

UNIVERSITE POLYTECHNIQUE
DE BOBO-DIOULASSO

UNITE DE FORMATION ET DE RECHERCHE
EN SCIENCES ET TECHNIQUES

GENIE BIOLOGIQUE

CLINIQUE FRANY

TEL : 50 36 99 32



RAPPORT DE FIN DE CYCLE

Pour l'obtention de la

LICENCE PROFESSIONNELLE DE GENIE BIOLOGIQUE

Option: Analyses Biologiques

Présenté par

TRAORE Kalifa Abdoul Rachid

Sur le thème :

**Profil bactériologique des infections du
tractus urinaire au laboratoire de la clinique
Frany**

Maître de stage : Dr Abdoul Aziz SAWADOGO

Directeur de rapport : Dr Jacques KABORE

Dédicace

Je dédie ce travail à ma très chère mère Feue Orokia SOGONA qui de son vivant, a tout fait pour me voir loin dans les études. Son affection et sa tendresse me manquent toujours ;

A mon père, Siaka TRAORE pour son éducation, sa compréhension, et ses précieux conseils qui m'ont fait gravir les échelons ;

A ma tante Mariam KABA pour son affection, son aide multiforme ;

A mes sœurs qui n'ont jamais été absentes dans les moments sublimes de ma scolarité, vos apports me sont inestimables ;

A mon cousin Cheick TRAORE, l'assurance que tu m'accordes devrait te donner la force de me dépasser ;

A mes ami(e)s, je confonds toujours amitié et fraternité, j'espère toujours garder cette confiance que vous m'accordez ;

A mes camarades de classe et de l'Université, nous avons traversé tant d'épreuves ensemble, et là nos peines et endurances sont en train d'aboutir, je suis heureux d'avoir fait ce parcours avec vous.

Remerciements

L'élaboration du présent travail a requis le soutien de nombreuses personnalités sans lesquelles l'accès aux ressources nécessaires n'aurait pas été possible. Par conséquent, j'ai eu recours à un soutien énorme.

Je remercie :

- le Docteur Nicole KOMBOIGO pour avoir accepté ma demande de stage au sein de sa clinique ;
- le Docteur Aristide OUEDRAOGO, Chef du laboratoire de la clinique pour m'avoir ouvert les portes du laboratoire ;
- le Docteur Abdoul Aziz SAWADOGO, Pharmacien à la clinique et Chef adjoint du laboratoire pour avoir accepté de m'aider dans mon travail et de me prodiguer des conseils ;
- le Professeur Georges Anicet OUEDRAOGO, Président de l'Université Polytechnique de Bobo pour m'avoir compté parmi ses étudiants ;
- le Docteur Jacques KABORE, vous avez accepté de nous assister en tant que Directeur de notre travail malgré votre emploi du temps chargé, nous vous en remercions. Votre abord facile, votre disponibilité constante et votre rigueur scientifique forcent l'admiration de tous ;
- le Professeur Sado TRAORE, Directeur de l'UFR/ST ;
- le Docteur Lassina OUATTARA, Directeur adjoint de l'UFR/ST, pour l'effort démesuré qu'il a accompli et continu d'accomplir pour nous ;
- le Docteur Roland MEDA, coordonnateur de la *filière génie biologique*, nous sommes conscients du travail incommensurable que vous faites pour nous.

J'exprime ma gratitude envers tous les enseignants et le personnel de l'Unité de Formation et de Recherche en Sciences et Techniques.

En Outre, je remercie au sein de la clinique Frany :

- monsieur Ghislain YAGO, Directeur des ressources humaines de la clinique, merci à vous ;
- les techniciens : Vincent, Alain, Clarisse, Christian, Joseph ; Madame SANOU, j'ai beaucoup appris à vos côtés, et je serai prêt avec la même volonté d'apprendre pour les stages à venir ;

- les secrétaires du laboratoire, Madame MONE et Benjamin ;
- à tout le personnel de la clinique, pour votre hospitalité, vous avez le cœur sur la main.

Merci à tous ceux qui, de près ou de loin se sont impliqués dans la réalisation de ce rapport.

Sommaire

Dédicace	i
Remerciements	i
Sommaire	iv
Liste des tableaux	viii
Liste des figures	viii
Liste des annexes	ix
Sigles et abréviations	x
Résumé	xi
Introduction	1
1 ^{ère} partie : Généralités	3
Chapitre I : Infections du tractus urinaire	4
I. Définition	4
II. Types d'infections du tractus urinaire	4
II. 1. Infection urinaire basse ou cystite	4
II. 2. Les pyélonéphrites	4
III. Les Facteurs de risque des infections du tractus urinaire	5
III. 1. Le sexe	5
III. 2. L'âge	5
III. 3. Maladies sous-jacentes et état immunitaire	5
IV. Rappel sur les bactéries	5
Chapitre II : Examen cyto bactériologique des urines (ECBU)	7
I. Le prélèvement	7
I. 1. Conditions de prélèvement	7
I. 2. Transport et conservation	7
II. Examen cyto bactériologique des urines	8
II. 1. Examen macroscopique	8
II. 2. Examen microscopique	8
II. 2. 1. Examen cytologique	8
II. 2. 2. Examen à l'état frais	8
II. 2. 2. 1. Les cristaux	9

II. 2. 2. 2. Les cylindres -----	9
II. 3. Examen après coloration de Gram -----	10
II. 4. Interprétation de la cytologie : -----	10
III. Uroculture -----	11
III. 1. La gélose Eosin Methylen Blue (EMB). -----	11
III. 2. Le milieu CLED -----	11
III. 3. Le milieu Sabouraud -----	11
III. 4. Le Milieu Chapman mannité -----	11
III. 5. La Gélose au sang -----	11
IV. Lecture des cultures -----	12
IV. 1. Numération des colonies -----	12
IV. 2. Identification des colonies -----	12
IV. 2. 1. Identification des cocci -----	12
IV. 2. 2. Identification des entérobactéries -----	13
Chapitre III : Les antibiotiques -----	14
I. Définition -----	14
II. Résistance aux antibiotiques -----	14
II. 1. Résistance naturelle ou intrinsèque -----	14
II. 2. Résistance acquise ou extrinsèque -----	15
III. Etude de la sensibilité aux antibiotiques : l'antibiogramme -----	15
III.1. Critère d'évaluation de la sensibilité -----	15
III. 2. Méthode d'étude -----	15
III. 2. 1. Méthode de dilution en milieu solide -----	15
III. 2. 2. Méthodes de diffusion : antibiogramme standard -----	16
III. 3. Interprétation des résultats : catégorisation des souches en Sensibles, Intermédiaires, Résistantes -----	16
2 ^{ème} Partie : Etude expérimentale -----	17
Chapitre I : Matériel et méthodes -----	18

I. Cadre de l'étude : la clinique Frany -----	18
II. Matériel -----	18
II. 1. Petit matériel-----	18
II. 2. Gros matériel -----	19
II. 3. Consommables et réactifs de laboratoire-----	19
II. 4. Milieux de culture et d'isolement -----	20
III. Méthodes -----	20
III. 1. Population et période d'étude -----	20
III. 2. Collecte des données-----	20
III. 3. Prélèvement, conservation et transport des urines -----	20
III. 4. Etude cytobactériologique -----	21
III. 4. 1. Examen macroscopique -----	21
III. 4. 2. Examen microscopique-----	21
III. 4. 3. Culture-----	21
III. 4. 4. L'identification -----	21
III. 5. L'antibiogramme -----	22
Chapitre II : Résultats et discussion -----	24
I. Résultats -----	24
I. 1. Répartition des patients selon l'âge et le sexe-----	24
I. 2. Répartition des patients en fonction de la culture microbienne-----	24
I. 3. Répartition des germes identifiés en type respiratoire, en famille, et en genre -----	25
I. 4. Répartition des germes identifiés en espèces-----	25
I. 5. Associations bactériennes en culture polymicrobienne -----	26
I. 6. Etude de la sensibilité aux antibiotiques -----	26
I. 7. Résultat de la sensibilité des antibiotiques testés sur les souches isolées-----	28
I. 7. 1. Sensibilité des 13 souches d' <i>E. coli</i> aux antibiotiques majoritairement utilisés ---	28
I. 7. 2. Sensibilité des six souches de <i>S. aureus</i> aux antibiotiques majoritairement utilisés -----	28

I. 7. 3. Sensibilité des six souches de <i>Klebsiella</i> aux antibiotiques majoritairement utilisés	29
I. 7. 4. Sensibilité des souches de <i>Streptocoque</i> et d' <i>Enterobacter</i> aux antibiotiques majoritairement utilisés	30
I. 7. 5. Sensibilité des deux souches de <i>C. albicans</i> aux antifongiques majoritairement utilisés.	30
II. Discussion	31
II.1. Limites et contraintes de l'étude	31
II.2. Répartition des patients selon l'âge et le sexe	31
II.3. La culture	32
II. 4. Sensibilité globale aux antibiotiques	34
II. 4. 1. Sensibilité des 13 souches d' <i>E. coli</i> aux antibiotiques	34
II. 4. 2. Sensibilité des souches de staphylocoque aux antibiotiques	35
II. 4. 3. Sensibilité des souches de <i>Klebsiella</i> aux antibiotiques	35
II. 4. 4. Sensibilité aux souches de <i>Streptocoque</i> et d' <i>Enterobacter</i> aux antibiotiques majoritairement utilisés	35
II. 4. 5. Sensibilité des deux souches de <i>C. albicans</i> aux antifongiques utilisés	36
Conclusion et suggestions	37
Références bibliographiques	39
Annexes	I

Liste des tableaux

Tableau I : Interprétation de la cytologie-----	10
Tableau II : Classification des antibiotiques testés en fonction de la famille et du groupe chimique -----	23
Tableau III : Répartition des patients selon l'âge et le sexe -----	24
Tableau IV : Répartition des patients en fonction de la culture microbienne-----	24
Tableau V : Répartition des germes identifiés en type respiratoire, en famille et en genre----	25

Liste des figures

Figure 1 : Vue tridimensionnelle d'une bactérie -----	6
Figure 2 : Cristaux rencontrés dans les urines-----	9
Figure 3 : Cylindres rencontrés dans les urines -----	9
Figure 4 : Numération bactérienne sur ensemencement urinaire -----	12
Figure 5 : Diagramme de répartition des bactéries en espèces-----	26
Figure 6 : Diagramme d'étude de la sensibilité globale aux antibiotiques -----	27
Figure 7 : Diagramme de sensibilité des souches d' <i>E. coli</i> aux antibiotiques -----	28
Figure 8 : Diagramme de sensibilité des souches de <i>S. aureus</i> aux antibiotiques-----	29
Figure 9 : Diagramme de sensibilité des souches de <i>Klebsiella</i> aux antibiotiques-----	30

Liste des annexes

Annexe I : Fiche de collecte-----	I
Annexe II : Antibiogramme-----	I
Annexe III : Antifongigramme -----	II
Annexe IV : Liste des matériels -----	II
Annexe V : Tableau de classification des antibiotiques-----	IV

Sigles et abréviations

ADN :	Acide Désoxyribo Nucléique
ATB	Antibiotique
BCC :	Bouillon coeur-cerveille
BGN :	Bacille Gram Négatif
CHU :	Centre Hospitalier Universitaire
CLED :	Cystine Lactose Electrolyte Déficient
CMI :	Concentration Moyenne Inhibitrice
ECBU :	Examen Cytobactériologique des urines
<i>E. coli</i> :	<i>Escherichia coli</i>
EMB :	Eosin Méthylen Blue
MH :	Mueller Hinton
GC+PVX :	Gélose Chocolat +Polyvitex
ITU :	Infection du Tractus Urinaire
OMS :	Organisation Mondiale de la santé
<i>S. aureus</i> :	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. saprophyticus</i> :	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>

Résumé

L'exploration des infections du tractus urinaire est de nos jours l'une des pratiques les plus courantes de nos laboratoires d'analyse. En effet, depuis quelques années, l'examen cyto bactériologique des urines représente l'un des examens les plus demandés dans les laboratoires. La fréquence de cet examen a pour but de déceler les infections du tractus urinaire. L'augmentation accrue des résistances bactériennes aux antibiotiques est devenu un problème majeur de santé. Le profil bactériologique permet d'une part de déterminer la bactérie responsable d'une infection, et d'autre part d'étudier sa sensibilité à des antibiotiques. Ainsi, l'objectif général de notre travail est de déterminer le profil bactériologique des infections du tractus urinaire demandé au laboratoire de la clinique Frany à Ouagadougou. Pour ce faire, nous avons analysé 100 échantillons d'urines par étude cyto bactériologique. Parmi ces 100 échantillons, nous avons obtenus 29 cultures positives et 71 négatives. L'étude de ces cultures positives nous a permis de déterminer les antibiotiques à tester pour chaque type de germes. Les entérobactéries ont été la famille la plus représentée avec 68,94% des isolats, avec la prédominance d'*E. coli* 44,62%. Les aminosides (gentamycine 84,21%) et les fluoroquinilones (norfloxacine 90,90% et ciprofloxacine 90,90%) ont été les antibiotiques les plus sensibles.

Mots clés : infection urinaire ; examen cyto bactériologique des urines ; sensibilité aux antibiotiques.

Introduction

Les infections du tractus urinaire (ITU) sont une contamination des structures de l'arbre urinaire comme le rein, l'urètre, la vessie et la prostate par des microorganismes. Elles se traduisent souvent par de fortes fièvres inexplicables, des brûlures mictionnelles, des urines malodorantes ou hémorragiques mais elles peuvent être aussi asymptomatiques.

Les infections du tractus urinaire (ITU) constituent un sujet de préoccupation croissante dans le domaine de la santé. Elles se caractérisent par leur gravité et leur fréquence élevée. En effet, en Afrique, 30 à 50% des femmes disent avoir eu une infection urinaire au cours de leur vie et après 7ans, 7,8% des filles et 1,6% des garçons ont présenté une infection urinaire [8].

Au Burkina Faso en 2005, selon une étude menée au centre hospitalier universitaire Pédiatrique Charles De Gaulle (CHUP-CDG), la fréquence des infections du tractus urinaire était de 18,67% sur un échantillonnage de 166 prélèvements. Les souches bactériennes les plus isolées étaient constituées en majorité par des bacilles à Gram négatif (BGN) qui représentaient 80,7% des isolats parmi lesquels les entérobactéries représentaient 74,2% avec une prédominance des germes tels que *Escherichia* (38,7%), *Klebsiella* (29,91%) et *Proteus* (6,5%) [25].

Ces infections, à l'origine de nombreuses prescriptions d'antibiotiques en médecine générale, participent à une pression de sélection des résistances bactériennes aux antibiotiques. Cette résistance bactérienne, régie par plusieurs mécanismes, concerne de nombreuses familles d'antibiotiques et est à l'origine des échecs observés avec les traitements probabilistes. A cet effet, une mise à jour du profil de sensibilité aux antibiotiques s'impose afin de proposer des antibiotiques actifs à prescrire en première intention.

C'est ainsi que nous avons entrepris cette étude au laboratoire de la clinique Frany dans l'objectif de dresser le profil bactériologique des infections du tractus urinaire et de façon plus spécifique d'isoler les germes responsables de ces infections et d'étudier leurs sensibilités aux antibiotiques en vue d'améliorer le traitement de ces infections. Le présent rapport comprend deux parties :

- ❖ la première partie, les généralités, qui fait état des connaissances sur les infections du tractus urinaire, des bactéries et des antibiotiques ;
- ❖ la deuxième partie, portant sur l'étude expérimentale qui traite du matériel et méthodes, les résultats et discussion.



1^{ère} partie : Généralités

Chapitre I : Infections du tractus urinaire

I. Définition

L'infection du tractus urinaire est un terme général qui correspond à la fois à la colonisation microbienne asymptomatique de l'urine et l'infection symptomatique avec l'invasion microbienne et l'inflammation des structures de l'arbre urinaire [16]. Elle est confirmée par l'examen cytbactériologique des urines (ECBU) qui représente donc la clé du diagnostic et permet la mise en évidence d'une leucocyturie (supérieure 10.000/ml), d'une bactériurie significative (100.000 UFC) et d'une bactérie isolée à la culture [6].

II. Types d'infections du tractus urinaire

On distingue deux types d'infections urinaires, selon la localisation de l'infection.

II. 1. Infection urinaire basse ou cystite

C'est l'infection de la partie basse de l'appareil urinaire à savoir la vessie et l'urètre [12]. On parle de :

- ❖ cystite : qui touche presque uniquement les femmes. Il s'agit de l'inflammation de la vessie. La plupart du temps, l'inflammation est provoquée par la prolifération de bactéries intestinales. Tout ce qui gêne la vidange de la vessie augmente le risque de cystite. La cystite s'accompagne normalement d'une urétrite, de l'inflammation de l'urètre.
- ❖ urétrite : si l'infection touche uniquement l'urètre (le conduit qui relie la vessie au méat urinaire). Il s'agit d'une infection transmissible sexuellement, courante chez les hommes, mais les femmes peuvent aussi en souffrir. Différents agents infectieux peuvent causer l'urétrite.

II. 2. Les pyélonéphrites

Ce sont des infections bactériennes du bassinet et du parenchyme rénal [13]. Les pyélonéphrites sont un état grave. Il peut s'agir d'une complication d'une cystite non traitée ou mal traitée.

III. Les Facteurs de risque des infections du tractus urinaire

III. 1. Le sexe

L'infection urinaire est plus fréquente chez la femme que chez l'homme probablement pour des raisons anatomiques : brièveté de l'urètre féminin, proximité du méat urétral du vagin et de l'anus avec un risque de colonisation de l'urètre par la flore vaginale et anale [36].

III.2. L'âge

Les patients de plus de 65 ans sont plus exposés au risque des infections du tractus urinaire. La vieillesse est ainsi un des facteurs favorisant l'apparition d'une bactériurie, chez 20% des vieillards institutionnalisés non sondés et chez 30% vivant en milieu hospitalier ou en soins continus [22].

III. 3. Maladies sous-jacentes et état immunitaire

Le risque est majoré lorsque l'infection du tractus urinaire survient chez :

- les patients neutropéniques, immunodéprimés (greffe d'organe, corticothérapie au long cours supérieure à 10 mg/j) ;
- les diabétiques, cela à cause de la glycosurie qui altère l'activité des polynucléaires, la phagocytose, et la vidange vésicale, ce qui entraîne un déséquilibre favorisant l'infection ;
- la femme enceinte ;
- les porteurs de valvulopathies avec le risque de greffe oslérienne ;
- les patients ayant une cardiopathie, une insuffisance rénale ou une hypertension artérielle [3 ; 22].

IV. Rappel sur les bactéries

Une bactérie est un micro-organisme unicellulaire, ubiquiste, procaryote (absence de membrane nucléaire) de taille variable (entre 0,1 et 10 μm) dont le génome est constitué d'ADN contenu dans un seul chromosome. La bactérie est pourvue de plasmides mais dépourvue de certains organites intracellulaires tels que l'appareil mitotique, les mitochondries, le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi [11]. La grande majorité des bactéries est dotée d'une paroi rigide faite de peptidoglycanes qui confère à celles-ci leur forme. Ainsi on note : les

formes cocci, les bacilles, les spirochètes etc. Selon leur affinité tinctoriale à la coloration de Gram, les différentes formes de bactéries peuvent être classées en deux groupes : les bactéries à Gram positif et celles à Gram négatif [9]. La figure 1 montre une bactérie vue en trois dimensions.

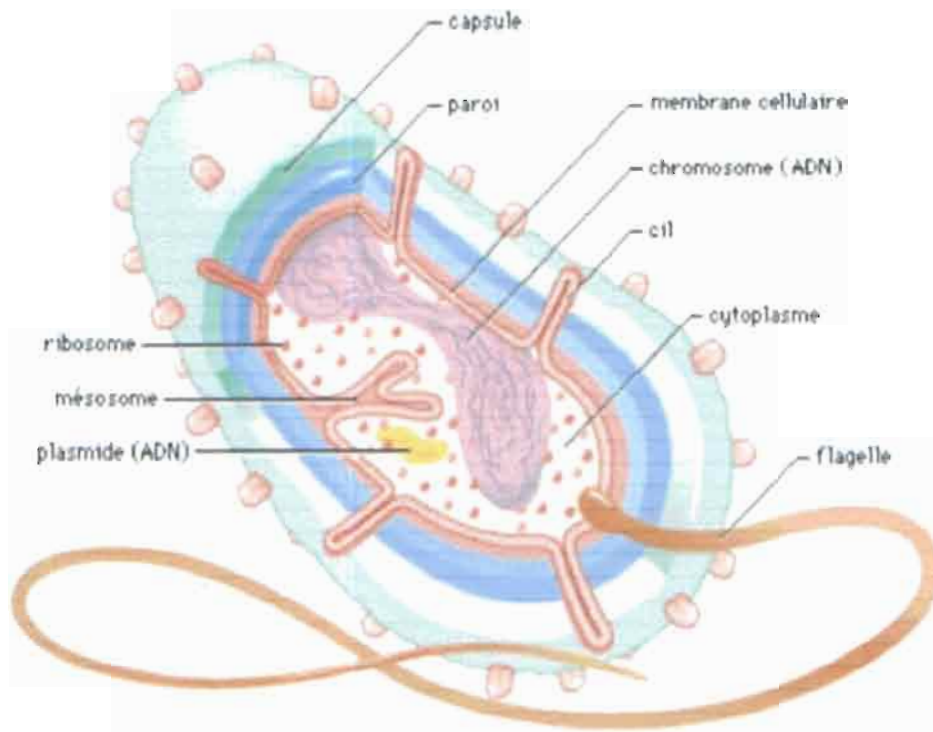


Figure 1 : Vue tridimensionnelle d'une bactérie [30]

Chapitre II : Examen cyto bactériologique des urines (ECBU)

C'est l'examen biologique permettant le diagnostic des infections urinaires. Il se déroule en plusieurs étapes et est réalisé en 3 jours.

I. Le prélèvement

I. 1. Conditions de prélèvement

Le prélèvement est une étape essentielle de l'examen. Il devra se faire en dehors de tout traitement anti-infectieux. Le but est de recueillir des urines ayant stagné au moins 4 heures dans la vessie (en pratique les premières urines du matin) non contaminées par la flore commensale et acheminées dans des conditions assurant la conservation des éléments figurés, la viabilité des bactéries infectantes et l'absence de croissance des bactéries contaminantes. Les urines doivent être prélevées de la manière la plus aseptique possible pour éviter sa contamination. En effet, la qualité de l'examen dépend plus de la technique de prélèvement que de celle du laboratoire.

I. 2. Transport et conservation

Quand le prélèvement ne peut être fait au laboratoire et immédiatementensemencé, des précautions particulières doivent être prises pour son acheminement. Les urines recueillies dans un flacon stérile doivent être acheminées rapidement au laboratoire. Elles ne doivent jamais être conservées plus de 2h à température ambiante avant la mise en culture afin d'éviter la pullulation microbienne. L'utilisation de milieux de conservation (acide borique par exemple) qui bloque la multiplication bactérienne, réduit la cytolyse ; permet la conservation des urines à température ambiante pendant 48h. A défaut, les urines peuvent être conservées à +4°C pour une durée maximale de 24h. Le prélèvement doit être bien étiqueté et accompagné d'un bulletin dûment remplis [27].

II. Examen cyto bactériologique des urines

II. 1.Examen macroscopique

Il consiste à apprécier à l'œil nu le(s) prélèvement(s) et à noter l'aspect qui peut être limpide, légèrement trouble, trouble, hématurique, ictérique ou purulent. L'urine normale a une couleur claire, d'aspect jaune citron tandis que l'urine infectée est souvent trouble, d'odeur nauséabonde et de couleur plus foncée. Parfois on note même la présence de sédiments tantôt blanchâtres (phosphates) [38].

II.2.Examen microscopique

Il s'agit de l'examen cytologique et l'examen à l'état frais.

II.2.1. Examen cytologique

Pour l'examen cytologique, on monte une cellule de comptage (Nageotte ou Malassez) avec l'urine homogénéisée pour dénombrer les leucocytes et les hématies dans 1mm^3 d'urine et rapporter le nombre d'éléments au ml.

➤ Les leucocytes

En cas d'infection du tractus urinaire, les leucocytes sont très souvent rencontrés en grand nombre, car la multiplication bactérienne s'accompagne d'une levée des défenses immunitaires. La leucocyturie est alors élevée (supérieure à 10.000 leucocytes/ml). Cependant, ce n'est pas parce que la leucocyturie est faiblement positive, voire négative, qu'il n'y a pas d'infection. Certaines personnes comme les nouveau-nés, les femmes enceintes, les personnes séropositives peuvent avoir des défenses immunitaires affaiblies. Leur nombre normal est inférieur à 10.000 leucocytes/ml d'urine [36].

➤ Les hématies

En situation normale, les hématies sont rarement supérieures à 10.000 hématies/ml d'urine. En cas de troubles anormaux (schistosomiase) une forte hématurie peut être observée même à l'œil nu [36].

II.2.2. Examen à l'état frais

Il consiste à monter entre lame et lamelle le culot de centrifugation de l'urine et de noter la présence de bactéries, de cristaux, de cylindres, de cellules épithéliales, des œufs de parasites, levures...etc.

II. 2. 2. 1. Les cristaux

Les cristaux ne sont pas pathologiques lorsqu'ils sont constitués de substances habituellement présentes dans l'urine comme l'acide oxalique, l'acide urique ou les sels de calcium. En revanche, les ammoniaco-magnésiens peuvent révéler une infection urinaire causée par une bactérie uréasique [36].



Figure 2 : Cristaux rencontrés dans les urines [34]

II. 2.2.2. Les cylindres

Les cylindres urinaires sont constitués par une agglutination de protéines différentes dont l'origine peut permettre la suspicion d'une pathologie. On distingue plusieurs sortes de cylindre à savoir :

- les cylindres hématiques, qui contiennent des globules rouges, indiquent une probable atteinte des glomérules ;
- les cylindres leucocytaires, qui contiennent des globules blancs, traduisent une maladie infectieuse ;
- les cylindres hyalins, qui ont la transparence du verre, ne permettent pas d'affiner un diagnostic, même s'ils sont assez fréquemment le signe d'une inflammation des reins [36].



Figure 3 : Cylindres rencontrés dans les urines [37]

II.2. 2.3. Les cellules épithéliales

La présence de ces cellules est sans signification car elle correspond à une perte tout à fait normale de cellules superficielles du tissu des voies urinaires basses. En revanche, la présence de plus de 3 cellules/ μ L d'urine suggère une possible affection tubulaire.

II.3. Examen après coloration de Gram

S'il y a présence de flore bactérienne à l'état frais, on doit étaler le culot sur une lame et faire une coloration de Gram ; ensuite il faut noter la morphologie et les caractères tinctoriaux des bactéries [14].

II.4. Interprétation de la cytologie :

Le tableau I nous donne l'interprétation de la cytologie

Tableau I : Interprétation de la cytologie [33]

Leucocyturie	bactériurie	types de colonies	Eventualités interprétation	Suites conduite
Non	Non	0	ECBU stérile	Normal
Oui	Non	0	Traitement antibiotique	Refaire prélèvement Adapter et refaire
Oui	Oui	1 sorte	Leucocytes génitaux Infection typique	Identifier et AntibioGramme
Non	Oui	1 sorte	Infection débutante Contamination	Identifier et antibiogramme ou à refaire
Non	Non	1 sorte ou plus	Contamination	A refaire
Non	Oui	1 sorte ou plus	Contamination Sujet immuno déprimé	Antibiogramme ou Refaire
Oui	Oui	2 sorte ou plus	Infection polymicrobienne	Identifier et antibiogramme

III. Uroculture

La culture est faite systématiquement sur des milieux de culture :

III.1. La gélose Eosin Methylen Blue (EMB).

C'est un milieu d'isolement des bacilles à Gram négatif plus spécifiquement des coliformes. Sa sélectivité est due à la présence dans sa composition de deux colorants, le bleu de méthylène et l'éosine qui inhibent la majeure partie de la flore Gram positif (sauf le Streptocoques D).

Bien que les entérobactéries lactose (-) puissent s'y développer, la culture des entérobactéries lactose (+) y est favorisée [21; 31].

III. 2. Le milieu CLED

Le milieu Cystine Lactose Electrolyte Déficient (CLED) est un milieu non sélectif, propice au développement de nombreuses bactéries à Gram positif ou à Gram négatif. L'absence d'électrolytes (pas de NaCl) limite le phénomène d'envahissement par les Proteus. Après incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures, les bactéries à lactose (+) donnent des colonies jaunes tandis que les lactoses (-) apparaissent bleues vertes [21; 26].

III.3. Le milieu Sabouraud

C'est un milieu acide favorisant la culture et l'isolement des champignons et des moisissures responsables des mycoses. Pour la culture des levures on utilise le milieu Sabouraud.

III.4. Le Milieu Chapman mannité

C'est un milieu sélectif, inhibant la croissance des bactéries à Gram négatif et favorisant celle des germes halophiles tels que les staphylocoques. Cette sélectivité est due au fait qu'il contient de fortes concentrations de chlorure de sodium (75g/L-1). Il permet d'étudier le métabolisme du mannitol matérialisé par le virage au jaune de l'indicateur coloré, le rouge phénol après une incubation à l'étuve à 37°C pendant 24 à 48h [21 ; 31].

III.5. La Gélose au sang

C'est le milieu d'isolement enrichi par la présence de sang sur lequel les streptocoques, les staphylocoques, les entérocoques et d'autres bactéries hémolytiques se développent. La lecture du caractère hémolytique (hémolyse α et hémolyse β) est faite après une incubation à 37 °C pendant 24 à 48 heures sous une atmosphère riche en CO₂ [21].

IV. Lecture des cultures

IV. 1. Numération des colonies

La numération des bactéries est faite 24h après la mise en culture. On doit estimer la concentration bactérienne en appréciant la densité des colonies présentes sur les géloses.

L'urine pathologique contient un nombre de germes $\geq 10^5$ UFC/ml. La figure 4 donne la numération bactérienne sur ensemencement urinaire.

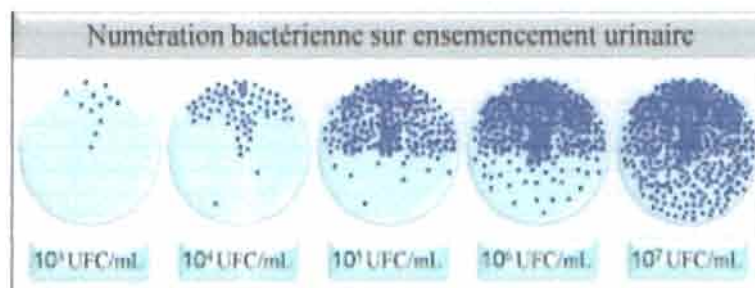


Figure 4 : Numération bactérienne sur ensemencement urinaire [35]

IV. 2. Identification des colonies

Elle consiste à l'identification des souches bactériennes.

IV. 2. 1. Identification des cocci

Les cocci isolées dans les urines sont en général à Gram positif et constitués en majorité de staphylocoques et de streptocoques. Le test à la catalase, enzyme bactérienne catalysant la dégradation de l'eau oxygénée, permet de distinguer les streptocoques [Catalase (-)] des staphylocoques [Catalase (+)] [21].

Au sein de la famille des staphylocoques, plusieurs autres types d'examens permettront d'identifier chacun des membres :

- la recherche de la désoxyribonucléase (DNase) sur une gélose à ADN (Acide Désoxyribonucléique) : *S. aureus*, DNase (+) ;
- la recherche de la coagulase (enzyme qui coagule le plasma) sur plasma de lapin. Elle est utilisée pour la recherche de la coagulase libre de *S. aureus* ;
- la fermentation du mannitol sur milieu Chapman mannité. *S. aureus* et *S.saprophyticus* ; Chapman(+), Mannitol(+)[21].

IV. 2.2. Identification des entérobactéries

Les entérobactéries forment un groupe de bacilles à Gram négatif, le plus souvent courts, droits, immobiles ou mobiles par ciliature péritriche, de culture aisée, aéro-anaérobies facultatives et fermentaires ; leur habitat chez l'homme est le tube digestif. Elles partagent en commun certains caractères biochimiques dont oxydase (-), catalase (-), nitrate(+), réductase (+), glucose (+) mais présentent aussi de manière individuelle ou par famille des caractères distinctifs permettant de les identifier [31]. L'identification des entérobactéries repose donc sur la détermination de ces caractères sur des milieux d'identification biochimique (la galerie minimale). Ces caractères seront complétés pour certains par la stéréotypie tout en prenant en considération leurs caractères morphologiques et culturels. La galerie minimale est constituée de milieux liquides et solides, coulés dans des tubes et de composition différente permettant chacun de révéler un ou plusieurs caractères biochimiques de la bactérie inoculée. Ainsi de façon générale, l'identification des entérobactéries était réalisée grâce à la galerie Api 20e. C'est une version miniaturisée des tests biochimiques classiques destinés à l'identification des entérobactéries. Ce système regroupe 23 tests biochimiques. Des substrats déshydratés sont contenus dans les microtubules ; ces substrats sont mis en solution grâce à l'addition d'une suspension de la bactérie à identifier. A la suite d'une période d'incubation (pendant 24h, à 30°C) permettant à la bactérie de réagir avec les substrats, les diverses réactions sont notées afin de déterminer le code d'identification à sept chiffres [2 ; 11].

Chapitre III : Les antibiotiques

I. Définition

Les antibiotiques sont des composés chimiques, élaborés par des micro-organismes ou produits de façon synthétique dont l'activité spécifique se manifeste à faible dose sur les micro-organismes [10].

Ils ont les propriétés d'interférer directement et de manière sélective sur le métabolisme et la prolifération des micro-organismes à des concentrations tolérées par l'hôte pour aboutir à un effet bactéricide ou bactériostatique. En général, les antibiotiques sont classés selon leur mode d'action et leur nature chimique.

II. Résistance aux antibiotiques

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), la résistance aux agents antimicrobiens est définie comme étant « la résistance d'un micro-organisme à un médicament antimicrobien auquel il était jusque-là sensible » [18]. Elle est l'aptitude d'une souche bactérienne, à survivre et à poursuivre son développement malgré l'administration et l'absorption d'un antibiotique employé à des doses égales ou supérieures aux doses ordinairement recommandées mais comprises dans les limites de tolérance du sujet [4].

Cette aptitude lui est conférée par une modification hasardeuse et spontanée de son capital génétique. Ce phénomène, déjà observé dans les premières heures de l'instauration des antibiotiques en thérapeutique, reprend de l'ampleur de nos jours avec l'usage abusif et irrationnel des antibiotiques au point de rendre à nouveau incurables les premières maladies jadis traitées avec succès avec ces mêmes antibiotiques. Cette résistance peut être naturelle ou acquise [4; 20]

II. 1. Résistance naturelle ou intrinsèque

C'est le résultat de l'expression d'une propriété innée, définie par la nature même de la bactérie, la rendant insensible à un groupe spécifique d'antibiotiques. Elle est fixe et constante à l'intérieur du taxon et s'observe chez les souches dites sauvages, n'ayant jamais été en contact avec un antibiotique [4].

II. 2. Résistance acquise ou extrinsèque

Elle découle d'un processus d'adaptation des bactéries vis-à-vis des contraintes environnementales auxquelles elles sont soumises grâce à leur faculté de modifier leur matériel génétique, de muter rapidement, d'intégrer, d'exprimer et de disséminer des gènes exogènes. La bactérie acquiert ainsi de nouveaux gènes la rendant résistante à un antibiotique ou à un groupe d'antibiotiques [4].

III. Etude de la sensibilité aux antibiotiques : l'antibiogramme

L'antibiogramme permet de mesurer la capacité d'un antibiotique à inhiber la croissance bactérienne *in vitro*.

III.1. Critère d'évaluation de la sensibilité

La concentration minimale inhibitrice (exprimée en mg/L ou en g/L) est le principal critère d'évaluation de la sensibilité d'une bactérie aux antimicrobiens. Par ailleurs, d'autres paramètres interviennent dans cette évaluation de la sensibilité aux antibiotiques :

- ❖ le diamètre critique de la zone d'inhibition sur milieu gélosé : D, d.
- ❖ les concentrations critiques (C; c) : ce sont les bornes supérieure et inférieure de sensibilité ou de résistance en fonction des caractères bactériologiques, pharmacocinétiques des confrontations des données *in vitro* aux données cliniques [14].

III. 2. Méthode d'étude

Il s'agit de la dilution et de la diffusion.

III. 2.1. Méthode de dilution en milieu solide

C'est la méthode de référence du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA-SFM). L'antibiotique est incorporé dans un milieu gélosé coulé dans des boîtes de Pétri. La surface de la gélose estensemencée avec un inoculum des souches à étudier. Après incubation, la concentration moyenne inhibitrice (CMI) de chaque souche est déterminée par l'inhibition de la croissance sur le milieu contenant la plus faible concentration d'antibiotique. La méthode de dilution en milieu gélosé, réalisée avec une gamme de concentrations en progression géométrique de raison 2 est la méthode de référence.

Dans la pratique courante, les méthodes de dilution sont de mises en œuvre délicate ou onéreuse et ne permettent d'étudier qu'un seul antibiotique. Elles sont donc réservées à des laboratoires spécialisés [10].

III. 2.2. Méthodes de diffusion : antibiogramme standard

Elles sont les plus utilisées par les laboratoires de diagnostic. Des disques de papier buvard, imprégnés des antibiotiques à tester, sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier. Dès l'application des disques, les antibiotiques diffusent de manière uniforme si bien que leurs concentrations sont inversement proportionnelles à la distance du disque. Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires à la limite desquelles, il existe dans la gélose des concentrations d'antibiotiques égales aux CMI. Cette méthode ne donne pas directement une valeur chiffrée de la CMI. Elle est plutôt estimée à partir de la lecture du diamètre d'inhibition par une relation (entre les diamètres des zones d'inhibition et les logs base 2 des CMI mesurées par les techniques de dilution) établie au préalable sur un grand nombre de souches (droites de concordance ou droites de régression) [4 ; 14].

III. 3. Interprétation des résultats : catégorisation des souches en Sensibles, Intermédiaires, Résistantes

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

- ❖ Souche Sensible (S) : la probabilité de succès thérapeutique est forte dans le cas d'un traitement par voie systémique avec la posologie recommandée ;
- ❖ Souche à sensibilité Intermédiaire (I) : le succès thérapeutique est imprévisible ; ces souches forment un ensemble hétérogène pour lequel les résultats obtenus *in vitro* ne sont pas prédictifs d'un succès thérapeutique ;
- ❖ Souche résistante (R) : il existe une forte probabilité d'échec thérapeutique quel que soit le type de traitement et la dose d'antibiotique utilisée [7].



2^{ème} Partie : Etude expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

I. Cadre de l'étude : la clinique Frany

Située à la zone du bois de Ouagadougou, la clinique Frany est l'une des cliniques les plus fréquentées de la ville de Ouagadougou, ce qui fait d'elle une des cliniques de référence du Burkina Faso. Outre sa fonction principale de prise en charge des malades, elle contribue également à la formation des étudiants en médecine, en pharmacie, en biologie médicale. Au sein de la clinique, il y'a des professeurs, des médecins spécialistes ou généralistes, des pharmaciens, un directeur des ressources humaines, des techniciens biomédicaux, des infirmiers, des caissiers, des coursiers et des garçons de salle. Elle abrite plusieurs services de soins spécialisés, des chambres d'hospitalisation et un laboratoire d'analyse.

Le laboratoire de la clinique Frany a deux sections essentielles : la section biochimie-immunologie-hématologie et la section bactériologie-parasitologie. Il est ouvert 24h/24h, car il y'a le travail de routine, celui de la permanence et enfin celui de la garde pour gérer les patients venus en urgence.

La section bactériologie-parasitologie est logée au sein de la clinique, elle fonctionne sous l'égide d'un pharmacien biologiste. Le personnel de la section bactériologie est composé de deux pharmaciens biologistes, d'une pharmacienne en fin de cycle, de deux techniciens biomédicaux, de deux secrétaires, de stagiaires et des filles de salle.

II. Matériel

II.1. Petit matériel

Comme petit matériel, nous avons utilisés :

- ❖ le bec Bunsen pour la stérilisation des pipettes, des pinces avant usage et pour éviter la contamination des échantillons par la flore ambiante du laboratoire.
- ❖ des cellules de comptage (cellule de Nageotte, cellule de Malassez); ces cellules facilitent le dénombrement des leucocytes et des hématies au microscope.
- ❖ un distributeur de disques d'antibiotiques ou des pinces métalliques pour déposer les disques d'antibiotiques sur les cultures positives ;
- ❖ Un portoir pour tubes à essai; utilisé pour porter les tubes.

II. 2. Gros matériel

Le gros matériel était composé de :

- ❖ d'une étuve bactériologique réglable à 37°C utilisée pour offrir des conditions de pousses optimales aux cultures ;
- ❖ d'un réfrigérateur qui permettait la conservation des milieux de culture et des réactifs.
- ❖ d'un microscope optique pour l'exploration et l'observation des urines.
- ❖ d'une centrifugeuse pour obtenir une urine déposée par différents gradients de concentration.

II.3. Consommables et réactifs de laboratoire

Nous avons utilisé plusieurs consommables et réactifs de laboratoire à savoir :

- ❖ des réactifs de catalase (Bio Mérieux), permettent de distinguer les streptocoques [Catalase (-)] des staphylocoques [Catalase (+)] ;
- ❖ des kits pour la coloration de Gram : R1 (solution de violet de gentiane), R2 (solution de lugol), R3 (solution d'alcool éthylique), R4 (fuchsine); la coloration de Gram permet de classer les bactéries en Gram positif et en Gram négatif ;
- ❖ des disques d'antibiotiques : leurs dépôts permettent la réalisation de l'antibiogramme.
- ❖ des réactifs d'agglutination : Slidex® Staph Plus (Bio Mérieux);
- ❖ des réactifs de révélation : TDA [Tryptophane Désaminase (Bio Mérieux)], VP1 (Vogues Proskauer), VP2; Kovac (Bio Mérieux), ces réactifs permettaient de compléter les caractères biochimiques déjà préétablies dans la galerie Api 20E.
- ❖ des gants pour éviter les contaminations lors des manipulations ;
- ❖ Des ensemenceurs (en plastique et en verre), permettaient de mettre sur les boites de pétrie un mélange homogène de l'échantillon ;
- ❖ des lames porte-objets permettaient de porter le culot de centrifugation pour son observation ;
- ❖ des lamelles recouvrent les lames porte-objet ;
- ❖ des boîtes de pétri : ce sont des récipients dans lesquelles il y'a les milieux de culture ;
- ❖ des pipettes Pasteur permettaient de prélever une certaine quantité des échantillons et de la placer sur la lame porte-objet ou sur les cellules de comptage.
- ❖ des tubes à essai, ce sont des tubes dans lesquels on mettait les échantillons pour les manipulations ;
- ❖ de l'eau physiologique permettait la dilution des colonies pour les répliquer.

II.4. Milieux de culture et d'isolement

Les milieux de culture et d'isolement étaient composés de :

- ❖ la gélose Mueller Hinton (MH) utilisée pour la réalisation de l'antibiogramme ;
- ❖ la gélose CLED utilisée pour la culture des bacilles Gram positif ;
- ❖ la gélose EMB utilisée pour la culture des bacilles Gram négatif ;
- ❖ la gélose Sabouraud pour la culture des champignons et levures ;
- ❖ la Galerie Api 20° et la minimale a été utilisé comme milieu d'identification.

III. Méthodes

III. 1. Population et période d'étude

Il s'agit d'une étude rétrospective, concernant les patients ayant réalisé un ECBU au laboratoire de la clinique Frany en Août 2015. La collecte des données a été faite à l'aide d'une fiche de collecte élaborée à cet effet.

III. 2. Collecte des données

Les données ont été collectées à l'aide de fiches de collecte conçues à cet effet. Chaque fiche contenait des renseignements sur l'identité du patient telle que le nom du patient, son âge, son sexe. On y recensait également des informations sur le diagnostic biologique comme l'état de la culture, la bactérie identifiée et les antibiotiques testés. Durant la période de l'étude, nous avons analysés 100 échantillons d'urine.

III. 3. Prélèvement, conservation et transport des urines

Les prélèvements étaient réalisés pour la plupart par les patients à la maison, avec une explication au préalable de la méthode de prélèvement (mi miction de la première urine matinale, ou l'urine ayant au moins séjourné 4h dans la vessie), quelques patients venaient effectuer le prélèvement à la clinique dans des locaux prévus à cet effet.

Les prélèvements ont été immédiatement acheminés au laboratoire de Bactériologie-parasitologie par les accompagnants des malades ou par le personnel de la clinique. Ces échantillons étaient accompagnés de bulletins d'examen dûment remplis et comportant des éléments essentiels tels que : les nom et prénom du patient, son âge et le service dans lequel il est admis ; les renseignements cliniques, la notion d'une éventuelle antibiothérapie en cours et

l'identité et la qualification du prescripteur n'étaient pas toujours renseignées. Dans le cas où les échantillons ne sont pas traités immédiatement, ils ont été conservés à l'étuve à 37°C pendant au plus 48 heures.

III. 4. Etude cyto bactériologique

III. 4.1. Examen macroscopique

L'examen macroscopique a consisté en l'appréciation des éléments tels que :

- ❖ la couleur ;
- ❖ la quantité du culot après centrifugation ;
- ❖ l'aspect.

III. 4.2. Examen microscopique

Pour l'examen microscopique, nous avons réalisé pour chaque échantillon un dépôt entre lame et lamelle du culot de centrifugation ; et l'échantillon mère bien homogénéisé a été déposé dans des cellules de Malassez pour observation. Les préparations ont été observées à l'objectif 40.

III. 4.3. Culture

A cet effet, nous avons ensemencé chaque échantillon d'urine sur le Milieu Cled et le milieu EMB ou sur le milieu Sabouraud si l'antifongogramme était demandé.

III. 4.4. L'identification

Le milieu Chapman était utilisé pour le ré-isolément des catalases (+), le *S. epidermidis* mannitol (-) était distingué de *S. saprophyticus* et de *S. aureus* qui sont mannitol(+).

Par ailleurs le test à la coagulase ou parfois le test d'agglutination avec le PASTOREX® avait permis d'identifier *S. aureus*. Le processus d'identification suivait un schéma différent selon que les germes isolés étaient des cocci ou des bacilles :

- ❖ les bacilles : l'attention était portée sur les bacilles à Gram négatif. Pour les identifier nous avons utilisé la technique d'inoculation des bactéries suspectes sur la galerie Api 20e. Après une période d'incubation de 24 heures à 37°C, les bacilles ont été identifiés après lecture de leurs caractères biochimiques.
- ❖ les cocci : celles isolées dans notre étude étaient à Gram positif. Le test à la catalase a permis de distinguer les staphylocoques (catalase +) des streptocoques (catalase -). Les tests sur le milieu nous ont permis d'identifier spécifiquement le *S. aureus* [coagulase (+) et agglutination (+)].

III. 5. L'antibiogramme

La méthode de réalisation utilisée était celle de Kirby-Bauer. Le milieu utilisé était le Mueller-Hinton (MH).

Cette technique consiste à mettre en suspension un fragment de colonie bactérienne obtenue lors de l'isolement, d'ajuster ensuite la densité de l'inoculum à celle de l'étalon 0,5 MAC FARLAND ; tremper un écouvillon stérile sec dans l'inoculum. On élimine l'excès d'inoculum en pressant l'écouvillon en le faisant rouler contre les parois du tube au-dessus du niveau du liquide ; napper toute la surface du milieu choisi avec cette suspension bactérienne à l'aide d'écouvillons stériles . Après cela, on passe enfin l'écouvillon sur les bords de la gélose qu'on laisse sécher pendant quelques minutes à température ambiante, le couvercle étant fermé. Les antibiotiques sont choisis après le séchage selon le genre de la bactérie et disposer de manière équidistante et régulière (de 25 à 30 mm) dans la boîte de Pétri à l'aide d'une paire de pinces stériles. On appuie doucement chaque disque afin d'assurer un contact uniforme avec le milieu et les boîtes sont incubées à l'étuve pendant 24h à 37°C. Les mesures des diamètres de chaque zone d'inhibition en mm sont prises.

Les résultats ont été interprétés en fonction des diamètres critiques figurant dans des tableaux d'interprétation fournis par les fabricants des disques. Le tableau II nous donne la répartition des antibiotiques testés en fonction de la famille et du groupe chimique.

Tableau II : Classification des antibiotiques testés en fonction de la famille et du groupe chimique

Famille chimique	Groupe chimique	Molécules
Betalactamine	Pénicilline	Amoxicilline Augmentin
	Céphalosporine	Cefadroxyl Cefixime Cefuroxime
Aminoside	Desoxystreptamine	Gentamycine
Quinolone	Quinilone urinaire	Acide nalidixique
	Fluoroquinilone	Ciprofloxacine Norfloxacine
Diaminopyrimidines+sulfamides		Trimétropine+sulfamide

Chapitre II : Résultats et discussion

I. Résultats

I.1. Répartition des patients selon l'âge et le sexe

Les échantillons analysés provenaient aussi bien de patients de sexe masculin que de sexe féminin auxquels correspondaient plusieurs tranches d'âges.

Le tableau III donne la répartition des patients selon l'âge et le sexe.

Tableau III : Répartition des patients selon l'âge et le sexe

Tranche d'âge des patients	Masculin	Féminin	Total	Pourcentage
0-14	10	12	22	22%
15-30	11	20	31	31%
31-50	16	14	30	30%
51-70	9	5	14	14%
71-90	2	1	3	3%
Total	48	52	100	100%

Les patients de sexe féminin ont enregistré le plus grand nombre de cas et ceux de 15 à 50 ans tout sexe confondu, ont constitué la tranche d'âge la plus représentée (51%). A cette même tranche d'âge correspondait une vive prédominance des sujets de sexe féminin (34%). L'âge moyen des patients était de 35 ans avec des extrêmes de 7 mois et 71 ans.

I.2. Répartition des patients en fonction de la culture microbienne

Le tableau IV nous donne la répartition des patients en fonction de la culture

Tableau IV : Répartition des patients en fonction de la culture microbienne

Etat de la culture	Nombre	Pourcentage
Positive	29	29%
Monomicrobienne	26	26%
Polymicrobienne	3	3%
Négative	71	71%

Sur les 100 échantillons mis en culture, 29 ont donnés une culture positive dont 26 monomicrobiennes et 3 polymicrobiennes. Les 71 autres échantillons restant ont donné des cultures négatives.

I.3. Répartition des germes identifiés en type respiratoire, en famille, et en genre

Les germes identifiés appartenait à quatre (04) familles, 6genres et 6espèces dont les distributions sont représentées dans le tableau V.

Tableau V : Répartition des germes identifiés en type respiratoire, en famille et en genre

Type respiratoire	Famille	Genre	Nombre	Pourcentage
Bactérie fermentaire	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Escherichia</i>	13	44,82
		<i>Enterobacter</i>	1	3,44
		<i>Klebsiella</i>	6	20,68
Bactérie fermentaire	<i>Staphylococaceae</i>	<i>Staphylococcus</i>	6	20,68
Bactérie fermentaire	<i>Streptococaceae</i>	<i>Streptococcus</i>	1	3,44
Levure fermentaire	<i>Saccharomycetaceae</i>	<i>Candida</i>	2	6,89

La totalité des souches étaient de type fermentaire. Les entérobactéries ont constitué la famille bactérienne la plus importante avec des isolats de 68,94% et parmi celles-ci le genre *Escherichia* a été le plus représentatif avec 44,82%.

I.4. Répartition des germes identifiés en espèces

Les entérobactéries ont représenté à peu près 68,94 % des germes majoritairement identifiés avec une prédominance d'*E. coli* 44,82 %. Le diagramme suivant donne la répartition des germes identifiés en espèces.

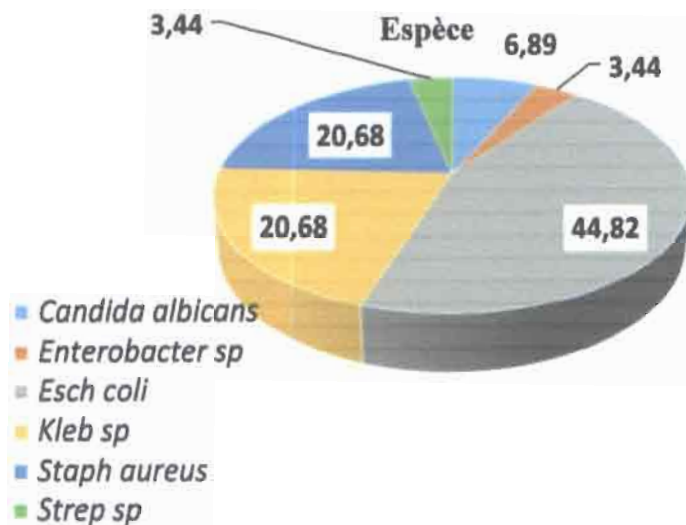


Figure 5 : Diagramme de répartition des bactéries en espèces

I.5. Associations bactériennes en culture polymicrobienne

Trois cultures (03) d'urine ont chacune donné lieu à l'isolement de deux germes pathogènes. *Candida*, *Klebsiella* et *Staphylococcus* ont été les trois genres les plus impliqués dans les associations bactériennes. *Klebsiella sp* a été impliqué dans tous les cas soit :

- ❖ 1 fois associée avec *Staphylococcus aureus*
- ❖ 2 fois avec *Candida albicans*

I.6. Etude de la sensibilité aux antibiotiques

Les disques d'antibiotiques ont été déposés en fonction des germes identifiés. Pour chaque germe identifié, sept disques d'antibiotique ont été déposés sur les milieux de façon équidistante. Le milieu de culture utilisé est le milieu Mueller-Hinton (MH). Durant l'étude, une douzaine d'antibiotiques ont été utilisés. Globalement la ciprofloxacine, la norfloxacine et la gentamycine ont été les antibiotiques les plus actifs. La cefuroxime et l'acide nalidixique ont montré un niveau moyen d'activité tandis que la cefixime, la cefadroxyl et l'augmentin ont été peu actifs. La figure suivante donne la sensibilité globale aux antibiotiques.

Nombre d'ATB

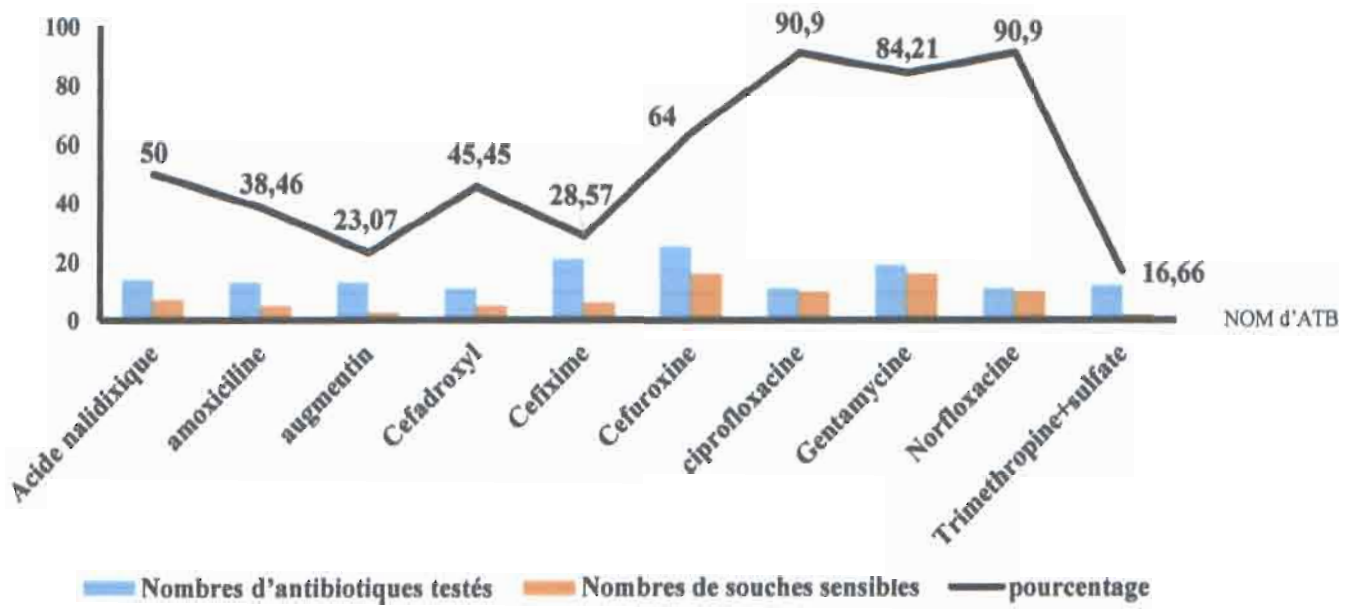


Figure 6 : Diagramme d'étude de la sensibilité globale aux antibiotiques

I.7. Résultat de la Sensibilité des antibiotiques testés sur les souches isolées

I.7.1. Sensibilité des 13 souches d'*E. coli* aux antibiotiques majoritairement utilisés

Les souches d'*E. coli* ont été d'une sensibilité variable aux antibiotiques. Elles ont été très résistantes vis-à-vis de l'augmentin et de l'Amoxicilline, mais affichaient une sensibilité assez satisfaisante à la gentamycine et au Norfloxacine. La figure 7 révèle la sensibilité des souches d'*E. coli* aux antibiotiques.

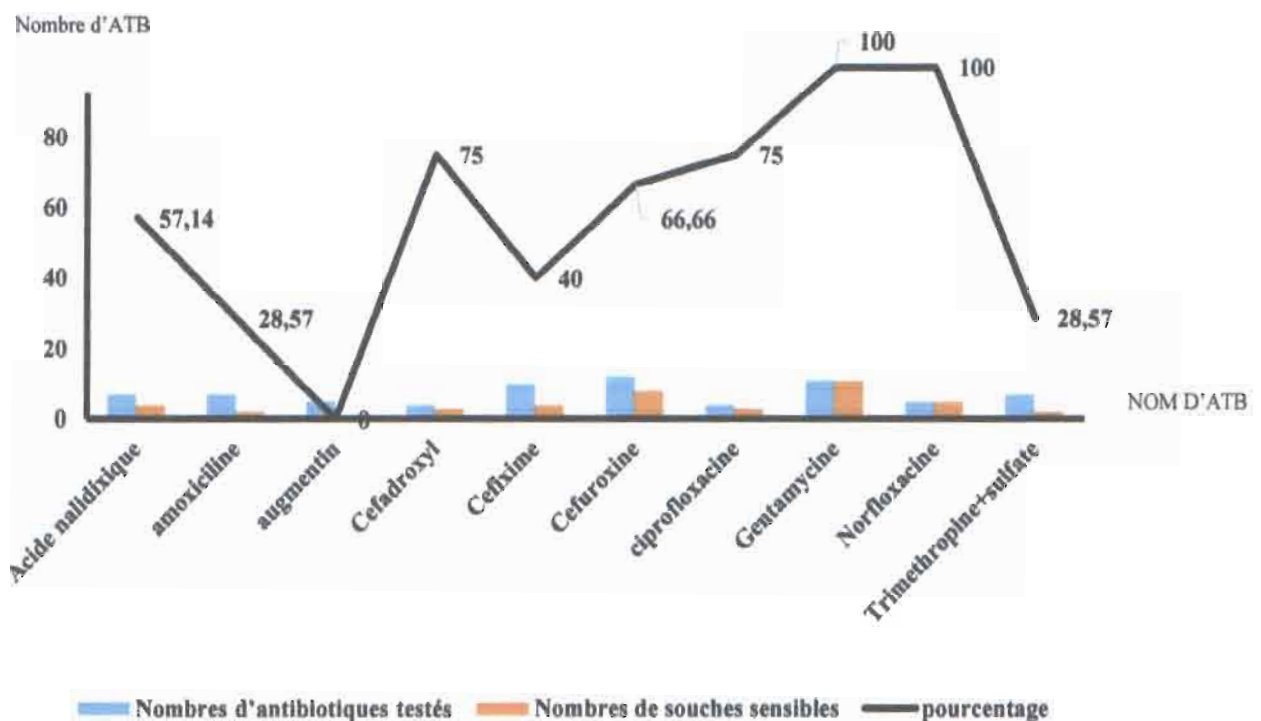


Figure 7 : Diagramme de sensibilité des souches d'*E. coli* aux antibiotiques

I.7.2. Sensibilité des six souches de *S. aureus* aux antibiotiques majoritairement utilisés

Les *staphylocoques* ont été sensibles aux antibiotiques testés, particulièrement au norfloxacine, à la ciprofloxacine, et cefadroxyl qui ont tous affiché des taux de sensibilité égale à 100 %. Elles ont été par contre résistantes à l'acide nalidixique et au Triméthoprim+sulfamide. La figure 8 nous donne la Sensibilité des souches de *S. aureus* aux antibiotiques.

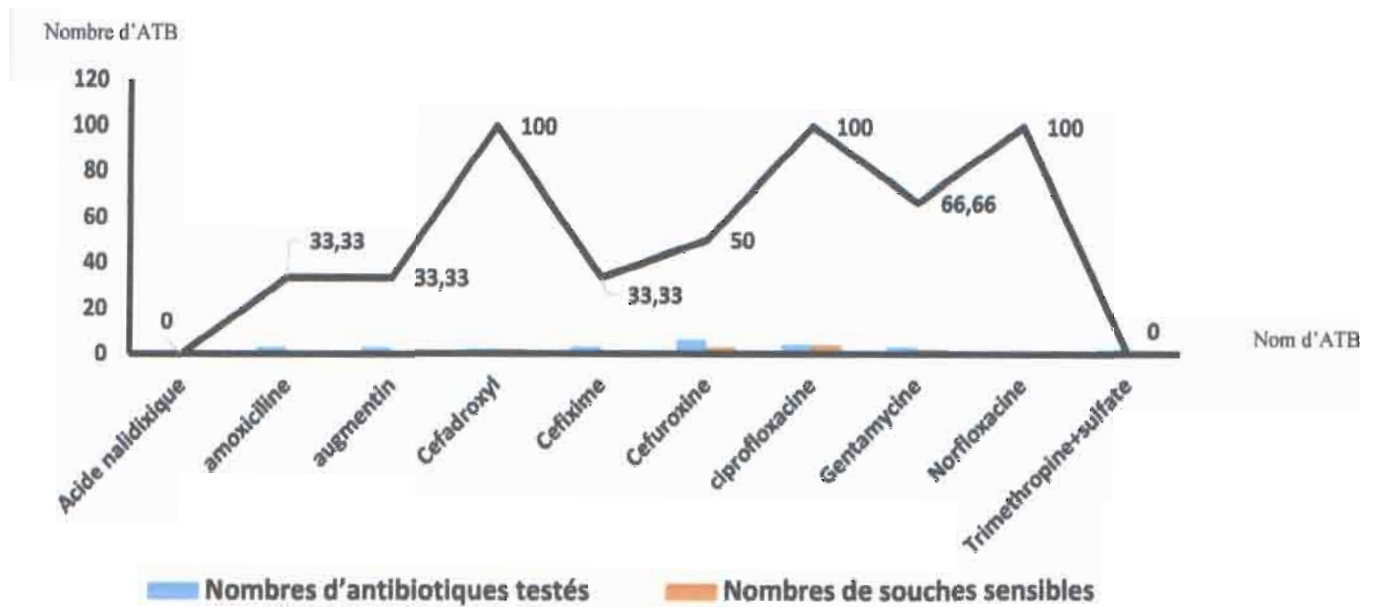


Figure 8 : Diagramme de sensibilité des souches de *S. aureus* aux antibiotiques

1.7.3. Sensibilité des six souches de *Klebsiella* aux antibiotiques majoritairement utilisés

La gentamycine, la ciprofloxacine ont enregistré les meilleurs taux d'activité sur les souches de *Klebsiella* identifiées qui ont été résistantes au Trimethroprine+sulfamide et l'Augmentin. La figure 9 nous donne la sensibilité des souches de *Klebsiella* aux antibiotiques

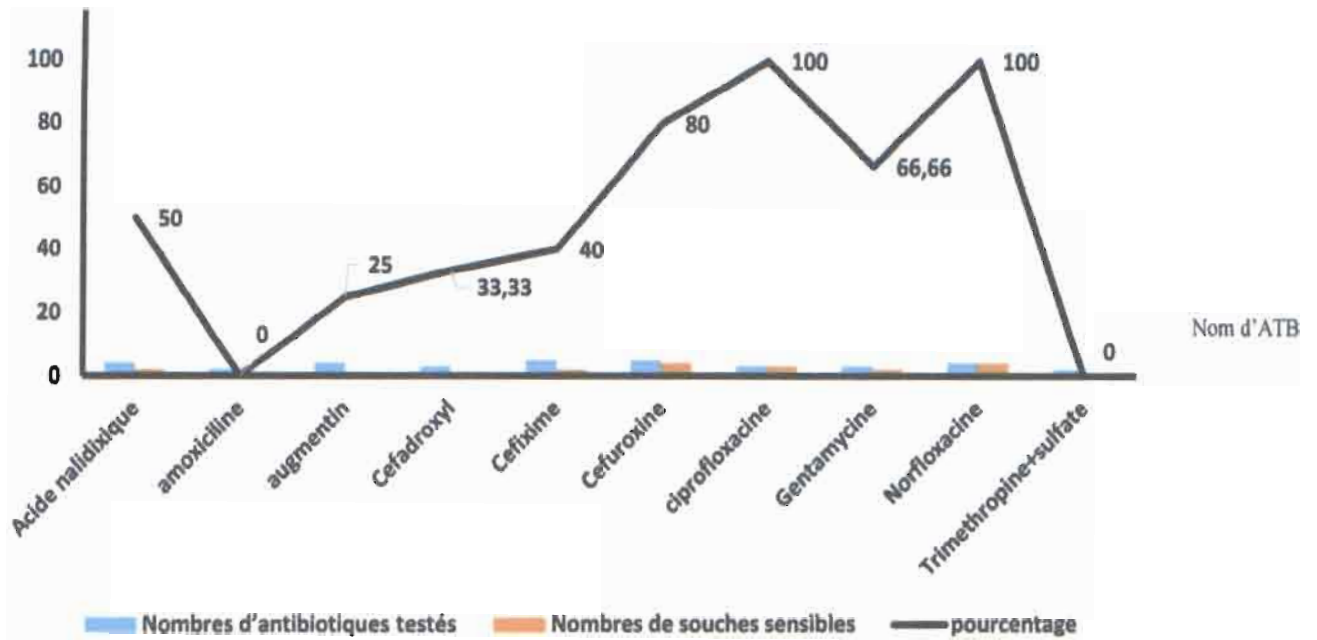


Figure 9 : Diagramme de sensibilité des souches de *Klebsiella* aux antibiotiques

I.7.4. Sensibilité des souches de *Streptocoque* et d'*Enterobacter* aux antibiotiques majoritairement utilisés

La souche de *Streptocoque* isolée a été sensible au Norfloxacine et résistante à l'Augmentin et au Cefixime; tandis que celle d'*Enterobacter* a été sensible à la Ciprofloxacine et au Triméthoprine+sulfamide, résistante à la Cefixime.

I.7.5. Sensibilité des deux souches de *C. albicans* aux antifongiques majoritairement utilisés.

Les souches de *Candida* isolées ont été résistantes à l'amphotéricin B, à la nystatine et ont montré une sensibilité envers la miconazole, la fluconazole, la kétonazole, l'éconazole, la clotrinazole avec une sensibilité de 100% pour chaque antifongique.

II. Discussion

II.1. Limites et contraintes de l'étude

Notre étude a connu des limites, notamment l'absence de renseignements cliniques qui pourraient faciliter l'orientation de la culture. Les dispositions à prendre pour le prélèvement n'étaient pas toujours respectées ainsi que le délai d'acheminement de ces prélèvements au laboratoire. Certains patients ont bénéficié d'une antibiothérapie préalable avant le prélèvement. Toutes ces contraintes pourraient contribuer à modifier la qualité des résultats.

II.2. Répartition des patients selon l'âge et le sexe

La moyenne d'âge des patients était de 35 ans avec des extrêmes de 7mois et 71 ans. Les patients de moins de 15 ans ont enregistré un pourcentage égal à 22%. L'infection du tractus urinaire représente l'un des problèmes les plus fréquents en pédiatrie. Ainsi, 0,4 à 5,8 % des enfants hospitalisés en sont atteints [3].

La majorité des patients qui avait un âge compris entre 15 ans et 50 ans, représentait 84% des patients. Cela pourrait s'expliquer par le fait de la jeunesse de la population. A ce même intervalle d'âge correspond une vive prédominance des effectifs des femmes 34%.

A Dakar, Marrhich (2008) a fait les mêmes constats, il affirme qu'entre 20 et 50 ans, les infections sont 50 fois plus fréquentes chez la femme. La plupart des études épidémiologiques ont montré que l'ITU est plus fréquente chez la femme que chez l'homme. [3 ; 5]. Ces études sont en conformité avec nos résultats, et pourrait s'expliquer par les raisons suivantes :

- l'anatomie de l'appareil génital chez la femme favorise l'ITU, elle a un urètre qui facilite l'accès de bactéries à la vessie, la proximité entre l'anus et le méat urinaire facilite grandement l'accès de l'urètre aux bactéries intestinales provenant de rectum, en outre l'homme a un appareil génital bien protégé ; l'urètre est plus long [16] ;
- chez certaines femmes, l'augmentation de l'activité sexuelle peut provoquer les symptômes d'une ITU [38] ;
- les femmes enceintes sont particulièrement à risque en raison de la pression exercée par le bébé sur le système urinaire, les changements hormonaux, aussi la grossesse dilate les voies excrétrices [16] ;

- après la ménopause, les ITU peuvent être plus fréquentes à cause de l'absence de certaines hormones [16] ;
- l'usage d'un diaphragme et de spermicides comme moyen contraceptif augmentent le risque d'ITU [38].

Par contre, au-delà de 50 ans, c'est l'homme qui devient le plus exposé quand apparaissent les premiers troubles prostatiques.

II.3. La culture

Parmi les 100 échantillons analysés, 29 ont donné des cultures positives soit un taux de positivité de 29% et ont permis d'isoler au total 6 germes pathogènes. Le faible taux de positivité pourrait s'expliquer par une antibiothérapie avant la réalisation de l'examen et la mauvaise façon d'effectuer le prélèvement. On notait une prédominance des bactéries de types fermentaires comme les entérobactéries qui représentaient 68,94% des agents bactériens identifiés, avec une prédominance d'*E. coli* 44,68%.

En Algérie, Kouta et *al.* (2009) a obtenu 96% d'entérobactéries lors de son étude, et *E. coli* représentait 81,48% [16].

L'infection urinaire est presque toujours acquise par voie ascendante à partir de la flore digestive et périnéale, et de ce fait presque toujours composée d'entérobactéries [22]. *E. coli* est le germe le plus souvent retrouvé au cours des infections urinaires, cette prédominance est en rapport avec ses caractères de virulence qui sont :

- ✓ l'adhésivité bactérienne des *E. coli* qui grâce à des prolongements de leur paroi (fimbriae ou pili) adhèrent aux récepteurs glycolipidiques spécifiques présents dans les cellules uroépithéliales, cette adhésivité bactérienne permet de résister au flux urinaire ;
- ✓ l'hémolysine bactérienne qui lyse les érythrocytes et les cellules épithéliales ;
- ✓ l'antigène K capsulaire qui protège la bactérie contre la phagocytose et l'action de complément ;
- ✓ l'aerobactine sidérophore, qui en séquestrant le fer bactérien permet la multiplication d'*E. coli* dans l'urine, milieu pauvre en fer [16 ; 19].

L'infection urinaire à cocci Gram+ et à levures ne sont pas négligeables. Nous avons trouvé les espèces isolées comme les *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*. Les raisons ne sont pas

encore connues, mais il semble qu'elles sont en rapport avec les relations sexuelles et/ou des facteurs hormonaux [38].

II.4. Sensibilité globale aux antibiotiques

A priori, les aminosides (gentamicine 84,21%) et les fluoroquinilones (norfloxacin 90,90% et ciprofloxacine 90,90%) semblent être les molécules les plus actives, car ils ont été actifs sur la plupart des souches sur lesquelles ils ont été testés. Après, c'est l'acide nalidixique (50% de sensibilité) et la céfuroxime (64% de sensibilité) qui ont été moyennement active. L'amoxicilline (38,46%), l'augmentin (23,07%), ont été des molécules peu actives.

II.4.1. Sensibilité des 13 souches d'*E. Coli* aux antibiotiques

Cette forte activité de la gentamycine a été montrée par Seck (2010), qui avait trouvé lors de ses recherches une sensibilité de 81,3%. *E. coli* est largement sensible à la gentamycine, mais peut rencontrer une faible résistance [29].

Sawadogo. (2013) rapportait que cette faible résistance peut s'expliquer par l'action lytique des acétyltransférases, des phosphotransférases et des nucléotidyltransférases qui confèrent une résistance aux bactéries qui les secrètent [28].

Notre étude a donné 75% des souches sensibles à la ciprofloxacine. Les quelques souches qui ont été résistantes sont peut-être des souches mutantes. En outre, les 13 souches d'*E. coli* ont été très résistantes à l'augmentin et à l'Amoxicilline et peu à Triméthoprim+ sulfamide.

Seck (2010) avait trouvé 100% des souches résistantes à l'amoxicilline et Lagha (2014) rapportait une résistance de 79,1% en Algérie [19; 29].

De manière générale, les entérobactéries utilisent différents mécanismes pour développer une résistance aux β -lactamines : il peut s'agir de troubles de perméabilité pour les antibiotiques, ce qui empêche la pénétration de l'antibiotique dans la bactérie, de systèmes d'efflux qui permettent d'évacuer les antibiotiques qui auraient pénétré dans la bactérie, ou de modification de la cible bactérienne de l'antibiotique (exemple : les sites de liaison des pénicillines, les penicillins binding proteins (PBP), ce qui empêche la fabrication de la paroi de la bactérie). Mais plus fréquemment, il s'agit d'enzymes détruisant les β -lactamines ; le β - lactamase [32].

Ouédraogo (2015) rapportait également que cette résistance acquise est la conséquence de l'usage intensive de ces antibiotiques qui favorise l'émergence et l'extension des mécanismes de résistance liés à la sécrétion de bêta-lactamases.

L'association Triméthoprime+sulfamide a donné 71,42% d'activité sur les souches sur lesquelles il avait été testé. Seck (2010) avait trouvé une résistance de 89% [29].

Cet antibiotique connaît donc une résistance grandissante. Une nouvelle attitude thérapeutique devrait être adoptée les concernant dans les années à venir.

II.4.2. Sensibilité des souches de staphylocoque aux antibiotiques

Les staphylocoques ont été sensibles aux antibiotiques testés, particulièrement à la norfloxacine, à la ciprofloxacine, et au cefadroxyl, qui ont tous affichés des taux de sensibilité égale à 100%, et la gentamycine 75%. Elles ont été par contre résistantes à l'acide nalixidilique et à Triméthoprime+sulfamide. L'institut Louis Malarde avait trouvé 90% de sensibilité à la ciprofloxacine en 2005 et pour la gentamycine 99% de sensibilité.

Ouédraogo (2016) a également trouvé 100%de sensibilité des souches à la gentamycine [24].

II.4.3. Sensibilité des souches de *Klebsiella* aux antibiotiques

La gentamycine et la ciprofloxacine ont enregistré les meilleurs taux d'activité avec une sensibilité égale à 100% sur les souches de *Klebsiella* identifiées qui ont été résistantes au Triméthoprime+sulfamide 0%, l'amoxicilline 0% et à l'augmentin 25%. Les *Klebsiella* ont une résistance naturelle aux dérivés aminopénicillines d'où la résistance à l'amoxicilline, qui est due à la présence de la pénicillase chromosomique chez cette bactérie [1]. Seck (2010) avait trouvé 81% des souches sensibles à amoxicilline+acide clavulinique. L'acide clavulinique restaure l'activité de l'amoxicilline [29]. Pourtant, Dia (1998) avait trouvé une résistance de 63%. On pourrait donc supposer, que la restauration par l'acide clavulinique n'est que partielle [23]. La ciprofloxacine a été très efficace sur les souches de *Klebsiella* d'après notre étude 100% de sensibilité. Seck (2010) avait les mêmes proportions avec une sensibilité allant de 93 à 100% [29].

II.4.4. Sensibilité aux souches de *Streptocoque* et d'*Enterobacter* aux antibiotiques majoritairement utilisés

La souche de streptocoque isolée a été sensible à la norfloxacine et résistante à l'augmentin et au cefixime ; tandis que celle d'*Enterobacter* a été sensible au ciprofloxacine et au Triméthoprime+sulfate et résistante à la cefadroxyl.

II.4.5. Sensibilité des deux souches de *C. albicans* aux antifongiques utilisés

Les souches de *Candida* isolées ont été résistantes à l'amphotéricine B, à la nystatine et ont montré une sensibilité à la miconazole, à la fluconazole, à la kétonazole, à l'econazole, et à la clotrinazole avec une sensibilité de 100% pour chaque antifongique. L'étude de la sensibilité des souches de *C albicans*, de streptocoque et d'*Enterobacter* aux antibiotiques, ne nous permet pas de tirer des conclusions actives vu le nombre réduit de souches.

Conclusion et suggestions

Les infections urinaires représentent un problème de santé particulièrement important en raison de leur fréquence et de leur morbidité. L'infection urinaire est cliniquement asymptomatique dans la majorité des cas, donc l'ECBU devra être effectué systématiquement, surtout dans les fièvres inexplicables. Le diagnostic de l'ITU repose sur la bonne interprétation de l'ECBU. Notre étude a révélé que les entérobactéries ont été les germes majoritairement isolés avec une prédominance d'*E. coli*. Les aminosides (gentamicine) et les fluoroquinolones (norfloxacine et ciprofloxacine) ont été les antibiotiques les plus actifs. L'usage abusif des antibiotiques fait que les résistances ne cessent d'augmenter. L'établissement d'un profil bactériologique permettrait de savoir pour chaque souche isolée, les antibiotiques à tester. Ce qui va contribuer à réduire considérablement les résistances.

Nous suggérons :

- aux autorités compétentes :
 - de mener des campagnes d'information, d'éducation et de communication (sur le danger de l'automédication qui favorise la multiplication de souches bactériennes multi-résistantes) ;
 - de mettre à la disposition des soignants des bandelettes urinaires en vue de la détection rapide de l'infection urinaire ;
 - d'entreprendre au Burkina des études sur les causes d'échec des antibiothérapies bien conduites dans les infections urinaires.
- aux personnels soignants :
 - de rechercher systématiquement une infection urinaire chez tous les malades présentant des fièvres inexplicables ;
 - de respecter strictement les mesures d'hygiène (lavages des mains, port de gants stériles, etc..) ;
 - d'éviter la prescription systématique des antibiotiques qui favorise la sélection de souches bactériennes multi-résistantes ;
 - d'adapter l'antibiothérapie dans la mesure du possible à l'antibiogramme.
- à la population :
 - consulter devant tout trouble mictionnel ;
 - abandonner l'automédication ;

- de boire beaucoup d'eau en vue de la prévention d'une éventuelle constipation, facteur favorisant d'une stase urinaire ;
- d'uriner après chaque rapport sexuel ;
- faire la toilette intime des organes génitaux vers l'anus (pour les femmes).

Références bibliographiques

1. **Amorrissani, M. F., M'bengue, A. K., Dainguy, E., Faissal, N.A., (2006).** Infections urinaires néonatales : profil clinique et bactériologique. *Rev. Int Sc Med* ; 8(1):45-49
2. **Avril, J. L., Dabernat, H., Denis F., Monteil H. (2000).** Bactériologie Clinique 3^{ème} édition.ed ellipses. 602p
3. **Bensman, A., Lasfargues, G.** Diagnostic positif et localisation de l'infection urinaire. pdf. Consulté le 25 Mai 2016
4. **Berche, P., Gaillard, J. L., Simone, T. (1998).** Structure, mode d'action des antibiotiques et mécanismes de résistance bactérienne. In : les bactéries des infections humaines. Ed Flammarion Paris ; 575-92.
5. **Bouchra, M. (2008).** Les antibiotiques utilisés dans les infections urinaires en 2008 au Maroc.Thèse Pharmacie n ° 78 Université Cheick Anta Diop Dakar.179p.
6. **Bourdat-Michel, G. (2003).** Infection urinaire de l'enfant (93) ; Corpus Médical–Faculté de Médecine de Grenoble.
7. **Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. (2010)** Méthodologie de réalisation de l'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé. Recommandation 2010 : p50.
8. **Colon, S., (1990).** Anatomie microscopique normale. In : néphrologie urologie ; *Encycl 'etudiantmed.* (Paris) ; 7-19
9. **Crickx, B. (2005).** Histologie et histophysiologie de la peau et ses annexes. In : Comprendre la peau. *Ann Dermatol Venereol*, 2005;132(8):49-68
10. **Euzéby, J.P. (2006).** Abrégé de bactériologie Générale et Médicale à l'usage des étudiants de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. Bactériologie Médicale. 19p.
11. **Flandrois, J. P. (1997).** Bactériologie médicale. Collectif, Presses Universitaires De Lyon. Edition Azay. 309
12. **Hellerstein, S. (1982).** Recurrent urinary tract infections in children. *Pediatr Infect Dis* (1): 271-281.

13. **Hindman R, Tronic B, Bartlett R. (1976).** Effect of delay on culture of urine. *J Clin Microbiol*1976; (4): 102-3.
14. **Huet, C. (2007).** Principes de mesures de la sensibilité aux antibiotiques. CMI/CMB, <http://www.em-consulte.com/article/65801>.
15. **Institut Louis Malarde (2005).** Etat de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées au laboratoire de biologie médicale de l'institut louis malarde. 13p.
16. **Kouta, K. (2009).** Infections urinaires chez les diabétiques adultes. Mémoire de fin de cycle, Université Kasdi-Merbah-Ouargla, Algérie 113p.
17. **Khoury, S. (1985).** Urologie : Pathologie infectieuse et parasitaire. I : 19 -27.
18. **Bilan 2000 de l'ONERBA, (2001). La résistance aux antibiotiques en France :** www.invs.sante.fr/publications/2003/snmi/bilan_bmr_2000. Consulté le 16/03/2016.
19. **Lagha, N. (2014).** Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de Laghouat. Thèse : Université Abou BekrBelkaïd Tlemcen Faculté Des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers Algérie 98p.
20. **Lambert et Technovosky (1995).**In: Résistance bactérienne In : Bergogne, Berretin E et Dellamonica P. Antibiothérapie etPratique clinique. *Med Mal infect* 15:102-7.
21. **Les Milieux De Cultures.** <http://www2.ac-lyon.fr/enseigne/biotech/microbio/milieus.html>. Consulté le 01/09/2015.
22. **Meyrier, A. (1985).**Infection de l'appareil urinaire chez la femme. Editions médicales de Mercksharp et Dohme-Chibret 266p.
23. **Dia, N. (1998).** Sensibilité aux antibiotiques des souches bactériennes isolées d'hémocultures au CHU Aristide Le Dantec. *Thèse Pharmacie.*, Dakar, 1998, n°55.103p.
24. **.Ouédraogo, A.I. (2016).** Infection du tractus urinaire en milieu pédiatrique : Ecologie bactérienne et sensibilité aux antibiotiques au Centre Hospitalier Universitaire Pédiatrique Charles de Gaulle de Ouagadougou. Thèse médecine n° 10, Université de Ouagadougou 108p.
25. **Ouédraogo/ Yugbaré SO., Kouéta F., Minougou ZJMD., Ouédraogo/Traoré R., Dao L., Yé Diarra (2012).** Infection du tractus urinaire chez l'enfant: aspects Epidémiologiques et Bactériologiques au Centre Hospitalier Universitaire Pédiatrique Charles de Gaulle de Ouagadougou (Burkina Faso). *Mali Medical*; TOME XXVII (4) ,11-14

26. **Pasteur (1987)**. Milieux et réactifs de laboratoire. Microbiologie – Immunologie. 3^{ème} édition. Diagn. Past. Paris: 728p.
27. **Roland, J. (1998)**. Histologie de la voie excréto-urinaire. Encycl. Méd. Chir. (Paris, France), REI (I), 18003 B – 10, 5 p.
28. **Sawadogo, A. A. (2013)**. Profil bactériologique des infections du site opératoire dans les services de chirurgie générale et digestive et de gynécologie-obstétrique du centre hospitalier Universitaire Yalgado Ouédraogo (chu/yo). Thèse pharmacie n°107. Université 1de Ouagadougou 122p.
29. **Seck, R. (2009 – 2010)**. Résistance des souches d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella* isolée des infections urinaires. Thèse de Pharmacie. Université Cheick AntaDiop de Dakar. 73p
31. **Vargues, R., Cotty. (1987)**. Analyses cyto-bactériologiques des pus et des liquides d'épanchements In : Bactériologie médicale – Techniques usuelles. Ed Simep, Paris, :73-78s.
32. **Vora, S.; Auckenthaler, R. (2009)**. Que signifie «bêta-lactamases à spectre élargi» en pratique. Rev Med Suisse.

Webographie

30. **Schéma de la bactérie** : <http://prepa28concours2009.blogspot.com/2009/12/schema-dune-bacterie.html>. Consulté le 25/09/2013.
33. <http://bacterioweb.univ-fcomte.fr/bibliotheque/remic/02-ECBU.PDF> consulté le 25 Mai 2016
34. **www.laboclin.de**. Consulté le 25 Mai 2016
35. **www.memobio.fr**. Consulté le 25 Mai 2016
36. <http://www.passeportsante.net/fr/Maux/Problemes/Fiche.aspx?doc1>. Consulté le 20 Mai 2016
37. **www.revmed.ch**. Consulté le 25 Mai 2016
38. **www.wikipédia.com**. Consulté le 19 Mai 2016

Annexes

Annexe I : Fiche de collecte

N° d'ordre

IDENTITE DU MALADE

Nom : Prénom :

Sexe : Service :

MOTIF DE LA DEMANDE D'EXAMEN

Renseignements cliniques :

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

Prélèvement :

.....

Examen macroscopique :

Examen microscopique :

Culture : Positive / _ / Négative : / _ /

Si culture positive : Bactéries identifiées : +

1) :

2) :

Annexe II : Antibiogramme

Antibiotique	Sensible, résistant ou intermédiaire
Acide nalixidique	
Amoxicilline+acideclavinilique	
Augmentin	
Cefadroxyl	
Cefixime	
Cefuroxime	
Ciprofloxacine	
Gentamycine	
Norfloxacine	
Trimétropine+sulfate	

Annexe III : Antifongigramme

Antifongique	Sensible,résistant ou intermédiaire
Amphotéricine B	
Clotrimazole	
Econazole	
Fluconazole	
Miconazole	
Nystatine	

Annexe IV : Liste des matériels

Gros matériel:

- Autoclave;
- Etuve bactériologique réglable à 37°C;
- Réfrigérateur ;
- Microscope optique
- Centrifugeuse

Petit matériel:

- Anse de platine;
- Bec Bunsen;
- Pinces métalliques pour le dépôt des disques d'antibiotiques sur les milieux de culture;
- Balance électronique;
- Cellules de comptage (cellule de Nageotte, cellule de Malassez);
- Distributeur de disques d'antibiotiques ;
- Cristalliseur;
- Portoir pour tubes à essai;
- Poire, cloche, bougie.

Consommables et réactifs de laboratoire

- Réactifs de catalase (Bio Mérieux),
- Plasma de lapin lyophilisé (Bio Mérieux),
- Papier oxydase ou disques d'oxydase pour la réalisation du test d'oxydase,
- Huile à immersion,
- Huile de paraffine;
- Kits pour la coloration de Gram: R1 (solution de violet de gentiane), R2 (solution delugol), R3 (solution d'alcool éthylique), R4 (fuchsine);
- Disques d'antibiotiques,
- Disques d'optochine,
- Eau distillée,
- Mac Ferland 0.5;
- Réactifs d'agglutination: Slidex®Staph Plus (Bio Mérieux);
- Réactifs de révélation: TDA [Tryptophane Désaminase (Bio Mérieux)], VP1 (VogesProskauer), VP2; Kovac (Bio Mérieux)
- Gants;

- Ensemenceurs (en plastique et en verre),
- Lames porte-objets,
- Lamelles,
- Boîtes de Pétri,
- Pipette Pasteur,
- Ecouvillons,
- Tubes à essai,
- Kits d'agglutination (Pastorex, Strepto®)
- Eau physiologique
- ID color le test à la catalase

Milieux de culture et d'isolement

- Gélose de Chapman
- Bouillon coeur-cerveille (BCC)
- Bouillon Thioglycolate
- Gélose Mueller Hinton (MH)
- Gélose CLED
- Gélose EMB
- -gélose Sabouraud
- Gélose Chocolat +Polyvitex (GC+PVX)

Milieux d'indentification

- Galerie Api 20 E.

Annexe V : Tableau de classification des antibiotiques (24 ; 48)

Mode d'action	Familles chimiques	Groupes chimiques	Sous-groupe	Molécules
Inhibition de la synthèse du peptidoglycane.	Betalactamines	Pénicillines	Pénames	PéniG et dérivés, Oxacilline (OX), ampicilline (AMP), amoxicilline (AMX), Ticarcilline (TIC),
			1 ^{ère} Génération	Céfadroxyl, Céfaloine, Céfalexine, Céfazoline.
		Céphalosporines	2 ^e Génération	Cefoxitine (FOX), Céfamandole (MA), Céfuroxime,
			3 ^e Génération	Céfotaxime (CTX) Ceftriaxone (CRO) Ceftazidime (CTZ) Cefixime
			4 ^e Génération	Céfépime, Cefpirome
	Antibétalactamases	-	Carbapénèmes	Imipeneme (IMIP) Méropénème
		-	Oxapénames	Acide clavulanique
		-	Pénicillines-sulfones	Sulbactam Tazobactam
	Glycopeptides	-	-	Vancomycine (VA), teicoplanine
	Fosfomycine	-	-	Fosfomycine
	Cycloserine	-	-	Cycloserine
Polypeptides	-	-	Bacitracine	
Inhibition de la synthèse des protéines.	Aminosides	Streptamines	-	Streptomycine, Kanamycine (KA)
		Desoxystreptamines	-	Néomycine (N), Gentamicine (GN)
		Aminocyclitol	-	Spectinomycine
	Macrolides	Macrolides vrais	-	Erythromycine (E) Spiramycine
		Lincosamides	-	Lincomycine (L), Clindamycine
		Streptogramines	-	Pristinamycine, Virginiamycine
	Phénicolés	-	-	Chloramphénicol, Thiamphénicol
	Tétracyclines	-	-	Tétracycline (TET), Doxycycline (DOX)
	Oxazolidinones	-	-	Linézolide
	Acide fusidique	-	-	Acide fusidique
Inhibition des acides nucléiques	Quinolones	Quinolones urinaires	-	Acide nalidixique (NA), Acide pipémidique
		Fluoroquinolones	-	Ciprofloxacine (CIP), Norfloxacine (NOR) Lévofloxacine
	Rifamycines	-	-	Rifamycine et Rifampicine
	Nitrofuranes	-	-	Nitrofurantoine, Furazolidone, Nifuroxazide
	Nitroimidazolés	-	-	Métronidazole
Inhibition de la synthèse des folates	Sulfamides	-	-	Sulfadoxine, sulfadiazine, Sulfaméthoxazole.
	Diaminopyrimidines	-	-	Triméthoprime, Pyriméthamine
Les inhibiteurs actifs sur la membrane	Polypeptides	Polymyxines	-	Polymyxine B et la colistine (CS)