration plus élevée en antibiotique comparativement à d'autres souches qui lui sont phylogénétiquement liées. Par conséquent, la résistance est une propriété qui ne peut être étudiée que par comparaison d'au moins deux souches, dont l'une de référence souvent appelée souche sauvage et développée en laboratoire à partir d'individus prélevés dans la nature, d'une même espèce ou d'un même genre, cultivées dans les mêmes conditions (115).

2-2Types de résistances

Il existe de nombreux mécanismes aboutissant à l'expression de la résistance et suivant son caractère inné ou acquis : la résistance naturelle et la résistance acquise.

2-2-1. Résistance naturelle (ou intrinsèque)

La résistance naturelle est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce, elle est détecté dès les premières études réalisées sur l'antibiotique afin de déterminer son activité et contribue à définir son spectre antibactérien. Cette résistance peut être due à l'inaccessibilité, une faible affinité ou encore a l'absence de la cible pour l'antibiotique. Par exemple, la résistance des entérobactéries et du Pseudomonas aux macrolides ou des bactéries a gram négatif a la vancomycine est naturelle. La résistance bactérienne naturelle est permanente et d'origine chromosomique. La résistance naturelle est stable, transmise a la descendance (transmission verticale) lors de la division cellulaire, mais elle n'est généralement pas transférable d'une bactérie a l'autre (transmission horizontale) (116). Dans les résistances naturelles, on trouve la capacité de certaine espèce de bactérie à former un biofilm. Ce dernier joue un rôle dans le ralentissement de la diffusion de l'antibiotique par la synthèse et l'augmentation de l'épaisseur de glycane.
Bien qu'il est chargé négativement va retenir certains antibiotiques comme les aminosides qui ne pourront pas atteindre leur cible d'action (117) .

2-2-2 Résistance acquise

La résistance acquise résulte d'une modification du capital génétique de la bactérie, lui permettant de tolérer une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce (118). Elle ne concerne que quelques souches d'une même espèce mais peut s'étendre à d'autres bactéries. Sa fréquence varie dans le temps mais aussi dans l'espace (région, ville, hôpital ou même service). Elle constitue un marqueur épidémiologique (119). Ce type de résistance est souvent instable et possèdent deux formes d'acquisition :

Soit par une mutation spontanée, soit par l'acquisition de gènes par un autre microorganisme (116).

3. Mécanismes généraux de résistance

Nous savons que pour agir, un antibiotique devra dans un premier temps pénétrer la bactérie, il devra ensuite arriver à sa cible (via un transporteur ou par diffusion passive), puis se fixer à sa cible pour produire son effet : bactéricide ou bactériostatique (120). Les mécanismes de résistance sont au nombre de 4.

a. Résistance par imperméabilité Imperméabilité de la paroi

Chez les Gram (–) : la diffusion est bien plus compliquée que celle des Gram (+) à cause de phospholipide et de LPS qu'ils sont composés de membrane externe. A noter que souvent, il y a présence de porines, canaux permettant quand même le passage de certain produit y compris d'antibiotiques à travers la membrane externe (120).

3-1Imperméabilité de la membrane externe

Chez les *Entérobactéries* ou les *Pseudomonas,* il y a une résistance naturelle aux macrolides, pénicillines G et M, à l'acide fusidique et à la vancomycine. Ces antibiotiques n'arrivent simplement pas à traverser la membrane souvent en raison de leur taille trop importante. Pour ce qui est des antibiotiques hydrophiles, ces derniers traversent la paroi via les porines (120).

3-2Imperméabilité de la membrane cytoplasmique

Pour pénétrer dans la bactérie, l'antibiotique va avoir deux possibilités, il utilisera soit un transport passif ou un transport actif. Pour que ce dernier qu'il est dépendant d'une phosphorylation oxydative de la bactérie se déroule normalement, la bactérie a besoin d'oxygène donc on voit clairement que les bactéries anaérobies seront naturellement résistances aux aminosides puisqu'elles n'utilisent pas d'oxygène pour leur fonctionnement. La membrane interne cytoplasmique porte sur sa face externe les PLP (protéine liant les pénicillines) enzymes cible des β-lactamines (120).

3-3Imperméabilité par formation d'un biofilm

Certaine bactérie sont capables de produire un film épais qui va ralentir la diffusion de l'antibiotique et l'exposer plus longtemps aux enzymes de dégradation (121).

a) . Résistance par efflux actif

Il s'agit d'un système d'exportation de l'antibiotique en dehors de la bactérie. Il s'agit d'un mécanisme actif, la bactérie synthétise des protéines d'export qui vont emporter l'antibiotique à l'extérieur de la bactérie. Ainsi il ne peut pas se fixer à sa cible et est inefficace. On connait ce mécanisme notamment pour les tétracyclines (122).

b) Résistance par modification de la cible

La modification structurelle de la cible entrainant une perte d'affinité dans le couple cible antibiotique. La bactérie peut synthétiser une cible modifiée additionnelle via l'apport d'un plasmide par exemple. C'est le cas de Staphylococcus aureus résistant à la méticilline ou SARM (123), elle peut également induire une hyperproduction de la cible : il s'agit d'un phénomène très fréquent qui touche tétracyclines, macrolides, quinolones, β-lactamines, aminosides, rifampicine, Bactrim notamment (120).

c) Résistance par dégradation de l'antibiotique

La bactérie va synthétiser une enzyme qui va modifier l'antibiotique le rendant inefficace (ATB ne reconnait plus ou ne peut pas se fixer sur son site d'action). Parmi les exemples de la littérature, l'exemple le plus connu est celui du couple β-lactamase et pénicilline. On retrouve ce phénomène pour une autre famille, les céphalosporines cousines des pénicillines (124).

d) Résistance par modification du métabolisme bactérien

Ce type de résistance concerne surtout les sulfamides Inhibant la voie métabolique conduisant à la synthèse des bases puriques et pyrimidiques. Les bactéries peuvent compenser en fabriquant plus de précurseur (ou en augmentant sa synthèse d'enzyme (la dihydrofolate réductase par exemple) car ces dernières sont inhibées par l'ATB. Elles peuvent également synthétiser des enzymes avec moins d'affinité pour l'ATB (120).

Matériel et méthode

Lieu et période d'étude

La période d'étude a été réalisée sur une durée de 4 mois (de janvier à Mai 2021), au sein du laboratoire du wilaya EPSP de Médéa, et le laboratoire pédagogique de la faculté des sciences université Yahya Farès de Médéa

1-Matériel

Le matériel utilisé dans la présente étude listée à l'annexe

2-Méthodes

2.1 Echantillonnage

Les échantillons d'urine analysés au cours du stage ont été prélevés à partir des Patients hospitaliseé à des sondes vésicales de différents services de l'hôpital Mohamed Boudiaf avec un nombre total de 77 échantillons, et 23 échantillons obtenus au niveau du laboratoire EPSP de Médéa

2-2- Recueil des urines

2-2-1 Chez les patients sondés

quinze minutes avant le soin : on a clampé la sonde au-dessous du site de prélèvement. Cela permet d'obtenir un volume d'urine suffisamment important.

Le matériel a été Préparé et le patient Installé de façon à pouvoir facilité le prélèvement, le site de ponction a été désinfecté au Dakin et garder le site de prélèvement posé sur une compresse stérile, sur le lit.

On a introduit l'aiguille de la seringue dans l'orifice du site de prélèvement, Une fois la seringue remplie, la seringue est enlevée le site de prélèvement sur la compresse stérile puis le contenu de la seringue est versé dans le pot de recueil (figure 03)

Sans toucher les bords du pot ni les bords de son couvercle. La sonde a été déclampé et repositionner -là de façon à ce que les urines s'écoulent bien dans la poche.
La sonde a été déclampé et on a repositionné-là de façon à ce que les urines s'écoulent bien dans la poche. (58)

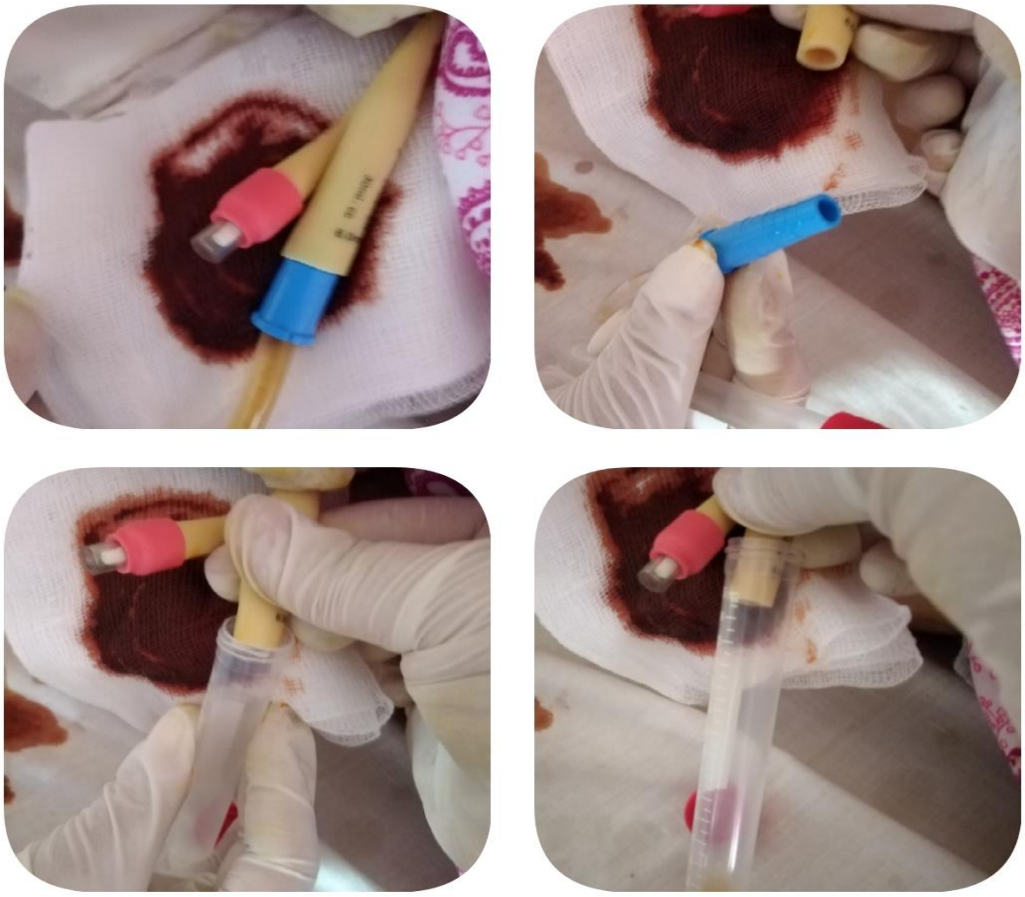


Figure 3 : prélèvement des urines à partir d'une sonde vésicale (pris personnel 2021)

2-2-2 Chez les patients non sondés

Au niveau du laboratoire EPSP L'urine de patient a été recueillie dans un récipient stérile ne contenant pas de trace de détergent ou d'antiseptique (59)

2-3-Acheminement

Conservation et transport des urines, Afin d'éviter la prolifération bactérienne, le transport au laboratoire a été fait en moins de 2 heures (par poche glaisière à +4 C°) (60)

2-4- Etiquetage

Au laboratoire, les échantillons reçus sont soigneusement étiquetés. Chaque étiquette doit contenir le nom et prénom du patient, le numéro d'ordre, la date, l'heure et l'âge.

3-Bandelettes urinaires

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

L'urine est correctement homogénéisée en tournant lentement, à plusieurs reprises, La bandelette est immergée une seconde (au maximum) dans l'urine en humectant entièrement toutes les zones réactives.

La lecture de la bandelette a été faite visuellement en la comparant avec la gamme colorimétrique indiquée sur l'emballage. Après 1 minute, la lecture des résultats est faite pour les nitrites, le pH, les protéines, le glucose, les corps cétoniques, l'urobilinogène, la bilirubine et le sang. Après 2 minutes, la lecture des résultats pour les leucocytes est faite. Les résultats sont notés avec les unités correspondantes sur le rapport d'analyse. (61) (figure)



Figure 4 : étude chimie des urines sur bandelettes urinaire(pris personnel 2021)

4- examen cytobactériologique des urines (ECBU)

L'examen cytobactériologique des urines consiste à analyser les urines d'une personne pour mettre en évidence une leucocyturie et les éléments urinaires anormaux afin de déceler une éventuelle infection urinaire. Déterminer la présence de bactéries dans les urines (bactériurie). (62)

4.1. Examen macroscopique

L'examen macroscopique de l'urine homogénéisée permet d'apprécier la limpidité et de noter l'existence d'une hématurie. Son intérêt reste limité. En effet, le caractère trouble d'une urine ne signifie pas systématiquement la présence d'une infection et peut simplement refléter la présence de cristaux. La coloration des urines n'est pas synonyme d'hématurie et peut être liée à une prise médicamenteuse (rifampicine).

4-2 **Examen microscopique** :

L'examen microscopique est la meilleure méthode pour la détection des éléments présents dans l'échantillon d'urine tel que les hématies et les polynucléaires ; les cristaux ; les levures ; les cylindres et aussi la présence de germes. Leur dénombrement est réalisé en déposant un

volume précis d'urine entre une lame et lamelle, ensuite la lame est examinée à l'état frais sous microscope à l'objectif x40. Le nombre des éléments présents est rapporté au ml. (21) (figure 05)

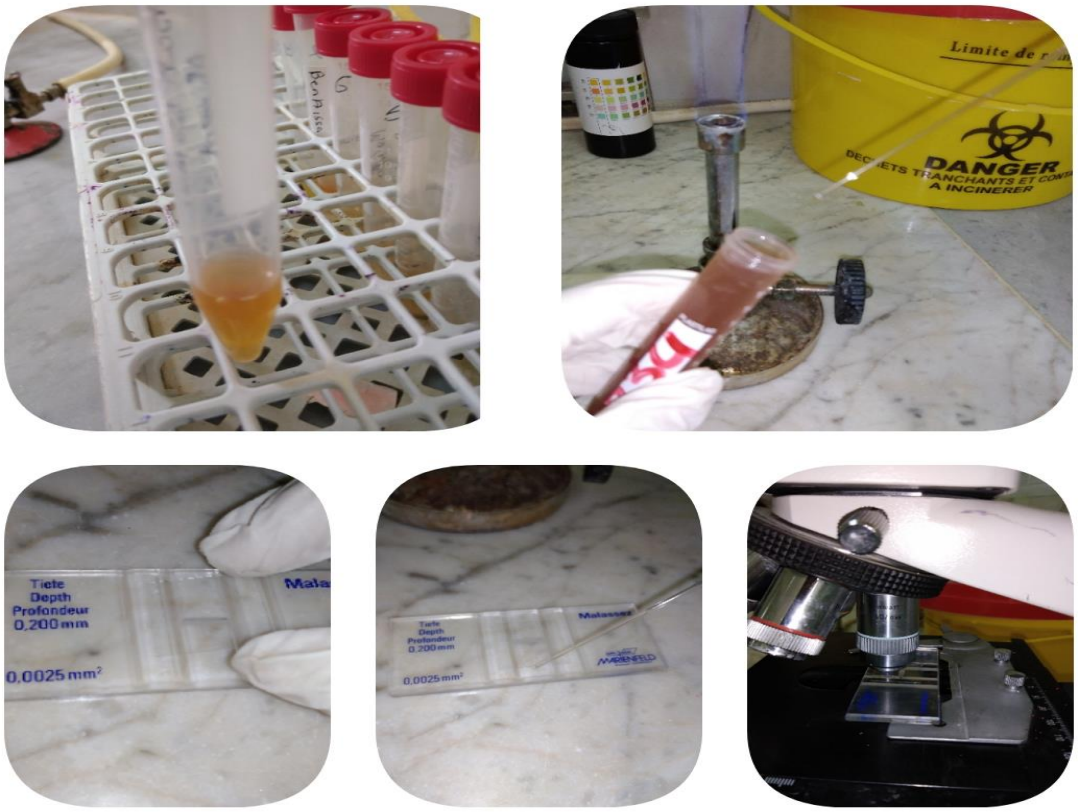


Figure 5 : les étapes de l'examen microscopique (pris personnel2021)

4- 3 Examen cytologique

La leucocyturie est mesurée par numération dans un volume donné d'urine homogénéisée sur cellule de type Malassez .Ce nombre est rapporté par millilitre. En cas d'infection urinaire, un processus inflammatoire se traduit par la présence de plus De 10^4 leucocytes/ml, parfois en amas, fréquemment associée à une hématurie supérieure à 10^4 hématies/ml (environ 30 %). La présence de cylindres doit être signalée. (64)

4- 4Exemen bactériologique

La culture répond à un double objectif : l'isolement et le comptage des bactéries. C'est le seul moyen d'identifier avec précision les micro-organismes colonisateurs dans l'urine. La plupart des bactéries qui causent des infections des voies urinaires ne sont pas exigeantes et se développent sur de la gélose ordinaire et de la gélose nutritive (65)

Les milieux sont utilisés dans cette étude sont : la gélose nutritive (GN), Hektoene, Chapman, BCP et Gélose au sang (annexe 1)

Ensemencement et incubation :

10 Ul a été ensemencer d'urines par épuisement sur la gélose nutritive (quatre traits) et 10 Ul par quatre stries sur la gélose Hektoene et BCP L'incubation a été faite pendant 18 à 24 heures à une température de 37°C.

Dénombrement

La flore bactérienne totale a été dénombré sur la gélose nutritive en observant la charge de chaque trait, ainsi la présence des *Entérobactéries* a été observée sur gélose Hektoene. Si on trouve une bactériurie positive sur GN, mais la culture bactérienne est négative sur Hektoene, il s'agit donc d'une espèce à Gram positif (*Staphylococcus).*

4-5 isolement et purification

L'isolement des *staphylococcus* a été fait sur Chapman à partir d'une colonie bien isolée à partir de la gélose nutritive à l'aide d'une pipette Pasteur, puis incube à 37C°

Et l'isolement des leveurs a été fait sur le milieu Sabouraud à partir d'une colonie isolée à partir de gélose nutritive à l'aide d'une pipette pasteur, puis incubé à 37 C° /

L'isolement des *Entérocoque* a été fait sur le milieu BEA d'une colonie isolée à partir de gélose nutritive à l'aide d'un pipette pasteur, et incubé à 37 C° 24 h La lecture, Des colonie par un halo noire (113)

5 Examen direct à l'Etat frais

A l'aide d'un pipete pasteur une colonie isolé à partir de GN, est déposé entre lame et lamelle, l'observation se fait au microscope optique à l'objectif (×40).

L'étudié de la Morphologie des germes, la mobilité ainsi que le mode d'assemblage des bactéries et la recherche a été réalisé des levures sont mises en évidence par cet examen. Une culture sur milieu approprié est le test qui doit compléter cet examen . (66)

6 Examen direct après coloration de gram

La coloration de Gram est une coloration classique en microbiologie. Elle permet de distinguer deux (2) types de bactéries, les bactéries en Gram négatifs (G-) et les bactéries en Gram positives (G+). Celles-ci diffèrent de part de la composition de leur paroi, notamment par l'épaisseur du peptidoglycane, ou la présence d'une membrane externe. (annexe)

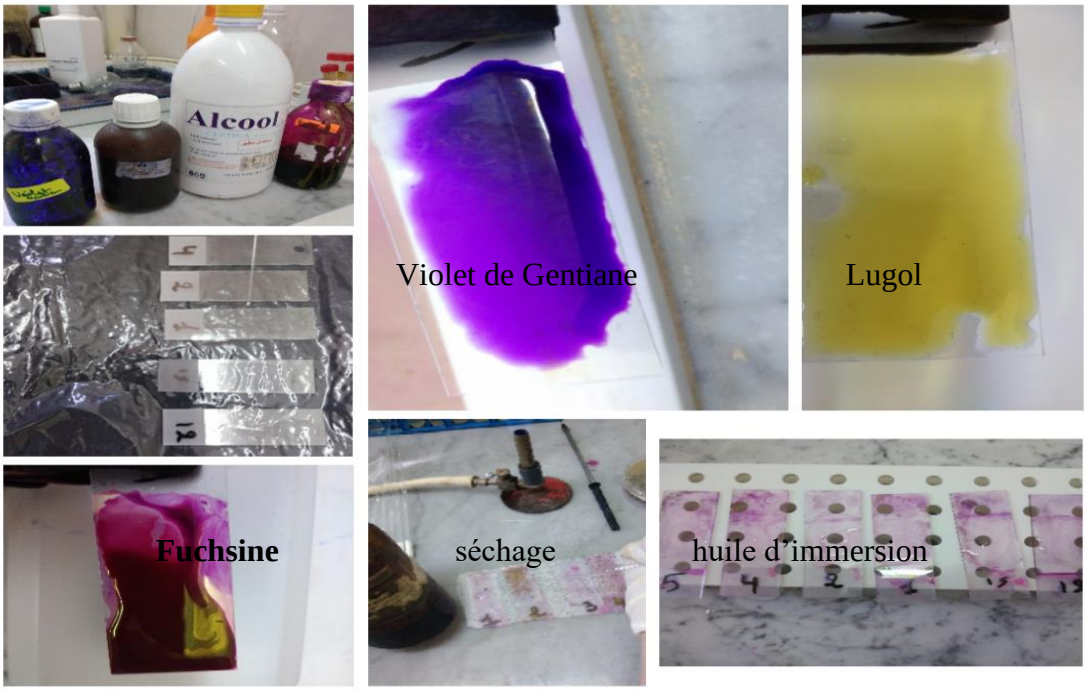


Figure 6: les étapes de coloration de gram (pris personnel 2021)

7 Identification biochimique

7-1 Test de catalase

Cette enzyme est produite en abondance par les bactéries à métabolisme respiratoire qui peuvent détruire les peroxydes. La catalase est une enzyme qui catalyse. (68)

$$2\ H_2O_2 \longrightarrow 2\ H_2O + O_2$$

La plupart des micro-organismes aérobies possèdent une catalase, en particulier les bacilles Gram négatifs aérobies. Son absence est donc un critère d'identification intéressant.

Sur une lame propre et sèche déposer une goutte d'eau oxygénée est déposé, puis à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée, l'inoculum bactérien est ajusté si l'apparition des bulles, dégagement gazeux de dioxygène est immédiat catalase positive, ces non pas des bulles : catalase négative (69)

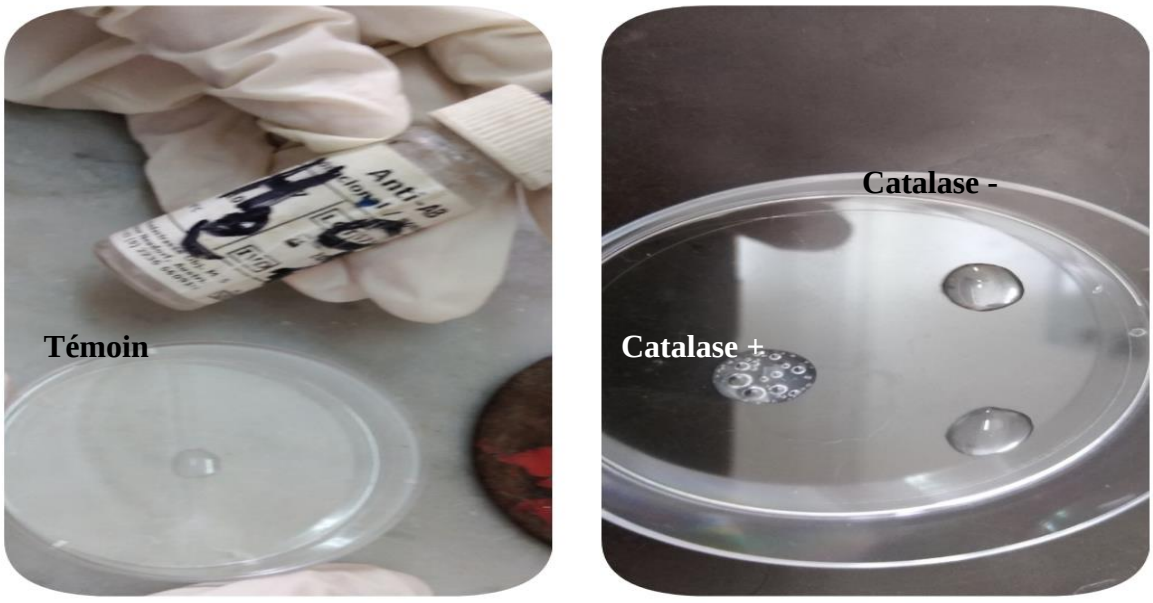


Figure 7 : résultats du test catalase (pris personnel 2021)

7-2 Teste oxydase

Ce test est à la base de l'identification des bactéries Gram négative Il permet de mettre en évidence une enzyme la phénylènea diamine oxydase des bactéries à partir de leur culture en milieu gélosé. Cette enzyme est capable d'oxyder un réactif : le N diméthylparaphénylène diamine.

Sur une lame, un disque d'Oxydase est placé, puis une colonie ou 2 sont déposes une colonie si la bactérie est oxydase positive et qu'elle possède le cytochrome oxydase, il y a apparition d'une tache violette. En l'absence de coloration, la bactérie est dite oxydase négative et ne possède pas l'enzyme respiratoire (cytochrome oxydase) (figure dans Annex). (70)

7-3Teste coagulase

La coagulase est une enzyme capable de coaguler le plasma sanguin. La mise en évidence de la staphylo-coagulase est un critère d'identification des staphylocoques. Dans un tube à hémolyse stérile, 1 ml de plasma sanguin additionné de 1 ml d'une suspension bactérienne de la souche à étudier sont déposés. Le mélange est incubé à 37°C pendant 4 à 5 heures. [126]

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

[125]

7-4 Test confirmation des leveurs .

C'est une méthode d'identification rapide des leveurs. A partir d'un isolat de leveur sur le milieu Sabouraud + chloramphénicol ayant été incubé 24à 48 h à 30C°, une colonie est déposée dans l'eau physiologie, dans un autre tube on dépose 0.5 ml d'eau physiologie plus la colonie et 0.5 ml de sérum humain L'incubation se fait à 37C° moins de 3 heures.

Le Lecteur se fait sous observation microscopique, où des tubes germinatifs spécifique de *Candida albicans*. (71)

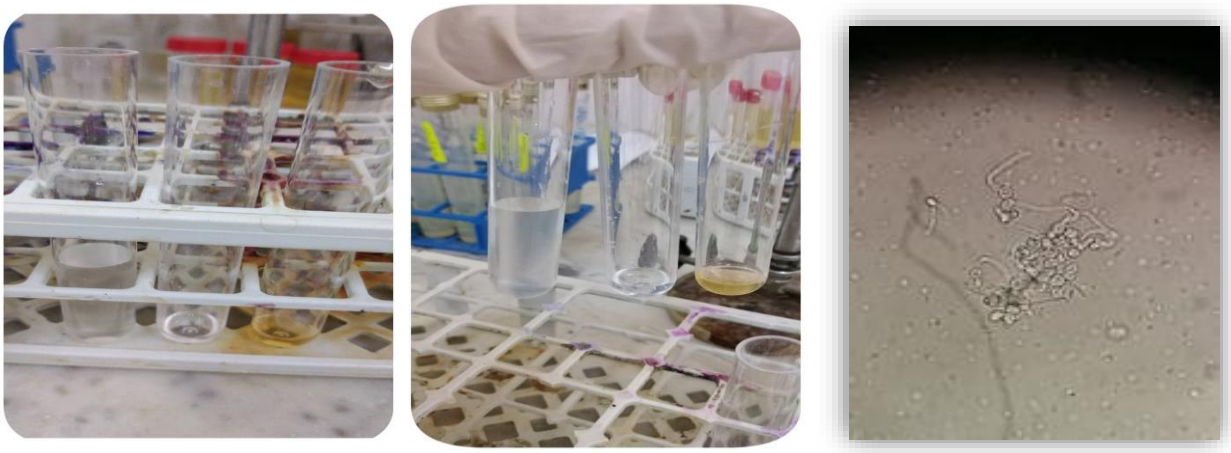


Figure 8 : résultat du test blastes (pris personnel 2021)

7-5 La galerie api 20 E

Principe

Galerie API 20E C'est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des bactéries à Gram négatif, dont les entérobactéries.

Elle comporte 20 micro tubes contenant des substrats sous forme déshydratée. Ces micro tubes ont été inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation (18h-24h à 37C°) se traduisaient par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. (72)

Préparation de la suspension bactérienne

Une colonie bien isolée (2 à 3 colonies identiques) sur milieu gélosé a été prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur, déposée sur les parois d'un tube contenant de l'eau physiologique (5-7 ml) pour dissocier la colonie, puis agitée manuellement. (72)

Inoculation de la galerie

On Mettre de l'eau physiologique dans le fond de la boite afin de créer une atmosphère humide le micro tube de la galerie a été remplie avec a suspension bactérienne à l'aide d'une pipette Pasteur.

Au sein du micro tube, on distingue deux parties, le tube et la cupule. Selon les tests, la suspension bactérienne doit être placée dans le tube et la cupule (CIT, VP, GEL) ou uniquement dans le tube des autres tests. Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H2S en ajoutant l'huile de vaseline.

Refermer la boite, puis écrire le numéro de patient. Incubation à 37C° pendant 24h. (73)



Figure 9 : ensemencement de la galerie Api 20 avant et après incubation (pris personnel 2021)

8 – Antibiogramme

8-1- **Définition et principe**

Consiste à éprouver *in vitro* la capacité d'un antibiotique d'inhiber la croissance d'un germe et Mesurer la sensibilité d'une souche bactérienne à un ou plusieurs antibiotiques et dépister les résistances acquises.
Orientation des décisions thérapeutiques et Suivi épidémiologique des résistances bactériennes (74)

8-2- **L'antibiogramme**

Des disques imprégnés d'ATB a été déposés à la surface d'un milieu de culture standardisé : Mueller-Hinton (MH) préalablement ensemencé avec une suspension bactérienne de 0.5 Mac Ferland selon les Recommandations du CLSI (**75)**
Après une incubation à 37°C pendant 18 à 24 heures, le diamètre de la zone d'inhibition pour chaque ATB est mesuré : si le diamètre est inférieur au diamètre correspondant à la concentration critique supérieure, la souche est dite résistante ; si le diamètre est supérieur au diamètre correspondant à la concentration critique inférieure, la Souche est dite sensible. Mais si le diamètre mesuré est compris entre les deux, la souche est de sensibilité intermédiaire **(76).**

9 Conservation des souches

9-1 A court durée

A partir de souche pure, nous avons ensemencé dans des tubes de gélose nutritive incliné puis incubé pendant 18h à 37°C. Les tubes sont ensuite conservés dans le réfrigérateur à 4°C. Les repiquages sont réalisés tous les 4 semaines



Figure 10 : conservation à court terme des souches dans des tubes de GN incliné (pp2021)

9-2 A longue durée

A partir d'une solution bactérienne jeune ou BN incubé a 37 C° à 18 a été déposé 500 µL Dans un Eppendorf de 1.5 ml puis nous avons ajouté 500 µL de glycérol stérile la conservation se fait à (-18). (77)

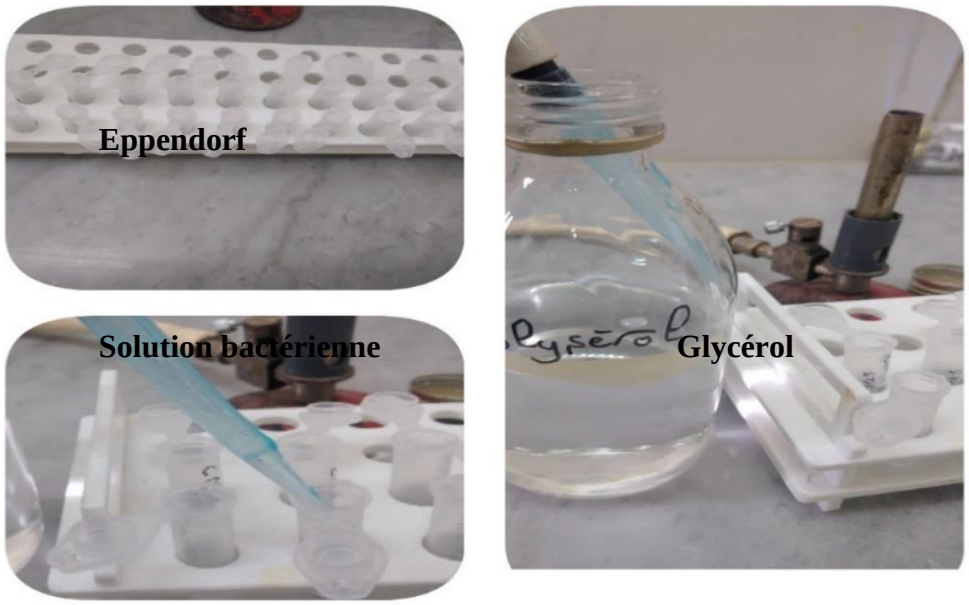


Figure 11 : conservation à longe durée des souches dans les Eppendorf (p p2021)

10 Détection de la production de biofilm

Les souches ayant été isolé ont fait objet d'étude de détection la formation ,En l'occurrences trois méthodes ont été employées, la méthode par ensemencement sur milieu Rouge Congo

(RCA). La technique de microplaque 96 puits par coloration au cristal violet et la méthode de diffusion sur gélose au sang.

10-1 Détection de la production de biofilm sur milieu Rouge Congo Agar (RCA)

C'est une technique qualitative consiste à l'ensemencement des souches testées pour leurs capacité à produire un biofilm sur milieu Rouge Congo.

C'est une méthode indirecte qui permet de distinguer entre les souches productrices de biofilm de celles qui n'en produisent pas, en se basant sur la composition de la couleur de leurs colonies.

Les souches ont été ensemencées par stries sur la surface du milieu Rouge Congo qui été coulé en boites de pétri après ont les incubé à 37° pendant 24h à 48h. (78)

Après l'incubation, on voir l'évaluation de couleur des colonies :

_ Les colonies des souches non productrices sont de couleur rose rouges tandis que celle qui ont la capacité à produire un biofilm sont de couleur noire à surface ou presque noire.

_ Les colonies des souches de phénotype variable donnaient des colonies à centre noir et à contour rouge à centre rouge et à contour noir. (79)

10-2 Quantification visuelle d'un biofilm par diffusion sur gélose au sang

La détection des biofilms a été présentées sur les surfaces internes des sondes urinaires est conditionnée par le choix ainsi que la réussite du protocole appliqué dans le traitement de ces dispositifs médicaux. Aussi le traitement doit être basé sur la stérilisation et désinfection de La sonde urinaire en premier.

D'abord, les fragments de sondes ont été soigneusement et aseptiquement découpés en disque de 1 cm d'épaisseur et autoclavés à 121°C pendant 15min. Ces fragments ont été placés dans une suspension bactérienne d'une densité ajustée à une DO de 0,5 MCF et incubés pendant 48 h (temps habituellement considère propice pour confirmer une infection associée au soin).

Après L'incubation, les disques ont été récupérés puis lavés abondamment et plusieurs fois à l'eau distillée stérile pour éliminer toutes bactéries planctoniques. Enfin ces disques ont été soigneusement déposes en position droite sur la surface d'un milieu gélose au sang coulé en boite de pétri. Celles-ci sont mises à incuber, couvercle vers le haut à 37°C pendant 48h. (80)



Figure 12 : les étapes de formation de biofilm sur gélose au sang (pris personnel 2021)

10-3 Méthode de plaque de culture de tissus (TCP)

Elle a pour but d'évaluer semi quantitativement la formation de biofilm. À partir d'une culture pure et jeune de 18 à 24h, on ensemence 5 ml de TSB, qu'on incube à 37°C pendant 18 à 24h (81).

Après l'incubation les dilutions appropriées ont été effectuées afin d'obtenir une suspension bactérienne équivalente à 10^8 UFC/ml par ajustement de l'absorbance à 0.5 Macfarlane. Les puits stériles d'une microplaque de 96 puits (polystyrène) ont été remplis avec 150 µL de cette suspension bactérienne. Les puits de la colonne 12 servant de contrôle, sont remplis avec 150 µL de milieu TSB. Après incubation à 37°C pendant 24h en condition statiques,

Les puits de la microplaque ont été vidés de leur contenu puis lavées trois fois consécutives avec 0.2 ml d'eau physiologique stérile pour éliminer les bactéries libres planctoniques.

Les cellules bactériennes adhérentes à la paroi interne des puits et formant un biofilm ont été colorées par le cristal violet 0.1% (m/v). Après 10 à 15 minutes, la solution de cristal violet est éliminée et les puits sont laves trois fois avec de l'eau distillée afin d'éliminer toute trace de colorant non fixe. Les microplaques renversées ont été couvertes de papier absorbant et laissées sécher à la température ambiante pendant 15 minutes.

Enfin, les puits ont été remplis de nouveau avec 150µL d'une solution d'éthanol (95%) pour libérer le colorant fixe au sein des cellules emprisonnées dans le biofilm ainsi formé. (82)

Lecteur

La densité optiques (DO) de tous les puits sont déterminées par l'intermédiaire d'un spectrophotométrique a une longueur d'onde 590 nm.

DO ≤ Dot (Témoin) : non formatrice du biofilm ; Dot × 2 ≤ DOs ≤ Dot × 4 : Modérée ; Dot × 4 ≤ DOs : Fortement formatrice du biofilm (83).

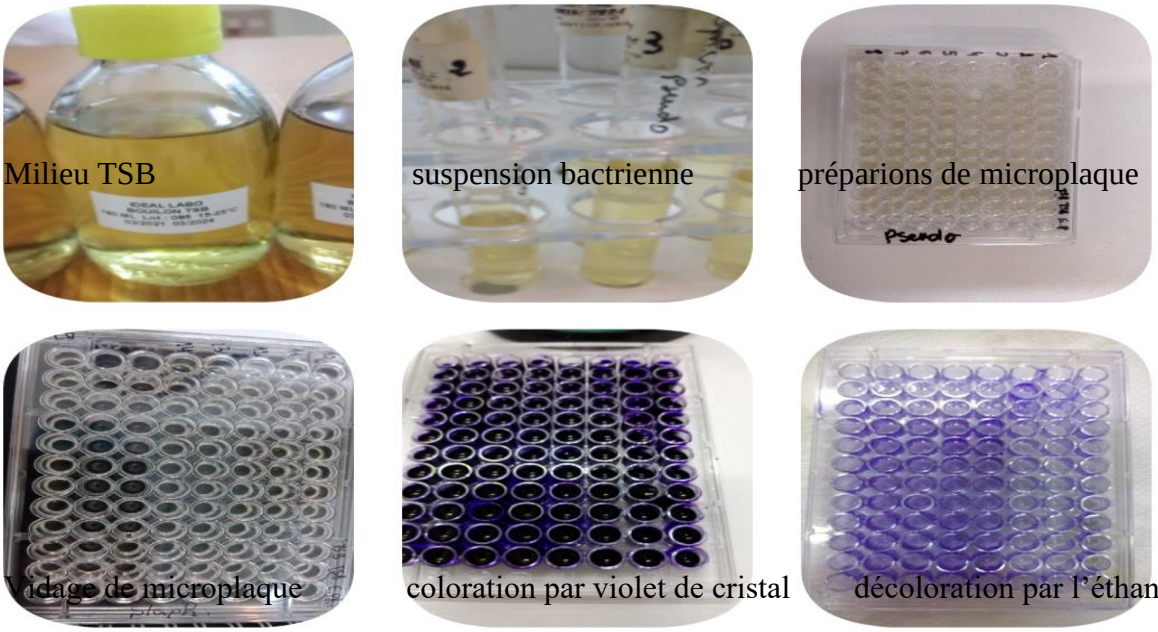


Figure 13 : étapes de la Méthode TCP (pris personnel 2021)

11 L'activité antibactérienne du miel

L'objectif de Cette partie est d'étudier l'activité antibactérienne de quatre échantillons de miel testes par un ensemble d'isolats Clinique résponsable infections nosocomial ayant été, des bactéries pathogène (*Escherichia coli, Pseudomonasse, Staphylococcus, Entérocoque Entérobactérie cloacae, Porteuse),* afin de comparer avec l'antibiogramme

Cette partie a été réalisée ou laboratoire pédagogique de microbiologie de la faculté de science de l'université Yahya Farés de Médéa durant le mois de mai 2021

11-1 Les échantillons de miel

Miel de Chardon étoilé : عسل المرار

Miel de sider : عسل السدر

Miel de thym : عسل الزعتر

Miel de montagne : عسل الجبل

11-2préparation des échantillons du miel :

Les échantillons du miel a été utilisés pour les tests antibactériens sont soit purs à 100% ou dilués à 75%, 50%, 25% (v/v). Les séries de dilutions ont été préparé instantanément dans l'eau physiologique stérile pour un volume final de 5ml (84).

Tableau 2 : Préparation des concentrations des miels (85).

	25 %	50 %	75 %	100 %
Le miel (g)	2,5	5	7,5	10
L'eau distillée stérile (ml)	5	5	5	5

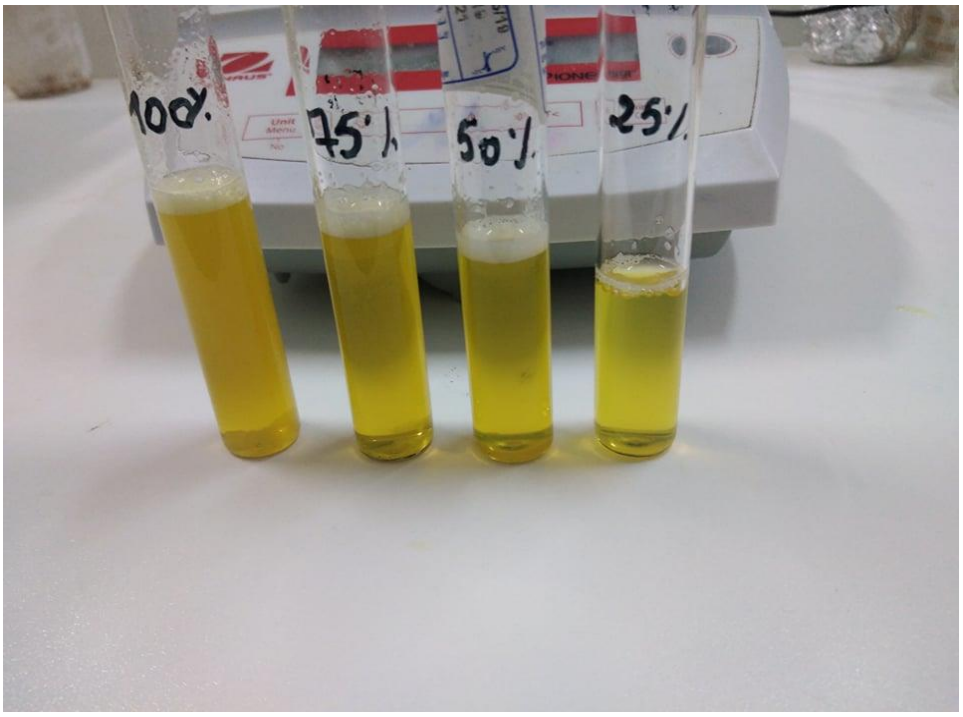


Figure 14 : préparation des dilutions de miel (prise personnel 2021)

11-3 **Préparation de l'inoculum bactérien**

La suspension bactérienne a été inoculée dans le bouillon nutritive à 37±2°C, la charge bactérienne a été ajusté à une densité optique de 0.08 à 0.1 par spectrophotomètre ce qui correspond à une charge d'environ 10^8 UFC/ml (0.5mac Ferland) (86)

.11-4 Méthode des puits de diffusion :

C'est un test simple de criblage et de sensibilité, en utilisant une méthode dite de diffusion avec des puits creusé Sur le milieu Mueller Hinton (87), des puis de 0.8 mm de diamètre à l'aide de pipette pasteur y sont déposé environ 100 µl d'échantillon de miel pur ou dilué.

Cette technique est répertoriée et décrite dans différentes publications. (88) (89)

Mode opératoire

0,1 ml a été déposée de chaque souche puis on étal en surface du milieu Mueller Hinton (MH) par écouvillonnage. Les échantillons de miel ont été versés avec une seringue stérile pour les miels purs et par micropipettes pour les miels dilués dans les puits creusés à raison de cinq puits par boite. Incubation a été fait à 37°±2C pendant 24h.

Les zones d'inhibition ont été mesurées deux fois par puits à des angles perpendiculaires, ainsi le totale de six mesures par échantillon du miel (90).

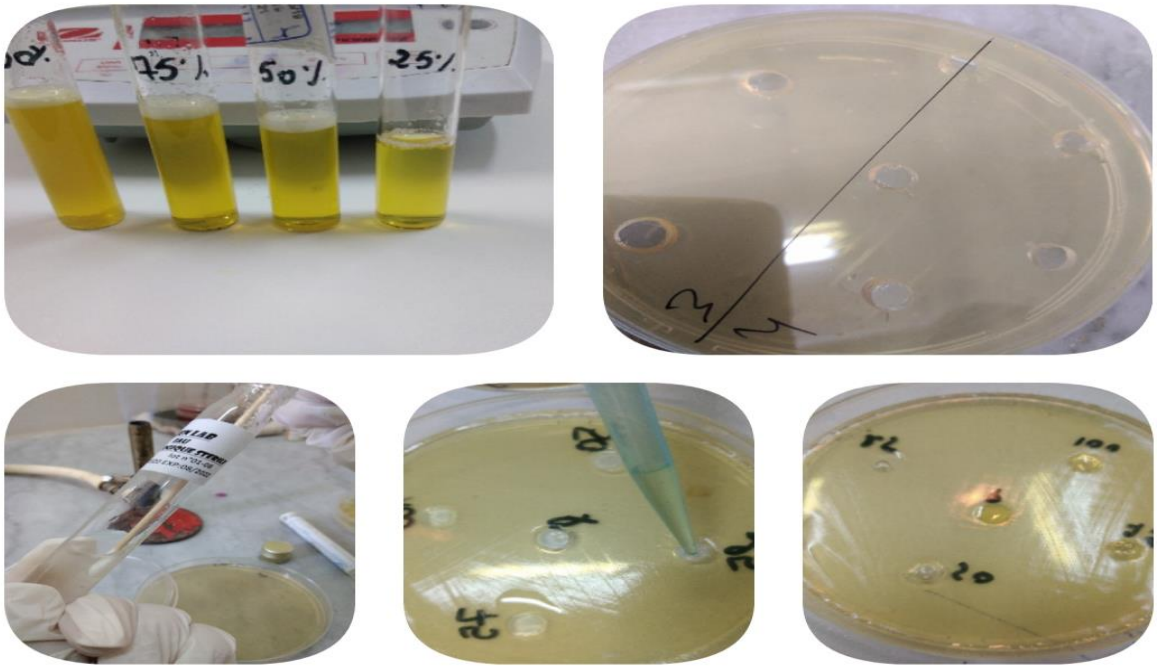


Figure 15 : technique de puits **(**pris personnel 2021)

11 -5 méthode de spectrophotométrie

Cette technique a l'avantage de donner des pourcentages d'inhibition qui estiment plus exactement l'activité de nos échantillons du miel qui était approximative avec la technique des puits de diffusion.

Cette méthode repose sur la préparation des dilutions de miels avec le milieu de culture liquide bouillon nutritive et la suspension bactérienne dont la concentration totale est 5% (v/v). Et cela pour pouvoir quantifier l'inhibition faite par le miel.

Cette fois-ci La détermination de l'activité antibactérienne de miel se fait dans une microplaque de 96 puits. 200µl de chaque dilution a été déposé dans chaque puits.

On incube les plaques à 37°±2 de 24h. La lecture des résultats se fait à l'aide de spectrophotomètre ou un lecteur de microplaques qui détermine les densités optiques de Chaque dilution (figure 16). (91)

On utilise la formule suivante pour estimer les pourcentages d'inhibition de nos échantillons du miel : Pourcentage de croissance= (DO de teste/DO de témoin) x 100. (92)

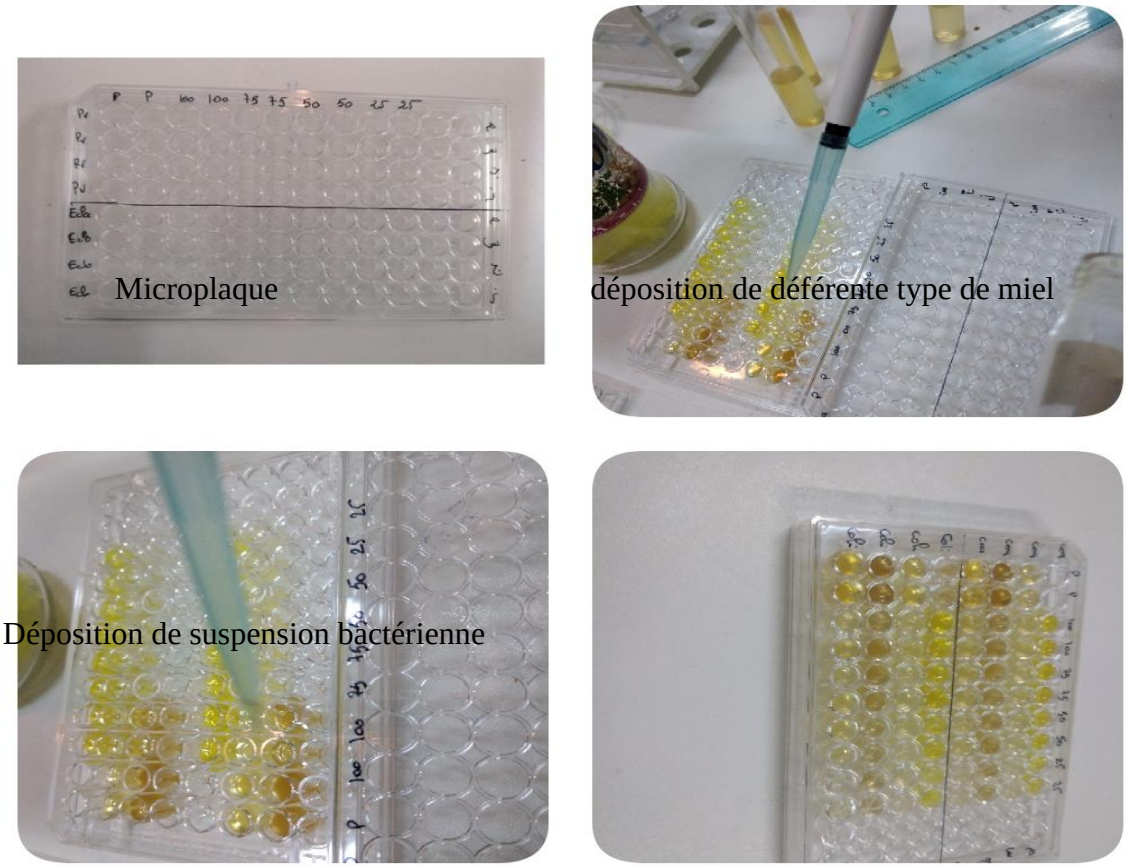


Figure 16 : étapes de la méthode spectrophotométrique (prise personnel 2021)

11-6 Étude de la synergie entre extrait de miel et antibiotiques

La synergie a été définie comme un phénomène dans lequel deux composés différents sont combinés pour améliorer leur activité individuelle. Si la combinaison entraîne un effet détérioré, (93)

Afin de pouvoir optimiser et améliorer l'effet antimicrobien d'un extrait, des associations ont été effectuées avec des antibiotiques, l'effet synergique peut fournir une thérapie efficace contre les bactéries résistantes. Le miel pur a été combiné avec Azithromycine, l'amoxicilline, rovamycine, cefazoline, la gentamycine, et Claforan

Des disques d'antibiotiques sont imbibés avec 5 µl de chaque solution préparée précédemment que ce soit des extraits ou des antibiotiques testés afin de démontrer l'effet synergique **(94)**

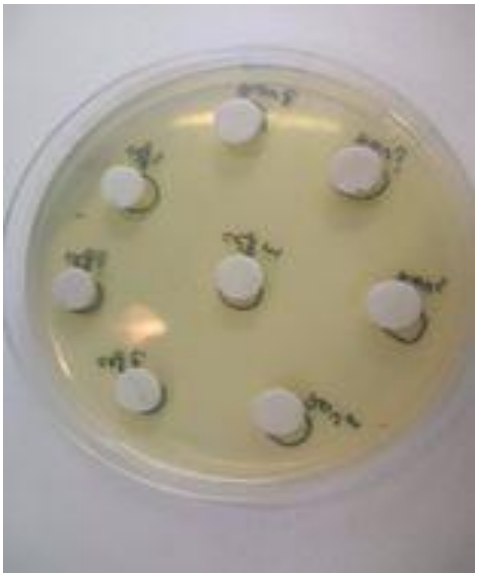




Figure 17 : méthode de synergie (pris personnel 2021)

Traitement des données

Le traitement des information collectées a été faite à l'aide du logiciel SPSS- v20 (statistical package for the social science) pour traiter les questions directes et les numériques, Alor que la réalisation de différent type de diagramme a été effectué à l'aide de Microsoft Excel 2019.

Les traitements et les analyses utilisé sont :

L'analyse descriptive univariée : comporte-le calcule de p- valu et la significatif.

Résultat et discussion

Description de la population étudiée

Un total de 100 prélèvements urinaires, 77 échantillons à partir de patients à des sondes vésicales de différents services de l'hôpitall Mohamed Boudiaf de Médéa et 23 échantillons à de patient non sondé venus de l'externe au laboratoire EPSP de Médéa, sont prélevés de malade femme et homme dont l'âge est supérieur ou égale à18 ans

Tableau 3 : nombres des prélèvements des différents services de l'hôpital de Médéa

Les servisses	Médecine Interne	Umc	Post-op	Orl	If	Traumatologie	Chirurgie	Maternité
Nombre de prélèvement	9	6	24	10	5	5	7	11

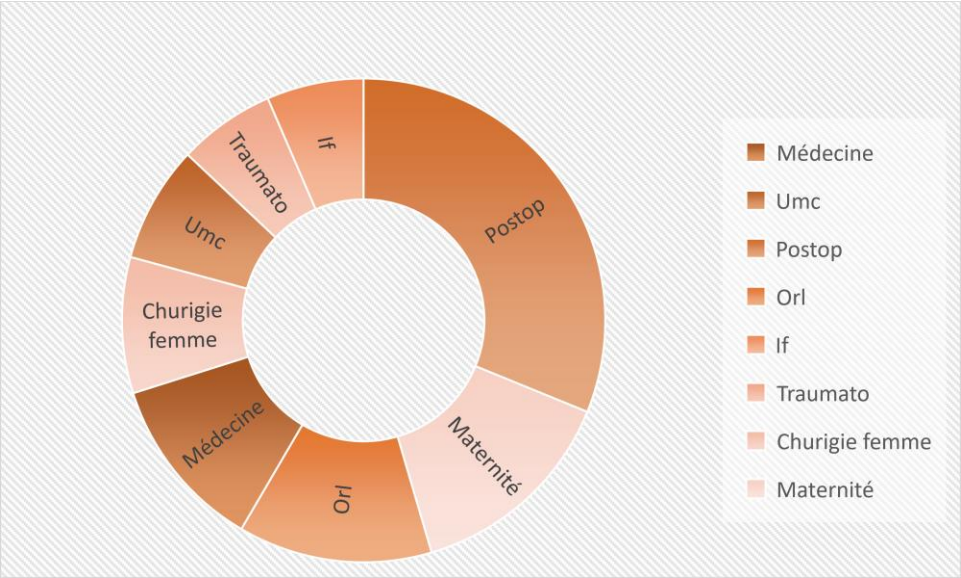


Figure 18 : réparation des prélèvements dans différents services de l'hôpital de Médéa

Selon le sexe

Tableau 4 : total des prélèvements avec les cas positive et négative

Le sexe	Femme	Homme
Percentage	66 %	34 %

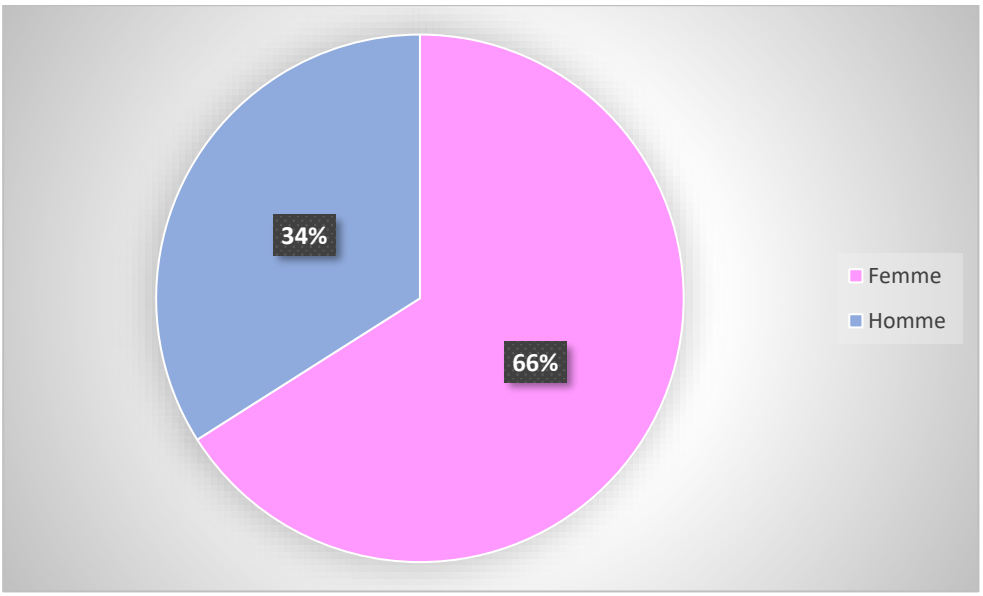


Figure 19 : Répartition des patients selon le sexe

Chez les patients

Tableau 5 : représente le total des cas positive et négative selon le sexe chez les patients sondé :

L'ensemble des cas des patients sondé	Cas positif		Cas négatif	
	Femme	homme	Femme	homme
77	25	16	21	15
77 (%)	41 (%)		36(%)	

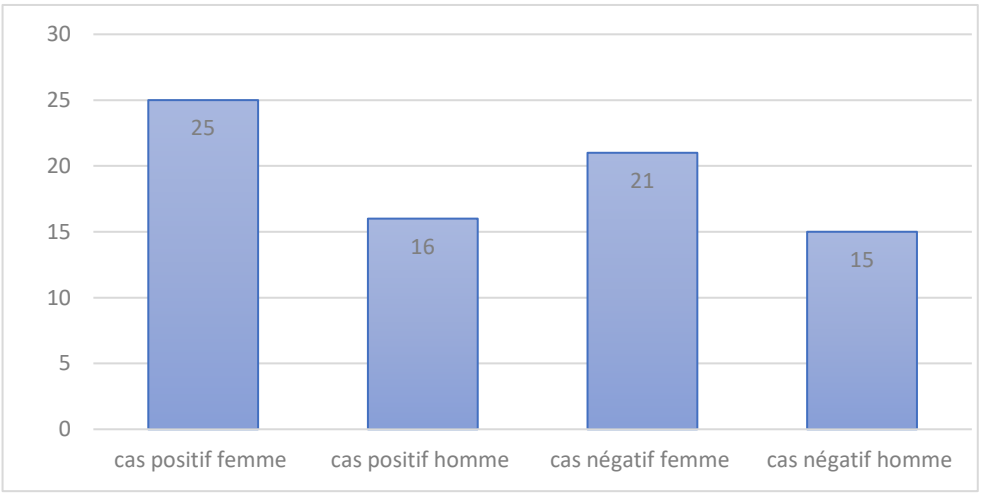


Figure 20 : Répartition les cas positifs et les cas négatifs selon le sexe Chez les patients a des sondes vésicales

Les infections urinaires sont plus fréquentes chez les femmes que les hommes Cette prédominance féminine est confirmée par (95)

Car Les caractéristiques anatomiques de l'urètre féminin qui est court, large, droit et proche de la région péri-anale

Les sondes vésicales sont responsables des infections Urinaires, les cas positive représentent 41%. Car les sondes vésicales sont considérées comme voie de contamination était dominante avec le système ouvert, Les bactéries colonisant ses derniers centimètres de l'urètre peuvent être directement entonner lors du sondage entrainé par la surface externe de la sonde (20) L'âge ne ressort pas comme étant un facteur de risque de sondage inapproprié. La bibliographie n'est pas un anime à ce sujet, puisque Fakih *et al* indiquent que les femmes de plus de 80 ans sont plus à risque de sondage, aussi La durée de sondage reste le facteur de risque principal. Chaque jour de sondage multiplie le risque de développer une infection urinaire sur sonde, Dans notre étude la durée de sondage moyenne était de 5 jours chez les patients analysés

Les cas négative 36 % car la durée du sondage et court qu'elle est également un facteur déterminant, et l'examen ECBU a été fait presque en même temps lors de la mise en place de sonde vésicale.

Et respectant les indications et les contre-indications formelles, ainsi que les techniques de mise en place de la sonde (96)

Aussi que les malades hospitalisées sont sous Antibiothérapie préalable. Et que l'immunité inné de patient apposant l'infection par ces barrières et par son système de défense immunitaire (référence en théorique)

Chez les patients non sondés

Tableau 6 : total des cas positive et négative selon le sexe chez les patients non sondé :

L'ensemble des cas des patients non sondé	Cas positif		Cas négatif	
	Femme	homme	Femme	homme
23	10	1	10	2

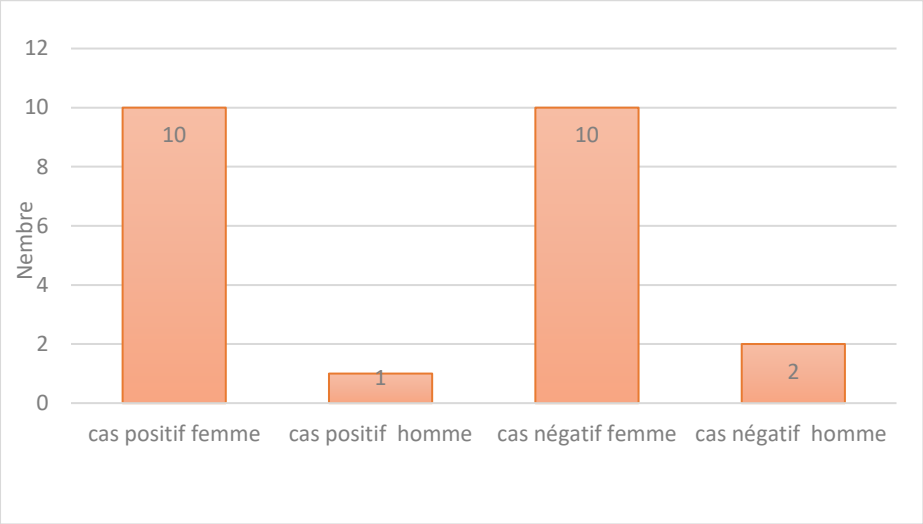


Figure 21 : Répartition les cas positifs et les cas négatifs selon le sexe chez les patients non sondé

Chez les patients non sondés

Les infections urinaires sont plus fréquentes chez les femmes que les hommes mes une morbi-mortalité plus importante chez les hommes. Cette prédominance féminine est confirmée par Bruyère et all 2013 et selon les facteurs Les caractéristiques anatomiques de l'urètre féminin qui est court, large, droit et proche de la région périanale et La fréquence des rapports sexuels qui favorisent l'ouverture du méat urétral favorisant ainsi l'accès des germes à la vessie. (97) Aussi que L'âge et le Diabète peut influencer le volume de la miction et la nature des urines. (20)

1- Analyse des urines

1_1 Examen macroscopique

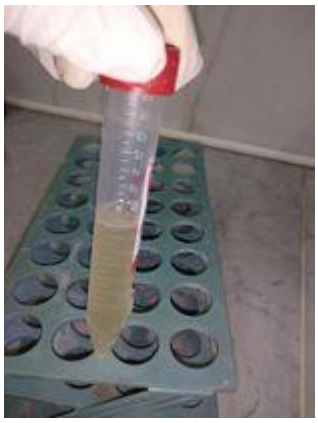
Sur les échantillons analysés quartes types d'aspects macroscopiques ont été détectés : urine trouble, légèrement trouble, clair et hématique

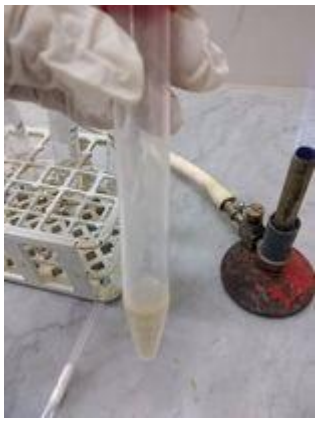
Les urines claires généralement ne possède pas d'infection urinaire, due à une hydratation ce qui signifie que la personne boit suffisamment de liquides.

La turbidité des urines est due à la présence d'infection (pus) ou les cristaux urinaires La cause de l'aspect trouble de l'urine,

Une urine trouble peut aussi s'agir d'un signe bénin et réversible provoqué par une consommation excessive de phosphate (cristaux de phosphate amoniaco-magnesien).

L'urine hématique est due à la présence des globules rouge dans les urines indique qu'il y a une insuffisance rénale ou maladie de la prostate, traumatisme liée ou sondage vésicale, Ou infection urinaire. (98)





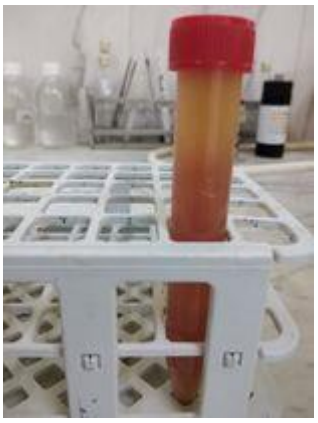


Figure 22 : Urine trouble figure 23 : urine claire figure 24 : urine hématique (prise personnel (2021)

1-2 Les bandelettes urinaire

Les bandelettes urinaires permettent de rechercher la présence des hématies, des nitrites, le glucose et mesurer le pH qui sont des signes d'infection urinaire.

Dans les échantillon analysé la présence du sang ne signifie pas toujours la présence d'une infection urinaire.

Avant à la moyenne du pH il est toujours entre 5 ou 6.5 dans le cas d'une infection urinaire

Les autres paramètres comme les protéines et l'acétone le glucose ne signifié pas l'infection urinaire mais indique d'autres pathologie comme problème rénale, diabète…)

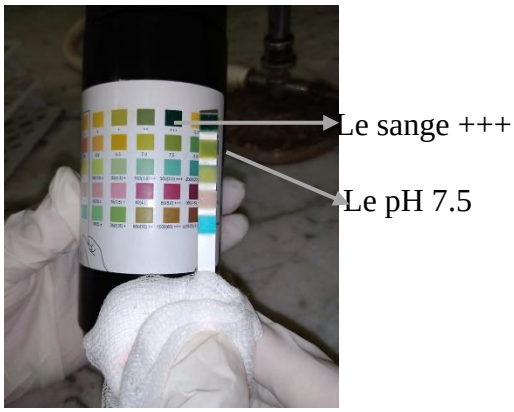


Figure 25 : déférentes paramètre d'une bandelette urinaire (prise personnel (2021)

1-3 Examen microscopique

D'après l'étude faite ; dans la cytologie des urines la présence des leucocytes et des hématies ainsi que la présence des germes sont des signes d'infection urinaire,

Par contre la présence des différents cristaux qui pourrait être lié à la prise de certains médicaments ou de l'alimentation.

La présence des cellules épithéliales est normale qui sont les cellules qui tapissent et protègent la paroi interne de la vessie.

Sur l'ensemble des ECBU testés, la leucocyturie était significative ($>10^4$), donc une infection urinaire. (98)

Dans l'ensemble des cas positifs et négatifs, 80% des leucocyturie ont été obtenues varie entre 10^1 et 10^4 ce résultat est en accord avec ceux obtenus par Bouakkaz et Boucherait ,2017 que démontrent la présence des leucocytes ne signifie pas forcément qu'il y ait une présence d'infection mais cela montre une inflammation ; la même chose dans le cas de présence des hématies (5%)

Dans les cas positif la présence des germes est plus fréquente (quelque germe, présence des germes, nombreux et très nombreux

7% des cellules épithéliales a été observée aussi bien chez les sujets infectés que les sujets sains à propos des cristaux 6% sont des cristaux d'urate observée chez les sujets sains et les sujet infectes

Et 1% sont des autres cristaux (d'oxalate de calcium et des cristaux d'acide urique).

Ainsi que la présence des leveurs 1 % observé chez les sujet immunodéprimé (femme enceinte. Et les diabétiques)

Ces résultats se rapprochent des résultats de BAbdelkarim Bouazza 2017 (109)

2- Examen bactériologique

Après incubation sur milieu GN nous avons trouvé que l'infection urinaire est monomicrobienne et des fois bi microbienne (2 germes).

Les colonies observées sont généralement dans les premiers striés de la boite. Le nombre des colonies et varie entre 12 et 20 colonies

L'absence de la colonisation sur la boite qui a été ensemencée signifie une l'absence de l'infection urinaire.

Sur le milieu Hektoene on a trouvé les que les *Entérobactéries*. Le virage de couleur du milieu vire l'orange indique que les Bactéries sont des lacs + (fermentation de lactose)

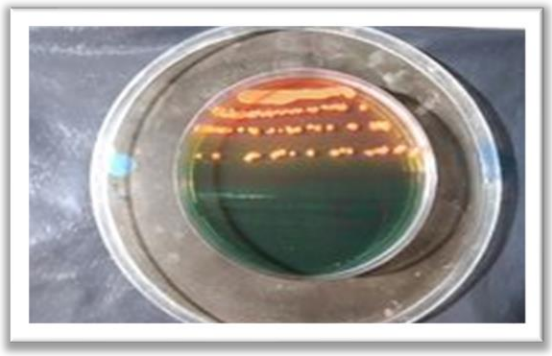


Figure 26 : virage de couleur de l Hektoen (lac +) (prise personnel (2021)

Si le milieu garde sa couleur vert les bactéries sont des lac – (ne fermenté pas de lactose)

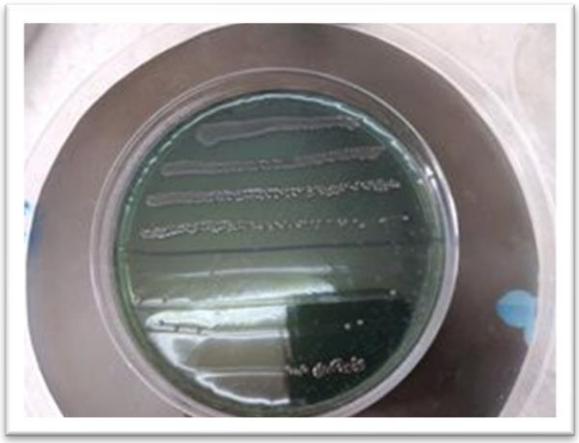


Figure 27 : *Entérobactérie* lac – sur l'Hektoen (prise personnel (2021)

Sur le milieu Chapman on a isolé les *staphylococcus*, le virage de couleur de milieu rouge vers le jaune indique que les staphylococcus aureus le cas contraire (pas de virage) indique que les staphylococcus coagulase négatif.



Figure 28 : *staphylocoque* sur le milieu Chapman (prise personnel (2021)

Dans le cas des colonies vert sur le milieu GN avec une odeur spéciale fait un signe que ce sont des *Pseudomonas*, l'isolement de ces derniers se fait sur le milieu Citrimide (milieu sélective pour les *Pseudomonas*).

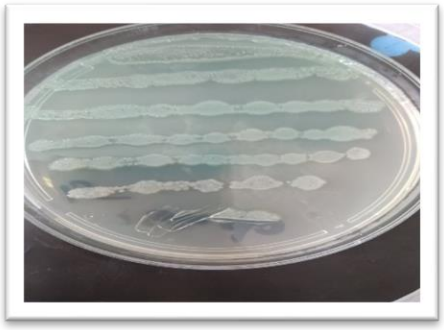


Figure 29 : colonies de *Pseudomonasse* dans cétrimide (prise personnel (2021)

Sur le milieu BEA on a isolé les *Entérocoques*, le virage de couleur de milieu ver la noire ou des petite colonie noire indique que les *Entérocoque*

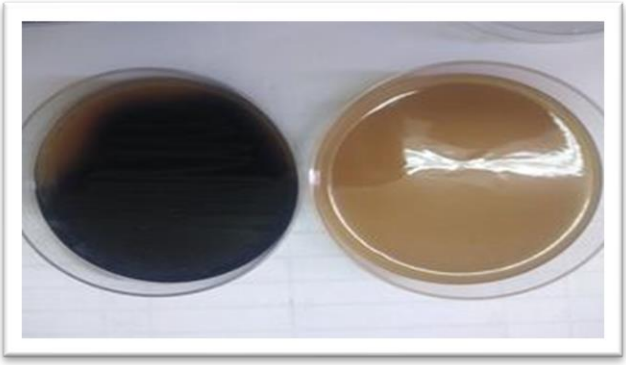


Figure 30 : Aspect des colonies d'*Eentérocoques* sur BEA (prise personnel (2021)

Sur le milieu Sabouraud on a isolé les *leveurs,* aspect des colonie blanc, mat, diamètre 1-2 mm

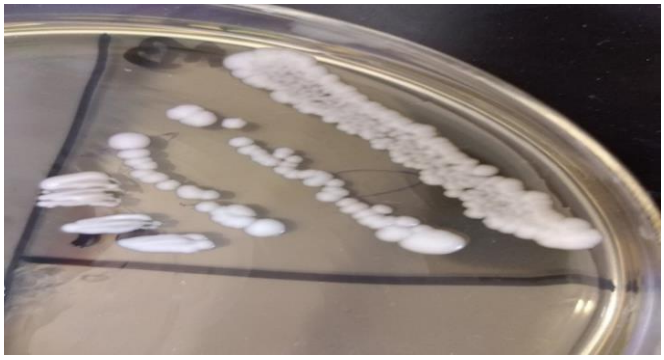
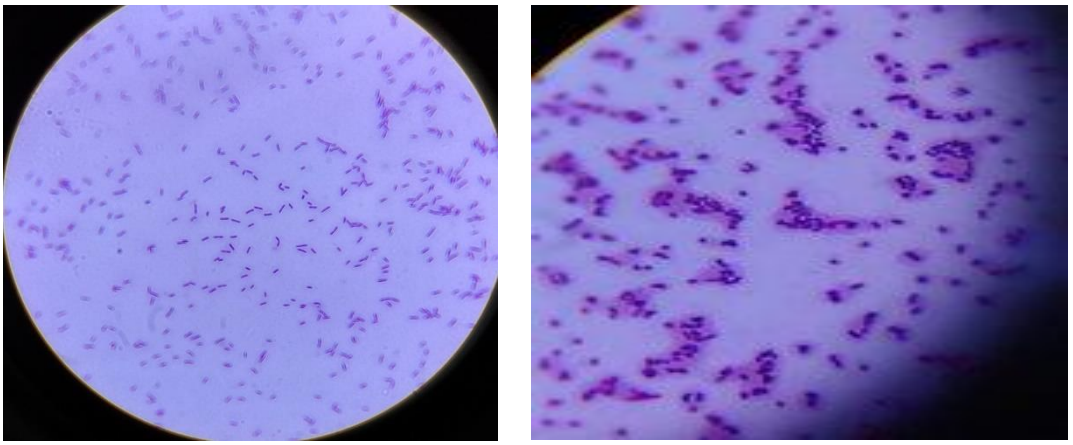


Figure 31 : aspect des leveurs sur le milieu Sabouraud (prise personnel (2021)

3- Les germes identifient selon coloration de gram

L'observation microscopique après une coloration de gram d'un frotti, a montré due les *Entérobactérie* et en forme des bacilles coloré en rose à une coloration de gram négatif.

Et le *staphylococcus* et *entérocoque* est en forme des Cocci voire en grappe de raisin et diplocoque coloré en violet à coloration de gram positif.



(A) (B)

Figure 32 : bacille à gram négative (A) et les cocci a gram positive (B) (prise personnel (2021)

4- Identification bactérienne .

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant . La lecture de quelques tests nécessite l'addition des réactifs :

- Pour le test TDA, l'ajout d'une goutte du réactif TDA.
- Pour le test indole , l'ajout d'une goutte de réactif de kovacs.
-pour le test vp , l'ajout d'une goutte de réactif de vp 1 après un goutte de vp2

L'identification bactérienne par la galerie API 20 E a permis de trouver les *Entérobactiries* qui ont causé les infections urinaires

Tableau 7 : représentre les différentres parametres de la galrie Api 20 E des différentes bactéries

Le germe	Urée	Indole	ONPG	H2S	Citrate
E coli	-	+	+	-	-
Proteus mirabilis (TDA+)	+	-	-	+	+
Proteus vulgaris	+	+	-	+	+
Hafniaalvei	-	-	+	-	+
Entérobacter clocea	-	-	+	-	+
Citrobacter diversus	-	+	+	-	+
Pseudomonas (GEL + OX+)	-	-	-	-	+

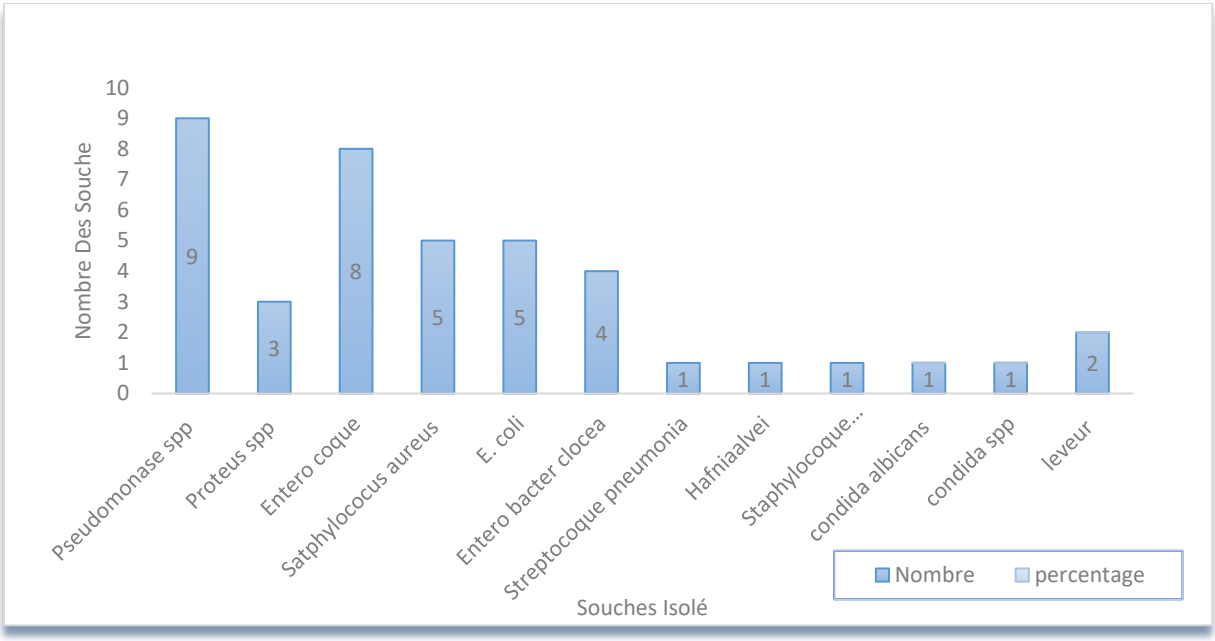


Figure 33 : Répartition le nombre des germe trouvées

Durant notre étude nous avons recensé 41 germes à partir des patients sur Sonde vésicale et 11 germes chez les patients non sondé.

Cette étude a pour but de comparer entre les germes trouver dans les deux différents prélèvements.

Permis ces bactéries on compte :

Sur les patientes à des sondes vésicale

56.09% sont des bactéries à gram négatif, 53.65 % des patient à des *Entérobactéries*. Les bacilles à gram négative non fermentaire (*Pseudomonasse*, aérogènosa, fleuré cense, luteola) 21.95 %, les autre *Entérobactéries* on a trouvé 7.31% des *porteuses (mirabilis vulgarise)*, 12.19 % *Escherichia coli* et 9.75 % *entérobactérie clocea*, 2.43 % *Hafniaalvei*

36.58% Les bactérie à gram positif ils sont dominés par les *Entérocoques* 19.51 % on trouve aussi les *Staphylocoque* comme les *Staphylococcus aureus* à un percentage de 12.19 % et les *Staphylococcus* coagulas négatif (blanc), et le streptocoque représente 2.43 %,

9.75% sont des levures

Lorsque l'on compare la répartition des germes de façon statistique selon le sexe (femmes et hommes) de la personne infectée, on s'aperçoit que les répartitions stat (p- valu) des différents isolats, par exemple pour *Pseudomonas* elle est égale à 1.368 *Proteus* 0.44, *Entérocoque* 2.302. Quant à *Staphylocoque* la valeur été de 0.866 et *E. coli* 3.664.

Les résultats pour tous les isolats étaient significatifs, ils étayent supérieurs à 0,5

Sur les patients non sondés

Dans notre étude on a trouvé la plupart des bactéries à gram négatif 72.72% des patient à des *Entérobactéries* la bactérie plus fréquent *Escherichia coli* à une percentage de 54.54%, 18.18 % *Citrobacter spp*

Et 27.27% des bactérie à gram positif on a trouvé uniquement les *Entérocoques*

Selon ces résultats nous avons retenu que les germes responsables d'infection urinaire sur sondes vésicales sont pas totalement différents (il Ya une similitude)

Chez les patients non sondés, mais il y-a des germes qu'on les trouve uniquement sur la sonde vésicale telle que les *Pseudomonas* et les *Staphylococcus aureus* qui sont responsable de la formation de biofilm sur les cathéters

Ce résultat est en accord avec ceux obtenus par Sekhsokh et al., 2008 qui a trouvé Les bacilles à gram négatif notamment les entérobactéries sont les plus fréquemment isolées d'infections urinaires, (99)

L'étude bactériologique a révélé que les staphylocoques sont fréquemment isolés des urines de patients sondés dans les différents services étudiés, ils considèrent que la principale cause est la cathétérisassions urétrale, surtout après une thérapie antibactérienne standard. De plus ils rapportent que la transmission de l'infection entre patients est souvent assurée par les mains du personnel lors de la pose de la sonde urinaire (100).

Et Mesaros et al. 2007 cite que *Pseudomonas aérogènosa* est responsable d'un grand nombre d'infections associées aux soins (101)

5-Antibiogramme

Chaque espèce bactérienne a été testée par des antibiotiques spécifiques, cela pour chaque antibiotique, le diamètre de la zone d'inhibition est mesuré et comparé avec le tableau des antibiotiques pour déterminer si la bactérie isolée est sensible ou résistante aux antibiotiques testés.

5-1Entérobactérie

Dans notre étude on a constaté une résistance d'*Entérobactérie* à Ampicilline (92.85 %) et cefazoline (85.71%°) et cefaletine (71.42%) et le cefoxitine (57.14 %) et elle est totalement sensible à l'amikacine (92.85%), gentamycine et ciprofloxacine (78.57 %), et ceftazidine (71.42%)

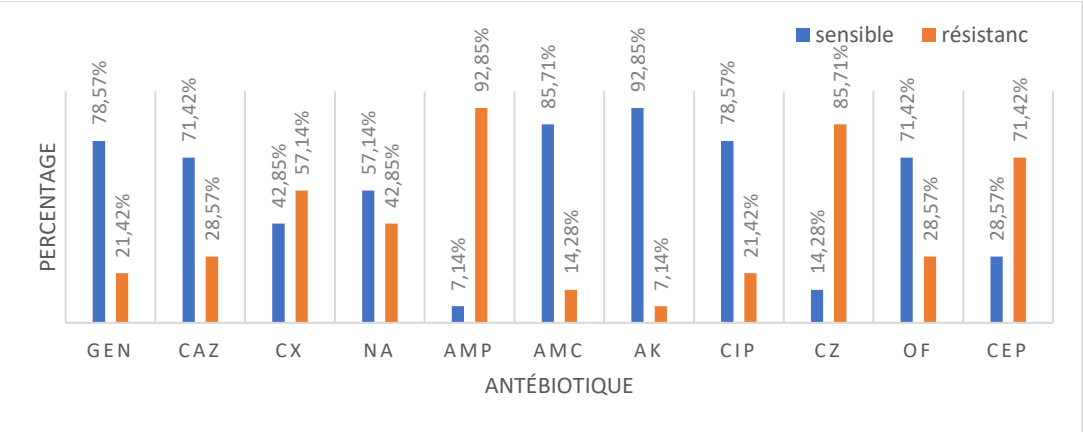


Figure 34 : Représentation graphique du taux de résistance et sensibilité des *Entérobactéries*

5-2Staphylococcus aureus

La souche résiste à la cefoxitine et l'oxacilline (100 %) par contre elle est sensible à d'autres antibiotiques comme la rifampicine, la vancomycine, chloramphénicol (100 %),

Ces résultats sont en accords avec ceux de Touati et ses collaborateurs en 2007 qui ont annoncés que 76,8% des souches de staphylocoques responsables d'infections sur cathéters sont résistantes à l'oxacilline, 46,4% à la gentamicine et 75% à l'ofloxacine

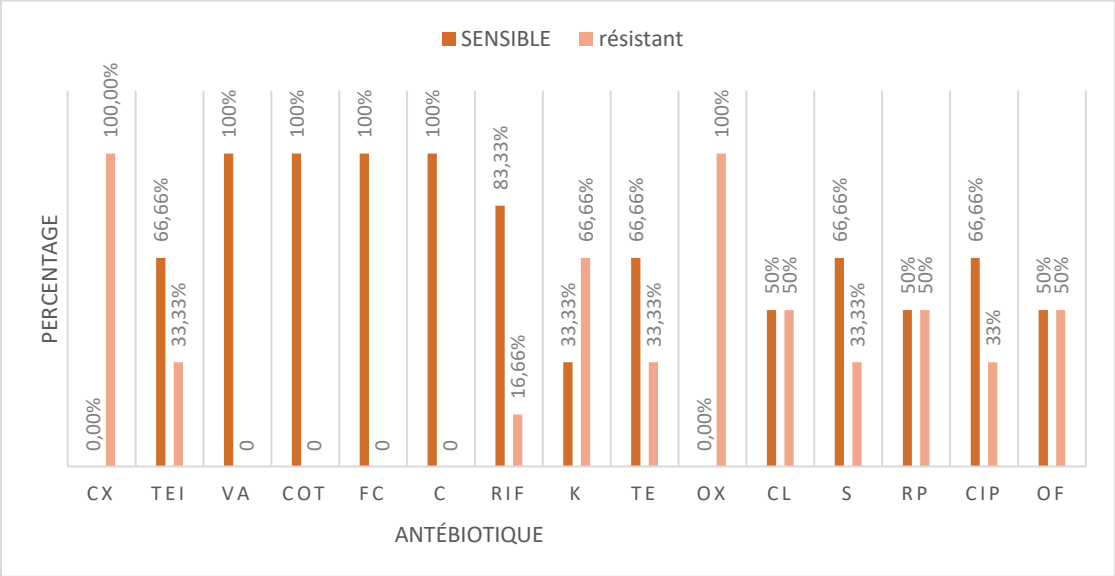


Figure 35 : Représentation graphique du taux de résistance et sensibilité de *Staphylococcus aureus*

5-3Pseudomonas

La souche résiste à la cotrimoxazole rifampicine et chloramphénicol (100 %) et pénicilline (77.77%) mais sensible à tobramycine ceftazidine gentamicine (100%) et ciprofloxacine (88.88%).

Ces résultats ne sont pas totalement en accord avec d'autres études menées sur des souches *Pseudomonas* isolées au CHU de Tlemcen qui ont annoncés Les souches *Pseudomonas* résistent aux 4 antibiotiques de la famille β-lactamines (Ceftazidine, Pipéracilline et Tazobactam, Ticarcilline, Aztéonam) (102)

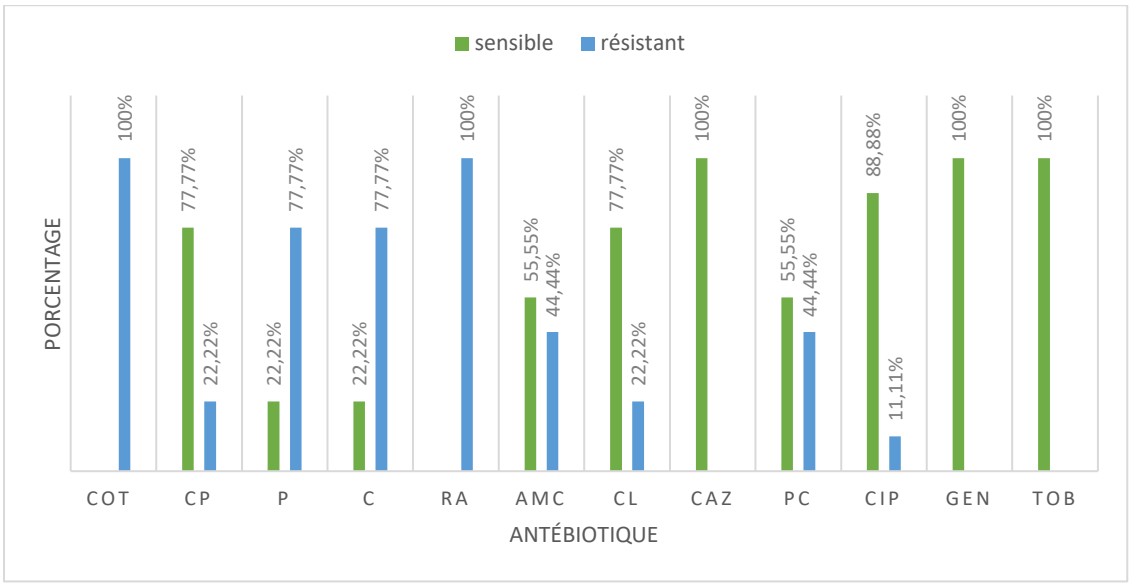


Figure 36 : Représentation graphique du taux de résistance et sensibilité

De *pseudomonas*

5-4Entérocoque

Dans notre étude on a constaté une résistance d'Entérocoque totalement à Ciprofloxacine Streptomycine Erythromycine Oxacilline (100%)

Elle est sensible à Vancomycine (66.66%) et tétracycline, Gentamycine (50%)

Ces résultats sont en accords avec ceux de Malki et Berriche en 2019 qui ont annoncés Toutes les souches ont été multi-résistantes aux Clindamycines, cette résistance a été bien marquée forts vis-à-vis des autres macrolides (Erythromycine) (110)

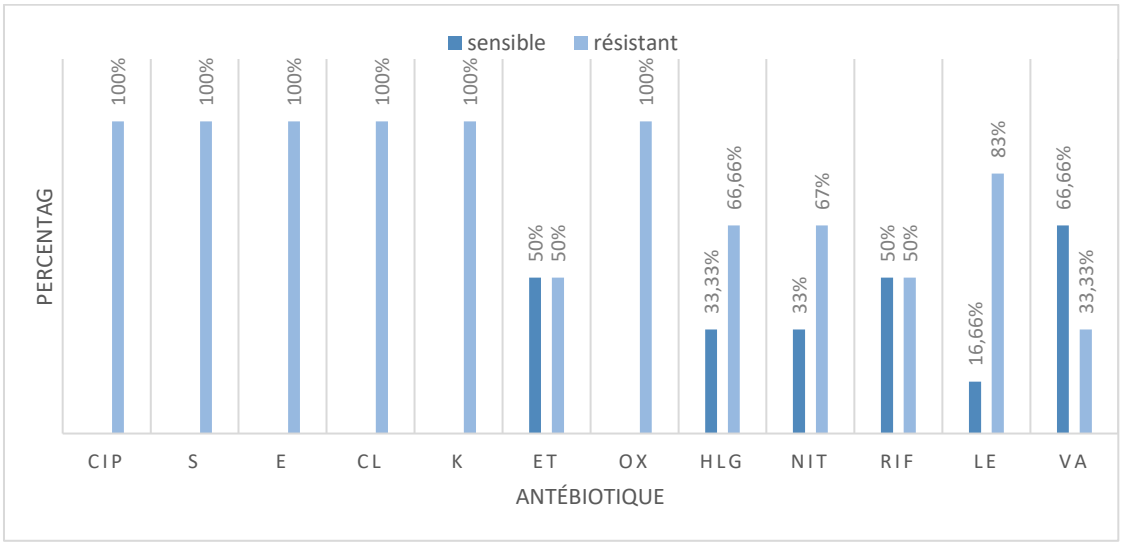


Figure 37 : Représentation graphique du taux de résistance et sensibilité Des *Entérocoque*

6-Détection et évaluation de la formation du biofilm

Dans notre étude parmi les germes isolé, nous avons retenus uniquement les 5 *Staphylococcus aureus* et les 9 *pseudomonas* sont les germes les plus fréquemment responsables d'infection sur corps étrangers tel que les sondes urinaires. La résistance de ces germes vis-à-vis les antibiotiques et les facteurs de virulence majeur ont la capacité à produire une matrice extracellulaire et constituer un biofilm, ce qui rend extrêmement difficile le traitement clinique (114).

Des méthodes classiques de la détection de la production de biofilms in vitro ont été établis, la méthode qualitative du rouge Congo.

ET la formation de biofilm sur sondes urinaires, la méthode quantitative des microplaques 96 puits et la méthode qualitative du rouge Congo. (103)

6-1 Résultats de la formation de biofilm par la méthode RCA

Cette méthode qualitative se base sur le caractère phénotypique des souches ensemencées sur milieu Rouge Congo. Les résultats obtenus nous ont permis de constater que les 55.55% souches de *Pseudomonasse* spp et les 100% *staphylococcus* aureus étaient susceptibles de produire un slim et montre un phénotype positif dans le milieu sauf que 44.44% souches de pseudomonas n'étaient pas susceptibles de produire un slim et que nos montre un phénotype négatif dans le milieu rouge Congo.

Les résultats obtenus pour les *staphylococcus aureus* ne sont pas accord avec KARA TERKI en 2014 qui à trouver que 55.50% des souches formatrice de biofilm sur le milieu RCA (111)

Les résultats obtenus pour les *pseudomonas* ne sont pas accord avec MADOURI Manel en 2017 qui n'ont trouvé aucun résultat significatif (tous les résultats sont négatifs).(112)

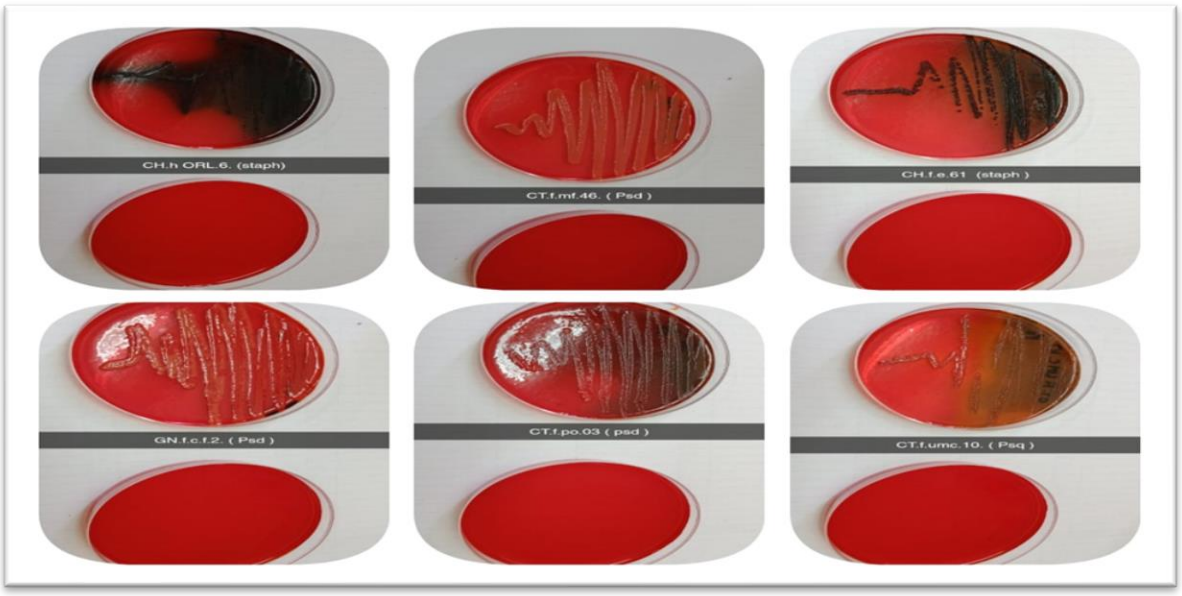


Figure 38 : résultats de la méthode RCA (prise personnel 2021)

6-2 Résultat de La formation in vitro du biofilm sur les sondes urinaires par Pseudomonas et staphylococcus aureus

Dans cette partie toutes les souches *de staphylococcus* aureus étaient retenue pour ces grandes capacités à former le biofilm sur la gélose au sang avec pourcentage de 100%.

Pour les *Pseudomonas* une seule souche parmi les 9 testés n'a pas formé de biofilm sur la gélose au sang avec pourcentage de 11.11 % , tandis que les autres 8 souches ont formé le biofilm avec pourcentage de 88.88 %.

Le test a donné des résultats positifs pour toutes les sondes urinaires dont on observe une bonne diffusion de biofilm au bout de 48 heures. Donc Les 8 souches des pseudomonas et staphylococcus aureus ont la capacité d'adhérer sur la surface des sondes urinaires. Selon la technique décrite par Djeribi et al. (2012), le détachement et la diffusion du biofilm formé à l'intérieur de la sonde urinaire est détecté sur gélose au sang (80)

Les résultats de méthode de diffusion sur gélose au sang ne sont pas totalement confirmés avec les résultats de RCA

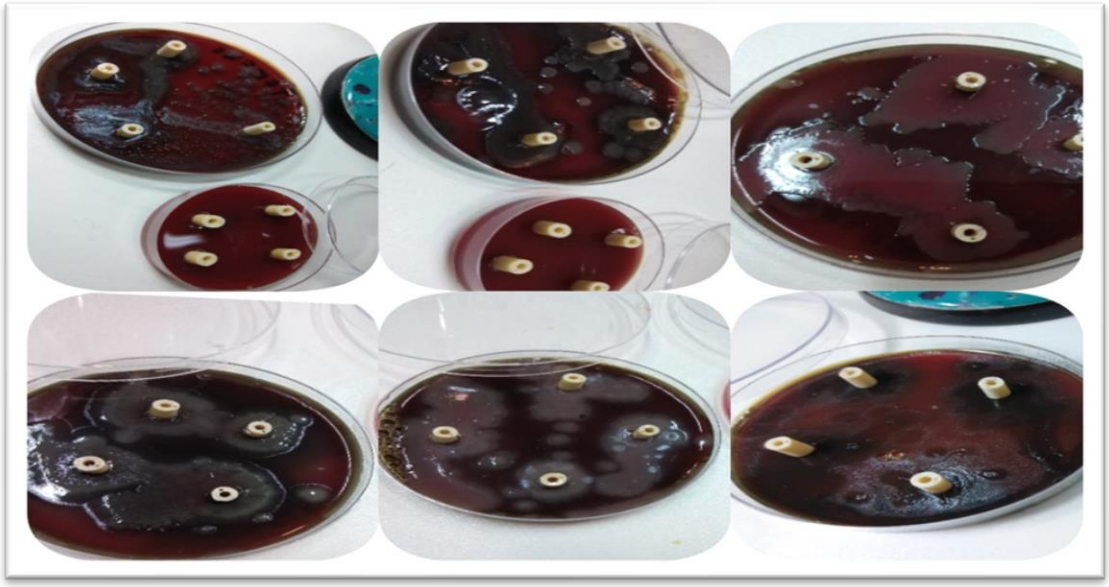


Figure 39 : résultats de la diffusion de biofilm sur les sondes urinaire (prise personnelle 2021)

6-3 Résultat de la TCP

Technique de microplaque 96 puits Les 9 *pseudomonas* et les 5 *staphylococcus* isolats identifies ont été testés pour leur capacité de produire du biofilm in vitro. Ceci par la méthode quantitative de coloration au cristal violet sur microplaque 96 puits en polypropylène.

Les valeurs des densités optiques (DO) obtenues par le lecteur d'absorbance pour microplaques ont été converties en tableau (annex4).

D'après l'analyse de tableau par comparaison des différentes valeurs, Les résultats obtenu chez les 9 Pseudomonas

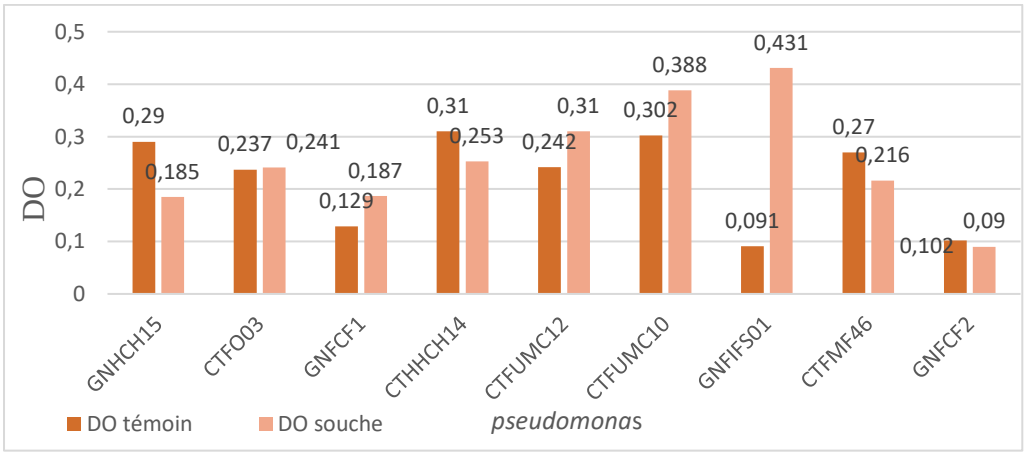


Figure 40 : différentes valeurs de la DO des Pseudomonas testé

La densité optique des souches était plus élevée que celle de témoin, ce qui traduit leur capacité de former un biofilm. Sur les 9 isolats, la DO de la souche GNFIFS01 est 4 fois plus élevée que la DO de témoin (Dot × 4 ≤ DOs) ce qui la classe comme fortement formatrice de biofilm.

Et la DO de 4 autre souche et supérieur que la DO de témoin (Dot < DOs<2DOt) ce que la classe comme faiblement formatrice de biofilm.

Toute les souche formatrices le biofilm soit fort ou faible ont percentage total de 55.50 %

Dans ce cadre plusieurs travaux ont été effectués pour voir la capacité de Pseudomonas de former un biofilm in vitro citant (104) (105)

La DO des 4 derniers souches inferieure que la DO de témoin (DOs < DOt) ce que la classe comme no productrice de biofilm

Les résultats obtenus chez les 5 staphylococcus aureus

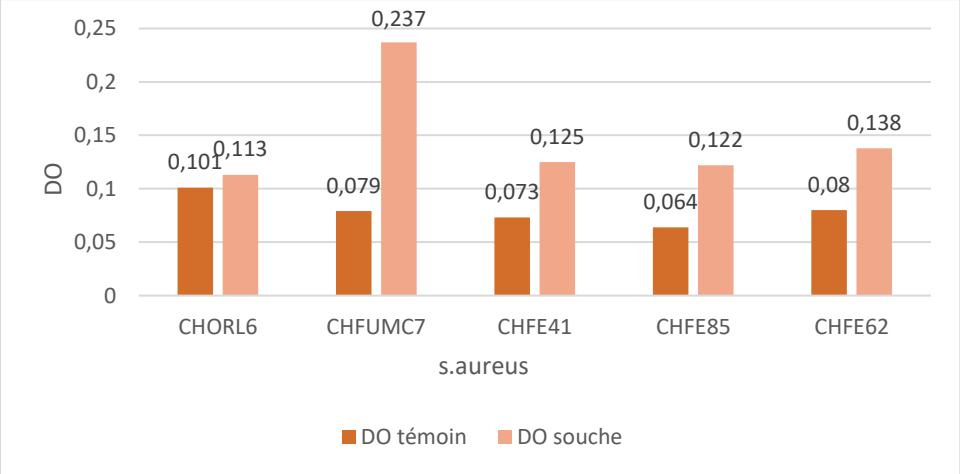


Figure 41 : différentes valeurs de la DO des staphylococcus aureus testé

Parmi Les 5 souches isolats de *staphylococcu*s aureus, la souche CHFUMC7 est classées comme modérées (2DOt <DOs <4DOt) et les 4 autres sont faiblement productrices de biofilm

Tous les souches formatrices le biofilm soit modérées ou faible ont percentage total de 100%

Les résultats de TCP ont été accordé avec les résultats de RCA les quater souches qui n'ont pas formé le biofilm a été vu dans les deux méthodes

Les isolats testés pour la formation de biofilm de façon statiques ont montré des résultats non significatifs entre les différentes souches testées telle que *Psoudomanas* le significatif est égal à 0 alors que pour les staphylocoques la valeur étant de 0.001

7- activité antimicrobienne du miel

Cette partie de ce travail consiste en L'évaluation de l'activité antimicrobienne du quatre échantillons de miels naturel testé sur des défirent souches multi résistants responsables d'infection nosocomiale quand ont été isolé.

L'évaluation du pouvoir antimicrobien du miel est réalisée par trois techniques :la diffusion en gélose par les puis et la méthode des disques imbibés entre extrait de miel et antibiotique qui ont basée sur les mesures des diamètres en (mm) des halos d'inhibition de différentes dilutions des différents échantillons de miel. Ces mesures permettent de déterminer l'activité antimicrobienne du miel in vitro, la technique des microplaques qui est basée sur les mesures de DO par l'appareil spectrophotomètre.

7-1 Résultats des méthodes de puis :

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau dans l Annex 4

7-1-1 résulta de miel de thym

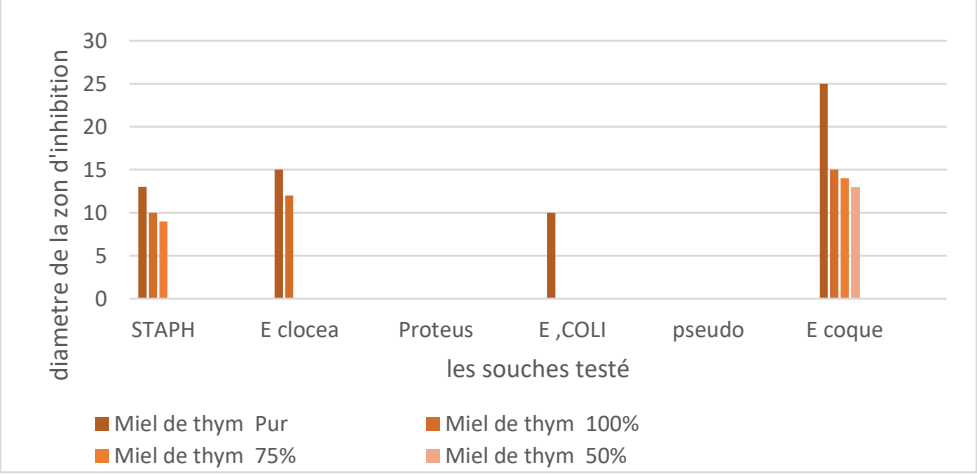


Figure 42 : Activité antimicrobienne du miel de thym

Dans cette partie les souches isolées ont testé par des différentes dilutions du miel de thym qui ont basée sur les mesures des diamètres en (mm) des halos d'inhibition, on a obtenu un meilleur résultat de miel de thym chez les *Entérocoques* (25mm pour le miel pur et 15mm 100%, 14mm et 13 mm pour les dilutions de 50% et 25%).

Pour les *staphylococcus aureus* on a obtenu 13mm pour le miel pur et 10 mm à dilution de 100 % et 9 mm pour 75% et résisté pour la dilution 50% et 25%

Résulta moyen pour les *Entérobactérie Cloacae* (15mm et 13mm pour le miel pur et de dilution 100%) et *Escherichia coli* (10 mm du miel pur) Aucun résultat trouvé chez les *Porteuse mirabilis* et *Pseudomonas*

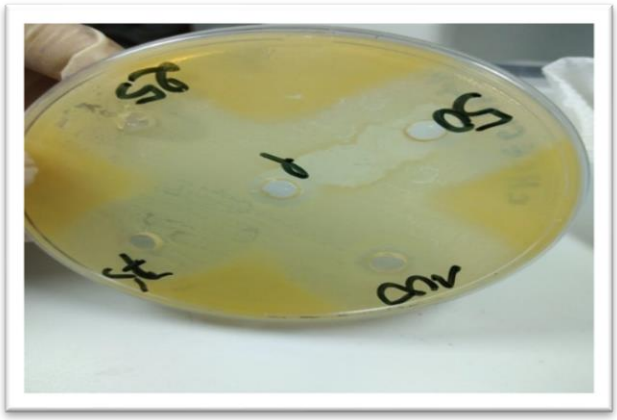


Figure 43 : exemple des déférentes zones obtenues par le miel de thym (prise personnel (2021)

7-1-2 résultats du miel de sider

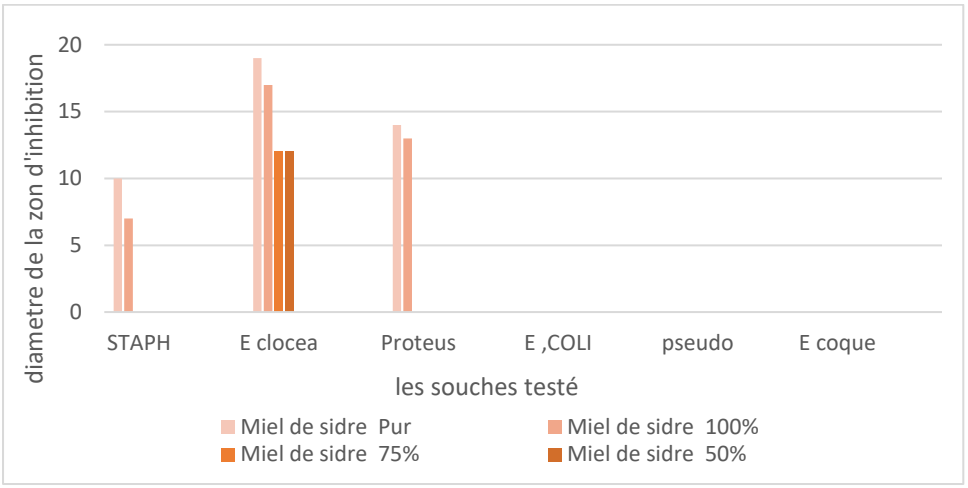


Figure 44 : Activité antimicrobienne du miel de sider

Les souches isolées ont testé par des différentes dilutions de miel de sider qui ont basée sur les mesures des diamètres en (mm) des halos d'inhibition, on a obtenu meilleur résultat de miel de sider.

Pour *les Entérobactérie cloacae* (19mm pur et 17mm 100%, 12mm pour les dilutions de 50% et 25%).

Résulta moyen pour les Proteus mirabilis (14mm pour le miel pur et 13 mm de dilution 100%) et les *staphylococcus aureus* on a obtenu 10 mm pour le miel pur et 7 mm à dilution de 100 %

Aucune ne résulta trouver chez les *Escherichia coli*, *Pseudomonas et les Entérocoque*

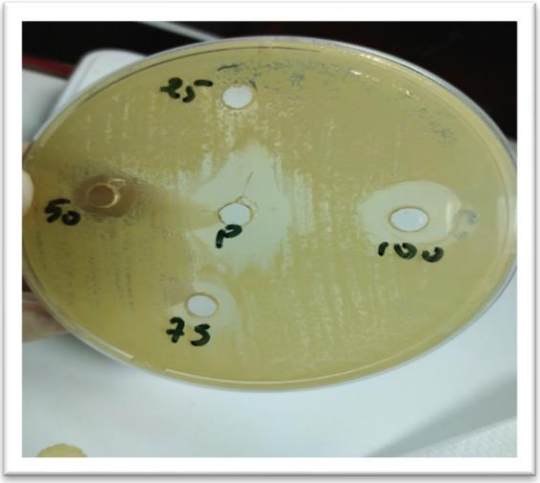


Figure 45 : exemple des déférentes zones obtenues par le miel de sider (prise personnel (2021)

7-1-3 résultats du miel de montagne

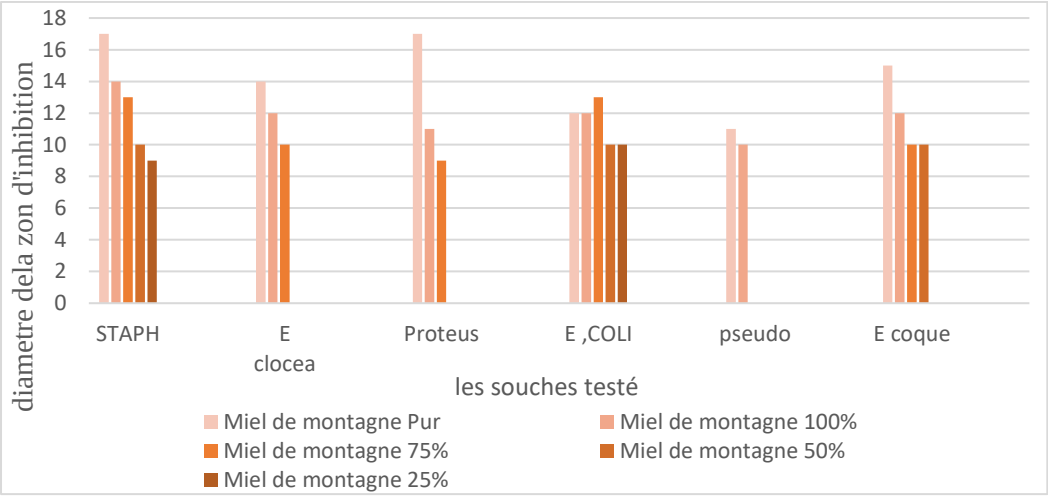


Figure 46 : Activité antimicrobienne du miel de Montagne

On a obtenu des meilleurs résultats de miel de montagne chez les déférents souches testées, Pour les *staphylococcus aureus* on a obtenu 17 mm pour le miel pur et 14mm à dilution de 100 % et 13 mm pour 75% et 10mm et 9 mm pour la dilution 50% et 25%

Escherichia coli 12mm pour le miel pur et dilution 100 % et 10 mm pour 50% et 25%

Les *Entérocoque* 15mm pour le miel pur et pour les déférent dilution on a obtenu (12 mm ,10mm)

Résultat moyen pour les *Pseudomonasse et Proteus mirabilis* (17mm et 11mm pour le miel pur et 11 mm ,10mm de dilution 100%)



Figure 47 : Eexemple des déférentes zones obtenues par le miel de sider (prise personnel (2021)

7-1-4 résultats du miel de Chardon étoilé

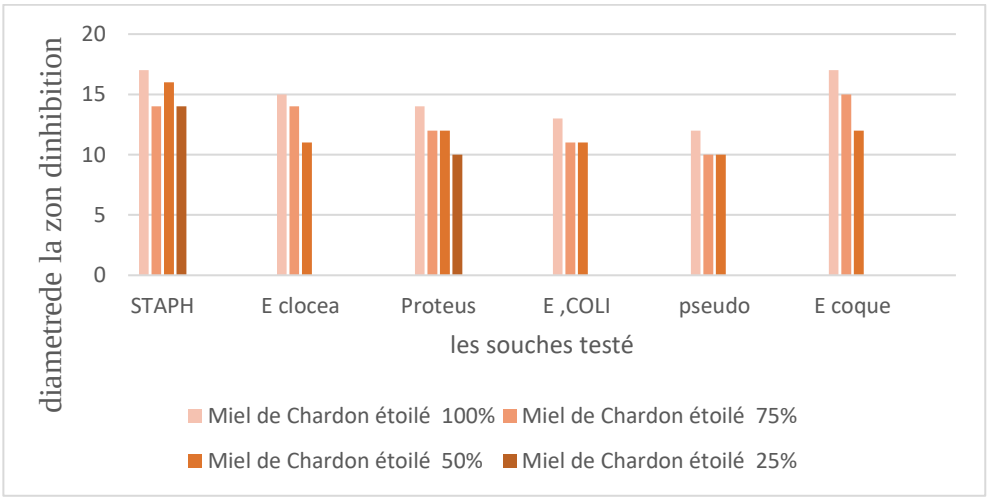


Figure 48 : Activité antimicrobienne du miel de Chardon étoilé

On a obtenu des meilleurs résultats du miel de chardon étoilé pour tous les souches gram positif (*Entérocoque* et *Staphylococcus aureus*) avec 17 mm pour le miel pur et 14mm à dilution de 100%, 16mm et 12 mm pour la dilution de 50%).

Et pour les gram négatif *Escherichia coli*, (13 mm à dilution de 100% et 11mm pour Les délutions de 75 % et 50%)

Pseudomonas (12 mm à dilution de 100% et 10 mm pour les dilutions de 75% et 50%

Et *Proteus mirabilis*, (14 mm à dilution de 100% et 12mm pour les dilutions de 75% et 50% et 10 mm à dilution de 25 %), *Entérobacter clocea* (15 mm à dilution de 100% et 14 mm ,11mmpour les dilutions de 75% et 50%

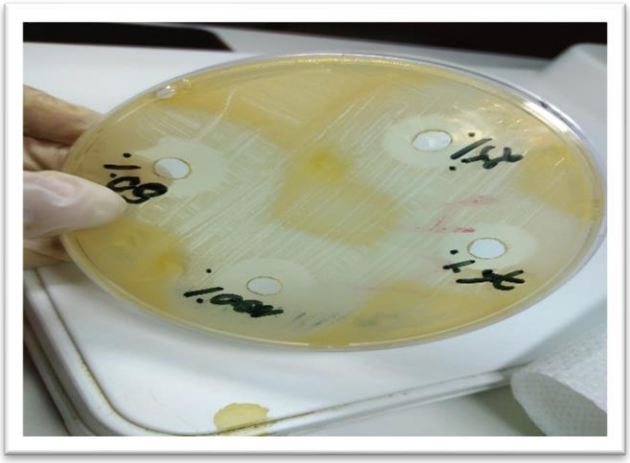


Figure 49 : exemple des déférentes zones obtenues par le miel de sider (prise personnel (2021)

Discussion

D'après les résultats de l'évaluation de l'activité antimicrobienne, Solon Jason et al en 2004 Ont déterminé les intervalles suivants : 15 mm activité élevé.

Les zones d'inhibition ont obtenu : Soit une zone translucide transparente avec absence totale de croissance, Soit une zone où il y a une décroissance par rapport au tapis bactérienne

On peut constater ce qui suit Tous les isolats testés sont moyennement sensibles à l'action inhibitrice des quatre échantillons de miel naturel, avec des différences d'un type à un autre et d'une souche à une autre, ce qui indique son large spectre d'action antibactérienne.

L'effet antibactérien du miel est plus important avec les échantillons non dilués, il diminue avec des dilutions successives. Et le facteur temp

La souche *S. aureus* est moyennement sensibles à l'effet des échantillons alors que *Pseudomonas Luteola* qui peut être considérer relativement résistante.

- Les échantillons du miel de montagne et le miel de chardon étoilé les plus efficace et qui possède un effet antibactérien sur les sept souches testées. Alors que l'échantillon de thym est

l'échantillon le plus faible, et qu'il n'agit que sur les bactéries à Gram+, ainsi que l'échantillon du miel de sider faible pour les souches testées

Ces résultats sont en accords avec ceux de MERAH et all en 2010 (106)

7-2Résultat de la synergie entre extrait et antibiotiques chez gram –

Les résultats des synergies réalisées par la combinaison des quarts échantillons du miels (miel du sider et miel de chardon étoilé et miel de thym, le miel de montagne) et six antibiotiques déférents (Azithromycine, Amoxicilline, Rovamycine, Cefazoline, Gentamycine, Claforan)

Escherichia coli et Entérobacter clocea ont été sensibles à tous les antibiotiques avec les différents échantillons du miel avec diamètre plus de 25 mm chez *Escherichia coli* et à l'intervalle (16mm à 26mm) chez les *Entérobacter cloacae* à l'exception de l'amoxicilline avec les diffèrent type du miel qui ne présente aucun effet antibactérien contre les deux souches.

Porteuse mirabilis a été forte sensible à tous les antibiotiques qui ont combinés avec les déférentes types du miel

Ces souches ont été moyennement résistants dans la cadre de l'antibiogramme et dans le résultat d'activité antimicrobien de miel (méthode des puis) . les résultats de la synergie ont été efficace donc les souches devenons plus sensibles

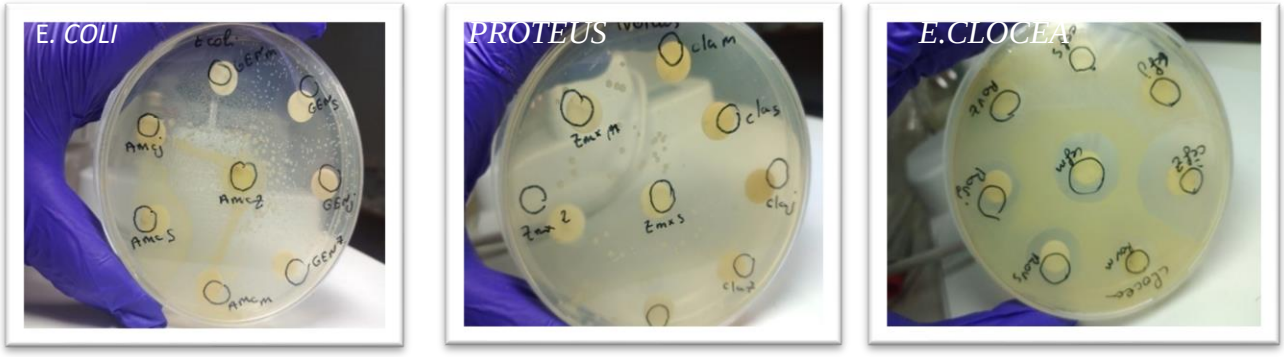


Figure 50 : résulta de la synergie chez les E. coli, Porteuse, E. cloacae (prise personnel (2021)

Pseudomonas est une souche plus résistance elle a été capable de la formation fort de biofilm

On a vu la résistance de cette souche dans le cadre de l'antibiogramme et l'effet antibactérien de miel et dans l'association de miel et antibiotique

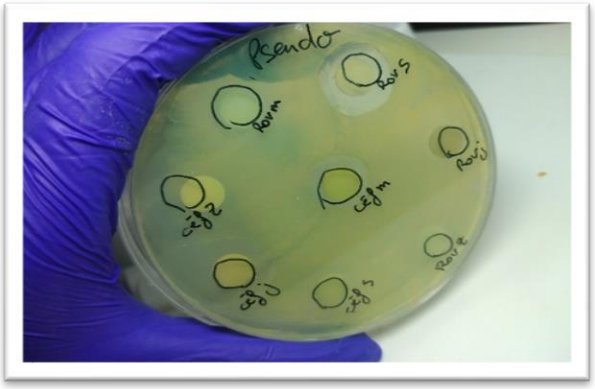


Figure 51 : résultats de la synergie chez les *Pseudomonas* (prise personnel (2021)

Résultats de la synergie entre extrait et antibiotiques chez gram +

Les résultats des synergies chez les *Entérocoques* ont été sensibles à tous les déférents antibiotiques associés à déférents échantillons du miel avec l'intervalle de diamètre (15mm à 21 mm)

A l'exception de la rovamycine avec les différents types du miel qui ne présent aucun effet antibactérien

Les Résultats de La synergie des staphylococcus aureus à déférente antibiotique associé avec déférente type du miel ont été résistants à l'amoxicilline, gentamycine et azithromycine

La sensibilité était pour la cefazoline et la rovamycine

Staphylococcus aureus est une souche moyennement résistante aux antibiotiques (plus de 10 antibiotiques). La comparaison enter l antibiogramme et l'activité antibactérienne du miel nous indique que l'effet de miel est important, donc la souche est devenue moyennement sensible

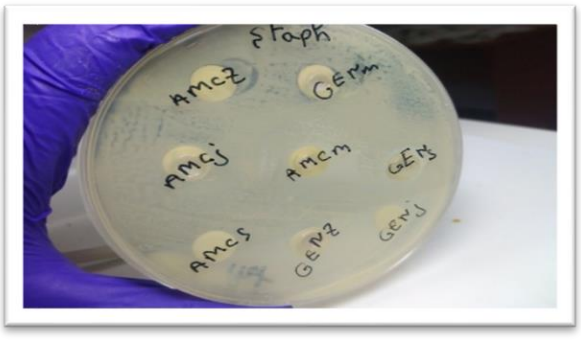


Figure 52 : résistance des *staphylococcus aureus* dans les résultats de synergie (p p (2021)

L'effet synergiquee peut être dû à la formation d'un complexee plus efficace dans l'inhibition d'une espèce particulière de microorganisme, soit par inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire Ou par provoquant la lyse ou la mort de ces microorganismes (107)

7-3 La méthode de spectrophotométrie :

La méthode de spectrophotométrie est une technique de diffusion en milieu liquide très sensible, simple, rapide et plus favorable à l'analyse statistique ; elle permet la détermination de la DO. (108)

Cette méthode a été réalisé par quatre échantillons de miel tastés a six souches déférentes isolés. (Les même souche tasté sur la méthode de puis et l'étude de synergie).

Les résultats de spectrophotomètre ont été présenté sous forme d'un histogramme les tableaux de pourcentage dans l'annexe 4

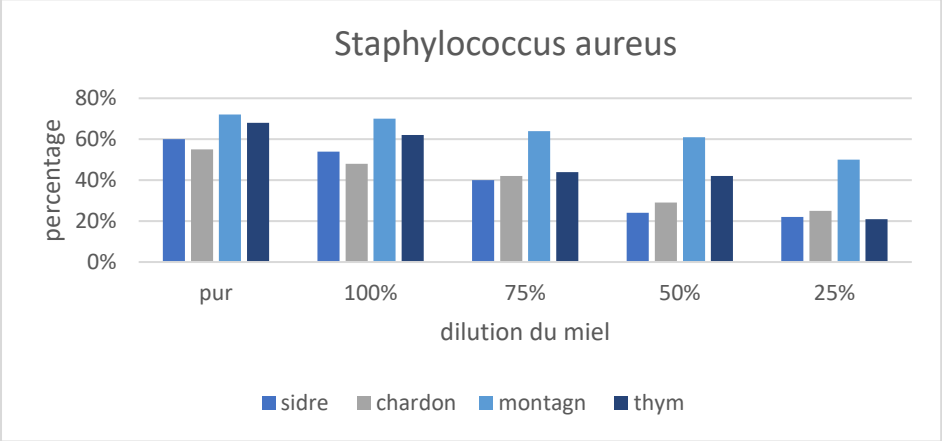


Figure 53 : pourcentage d'inhibitions des miels testés envers la souche *staphylococcus aureus*

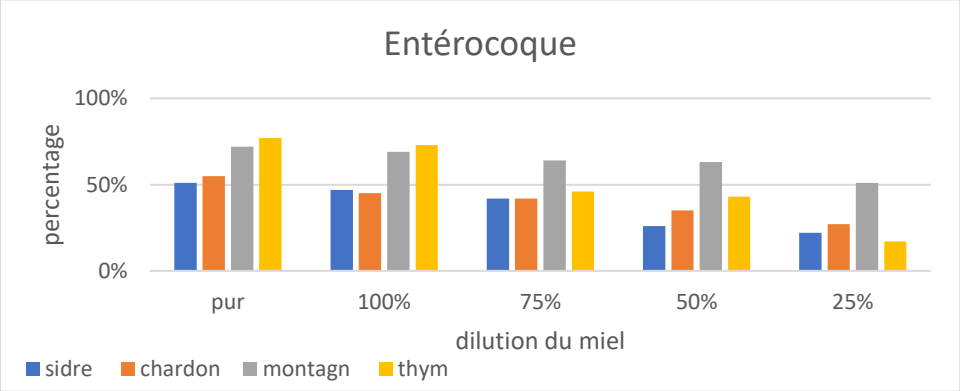


Figure 54 : pourcentages d'inhibitions des miels testés envers la souche *Entérocoque*

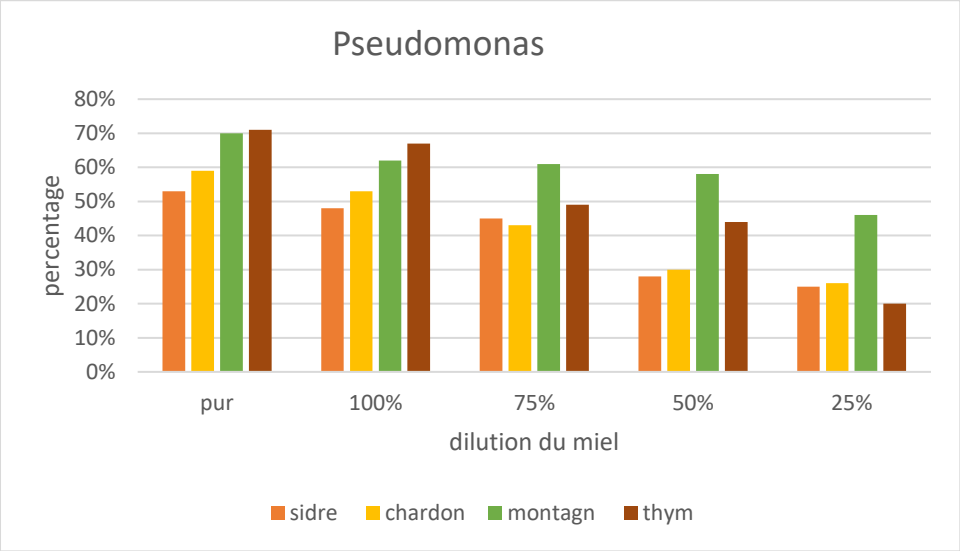


Figure 55 : pourcentages d'inhibitions des miels testés envers la souche *Pseudomonasse*

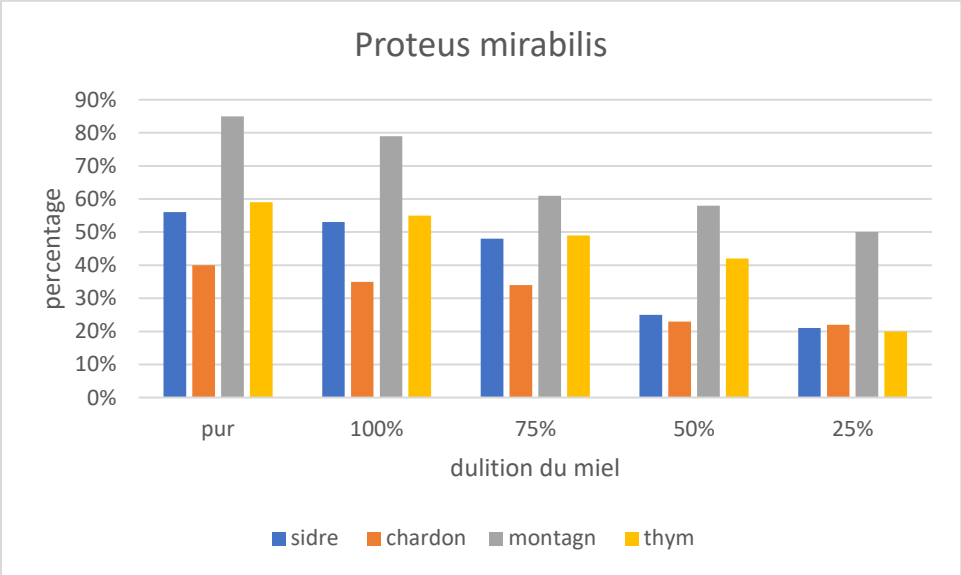


Figure 56 : pourcentages d'inhibitions des miels testés envers la souche *Porteuse mirabilis*

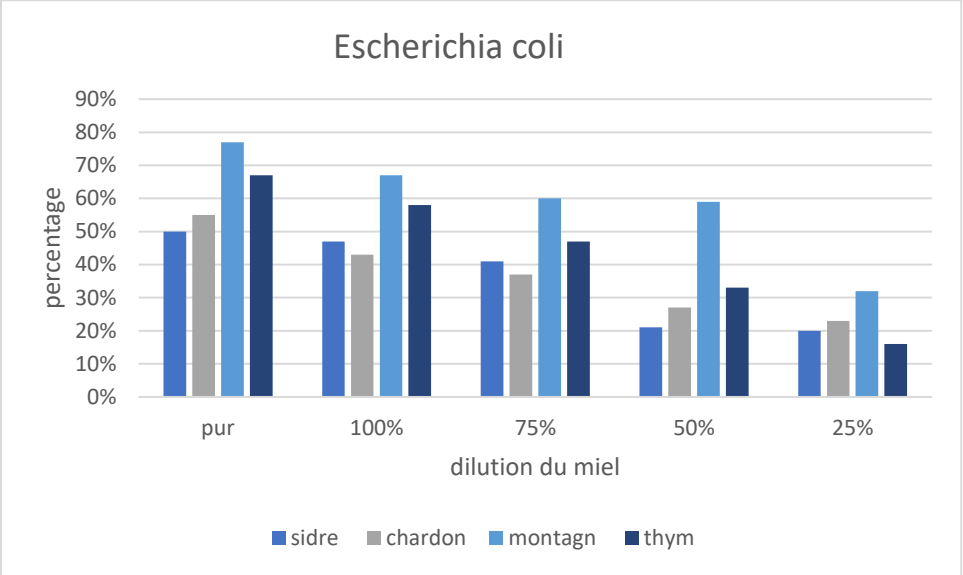


Figure 57 : pourcentages d'inhibitions des miels testés envers la souche *Escherichia coli*

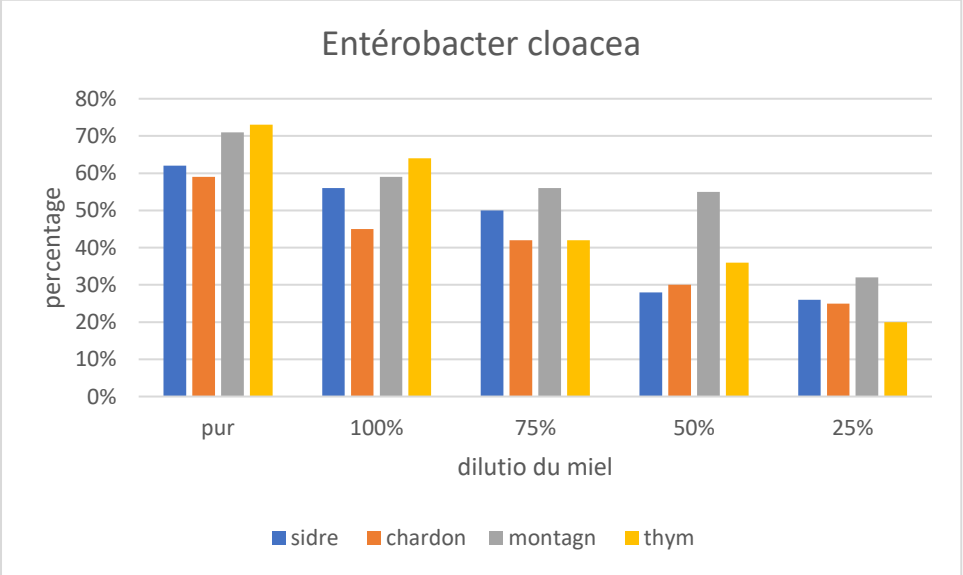


Figure 58 : pourcentages d'inhibitions des miels testés envers la souche *Entérobacter cloacae*

Les résultats obtenus par cette méthode montrent les différents pourcentages d'inhibitions des miels testés envers les déférentes souches.

On remarque que les quatre échantillons présentent une forte activité inhibitrice aux déférents concentration, pure et la dilution 100 % testé par un percentage d'inhibition allant de 45% à 85% à toutes les souches testées.

Et moyennement activité inhibitrice à la dilution de 75 % à tous les défirent échantillon de miel sur tous les souches testées, le percentage d'inhibition à l'intervalle 45 % à 75 %

Le miel de montagne à une moyenne activité à la dilution de 50% avec pourcentage d'inhibition de 55 %

On a obtenu une faible activité inhibitrice à la dilution de 25 % sur tous les défirent échantillon de miel, Le pourcentage d'inhibition environ 16 % à 50 %

D'après ces résultats en constate que nos souches ont moyennement sensible à l'action des miels thym, montagne et chardon étoilé et le miel de sider avec les concentrations pur et 100 %

Pourcentage d'activité inhibitrice du miel est plus important avec les échantillons non dilués, et il diminue avec des dilutions successives.

Conclusion

Conclusion et perspectives

Les infections bactériennes sont la cause majeure de la morbidité et de la mortalité en milieu hospitalier. A partir des résultats obtenus il en ressort que les femmes sont les plus exposées aux infections urinaires avec un pourcentage de 66% comparées aux hommes avec seulement 34%. Les personnes âgées ainsi que les immunodéprimés sont fortement exposés aux infections urinaires et représentent une tranche non négligeable.

A la lumière de cette étude, nous pouvons dire que le sondage exposé à l'IUN chez la majorité les patients étudiés et après ECBU démontre que ces infections, sont toutes des infections pluri microbiennes à bactéries Gram - et gram +, avec une prédominance des *pseudomonas*, suivie d'*entérocoques* et de *Staphylococcus aureus*. Les différents antibiogrammes effectués ont révélés que *pseudomonas sp*, *Staphylococcus aureus* et les *Entérocoques* présentent une grand résistance aux antibiotiques, et ont révélé l'importance de la fréquence des souches multi résistantes à divers antibiotiques utilisés en antibiothérapie à EPH de Médéa.

Ces infections aggravées, dues au développement de biofilms à des souches multi résistantes constituent actuellement un vrai problème de santé publique. En effet, la médecine d'aujourd'hui doit faire face à la prise en charge des infections impliquant des biofilms qui se forment aussi bien sur les tissus superficiels ou internes de l'hôte que sur des dispositifs invasifs tel que les sondes urinaires. La présence de biofilms lors d'une infection n'est pas diagnostiquée par les méthodes actuelles d'analyses bactériologiques et de ce fait toutes les infections (circulantes, biofilms) sont traitées de la même manière.

Les produits de la ruche t'elle que le miel trouvent leur place dans l'arsenal thérapeutique car devant l'émergence des germes résistants aux antibiotiques, sont une réponse efficace contre les agents infectieux. La valeur médicinale du miel est de plus en plus démontré scientifiquement ce qui constitue d'importance de leur utilisation seuls ou en combinaison en médecine ainsi, le secteur de l'industrie pharmaceutique et alimentaire.

Il serait très intéressent de poursuivre cette étude pour mieux comprendre les mécanismes d'antibiorésistance des bactéries, et pourquoi pas essayer d'autres produits naturels, ainsi qu'une identification moléculaire des isolats.

Référence

Référence

1. **Zerari Z et DJE Kouadio K.** (2014). Mémoire du master, les infections nosocomiales : cas de l'infection urinaire. Université de Constantine1, Constantine
2. **Lavigne.J.P**. (2007). Thèse de doctorat, Effet des antibiotiques, mécanismes de résistance. Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes, France.
3. **Chouba M et Djaballah C et Louadfel A. (2006).** Rapport de stage, Les infections urinaires. Université Constantine1,
4. (**Domart et Bournef.1989) Domart A., Bournef J. (1989).** Nouveau Larousse médicale. Edition Canada. P1064-1066
5. **Kouta K. (2009).** Mémoire de fin d'étude. Infection urinaire chez les diabétiques adultes. Université Kasdi-merbah Ouargla, Ouargla
6. **Gould ,D. (2001)** ;Le Corps Humaine ; Etude, Structure Et Fonction Le Rôle Infirmier Dans La Pratique Clinique –Brookker- ;2eme édition ; Edition de boeck, anglaise
7. **Lasnier F et Crouzols G et Lechaud M**. **(1984).** Livre d'hygiène et biologie humaines
8. **Bourouina, R.(2008)** ;Manuel D'anatomie Et De Physiologie. 4eme Edition; EditionLammare; France; 283-285 p
9. **Lacombe, M .(2005)** ;Précis D'anatomie Et De Physiologie Humaine ; 28emeédition.
10. **Barbut F** ; Les infections en 2011 : bilans nosocomiales et perspectives de l'adulte : Dossier Scientifique ; Hyg Infect Nosoc ; 2011
11. **Olivier Traxer**; Urologie ; Infections urinaires de l'enfant et de l'adulte, Leucocyturie : 1.7.93 ; le 11 février 2013
12. Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSAPS); Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires chez l'adulte ; Recommandations de bonne pratique médecine et maladies infectieux 38s(2008) s 203-s252
13. **Bruyère F, Cariou G, Boiteux J-P, Hoznek A, Mignard P, Escaravage L, Bernard L, Sotto A, Soussy C-J, Coloby P**. Le CIAFU Progrès en Urologie (2008) 18 Suppl. 1, S1-S3.,

14. **Nour C 2004**; Germes urinaires et leur résistance ; thèse de pharmacie ; Faculté de médecine et pharmacie de Rabat ; Université Mohammed V ; 2004 ; N° 60
15. **Lecomte F 1999** ; Infections urinaires ; Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris) ; AKOS Encyclopédie Pratique de Médecine ; 1999 : 4-0880
16. Conférence de consensus coorganisée par la société de pathologie infectieuse de langue française (SPILF) et l'Association Française d'Urologie (AFU) ; infections urinaires nosocomiales ; Paris : institut pasteur ; Novembre 2002
17. **Johnson Jr 1991**; Virulence factors in Escherchia coli urinary tract infection; Clin microbial Rev; 1991; 4:80-180
18. **PORCHEZ MF Août 2010** - Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux – Soins techniques Page 1 - CCLIN Sud-Est
19. **ELODIE M CÉLINE B et OMAR K janvier 2017** Sonde urinaire : respecter les indications pour éviter les infections Rev Med Suisse
20. Item 173 (Item 91) – Infections nosocomiales Collège Français des Urologues 2014 Campus d'Urologie - Collège Français des Urologues
21. **Mrich, H.(2018**) ;Profil De L'antibio-Résistance De L'infection Urinaire Nosocomiale En Urologie Expérience Du Service D'urologie CHUMohammed VI ;Thèse de doctorat. Faculté de médecine et de pharmacie ;MarrakacheMohammedi S 2013 – l'infection urinaire chez l'enfant, santé -MAG.V 15, P 10.11
22. **Mohammedi S 2013** – l'infection urinaire chez l'enfant, santé -MAG.V 15, P 10.11
23. **Bouarroudj Y et boutabza F .2015** les infection urinaire , université de Constantine (1) .p39
24. **Chibane A., avril 2010** : Les infections urinaires.
25. **Warren JW 1993**. Urinary tract infections. In : Wenzel RP, Ed. Prevention and control of nosocomial infections. Williams and Wilkins, Baltimore, 2nd edition, 1993, p 821-40.
26. **Kunin CM 1984** Genitourinary infections in the patient at risk: extrinsic risk factors. Am J Med 1984 ; 76 : 131- 9
27. **Daifuku R, Stamm WE 1986**. Bacterial adherence to bladder uroepithelial cells in catheter-associated urinary tract infection. N Engl J Med 1986 ; 314 : 1208-13

28. .**Nickel JC 1994.** Costerton JW. McLean RJ. Olson M. Bacterial biofilms:influence on the pathogenesis, diagnosis and treatment of urinary tract infections. J Antimicrob Chemoth 1994 ; 33 Suppl A : 31-41

29. **JOLY B, REYNAUD A** Directeur de Collection : LARPENT Jean-Paul Entérobactéries Systématique et méthodes de diagnostic Coll. Monographies de microbiologie

30. **larry m .Bush MD, FACP, Charles E.2020** Schmidt College of Medicine, Florida Atlantic University Dernière modification du contenu sept. 2020

31. **boisivon A., Guibert, J., and Acar, J. F. (1976)**. Bacteries urinaires enrobees d'anticorps: aspect diagnostique et evolutif. Pathologie Biologie, 24, 695-698

32. **Danielle CLAVE 1973** FICHE TECHNIQUE BACTERIOLOGIE Association déclarée à la Préfecture de la Haute-Garonne le 30 Octobre 1973 et enregistrée sous le n° 8-543

33. **Catherine D 1973** Expert biologiste -Bactériologie CHU Toulouse Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique le 30 Octobre 1973 et enregistrée sous le n° W313002633

34. **Franzetti L and Scarpellini M (2007**). Characterisation of Pseudomonas spp. isolated from foods. Annals of Microbiology. 57(1): 39-47.Immunol, 322: 249- 289Interface•, Microbes and Microbial Technology, Springer, New York, pp. 59-85

35. **Silby, M.W., Winstanley, C., Godfrey, S.A.C., Levy, S.B., Jackson, R.W.**, **(2011).**Pseudomonas genomes: diverse and adaptable, FEMS Microbiol Rev., 35, 652–680

36. **Miyada, C.G., Lory, S., (2003).** Conservation of genome content and virulence determinants among clinical and environmental isolates of Pseudomonas aeruginosa, PNAS, 100 (14) 8484–8489

37. **Palleroni, N.J.(1984)** .Genus I. PseudomonasMigula 237 AL (n. m. cons. opin. 5)

38. **Garrity, G.M. (2005)**. The Proteobacteria - Part B: The Gammaproteobacteria. In 'Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'. (Springer: New York).

39. **Avril, J. M., Dabernat, H., et Monteil, D. H. (2000).** Bactériologie clinique. 3éme Ed. EdEllepses. Paris. 602 P.

40. **Avril JL, Dabernat H, Deni F et Montei H, (1992).** Bactériologie clinique. 2ème Ed. Ellipses, Paris. P602

41 **Grosjean J, Clavé D, Archamband M, Pasquier C, (2016).** Bactériologie et virologie pratique. De Boeck, Belgique

42 **Delarras C, (2014).** Pratiques en microbiologie de laboratoire. Lavoisier, France

43 **Boisivon, A, Guiibert, et al, 1976).** boisivon A., Guibert, J., and Acar, J. F. (1976). Bacteries urinaires enrobees d'anticorps: aspect diagnostique et evolutif. Pathologie Biologie, 24, 695-698

44 **Becker, K., Harmsen, D., Mellmann, A., Meier, C., Schumann, P., Peters, G., & von Eiff, C. (2004)**. Development and evaluation of a quality-controlled ribosomal sequence database for 16S ribosomal DNA-based identification of Staphylococcus species. Journal of Clinical Microbiology, 4988-4995. doi : 10.1128/JCM.42.11.4988-4995.2004

45 **Kluytmans, J., van Belkum, A., & Verbrugh, H. (1997)**. Nasal carriage of Staphylococcus aureus : epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. Clinical Microbiology Reviews, 10(3), 505-520

46 **Maryse A.danielle C 2007** laboratoire de bactériologie hygiéne chu toulouse rangueil Emis le 5 juin 2007 Fiche technique _ Bactériologie 053 / 073 EN.FTBAC. 27-08-11.01 p 1.2.3

47 **Edouard .s 2018** fiche espece bacteriologie

48 **Ryan, K. J., & Ray, C. G. (Eds.). (2004.).** *Sherris Medical Microbiology An Introduction to Infectious Disease.* (Fourth Edition. ed.). New York. : McGraw-Hill.

49 **Kilian, M. (1998).** Streptococcus and Lactobacillus. In A. Balows, & B. I.Duerden(Eds.), *Topley& Wilson's microbiology and microbial infections* (9th ed., pp. 633-668). London : Arnold.

50. **Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Landry, M. L., & Pfaller, M. A. (Eds.).(2007).** Manual of Clinical Microbiology (9th ed.). Washington : ASM Press.

51. **Ryan, K. J. (2004).** *Candida*, *Aspergillus*, and Other Opportunistic Fungi. In Ryan, K.J. and Ray, C.G. (Ed.), *Sherris Medical Microbiology* (4th ed., pp. 659-668). USA: McGraw-Hill.

52. **Odds, F. C. (2010).** Molecular phylogenetics and epidemiology of Candida albicans. Future Microbiology, 5(1), 67-79.

53. **Schell, W. A. (2006).** Mycotic agents of human disease. In Fleming, D.O., and Hunt, D.L. (Ed.), Biological Safety: Principles and Practises (4th ed., pp. 163-178). Washington D.C.: ASM Press**.**

54. **FLEMMING, Hans-Curt., WINGENDER**, Jost. The biofilm matrix. Nature Reviews Microbiology,(2010); vol.8, p.623-633.

55. **STOODLEY P, SAUER K, DAVIES D. G, COSTERTON J. W**. Biofilms as complex differentiated communities. Annual Reviews Microbiol, (2002) ; n°56, p. 187-209
56. **Beloin c et coll2008**Cycle biofilmisation – planctonisation Curr.Top. Microbiol.Immunol.,322 :249-289
57. **ROUX, Agnès., GHIGO, Jean-Marc**. Les biofilms bactériens. Communication, (2006) ; n°3, p. 261-268
58. **Lucie Manet 2020** Publier dans la catégorie prélèvements par le 03-02-2020 20:09
59. **Janviera, F. Mbongo-kamaa,E.Merensa,A. Cavallo, J-D.(2008).**Les Difficultés D'interprétation de l'Examen Cytobactériologique des Urines ;Revue francophone des laboratoires - - n°406.
60. **Carbonnelle B, Denis F**, **Marmonier A, Pinon G, Vargues R, 1987**- Simep. Criter for the diagnosis of UTI and for the assessment of therapeutic fectiveness Infection. Ed. Paris, Stamm W.E, 151-154p
61. **Cariou, G., A. El Basri., Cohen, J., Cortesse, A. (2016).** "Can the urine dipstick be used in the diagnosis of urinary bacterial colonizations in a preoperative urological assessment?" Progrès en urologie: journal de l'Association française d'urologie et de la Société française d'urologie 26(5): 276-280
62. **Djebaili. R et Guerabsi. K, (2016),** Les Infections urinaires chez le sujet âgé.
63. **Cavallo JD**. Bonnes pratiques de l'examen cytobactériologique des urines (ECBU) au laboratoire. Feuill. Biol. 1987;215:7-13.
64. **Chlouchi, A. (2015)** ;Les Colonisations Urinaires Chez les Patients Porteurs d'une Sonde Double J SIJIL Université Mohammed V
65. **Lacheheub, L. et Bendagha, Y. (2016)** ;Les Infections Urinaires. Mémoire de Master : microbiologie ; Université Constantine 1 ; 44 p.
66. **Hermann H et Cier J. 1979** .Précis de physiologie ,4 éme édition _Paris : New York – Barcelone –Milan. 159-231p**.**
67. **LARPENT J. P et LARPENT G.M.1990**. Memento technique de microbiologie 2eme ED. Techniques et documentaire Lavoisier, Paris , P .417
68. **Garnier F, Denis F. (2007).** Bactériologie médical : Techniques usuelles : Cocci à Gram positif. Masson. Chapitre 29 .251, 254
69. **Aouati, H. (2009).** Isolement des souches de Staphylococcus aureus resistances à la méthecillines: etude de leur sensibilite aux autres familles d'antibiotiques. Département De Biochimie et De Microbiologie, algerie: thèse N° : 006 / SN / 2009

70. **Delarras C. (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire: Aliments, produits cosmétiques, eaux, produits pharmaceutiques. Éditions Médicales Internationales, Lavoisier 476 p.
71. **Waller Jocelyn 2006** cultures en mycologie médicale.EMC (Elsevier SAS ; paris) Encyclopédie médico -biologique , 90-60-0060
72. **Ayad, A.(2017)** ; Etude Des Mécanismes De Résistance Aux Antibiotiques Chez Escherichia coli Au Niveau Des Hôpitaux De l'Ouest Algèrien ; Thèse de doctorat en biologie ; Université AbouBekrBelkaid ;Tlemcen.
73. **Michael,B. et Smith, H. (1993)** ;Dépistage Des Infections Des Voies Urinaires Chez Les Nourrissons Et Les Enfants Asymptomatique ;Canada ;247-259p
74. **Bourdellon Loïc 2016**. Impact et acceptation de l'antibiogramme ciblé sur la prescription d'antibiotiques en médecine générale à l'échelle d'une région française. Sciences du Vivant [q-bio]. 2016. ffhal-01931859f
75. **Larcher C,2007** - *Antibiogramme standard*. 15p.
76. **Moreda Rémi 2010** du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie
77. **Yoann Perrin 2014**. Potentiel de transformation de souches d'intérêt de Streptococcus salivarius pour l'étude du transfert d'Eléments Intégratifs et Conjugatifs. Microbiologie et Parasitologie. . ffhal-01843164
78. **Ziebuhr W., Lobner I., Krimmer V., Hacker J. (2001)**. Methods to detect and analyse phenotypic variation in biofilm-forming. Methods in Enzymology. 336: 195-203
79. **Nasr SA., AbuShady H M., Hussein HS. (2012).** Biofilm formation and presence of ica AD gene in clinical isolates of staphylococci. The Egyptian Journal of Medical Human Genetics 1110-8630.
80. **Djeribi R., Bouchloukh W., Jouenne T., Menaa B. (2012).** Characterization of bacterial biofilms formed on urinary catheters. American journal of infection control, 40(9), 854-859.
81. **Tré-Hardy M., Vanderbist F., Traore H. (2008),** In vitro activity of antibiotic combinations against Pseudomonas aeruginosa biofilm and planktonic cultures. UrinaryCatheters, Urinary Tract Infections, 153- 172
82. **Hola V. et Ruzicka F., (2011),** The Formation of Poly-Microbial Biofilm on UrinaryCatheters, Urinary Tract Infections

83. **Christensen GD., Simpson WA., Bisno AL., Beachy EH. (1985).** Adherence of biofilm producing strains of Staphylococci epidermidis to smooth surfaces. Infection and Immunity 37: 318-326.
84. **Nair S. (2014).** Identification des plantes mellifères et analyses physicochimiques des miels Algériens, Thèse de Doctorat, Université d'Oran,
85. **ATMANI – MERABET Gh . 2018** Huiles essentielles de trois espèces d'Eucalyptus d'Algérie : composition et activité acaricide (Varroa destructor) THESE du diplôme de Doctorat en sciences UNIVERSITE DES FRERES MENTOURI CONSTANTINE1 N° d'ordre :209/Ds/2018 N° de série :28/Ch/2018
86. **Sib, A. (2007**). «Contrôle de la qualité physicochimique et microbiologique et évaluation de l'activité antimicrobienne du miel d'origine locale et importe». Mémoire d'obtention de diplôme en microbiologie alimentaire et sécurité sanitaire des aliments. Université de Tlemcen, Algérie.
87. **MOLAN P. C. (2009).** The antibacterial activity of honey: The nature of the antibacterial activity. Private Bag 3105, 5-28p
88. **Osho, A. Bello,O.O. (2002).** «Antimicrobial effect of honey produced by Apis mellifera on some common human pathogens». Asian journal.EXP.BIOL.SCI, vol.1, n°4, p.875-880
89. **Assegid, G. Erik, S. Lapre, l. (2004).** «Microcalometric investigation on the antimicrobial activity of honey of the stingless bee Trigona spp and comparison of some parameters with those obtained with standard methods». Thermochimica Acta, vol. 415, n°1-2, p. 99-106.
90. **Jason, H. D. Esther. R. ANGERt. (2004).** «Comparison of the antimicrobial activity of honey produced by Tetragonisca angustula (Meliponinae) and Apis mellifera from different phytogeographic regions of Costa Rica». Apidologie, vol. 35, p. 411–417.
91. **Carson, C. F. Hammer, K. A. Riley, T.V. (1995).** «Broth micro-dilution method for determining the susceptibility of Escherichia coli and Staphylococcus aureus to the essential oil of Melaleuca alternifolia (tea tree oil) ». Microbios, vol. 82, n°332, p. 181-5.
92. **Thomas,P. Barrett,J. Brennan,J. Moran,N. (2005).** «Use of a spectrophotometric bioassay for determination of microbial sensitivity to Manuka honey». Journal of Microbiology Methods, vol.64, n°1, p.84-95.
93. **Rani, A., Jain, S., Dureja, P., Kumar, R., Kumar, A. (2009).** Synergistic interaction between synthetic and natural products: a promising tool for the development of

environmentally safe potent antimicrobial agents. World Applied Sciences Journal, (Special Issue for Environment):59-63.

94. **CHIHEB R et &MOUSSAOUI K 2018** mémoire de fin d'étude de diplôme master l'étude L'activité anti bactérienne de la propolis , Université A. MIRA – Béja
95. **Bruyère, F., Vidoni, M., Péan, Y., Ruimy, J. A., Elfassi, R. (2013).** Bacteriological analysis of more than 600 febrile urinary infections managed in a community health
96. **Lo E, Nicolle LE, Coffin SE 2014** . Strategies to prevent catheter-associated urinary tract infections in acute care hospitals: update. Infect Control Hosp Epidemiol 2014;35:464–79.
97. **François, H., Brandstätter, A., Bréchet,C., Huttner,A. (2013).** Infections Urinaire. HUGDMCPRU- Service
98. **YA BI, F. (2006).** Profil Antibiotypique Des Bactéries Responsables D'infection Urinaire Communautaire. Th. Doctorat: pharmacie. Université De Bamako Faculté De Médecine De Pharmacie Et D'odontostomatologie, pp. 29-43
99. **Sekhsokh Y., Chadli M., El Hamzaoui S .A.(2008).** Fréquence et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées dans les urines. Médecine et maladies infectieuses.38 : 324–327.
100. **Guirguitzova B., Chankova D., Zozikov B. (2002).** Les staphylocoques comme uropathogènes–fréquence d'isolement chez des malades hospitalisés et sensibilité envers les substances antibactériennes. Annales d'urologie. 36 : 341–347.
101. **Mesaros N., Nordmann P., Plésiat P., Roussel-Delvallez M., Van Eldere J., Glupczynski Y., ... & Tulkens P. M. (2007**). Pseudomonas aeruginosa: resistance and therapeutic options at the turn of the new millennium. Clinical microbiology and infection, 13(6), 560-578.
102. **Cherifi Z, (2016).** Identification, étude de l'antibiorésistance et quantification de la formation de biofilm par des souches isolées à partir des sondes endotracheales prélevées des patients de réanimation. Mémoire master: Université Abou Bekr Blekaid Tlemcen
103. **Fitzpatrick F., Humphreys H., Smythy E., Kennedy C.A., O'Gara G.P. (2002).** Environmental regulation of biofilm formation in intensive care unit isolates of Staphylococcus epidermidis. Journal of Hospital Infection.42: 212-218
104. **Harrison-Balestra, C., Cazzaniga, A. L., Davis, S. C., & Mertz, P. M. (2003).** A wound-isolated Pseudomonas aeruginosa grows a biofilm in vitro within 10 hours and is visualized by light microscopy. Dermatologic surgery, 29(6), 631-635.

105. **Fu, W., Forster, T., Mayer, O., Curtin, J. J., Lehman, S. M., & Donlan, R. M. (2010).** Bacteriophage cocktail for the prevention of biofilm formation by Pseudomonas aeruginosa on catheters in an in vitro model system. Antimicrobial agents and chemotherapy, 54(1), 397- 404

106. **MERAH M., BENSACI BACHAGHA M. et BOUDERHEM A en 2010** ETUDE DE L'EFFET ANTIMICROBIEN DE TROIS ECHENTILLONS DU MIEL NATUREL RECOLTES DU TERRITOIRE ALGERIEN Université Kasdi Merbah Ouargla, BP 511, Ouargla 30000 (Algérie)

107. **Chanda S, Rakholiya K, Dholakia K, Baravalia Y.** Antimicrobial, antioxidant, and synergistic properties of two nutraceutical plants: Terminalia catappa L and Colocasia esculenta L. Turk J Biol 2013;37:81–91.

108. **Mohamed Lakhdar Belfar , Touhami Lanez , Abdekarim Rebiai2** , Zineb Ghiaba Laboratoire V.P.R.S, Université de Ouargla, BP 511 route de Ghardaia.30000 Ouargla, Algeria. 2University o f El-Oued, VTRS Laboratory, B.P.789, 39000, El-Oued, Algeria. 30 Septembre 2015

109. **BENABDELKRIM Kh BOUAZZA ABID L 2017** Contribution à l'étude de quelques bactéries responsables d'infection urinaire (Application de l'extrait de Terfezia claveryi) UNIVERSITE DE TLEMCE

110. **Malki L - Berriche A 2019** Les infections urinaires : Contribution à la recherche des espèces multi-résistantes (CHU- Nadir Mohamed- Tizi-Ouzou)

111. **KARA TERKI I 2014** Caractérisation et évaluation de la formation de biofilm de souches de *staphylocoque*s isolées de sondes urinaires chez des patients hospitalisés au CHU de Tlemcen diplôme de Doctorat

112. **MADOURI M 2017** diplôme de MASTER En Microbiologie Appliquée Soutenu le 19/06/2017 Formation de biofilm in vitro par des souches cliniques de *Pseudomonas aeruginosa* isolées de sondes urinaires

113. **Belaid CH et Houcin H 2017** isolement et caractérisation des souches *Entérocoques* multirésistance en clinique ou niveau de l'hôpital d'Amizour thèse fin d'étude du master université mira à Bejaia

114. **Fitzpatrick F., Humphreys H., Smythy E., Kennedy C.A., O'Gara G.P. (2002).** Environmental regulation of biofilm formation in intensive care unit isolates of Staphylococcus epidermidis. Journal of Hospital Infection.42: 212-218.

115. **Guardabassi, L., Courvalin, P.** Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance: antimicrobial resistance in bacteria of animal origin. P: 1-18. 2006 FM Aarestrup, ed, ASM Press, Washington DC, USA.

116. **Carle S 2009** La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important Pharmactuel Vol. 42 Supplément 2 Décembre 2009

117. **David L Jean M, and Christoph B** Biofilm-Related Infections : Bridging the Gap between Clinical Management and Fundamental Aspects of Recalcitrance toward Antibiotics

118. **Wright, G. D.** Bacterial resistance to antibiotics: enzymatic degradation and modification. Adv. Drug Deliv. Rev. 57, 1451-1470

119. **Calgagno F., Lacroix R. (2011).** Pharma-memo Infectiologie. Paris, France : Editions VernazobresGreco.246p

120. **Battraud Paul (2017).** La résistance aux antibiotiques, un mythe ou une réalité ? thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Lille 2

121. **Briandet, R., Lacroix-Gueu, P., Renault, M., Lecart, S., Meylheuc, T., Bidnenko, E., Steenkeste, K., Bellon-Fontaine, M.N. and Fontaine-Aupart, M.P. (2008)** Fluorescence correlation spectroscopy to study diffusion and reaction of bacteriophages inside biofilms. Applied and environmental microbiology 74, 2135-2143.

122. **Poole, K. (2005).** Efflux-mediated antimicrobial resistance. J. Antimicrob. Chemother. 56, 20ñ51.

123. **COURVALIN P., TRIEU-CUOT P 2001**. Minimizing potential resistance: the molecular view. Clin. Infect. Dis., 2001, 33 : Suppl 3, S138-146

124. **Ruppé E. (2010).** Epidémiologie des bêta-lactamases à spectre élargi : l'avènement des CTXM. Antibiotique. 12 : 3-16.

125. **Bouakkaz, H.Boucherbit**, S.L'Examen Cytobactériologique des Urines Chez l'adulte ; Mémoire de Fin d'étude ; Université des Frères Mentouri Constantine ;18 p.

126. **Guillaume, P.(2004)** ; Les Tests Enzymatiques, Antibiotiques Et Immunologique. Disponible sur

Annexe

Annexe

Fiche de patient	
Date de prélèvement	nom de l'étudiante
Heure	INFO
Numéro	
Information générale	
NOM Prénom	ATB
Age	sonde
Sexe	Enceinter
Interne servisse	HTA/Diabète
Examen directe	
Aspect	ph
Elément sanguin	
Cellules épithéliales	
Cristaux	
Parasites	
Autre	
Culture	
Germe identifie	
Méthode d'identification	
Antibiogramme	

Annexe 01

Milieux de culture

Gélose nutritive

Extrait de viande de bœuf 01 g

Extrait de leveur 02g

Peptone 0.5g

Chlorure de sodium 05g

Gélose 15g

Ph =7.4

Gélose Mueller Henton

Infusion de viande de bœuf 300 ml

Peptone de caséine 17.5g

Amidon de mais 1.5g

Agar 10g

Ph = 7.4

(T.S.B) bouillon Typotone Soja

Peptone (origine non –animale 20g/L

Glucose 2,5g/L

Na CL 5g/L

K2HPO4 2,5g/L (E.D)

Eau physiologique

Na Cl 9g

E.D 1000m

Gélose Hektoen

Protéose-Peptone 12,0 g

Extrait de levure 3,0 g

Désoxycholate de sodium 9,0 g

Lactose 12,0 g

Saccharose 12,0 g

Salicine 2,0 g

Bleu de bromothymol 65 mg

Fuchsine acide 100 mg

Thiosulfate de sodium 5,0 g

Citrate ferrique ammoniacal 1,5 g

Chlorure de sodium 5,0 g

Agar 15,0 g

PH = 7,5

Gélose BCP

Peptone 5g

Extrait de viande 3g

Lactose 10g

Bromocrésol pourpre 0.025g

Agar 11g

Ph 6.5

Bouillon nutritive

Peptones 10,0 g

Hydrolysat de caséine 5,0 g

Chlorure de sodium 5,0 g

Rouge Congo

BHIB 37g/l

Saccarose 50g/l

Agar 10g/l

Rouge Congo 0.8 g/l

Gélose BEA

Typotone 17 g

Peptone 3 g

Extrait de levure 5g

Bile de bœuf déshydratée 10g

Chlorure de sodium 5 g

Esculine 1g

Citrate de fer et d'ammonium 0,5 g

Azoture de sodium (NaN3) 0,15g

Agar 15 g

pH final 7,1 ± 0,2

gélose Chapman

Peptone : 10 g

Extrait de bœuf : 1 g

Cchlorure de sodium : 75 g

D-mannitol : 10 g

Rouge de phénol : 25 mg

Agar : 15 g.

PH 7.4

Gélose cétrimide

Peptone de gélatine	16,0 g
Peptone de caséine	10,0 g
Bromure de tétradonium (cétrimide)	0,2 g
Acide nalidixique	15,0 mg
Sulfate de potassium	10,0 g
Chlorure de magnésium	1,4 g
Agar	10,0 g

PH = 7,1

Gélose au sang

Mueller Henton 180 ml

Sang mouton 9 ml

Annexe 2

Réactif

Réactif de kovax

Para diméthyle – amino-benz-aldehyde 05g

Accole iso amylique 75ml

Acide chlorhydrique 367 25ml

Rectif de vp 1

Naphtol 6g

Alcool à 90% 100ml

Réactif vp2

NaOH 4N

Réactif de tryptophane désaminase (TDA)

Soluté de perchlorure de fer feCL3 10 ml

Eau distillée 20ml

Annexe 3

Matériel

- Microscope optique
- Cellule de Malassez
- Réfrigérateur
- Bain marie.
- Incubateur
- Étuve (37 C°)
- densitomètre
- spectrophotométriques

Etape de coloration de gram

La première étape de la coloration consiste à réaliser une suspension en eau physiologique à partir d'une culture jeune (sur un milieu solide) et prélever un aliquote de suspension à l'anse de platine (ou à la pipette stérile) puis on étale sur 1 à 2 cm par un mouvement circulaire en partant du centre de la lame. La seconde étape nécessite le séchage et la fixation par la chaleur (pour tuer les bactéries, fixer leur structure cytologique, et les faire adhérer à la lame).

La troisième étape nécessite quelques gouttes de violet de gentiane sur un frotti fixé pendant une minute, après rinçage, on ajoute de Lugol (solution aqueuse d'iode et d'iodure de potassium) pendant 30 secondes La quatrième étape, à savoir le bain d'alcool 90°, (ne va traverser que la paroi de certaines bactéries « les Gram – », et décolorer leur cytoplasme). Puis on rince avec de l'eau distillée. En fin, quelques gouttes de fuchsine de Ziehl sont versées sur la lame qu'on laisse agir une minute. La lame est lavée à l'eau distillée. Après séchage, on passe à l'observation microscopique. Cette étape sert à colorer les bactéries (Gram-) qui se sont décolorées lors du traitement précédant, de ce fait les bactéries Gram – seront colorées en rose et le Gram + en violet.

On a Préparé le microscope optique et Placer la lame sous la lumière du microscope. La taille des bactéries est très variable, aussi le grossissement requis peut-il aller de x400 à x1 000sous immersion. (67)

Annexe 4

Les tableaux

Tableau : Les familles des ATB testés

La famille d'ATB	ATB testé
β-Lactamines	Pénicilline Amoxicilline Amoxicilline + acide clavulanique Ticarcilline Ticarcilline + AC. Clavulanique Piperacilline Oxacilline Cefazoline Cefuroxine Céfixime Cefotaxine/ ceftriaxone Ceftazidine Imipenème
Macrolides	Érythromycine Lincomycine/ clindamycine Pristinamycine Telithromycine
Aminosides	Gentamycine Streptomycine Amikacine Kanamycine Netilmicine
Quinolones	Acide nalidixique Ofloxacine Ciprofloxacine Lev ofloxacine
Glycopeptides	Vancomycine

	Teicoplanine

Tableau : les valeurs de la DO des *Pseudomonasse* formatrice de biofilm

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10 TSB	11 TSB	12 Eau phé	Moyen Témoin	Moyen Souche	
GNHCH15	0.155	0.133	0.120	0.129	0.190	0.173	0.197	0.248	0.320	0.389	0.191	0.072	0.290	0.185	No prodctrice
CTFOO3	0.252	0.121	0.136	0.155	0.289	0.246	0.310	0.261	0.405	0.324	0.151	0.069	0.237	0.241	Faible
GNFCF1	0.120	0.119	0.153	0.174	0.194	0.277	0.256	0.258	0.161	0.154	0.105	0.085	0.129	0.187	Faible
CTHHCH14	0.194	0.138	0.288	0.282	0.176	0.287	0.432	0.267	0.216	0.342	0.279	0.064	0.310	0.253	No prodctrice
CTFUMC12	0.212	0.326	0.312	0.309	0.298	0.323	0.303	0.283	0.424	0.238	0.247	0.061	0.242	0.310	Faible
CTFUMC10	0.326	0.258	0.326	0.270	0.478	0.498	0.443	0.487	0.423	0.296	0.308	0.062	0.302	0.388	Faible
GNFIFS01	0.355	0.310	0.374	0.451	0.481	0.558	0.429	0.433	0.496	0.110	0.072	0.063	0.091	0.431	Fort
CTFMF46	0.202	0.177	0.213	0.216	0.254	0.253	0.233	0.232	0.170	0.292	0.249	0.099	0.270	0.216	No prodctrice
GNFCF2	0.090	0.083	0.090	0.106	0.087	0.090	0.087	0.087	0.093	0.080	0.142	0.121	0.102	0.09	No prodctrice

Tableau : les valeurs de la DO des *staphylococcus aureus* formatrice de biofilm

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10 TSB	11 TSB	12 Eau phé	Moyen Témoin	Moyen Souche	
CHHORL6	0.096	0.087	0.115	0.104	0.144	0.087	0.148	0.137	0.106	0.117	0.097	0.097	0.101	0.113	Faible
CHFUMC7	0.164	0.090	0.198	0.111	0.349	0.385	0.287	0.355	0.195	0.081	0.078	0.152	0.079	0.237	Modéré
CHFE41	0.096	0.107	0.288	0.087	0.098	0.091	0.113	0.182	0.067	0.072	0.075	0.196	0.073	0.125	Faible
CHFE85	0.091	0.082	0.097	0.166	0.081	0.116	0.122	0.178	0.166	0.065	0.064	0.299	0.064	0.122	Faible
CHFE61	0.086	0.149	0.139	0.149	0.157	0.154	0.154	0.121	0.133	0.091	0.069	0.202	0.08	0.138	Faible

Tableau : représenter les percentages de l'activité antibactérienne chez les *S- aureus* de la méthode de microplaque

	Pur	100%	75%	50%	25%
Sider	60%	54%	40%	24%	22%
Chardon	55%	48%	42%	29%	25%
Montagne	72%	70%	64%	61%	50%
thym	68%	62%	44%	42%	21%

Tableau : représenter les percentages de l'activité antibactérienne chez les *Pseudomona*s de la méthode de microplaque

	Pur	100%	75%	50%	25%
Sider	53%	48%	45%	28%	25%
chardon	59%	53%	43%	30%	26%
Montagne	70%	62%	61%	58%	46%
Thym	71%	67%	49%	44%	20%

Tableau : représenter les percentages de l'activité antibactérienne chez les *Porteuses* de la méthode de microplaque

	Pur	100%	75%	50%	25%
sider	56%	53%	48%	25%	21%
Chardon	40%	35%	34%	23%	22%
Montagne	85%	79%	61%	58%	50%
Thym	59%	55%	49%	42%	20%

Tableau : représenter les percentages de l'activité antibactérienne chez les *Entérocoque de* la méthode de microplaque

	Pur	100%	75%	50%	25%
Sider	51%	47%	42%	26%	22%
Chardon	55%	45%	42%	35%	27%
montagne	72%	69%	64%	63%	51%
thym	77%	73%	46%	43%	17%

Tableau : représenter les percentages de l'activité antibactérienne chez les *E- coli* de la méthode de microplaque

	pur	100%	75%	50%	25%
sidre	50%	47%	41%	21%	20%
chardon	55%	43%	37%	27%	23%
montagn	77%	67%	60%	59%	32%
thym	67%	58%	47%	33%	16%

Tableau : représenter les percentages de l'activité antibactérienne chez les *E- cloacae* de la méthode de microplaque

	Pur	100%	75%	50%	25%
Sider	62%	56%	50%	28%	26%
Chardon	59%	45%	42%	30%	25%
Montagne	71%	59%	56%	55%	32%
Thym	73%	64%	42%	36%	20%

Tableau 8 : représenter les résultats de miel testé sur des défirent souche isolée

	Miel de thym					Miel de sider					Miel de montagne					Miel de Chardon étoilé			
	Pur	100 %	75%	50 %	25 %	Pur	100 %	75 %	50 %	25 %	Pur	100 %	75 %	50 %	25 %	100 %	75 %	50 %	25 %
CHFE61 STAPH	13	10	9	R	R	10	7	R	R	R	17	14	13	10	9	17	14	16	14
GNFMF9 E clocea	15	12	R	R	R	19	17	12	12	R	14	12	10	R	R	15	14	11	R
HKFPOS2 Proteus	R	R	R	R	R	14	13	R	R	R	17	11	9	R	R	14	12	12	10
BCPFIF12 E. coli	10	R	R	R	R	R	R	R	R	R	12	12	13	10	10	13	11	11	R
GNFIFS 01 pseudo	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	11	10	R	R	R	12	10	10	R
GNHMI1 E coque	25	15	14	13	R	R	R	R	R	R	15	12	10	10	R	17	15	12	R

Tableau : les résultats obtenus dans la méthode de synergie

ATB	Azithromycine				Amoxicilline				Rovamycine				Cefazoline				Gentamycine			
Les miel	Ch	S	Th	M	Ch	S	Th	M	Ch	S	Th	M	Ch	S	Th	M	Ch	S	Th	M
E. COLI	S	25	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
STAPH	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R
PROTEUS	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
PSEUDO	R	R	R	R	R	R	R	R	R	18	R	R	11	R	R	19	R	R	R	R
E. COQUE	S	18	S	S	R	15	R	14	R	R	R	R	S	S	S	S	21	S	16	19
Cloacae	20	16	11	18	R	R	R	R	16	18	R	R	21	R	24	R	23	23	20	20

Tableau : représente la significatif chez les pseudomonas

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0,813	8	0,102	21,501	,000
Within Groups	0,340	72	0,005		
Total	1,154	80			

Tableau : représente la significatif chez les staphylococcus aureus

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0,093	4	0,023	6,018	,001
Within Groups	0,155	40	0,004		
Total	0,249	44			

Annex 5

Figure



Figure : résultat de teste oxydas