



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE MASTER

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité: BIOTECHNOLOGIE DES MICROORGANISMES

THÈME

**Isolement et caractérisation des staphylocoques  
responsables des infections urinaires**

Présenté par

*M<sup>lle</sup> KRIDECH Hayat*

*M<sup>me</sup> BEN BLIDIA Amina*

DEVANT LE JURY :

Président	DJIBAOUI R.	Professeur	U. Mostaganem
Encadreur	DIB W.	MCB	U. Mostaganem
Examineur	GRAR H.	MAA	U. Mostaganem

## Résumé

Les infections urinaires arrivent au deuxième rang des infections communautaires bactériennes après les infections de l'arbre respiratoire. C'est une infection à la fois du contenant (appareil urinaire) et du contenu (urines). Elles correspondent à la présence anormale de germes microbiens dans l'urine.

Les femmes adultes et les nourrissons de sexe masculin sont les plus fréquemment atteints d'infections des voies urinaires. Les femmes et les hommes de plus de 50 ans souffrent à peu près à part égale d'infections de l'appareil urinaire. Environ une femme enceinte sur trois souffre au moins une fois durant la grossesse ou après l'accouchement d'une infection des voies urinaires.

L'objectif de notre travail est d'isoler et d'identifier des staphylocoques qui provoquent l'infection urinaire chez les enfants, les femmes et les hommes.

Dans cette étude nous avons utilisé la méthode d'examen cytotbactériologique des urines(ECBU) qui permet de diagnostiquer les infections urinaires. Nous avons purifié par la suite nos isolats, puis des tests d'identifications microbiologiques classiques ont été réalisés afin d'identifier nos isolats. Le dernier test consiste à tester le degré de sensibilité vis-à-vis les antibiotiques.

Cet examen montre la présence anormale de globules blancs dans les urines qui est caractérisé essentiellement par une bactériurie et une leucocytaire, l'analyse microbiologique montre la présence des *Staphylococcus* et autres germes.

Notre travail, nous a permis d'isoler les germes *Staphylococcus sp* à partir du furoncle d'un malade présentant une infection urinaires.

La mise en évidence de la résistance aux antibiotiques par la méthode de diffusion des disques en milieu solide (l'antibiogramme) a montré que *staphylococcus sp* sensibles à la ciprofloxacine, cefotaxime, pénicilline et oxacilline.

En conclusion, les staphylocoques sont des bactéries pathogènes qui peuvent engendrer une infection urinaire et résistent à plusieurs antibiotiques.

**Mots clés :** *Staphylococcus*, API Staph, ECBU, Antibiogramme, infection urinaire.

## **Abstract**

The urinary infections are infections of the urinary tract. Infection usually begins in the urethra or the bladder. The ascending infection is the pathogen spreads respectively in the ureter or renal pelvis.

Women and boys are the most susceptible to urinary tract infections. Women and men over 50 suffer almost equally of infections of the urinary tract. About one in three pregnant women suffer at least once during pregnancy or after delivery of a urinary tract infection.

In this study we used the method of urinalysis for diagnosing urinary tract infections. We purified thereafter our isolates, followed by microbiological identification tests were performed to identify our isolates. The last test is tested the sensitivity against the antibiotics.

This examination shows the presence of abnormal white blood cells in the urine which is characterized essentially by bacteriuria and leukocyte, the microbiological analysis shows the presence of Staphylococcus and other bacteria.

Our work has allowed us to isolate the Staphylococcus sp from the boil of a patient with a urinary infection.

The highlighted resistance to antibiotics by disk diffusion method in solid medium (sensitivity) to show that Staphylococcus sp sensitive to ciprofloxacin, cefotaxim, penicillin and oxacillin.

In conclusion, staphylococci are pathogenic bacteria that may cause urinary tract infection and are resistant to several antibiotics.

Keywords: Staphylococcus, API Staph, ECBU, Antibigram, Urinary infections.

## Les abréviations

EPO : l'érythropoïétine

ATP : Adénosine triphosphate.

pH : Potentiel d'hydrogène.

IU : Les infections urinaires.

SCN : Staphylocoques à coagulase négative.

CO<sub>2</sub> : dioxyde de carbone

°C : Degré Celsius.

µm : Micromètre.

Na Cl : chlorure de sodium

ADH : Arginine- di hydrolase.

ADN : Acide-Désoxyribose-Nucléotide.

% : Pourcentage.

ml : Millilitre.

µg : Microgramme.

ECBU : Examen cytobactériologique des urines.

TSST-1: Anti-toxic shock syndrome toxin-1

TNF: Tumor Necrosis Factor

DNAses : Les désoxyribonucléases.

MSCRAMM : Microbial Surface Component Recognizing Adhesive Matrix Molecules.

Clf : capacitive loss factor,

EbpS : E binding protein

NH<sub>2</sub> : terminal leader peptide

BlaZ : β-lactamase

PLP : Protéines liant la pénicilline.

SCC : Staphylococcal Chromosomal Cassette.

h : Heure.

D-ala-D-ala : D-Alanine-D-Alanine

H<sub>2</sub>S : Sulfure d'hydrogène.

min : minute.

H<sub>2</sub>O : l'eau.

PCR : polymérase chain réaction.

l'API staph : Application Programming Interface of staphylocoques

TSI : Triple Sugar Iron.

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Hydrogène peroxyde

*VP.* : Voges Proskauer

NIT : Nitrate.

UFC :Unité Faisant Colonie.

CTX : Cefotaxime

AMX : Ampicilline

CIP : Ciprofloxacine

OX : Amoxicilline

NAL: Nalidixic acid

P: Penicilline.

AMC: Amoxicilline/ clavulanic acid

Nbr :nombre

mm<sup>3</sup>: cubic milliliters

GN: gélose nutritive

## GELOSE NUTRITIVE

Composition :(exprimée en gramme par litre :g/L)

- extrait de viande ..... 1,0g/L
- extrait de levure ..... 2,5g/L
- peptone ..... 5,0g/L
- chlorure de sodium : 5,0 g/L
- Agar : 15,0 g/L
- pH : 7,0

## MILIEU HYPERSALE DE CHAPMAN

Composition :(exprimée en gramme par litre :g/L)

- Peptone :.....10,0 g
- Extrait de viande de bœuf :.....1,0 g
- Chlorure de sodium :.....75,0 g
- Mannitol :.....10,0 g
- Rouge de phénol :.....0,025 g
- Agar-agar :.....15,0 g
- Eau distillée :.....qsp 1 Litre
- pH = 7,4

## GELOSE MUELLER HINTON

Composition :(exprimée en gramme par litre :g/L)

- infusion de viande de bœuf .....300,0 ml
- peptone de caséine ..... 17,5 g
- amidon de maïs .....1,5 g
- agar ..... 17,0 g
- pH =7,4

## GELOSE TSI

Peptones de viande.....	5
Peptones de caséine.....	15
Extraits de viande.....	3
Peptones de levure.....	3
NaCl5 Lactose.....	10
Saccharose.....	10

Glucose.....	1
Citrate ammoniacal de Fer (III).....	0.5
Thiosulfate de sodium.....	0.5
Rouge de phénol.....	0.024
Agar.....	12

## Liste de figures

<b>Figure 1.</b> Localisation du système urinaire.....	<b>3</b>
<b>Figure 2.</b> Anatomie interne du rein.....	<b>3</b>
<b>Figure 3.</b> Les caractères pour les autres espèces.....	<b>14</b>
<b>Figure 4.</b> Les bandelettes urinaires.....	<b>27</b>
<b>Figure 5.</b> Mis en œuvre des <i>staphylocoques</i> sur les deux milieux gélose nutritive (1) et Chapman (2)..	<b>31</b>
<b>Figure 6.</b> Observation microscopique des staphylocoques après une coloration de gram (x 100).....	<b>32</b>
<b>Figure 7.</b> Résultat de test catalase.....	<b>34</b>
<b>Figure 8.</b> Résultat de test TSI pour <i>s. aureus</i> .....	<b>34</b>
<b>Figure 9.</b> Résultat de test staphylocoagulase pour <i>s.epidermidis</i> (a gauche) et <i>s.aureus</i> (a droit).....	<b>35</b>
<b>Figure 10.</b> Résultat de l'API Staph.....	<b>37</b>
<b>Figure 11.</b> Effet des antibiotiques sur <i>Staphylococcus aureus</i> .....	<b>37</b>



## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Présentation des espèces qui constituent le genre <i>Staphylococcus</i> .....	<b>11</b>
<b>Tableau2.</b> Autres caractères biochimiques des <i>staphylocoques</i> .....	<b>14</b>
<b>Tableau 3.</b> Mécanismes de résistance des staphylocoques aux antibiotiques.....	<b>19</b>
<b>Tableau 4.</b> Les antibiotiques utilisés pour l'antibiogramme.....	<b>26</b>
<b>Tableau 5</b> .Résultats de l'étude macroscopique.....	<b>29</b>
<b>Tableau 6.</b> Les moyennes de résultats obtenus par l'examen cytologique et la variation de PH en fonction de l'âge pour les deux sexes.....	<b>30</b>

## *Partie théorique*

### **Introduction**

#### ➤ **Chapiter1 : les infections urinaires**

<b>1. Système urinaire.....</b>	<b>2</b>
<b>1.1. Anatomie et physiologie de système urinaire.....</b>	<b>2</b>
<b>1.1.1 Les reins.....</b>	<b>2</b>
<b>1.1.2 Les fonctions des reins.....</b>	<b>2</b>
<b>1.1.3 L'urètre .....</b>	<b>4</b>
<b>1.1.4 Les uretères.....</b>	<b>4</b>
<b>1.1.5 La vessie.....</b>	<b>4</b>
<b>1.2 La formation des urines.....</b>	<b>5</b>
<b>1.2.1 Les néphron.....</b>	<b>5</b>
<b>1.2.2 Filtration glomérulaires.....</b>	<b>5</b>
<b>1.2.3 Réabsorption et Sécrétion tubulaire.....</b>	<b>5</b>
<b>1.3 Caractéristique et Composition de l'urine .....</b>	<b>5</b>
<b>1.3.1 Définition de l'urine.....</b>	<b>5</b>
<b>1.3.2 Caractéristique physique .....</b>	<b>6</b>
<b>1.3.3 Composition chimique.....</b>	<b>6</b>
<b>2. Les infections urinaires .....</b>	<b>6</b>
<b>2.1 Définition.....</b>	<b>6</b>
<b>2.2 Epidémiologie.....</b>	<b>6</b>
<b>2.2.1 L'hôte.....</b>	<b>6</b>
<b>2.2.2 Les bactéries en cause.....</b>	<b>6</b>
<b>2.3. Colonisation urinaire.....</b>	<b>7</b>
<b>2.4. Classification.....</b>	<b>7</b>
<b>2.5. Infections urinaires du haut appareil urinaire.....</b>	<b>7</b>
<b>2.5.1 Pyélonéphrite aigue .....</b>	<b>7</b>
<b>2.5.2 L'urétrite.....</b>	<b>7</b>

2.6 Physiopathologie des infections urinaires.....	7
2.6.1 Origine de l'infection.....	7
2.6.1.1 Infection endogène.....	7
2.6.1.2 Infection exogène.....	8
2.7 Les voies de contamination.....	8
2.7.1 La voie ascendante.....	8
2.8 Facteur favorisant.....	8
2.9 Facteur de risque.....	9
2.10 Les symptômes d'infection urinaire.....	9
➤ <b>Chapiter2: Les staphylocoques</b>	
3.1 Généralités.....	9
3.2 Classification.....	10
3.3. Habitat.....	11
3.4 Caractères bactériologiques.....	12
3.4.1 Morphologie .....	12
3.4.2 Culture .....	12
3.4.3 Caractères biochimique.....	13
3.5 Transmission et facteurs de risques .....	15
3.6 Facteurs de virulence .....	15
3.7.1 Toxine .....	15
3.8. Les enzymes.....	16
3.9. Résistance des staphylocoques aux antibiotiques.....	17
3.9.1. Résistance à la novobiocine .....	17
3.9.2. Résistance à la pénicilline .....	17
3.9.3 Résistance à la vancomycine.....	18
3.9.4. Résistance des <i>staphylocoques</i> autres antibiotiques .....	18

## ***Partie expérimentale***

### **➤ Chapitre 3 : Matériels et méthodes**

<b>1. Population étudiée.....</b>	<b>19</b>
<b>2. Prélèvement et transport au laboratoire .....</b>	<b>19</b>
<b>2.1 Prélèvement.....</b>	<b>19</b>
<b>2.2 Le transport et la conservation des urines.....</b>	<b>19</b>
<b>3. Examen cyto bactériologique des urines (ECBU).....</b>	<b>20</b>
<b>3.1 Examen macroscopique.....</b>	<b>21</b>
<b>3.2 Examen microscopique (cytologique).....</b>	<b>21</b>
<b>3.2.2 Les hématies .....</b>	<b>21</b>
<b>3.2.3 Les cellules .....</b>	<b>21</b>
<b>3.2.4 Les cylindres.....</b>	<b>22</b>
<b>3.2.5 Les cristaux.....</b>	<b>22</b>
<b>3.2.6 Les micro-organismes.....</b>	<b>22</b>
<b>4. Isolement et identification des staphylocoques .....</b>	<b>22</b>
<b>4.1 Ensemencement.....</b>	<b>22</b>
<b>4.2 L'identification.....</b>	<b>22</b>
<b>4.2.1 Examen macroscopique.....</b>	<b>23</b>
<b>4.2.2 Test de mobilité.....</b>	<b>23</b>
<b>4.2.3 Coloration de Gram.....</b>	<b>23</b>
<b>4.2.4 Etude biochimique .....</b>	<b>24</b>
<b>4.2.4.1 Teste de catalase.....</b>	<b>24</b>
<b>4.2.4.2 Recherche de staphylocoagulase.....</b>	<b>24</b>
<b>4.2.4.3 Le système API 20 STAPH (BioMérieux®).....</b>	<b>24</b>
<b>5. Antibiogramme.....</b>	<b>25</b>
<b>6. Chimie des urines par les bandelettes réactives.....</b>	<b>26</b>

### **➤ Chapitre 4 : résultat et discussion**

<b>1. Résultats d'examen cyto bactériologique des urines (ECBU) .....</b>	<b>29</b>
---	-----------

1.1 Examen macroscopique .....	29
1.2 Examen cytologique .....	29
2. Identification des <i>staphylocoques</i> .....	30
2.1. Etude macroscopique .....	30
2.2.1 Test mobilité.....	31
2.3 L'étude biochimique.....	31
2.3.1 Test catalase .....	32
2.3.2 Résultat de TSI .....	33
2.3.3 Test de H <sub>2</sub> S.....	33
4. Résultat de test staphylocoagulase.....	34
5. Lecture de l'API Staph.....	35
6. Antibiogramme .....	37
Conclusion	
Résumer	

# Dédicace

❖ Je dédie ce travail

A mon époux *Samir* pour sa patience, son soutien permanent et pour n'avoir jamais douté de moi, même dans les moments difficiles mais surtout pour m'avoir supporté ces derniers mois.

A mon petit *Mohamed louay*, qui illumine mes journées en toutes circonstances.

❖ A mes parents

Ma mère *Saadia* et mon père *Mohamed rahimahou Allah* pour leurs sacrifices qu'ils ont consentis pour que je réussisse dans mes études.

❖ A mes sœurs *Fatima Zohra*, *Dounia*, *Meriem* et mes frères *Mohamed*, *Sid Ahmed* et *ILYES rahimahou ALLAH* pour leurs disponibilités, leurs soutiens moral, leurs encouragements incessants et pour leurs compréhension.

❖ A ma grand- mère et grand père qui resteront à tout jamais dans mon cœur

Enfin je désire remercier très sincèrement toute ma famille : oncles, tantes cousines et mes amis pour leurs soutiens sans faille.

Que ce travail soit une part de ma reconnaissance envers vous

❖ A Les petits *ILYES*, *MED DJAWED*. les petites *HADIL*, *RITADJ*, *ISRAE*, *ILINA*.

❖ A tout la FAMILLE *BENBLIDIA*, *BETTAHER* et *LEMDJADI*.

❖ A mon binôme *Hayat*.

❖ A mes amies *Amina*, *Saliha*, *Souad*, *Hassiba*.

*Amina*

L'infection urinaire est l'une des infections les plus rencontrées en pratique de ville comme en milieu hospitalier (Soula et al., 1990; Alaoui et al., 1998; Gobernado et al., 2007). De nombreuses études montrent que les infections urinaires touchent environ 40 à 50 % des femmes dans le décours de leur vie et qu'un tiers des femmes fera une infection urinaire avant 24 ans.

L'infection urinaire est causée par la prolifération anormale d'agents infectieux dans le système urinaire qui comprend les reins, les uretères, la vessie et l'urètre. Les reins assurent la filtration du sang et permettent l'élimination des déchets. Ils jouent également un rôle important dans la régulation des liquides corporels et de la pression sanguine. La vessie agit en tant que réservoir d'urine. Quant aux uretères et à l'urètre, ils permettent le passage de l'urine respectivement des reins à la vessie, puis de la vessie vers l'extérieur du corps. On distingue 4 types d'infections urinaires : la cystite, l'urétrite, la pyélonéphrite et prostatites. Ils se distinguent selon la localisation de l'infection (Guy, 2008).

L'Examen Cytobactériologique des Urines (ECBU) est l'examen qui permet de mettre en évidence les infections urinaires causées par les bactéries. Lorsque l'ECBU met en évidence la présence d'une bactérie pathogène, il s'accompagne d'un antibiogramme qui permet de déterminer la sensibilité aux antibiotiques du germe identifié.

Les objectifs de notre étude sont :

- Réalisation d'un examen cytbactériologique des urines (ECBU) pour confirmer le diagnostic d'infection urinaire.
- Décrire les caractéristiques cliniques et microbiologiques des infections urinaires à staphylocoques, comme étude thérapeutique préalable.
- Isoler et identifier des staphylocoques qui provoquent l'infection urinaire.
- Étudier la sensibilité des staphylocoques aux antibiotiques.

## **1. Système urinaire :**

### **1.1. Anatomie et physiologie de système urinaire :**

Au fur et à mesure qu'il accomplit ses fonctions, l'organisme produit naturellement des déchets dont il doit se débarrasser. Parmi ces derniers, certains contiennent de l'azote (c'est le cas de l'urée et de l'acide urique), qui provient de la dégradation des protéines et des acides nucléiques par les cellules de l'organisme. Le système urinaire débarrasse le sang des déchets azotés et les élimine dans l'urine. Souvent appelé système excrétoire, le système urinaire comprend les reins, les uretères, les vessies et l'urètre (Fig. 1).

En plus du nettoyage du sang, le système urinaire remplit deux autres fonctions importantes : le maintien de l'équilibre hydrique et électrolytique de l'organisme, ainsi que la régulation de l'équilibre acido-basique du sang (**Elaine, 2008**).

#### **1.1.1. Les reins :**

Organes paires en forme d'haricot, ils sont situés dans la partie supérieure des fosses lombaires, en arrière du péritoine (position rétropéritonéale) à hauteur des vertèbres T12 à L2 (Fig. 2).

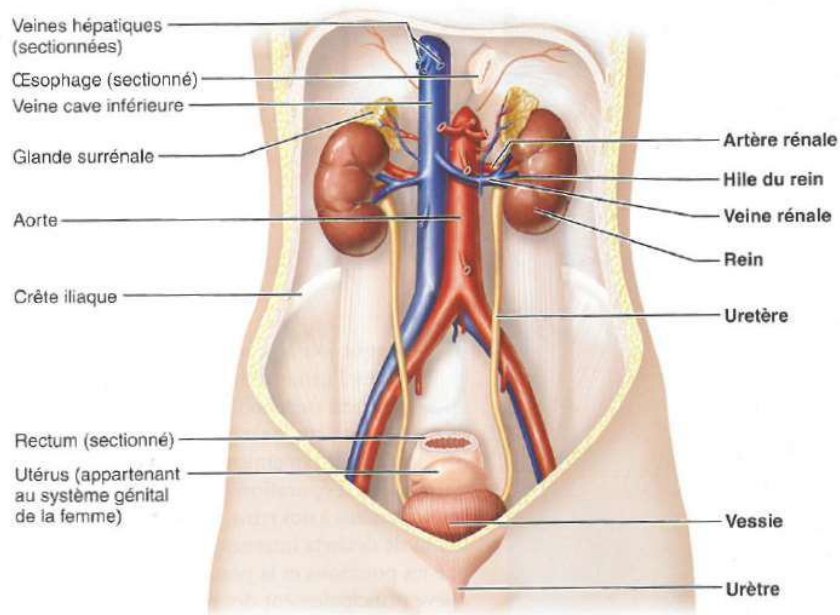
Ils mesurent en moyenne 12 cm de longueur, 6 cm de largeur et 3 cm d'épaisseur et pèsent chacun environ 150 g chez l'adulte. Ils sont entourés par une capsule fibreuse lisse, une capsule adipeuse et le fascia rénal. Le parenchyme rénal est formé d'une part du cortex rénal en périphérie et d'autre part de la médullaire ou medulla au centre. Le bassinnet ou pelvis rénal communique avec l'uretère. Chaque rein est surmonté d'une glande surrénale (**Collignon et al., 2007; Kamina, 2007**).

#### **1.1.2 Les fonctions des reins :**

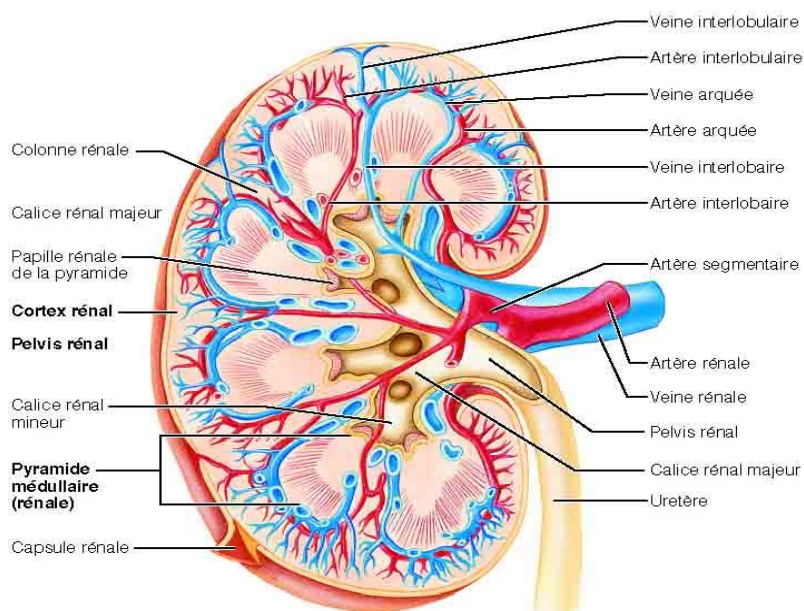
Les reins maintiennent la composition des liquides du milieu interne, fonction essentielle pour l'homéostasie. Sans relâche, les reins filtrent le plasma. Ils traitent ensuite le filtrat obtenu, c'est-à-dire qu'ils excrètent dans l'urine les déchets métaboliques et les ions en excès, et renvoient dans le sang les substances nécessaires, dans les bonnes proportions.

L'élimination des déchets et des substances en excès constitue une partie seulement du travail des reins, qui règlent aussi le volume et la composition chimique du sang en conservant le juste équilibre entre l'eau et les électrolytes d'une part, et entre les acides et les bases d'autre part.





**Figure 1 : Localisation du système urinaire (Hoehn, Marieb, 2010)**



**Figure 2 : Anatomie interne du rein (Hoehn et Marieb, 2010).**

Les fonctions régulatrices des reins ne s'arrêtent pas là. En sécrétant une enzyme appelée rénine, les reins participent également à la régulation de la pression artérielle, en sécrétant une hormone, l'érythropoïétine (EPO), qui stimule la formation des globules rouges dans la moelle osseuse rouge. Enfin, les cellules rénales transforment la vitamine D en sa forme active (**Elaine, 2008**).

### **1.1.3 L'urètre :**

L'urètre est un conduit musculaire aux parois minces qui s'abouche au plancher de la vessie et transporte l'urine par péristaltisme hors de l'organisme. A la jonction de l'urètre et de la vessie, un épaissement de la musculature de cette dernière forme le sphincter lisse de l'urètre (interne). Ce sphincter ferme l'urètre et empêche l'écoulement d'urine entre les mictions. Son relâchement est indépendant de la volonté. Un second sphincter, le muscle sphincter de l'urètre (externe), est formé de muscle squelettique dans la région où l'urètre traverse le plancher pelvien. Sa maîtrise est volontaire (**Elaine, 2008**).

### **1.1.4 Les uretères :**

Les uretères sont le prolongement des reins. Ils sont essentiellement des conduits qui transportent l'urine des reins à la vessie. Bien qu'il puisse sembler que l'urine descend dans la vessie par la seule force de la gravité, les uretères jouent un rôle actif dans le transport de l'urine (**Elaine, 2008**).

Les couches de muscles lisses de leurs parois se contractent pour propulser l'urine dans la vessie par péristaltisme : l'urine est donc « poussée » par des vagues contractions successives naissant toutes les 20 à 30 secondes. Une fois arrivée dans la vessie, l'urine ne peut pas refouler dans les uretères, car les petits plis de la muqueuse de la vessie, qui se referment sur les extrémités des uretères l'empêchent de plus étant donné que les uretères s'implantent obliquement dans la paroi de la vessie, la pression de l'urine comprime leur paroi et bouche leur orifice (**Elaine, 2008**).

### **1.1.5 La vessie :**

La vessie se situe dans la cavité pelvienne derrière la symphyse pubienne. C'est un organe musculaire lisse et rétractile. Elle a un rôle de réservoir de capacité d'environ 500 ml, mais pouvant atteindre 800 à 1000 ml. Aucune modification n'est apportée à l'urine dans la vessie (**Hoehn et Marieb, 2010**).

## **1.2 La formation des urines :**

La formation de l'urine est le résultat de trois processus : la filtration, la réabsorption tubulaire et la sécrétion tubulaire (**Elaine, 2008**).

### **1.2.1 Les néphrons :**

Chaque rein possède au moins un million de tubes rénaux épithéliaux (néphrons) qui sont unités structurales et fonctionnelles des reins qui assurent la formation de l'urine. Les néphrons sont composés

d'un glomérule qui filtre le plasma et d'un petit tube, ou tubule rénal, rattaché au glomérule (**Elaine, 2008**).

### **1.2.2 Filtration glomérulaires :**

La filtration glomérulaire repose sur un processus passif qui dépend de deux paramètres : la membrane de filtration et la pression de filtration. Le glomérule est semi-perméable, laissant passer l'eau et les déchets solubles, pour qu'ils soient excrétés sous forme d'urine. Le sang filtré sort du glomérule dans l'artériole efférente, qui l'envoie dans le plexus vasculaire de la médullaire, puis dans la veine intra lobulaire. La filtration glomérulaire fait donc référence au passage des constituants du sang à travers la membrane de filtration, afin de générer un liquide dans l'espace de BOWMAN appelé urines primitives (**Vaubourdolle, 2007**).

### **1.2.3 Réabsorption et Sécrétion tubulaire**

La réabsorption et la sécrétion tubulaires sont les deux mécanismes transportant dans des directions opposées les substances entre le liquide tubulaire et le sang des capillaires péri tubulaires dans le cortex et des vasa recta dans la médullaire. Ces deux fonctions tubulaires modifient considérablement l'ultra filtrat glomérulaire, qu'ils transforment en une urine habituellement concentrée (**Gougous, 2005**).

## **1.3 Caractéristique et Composition de l'urine :**

### **1.3.1 Définition de l'urine :**

L'urine qui sort de la vessie est normalement stérile. L'urine fraîchement émise est physiologiquement claire, transparente et sa couleur jaune va du clair à l'intense. Elle est inodore ou légèrement odorante. Elle est composée d'eau, d'urée, d'électrolytes (sodium, potassium, bicarbonates, sulfates), de créatinine, d'acide urique, d'ammoniaque et de toxines. Son pH varie entre 4,5 et 8,0. L'urine est contaminée par les bactéries à sa sortie de l'organisme (**Hoehn et Marieb, 2010**).

### **1.3.2 Caractéristique physique :**

- Couleur
- Odeur
- pH
- Densité (**Hoehn et Marieb, 2010**).

### **1.3.3 Composition chimique :**

Elle est formée en grande partie d'eau (95%) et des compositions organiques et inorganiques (5%) (Tableau 01). Cette composition varie suivant plusieurs facteurs comme l'heure de miction, type de boisson, d'aliments consommés et des conditions physiques. (**Hoehn et Marieb, 2010**).

## **2. Les infections urinaires :**

## **2.1 Définition :**

Les infections urinaires sont des infections d'un organe de l'appareil urinaire : rein, vessie, urètre ou prostate chez l'homme. Elles correspondent à la présence anormale de germes microbiens dans l'urine **(Louise, 2003)**.

## **2.2 Epidémiologie :**

### **2.2.1 L'hôte :**

Les infections urinaires arrivent au deuxième rang des infections communautaires bactériennes après les infections de l'arbre respiratoire. Elles concernent aussi bien les hommes que les femmes à tout âge. Leur incidence est malgré tout dix fois plus élevée chez la femme que chez l'homme entre 15 et 65 ans.

On estime qu'un tiers des femmes ont une infection urinaire (IU) au cours de leur vie. Chez les femmes, deux pics sont constatés : un au début de l'activité sexuelle, l'autre en période postménopause. En revanche, chez l'homme, la fréquence augmente après 50 ans du fait de la pathologie prostatique **(Emeline, 2015)**.

### **2.2.2 Les bactéries en cause :**

Les infections urinaires sont généralement causées par un seul microorganisme. L'*Escherichia coli* est l'agent responsable dans plus de 80 % des infections et le *Staphylococcus saprophyticus* dans 10 % à 15 % des infections **(Daniel, 2003)**.

## **2.3. Colonisation urinaire :**

Chez le sujet normal, l'arbre urinaire est stérile, à l'exception de la partie distale de l'urètre. Une colonisation urinaire correspond à la présence des micro-organismes dans l'arbre urinaire, sans qu'ils ne génèrent de manifestations cliniques.

Le concept de bactériurie asymptomatique est indissociable de celui de colonisation et correspond à la même entité sans le rattacher à une notion de seuil **(Marrhich, 2008)**.

## **2.4. Classification :**

Les infections urinaires sont fréquentes et regroupent à la fois les infections du haut appareil et du bas appareil. Il y a 4 types d'infection qui sont comme suit : la cystite (la plus courante), l'urétrite (qui touche uniquement l'urètre), la pyélonéphrite (inflammation du bassinet et du rein) et prostatites **(Derbé et Saighi, 2004)**.

## **2.5. Infections urinaires du haut appareil urinaire :**

### **2.5.1 Pyélonéphrite aigue :**

Une inflammation touchant un rein ou les deux. Chez la femme, l'affection est souvent une complication consécutive à une infection des voies urinaires inférieures. Dans 75% des cas, l'agent causal est *E. coli*.

Si la pyélonéphrite évolue vers la chronicité, l'infection entraîne une destruction des néphrons et du tissu cicatriciel se forme dans les reins, ce qui nuit grandement au fonctionnement de ces derniers. En raison des risques potentiels de mortalité **(Derbé et Saighi, 2004)**.

### **2.5.2 L'urétrite :**

C'est une inflammation de l'urètre, l'urétrite résulte d'une contamination microbienne où l'agent causal, le plus souvent, celui occasionnant une infection sexuellement transmissible. Elle est fréquente chez l'homme **(Marrhich, 2008)**.

## **2.6 Physiopathologie des infections urinaires**

### **2.6.1 Origine de l'infection :**

#### **2.6.1.1 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, dont le risque est d'autant plus important lorsqu'il existe une incontinence anale ou une diarrhée, ou au décours d'une procédure invasive de soins (sondage vésicale, 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. **(Marrhich, 2008)**

#### **2.6.1.2 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 manuportage (via le personnel de soins ou plus rarement, directement d'un patient à un autre), soit par du matériel ou un instrument mal désinfecté, ou encore par l'environnement hospitalier (eau, air, surface, alimentation ...) **(Marrhich, 2008)**.

### **2.7 Les voies de contamination :**

#### **2.7.1 La voie ascendante :**

Deux mécanismes sont en cause ; d'une part, le cheminement urétral pour le bas appareil. Les germes remontent le long de l'urètre, atteignent la vessie entraînant alors une cystite. D'autre part le reflux vésico-urétéral pour le rein. Les germes envahissent le bassin et le parenchyme entraînant une pyélonéphrite, ou la prostate entraînant une prostatite.

Les bactéries retrouvées le plus fréquemment appartiennent à la flore commensale colique aérobie (*E. coli*, *P. mirabilis*, *Klebsiella spp*, *Streptococcus*) et anaérobie mais également à la flore cutanée

(staphylocoques à coagulase négative, corynébactéries) et génitale comme les lactobacilles chez les femmes (**Emiline, 2015**).

## **2.8 Facteur favorisant :**

Les facteurs favorisant une infection urinaire sont :

- l'urètre court.
- les rapports sexuels.
- la stase urinaire qui peut être due à une uropathie obstructive, une lithiase, une malformation congénitale, une hypertrophie de la prostate, un relâchement périnéal, des lésions tumorales, inflammatoires ou neurologiques, certains médicaments (anti cholinergiques, opiacés, neuroleptiques), une restriction hydrique.
- la ménopause : modifications de la flore bactérienne vaginale dues à la carence en œstrogènes.
- l'immunodépression.
- l'hygiène périnéale défectueuse (excessive ou agressive).
- l'état grabataire.
- le port de vêtements trop serrés (**Emiline, 2015**).

## **2.9 Facteur de risque :**

- Grossesse.
- sujet âgé ( $\geq 65$  ans) avec une maladie associée.
- Anomalie organique ou fonctionnelle de l'arbre urinaire (résidu vésical, reflux, lithiase, tumeur, acte vésical invasif récent,...).
- Pathologie : diabète, immunodépression, insuffisance rénale,... (**Emiline, 2015**).

## **2.10 Les symptômes d'infection urinaire :**

Plusieurs symptômes, seuls ou associés, permettent de suspecter une infection urinaire :

- Des douleurs au ventre et/ou dans le bas du dos.
- Des brûlures ou des douleurs en urinant.
- Une envie permanente d'uriner, même lorsque la vessie est vide.
- Des urines troubles, parfois nauséabondes.
- Une fatigue intense.
- De la fièvre.
- Des frissons (**Emiline, 2015**).

## **3. Les staphylocoques :**

### 3.1 Généralités

Les premières descriptions des staphylocoques isolées à partir de pus d'abcès datent de 1871 mais ce n'est que quelques années plus tard que ces travaux permettront de proposer un nom à la bactérie rencontrée. Ainsi en 1878, Robert Koch en Allemagne et Louis Pasteur en 1880 en France décrivent des grappes de coques dans du pus d'origine humaine. La même année, en Ecosse, Alexander Ogston propose le nom « *Staphylococcus* » (*staphylê* : grappe et *kokkos* : grain) car les bactéries se regroupent en amas irréguliers ressemblant à une grappe de raisin. Enfin, en 1884, en Allemagne, Anton Julius Friedrich Rosenbach donne la première description du genre *Staphylococcus* en cultivant les bactéries sur milieu solide. Il différencie ainsi *S. aureus* de *S. albus* par la coloration des pigments produits par les colonies (Hennekinne, 2009). Plus d'un siècle plus tard les staphylocoques restent un dangereux pathogène humain (Jidar, 2007). Les staphylocoques sont des germes ubiquitaires et commensaux (David, 2010), ils représentent près de 50% des bactéries aérobies isolées sur la tête, les aisselles, les bras, les jambes et dans les narines. Ils jouent un rôle important dans l'équilibre physico-chimique de la peau et constituent une barrière contre les bactéries de la flore transitoire. Leurs distributions sur la peau n'est pas uniforme. Il existe des niches préférentielles qui témoignent d'une adaptation de certaines espèces aux différentes régions de la peau (Corbière Morot-Bizot, 2006). Le genre est classé dans la famille des Staphylococcacæ qui comprend 45 espèces et sous espèces dont dix sept ont été retrouvées chez l'homme (Tableau. 1).

- Il existe **45 espèces commensales** de l'homme et des animaux présentes sur la peau et les muqueuses dont la bactérie la plus dominée dans les pathologies infectieuses est *S. aureus* (*staphylocoque doré*).

- Dans des contextes particuliers, on peut trouver des infections causées par d'autres staphylocoques (effraction cutanéomuqueuse, contact avec des animaux, immunodéficience...) comme: *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. hominis*, *S. haemolyticus*...

#### ***Staphylocoque doré***

- Responsable de nombreuses infections humaines, bénignes sévères, communautaires ou nosocomiales.

**3.2 Classification :** la classification hiérarchique du Phylum XIII (Firmicutes) basée sur l'analyse phylogénétique de l'ADN/ ARN 16S (Garrity et al., 2007)

**Règne :** bacteria

**Division :** firmicutes

**Classe :** Bacilli

**Ordre :** bacillales

**Famille :** staphylococcaceae

**Genre :** *Staphylococcus*

**Tableau 1:** Présentation des espèces qui constituent le genre *Staphylococcus* (Bes et Brun, 2002).

---

1. <i>Staphylococcus arlettae</i>	24. <i>S. intermedius</i> *
2. <i>S. aureus subspecies aureus</i> *	25. <i>S. kloosii</i>
3. <i>S. aureus subspecies anaerobius</i>	26. <i>S. lentus</i>
4. <i>S. auricularis</i> *	27. <i>S. lugdunensis</i> *
5. <i>S. capitis subspecies capitis</i> *	28. <i>S. lutrae</i>
6. <i>S. capitis subspecies urealyticus</i>	29. <i>S. muscae</i>
7. <i>S. caprae</i> *	30. <i>S. pasteuri</i> *
8. <i>S. carnosus subspecies carnosus</i>	31. <i>S. piscifermentans</i>
9. <i>S. carnosus subspecies utilis</i>	32. <i>S. pulvereri</i>
10. <i>S. chromogenes</i>	33. <i>S. saccharolyticus</i> *
11. <i>S. cohnii subspecies cohnii</i> *	34. <i>S. saprophyticus subspecies saprophyticus</i> *
12. <i>S. cohnii subspecies urealyticus</i>	35. <i>S. saprophyticus subspecies bovis</i>
13. <i>S. condimenti</i>	36. <i>S. schleiferi subspecies schleiferi</i> *
14. <i>S. delphini</i>	37. <i>S. schleiferi subspecies coagulans</i>
15. <i>S. epidermidis</i> *	38. <i>S. sciuri subspecies sciuri</i>
16. <i>S. equorum</i>	39. <i>S. sciuri subspecies carnaticus</i>
17. <i>S. felis</i>	40. <i>S. sciuri subspecies rodentium</i>
18. <i>S. fleurettii</i>	41. <i>S. simulans</i> *
19. <i>S. gallinarum</i>	42. <i>S. succinus</i> 43. <i>S. vitulinus</i>
20. <i>S. haemolyticus</i> *	44. <i>S. xylosus</i> *
21. <i>S. hominis subspecies hominis</i> *	45. <i>S. warneri</i> *
22. <i>S. hominis subspecies novobiosepticus</i>	
23. <i>S. hyicus subspecies hyicus</i>	

---



### 3.3 Habitat :

Les staphylocoques sont des bactéries très répandues dans la nature, aussi bien dans l'air que dans le sol ou dans l'eau (Obré et Buttiaux, 1981). Le réservoir naturel des staphylocoques est l'homme et les animaux à sang chaud. Cependant, éliminées dans le milieu extérieur, ces bactéries très résistantes sont fréquemment retrouvées dans l'environnement. Le site de colonisation préférentielle de *Staphylococcus aureus* chez l'homme est la muqueuse nasale. Les staphylocoques à coagulase négative représentent les principaux commensaux de la peau avec les corynébactéries et les propionibactéries. La densité de colonisation est plus importante au niveau des zones humides (partie antérieure des narines, périnée, creux axillaires et les plis inguinaux). Les staphylocoques à coagulase négative sont généralement des bactéries opportunistes essentiellement responsables d'infections nosocomiales (Kirkland *et al.*, 1990).

### 3.4 Caractères bactériologiques :

#### 3.4.1 Morphologie:

A partir des tests biochimiques et la forme des colonies le genre *Staphylococcus* et l'espèce *S. aureus* peuvent être identifiés. Les staphylocoques sont donc des cocci à Gram positif sphériques de 0,5 à 2,5 µm (Trouillet, 2011), isolées ou groupées en amas de plusieurs éléments réalisant la disposition en grappe de raisin, ce sont des cocci qui mesurent 0,8 à 1 µm de diamètre, immobiles, asporulés, généralement acapsulés ou ayant une faible capacité de synthèse de capsule. Les staphylocoques sont généralement différenciés en deux groupes sur la base de leurs capacités à produire une coagulase libre, les staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus*) ont un pouvoir pathogène bien démontré par rapport au groupe des staphylocoques à coagulase négative qui sont considérés comme pas ou peu pathogènes (Nauciel, 2000).

#### 3.4.2 Culture :

Les staphylocoques se développent en aérobiose ou en anaérobiose sur la plupart des milieux usuels. Certaines souches nécessitent cependant une forte pression en CO<sub>2</sub> pour une croissance optimale ainsi que la présence d'autres métabolites tels que l'hémine ou la ménadione. La température optimale de croissance est de 30°C à 45°C avec un maximum à 37°C et le pH varie entre 4,8 à 9,4 avec un optimum à 7,5 (Fleurette, 1982).

-**En gélose nutritive**, on obtient des colonies arrondies, bombées, luisantes, opaques, à contours nets, pigmentées après 24 à 36 heures pouvant alors présenter une coloration **jaune-doré parfois jaune citrin** par *S. aureus* (par opposition aux autres staphylocoques dits "blancs")

-**En bouillon nutritif**, On observe en 24h, un trouble uniforme abondant, puis un dépôt d'un voile pelliculaire en surface.

-En milieu gélosé au sang, on observe fréquemment une zone claire d'hémolyse ( $\beta$  hémolyse) autour des colonies. La plupart des souches de staphylocoques pousse sur un milieu synthétique contenant entre autres du glucose, des sels minéraux, acides aminés dont la cystéine, la vitamine B1 et l'acide nicotinique.

### 3.4.3 Caractères biochimique :

Les caractères biochimiques des staphylocoques permettent non seulement d'identifier le genre *Staphylococcus*, mais encore de distinguer un staphylocoque potentiellement pathogène (*S. aureus*) d'une souche saprophyte (*S. epidermidis* au *S. saprophyticus*)

1- Caractères utiles pour l'identification de genre *Staphylococcus* parmi ceux-ci, retiennent particulièrement l'attention:

**a- Catalase** : Toujours positive (+) et oxydase négative (-).

**b-Coagulase**: Positif chez *S.aureus* et négatif pour les autres.

**c-Arginine- dihydrolase (ADH)** : Cette recherche, réalisée en anaérobiose, sur bouillon de Moeller+arginine, donne un résultat positif en moins de 96 heures pour les souches appartenant au genre *Staphylococcus*

**d- fermentation de nombreux hydrates de carbone**: Glucose, saccharose, glycérol...etc, sont fermentés; le xylose n'est jamais fermenté.

**e-Recherche de la staphylocoagulase libre**: Produite en 24h. Elle est capable *in vitro* de coaguler le plasma de lapin.

**f-Recherche désoxyribonucléase** : La désoxyribonucléase est une diastase sécrétée par un certain nombre' d'espèces microbiennes (levures, moisissures) et en particulier par les staphylocoques pathogènes (Weckman et Catlin, 1957; [Fusillo](#) et [Weiss](#), 1959).

**g-Recherche d'un phosphatase- acide**: La phosphatase acide de *S.aureus* est un critère de pouvoir pathogène discuté, utilisé parfois en bactériologie alimentaire (Le Loir et Gautier, 2010)

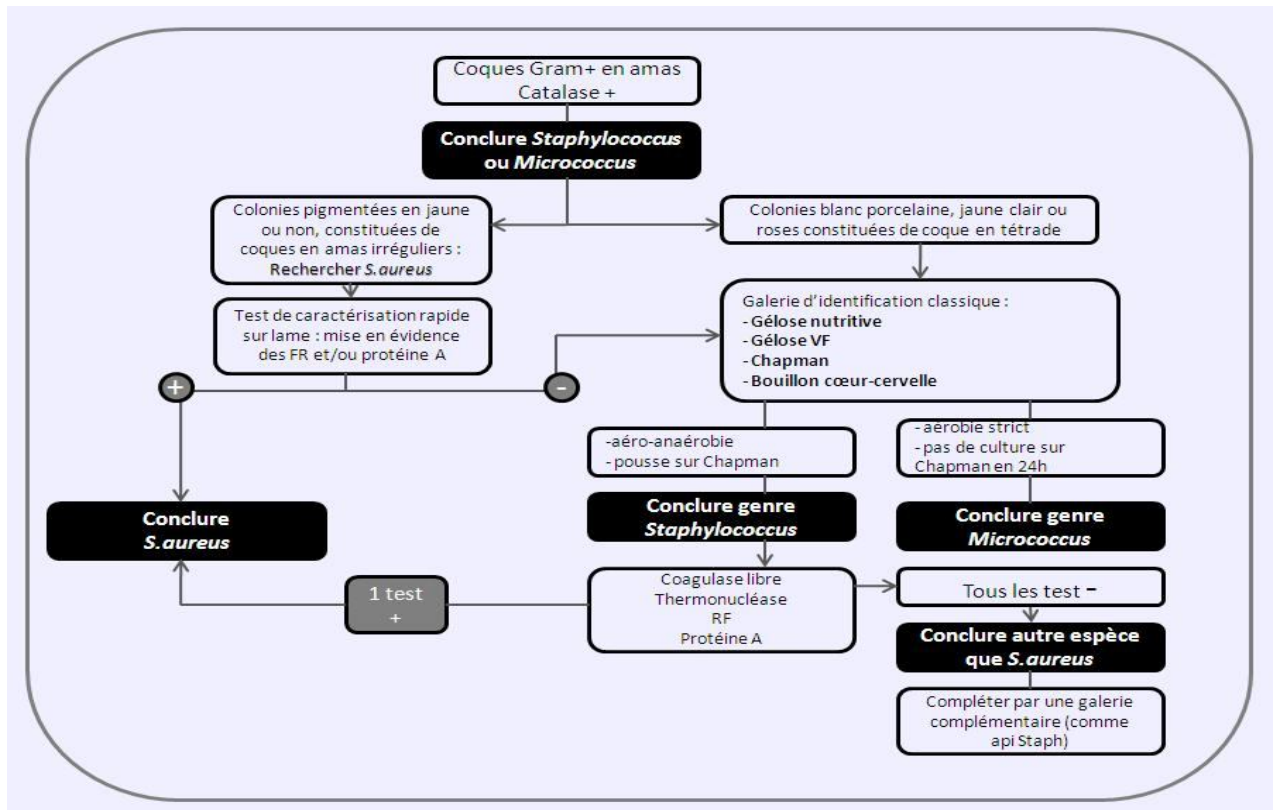
**k-fermentation du mannitol** : Cette fermentation est un test clé pour une orientation vers *S.aureus* (Obré et Buttiaux, 1981).

**Tableau2 : Autres caractères biochimiques des *staphylocoques***

	<i>S.aureus</i>	<i>S.epidermidis</i>	<i>S.saprophyticus</i>	<i>S.haemolyticus</i>
<b>Coagulase libre</b>	+	-	-	-
<b>Récepteur de fibrinogène</b>	+	-	-	-
<b>Protéine A</b>	+	-	-	-

<b>Thermonucléase</b>	+	-	+	+
<b>Dégradation du mannitol sur Chapman</b>				

Les caractères pour les autres espèces :



### 3.5 Transmission et facteurs de risques :

Les staphylocoques sont parmi les agents les plus fréquemment isolés d'infection nosocomiale. Le contact direct reste le mode de transmission principal, il est aussi possible par le biais d'objets divers (Jidar, 2007).

Les facteurs de risques favorisant le portage et les infections à staphylocoques sont :

- L'immunodépression.

La présence de dispositifs médicaux tels que les cathéters veineux périphériques et centraux, les sondes urinaires, les valves cardiaques, les prothèses orthoptiques...

- La résistance aux antibiotiques (Arifur, 2011).

- Le sexe masculin, le diabète, l'alcoolisme, l'insuffisance rénale terminale, la dialyse, certaines dermatoses chroniques (eczéma, psoriasis), l'obésité et les antécédents neurovasculaires (Merlet, 2010).

### 3.6 Facteurs de virulence :

Les facteurs de virulence identifiés sont nombreux chez les staphylocoques. Ils sont codés par des gènes localisés sur le chromosome ou sur les éléments génétiques mobiles (**Fomba, 2006**). Ces facteurs codent pour des protéines de surface ou des exoprotéines et permettent à la bactérie de combattre le système immunitaire, d'adhérer aux cellules, de se disséminer dans le corps mais aussi d'utiliser les nutriments et l'énergie disponible (**Chevalier, 2009**). Les staphylocoques ont aussi des facultés d'adhésion aux structures inertes (corps étrangers, prothèses) et de production d'un biofilm qui est le principal facteur de virulence de ces bactéries (**Burin Des Rozier, 2002**)

### 3.7 Les toxines :

Les staphylocoques sécrètent une quantité impressionnante de toxines et d'enzymes hydrolysant différents constituants cellulaires. Ces toxines et enzymes extracellulaires contribuent à la pathogénie des staphylocoques (**Bisognano, 2000**).

#### 3.7.1 Des toxines à action membranaire ou pore-forming-toxins (PFTs)

Ces toxines sécrétées par la bactérie sous forme de facteurs lipidiques ou protéiques formant des pores au niveau de la membrane cellulaire de l'hôte infecté (**Davido, 2010**).

- **l'alpha-toxine** qui est un facteur majeur de virulence agit sur les plaquettes et les monocytes en provoquant la libération des cytokines et autres médiateurs de l'inflammation et peut entraîner un choc septique. Elle agit aussi en détruisant les cellules endothéliales ce qui favorise la dissémination des bactéries et les métastases infectieuses à distance (**Gras, 2006**).
- **la bêta-toxine** est synthétisée chez seulement 18% des souches de *S. aureus* d'origine humaine. On ne connaît pas réellement son rôle dans les pathologies humaines où elle détruit sélectivement les monocytes (**Walev et al., 1996**).
- **la delta-toxine** elle est enzymatique et agit comme un détergeant sur les membranes biologiques (**Aouati, 2009**).
  - Cinq principales toxines sont décrites chez *S. aureus* :
- **Les hémolysines** : Ont une action cytotoxique sur de nombreuses cellules eucaryotes, notamment les globules rouges et les plaquettes. (**Merlet, 2010**).
- **La leucocidine** : est formée de 2 composés, codés par des gènes distincts, agissant en synergie ; elle agit sur les polynucléaires et les macrophages chez les quels elle provoque la perte de mobilité, la dégranulation, la destruction nucléaire et la lyse cellulaire. Cette protéine a rôle important dans la formation du pus (**Davido, 2010; Trouillet, 2011**).
- **L'exfoliatine** : est une protéine thermostable responsable des lésions d'érythrodermie bulleuse que l'on observe parfois au cours des septicémies à staphylocoques et au cours de l'impetigo (**Jidar, 2007; Bailey et al., 1995**).

- **Les entérotoxines** : dont il existe 7 sérotypes différents (A, B, C1, C2, C3, D, E) sont des protéines thermostables responsables d'intoxications alimentaires (diarrhée, vomissements, douleurs abdominales, rarement un collapsus cardiaque, qui apparaissent 1 à 6 heures après l'ingestion). De 30 à 60 % des souches de *S.aureus* produisent une entérotoxine. (Hennekinne, 2009).
- **La toxine responsable du choc toxique staphylococcique (TSST-1)** : cette protéine antigénique entraîne la formation d'anticorps protecteurs présents chez 85 % des sujets adultes. Cette toxine a un effet pyrogène et est un superantigène qui entraîne l'activation simultanée de plusieurs sous-populations lymphocytaires, ce qui entraîne la libération de plusieurs médiateurs responsables de la symptomatologie du choc staphylococcique.

### 3.8 Les enzymes

- **La coagulase-libre** est une exo-enzyme coagulant le plasma d'homme ou de lapin. C'est une protéine thermostable, toujours produite par les souches de *S.aureus* (et non produite par *S.epidermidis* et *S.saprophyticus*). Elle active la prothrombine en thrombine. La thrombine ainsi activée agit sur le fibrinogène qu'elle transforme en fibrine.. C'est un facteur primordial dans le pouvoir pathogène en coagulant le plasma autour des coques et en les protégeant de la phagocytose ; elle est à l'origine des thrombophlébites suppurées (Karam, 2004).
- **La fibrinolysine (staphilokinase)** : Est caractéristique des souches pathogènes humaines. En activant le plasminogène en plasmine, elle provoque la dislocation des caillots endoveineux qui libère des micro-embols septiques, facteurs de septicémie et de localisations septiques secondaires.
- **Les désoxyribonucléases (ou DNAses)** : Sont des facteurs de destruction des noyaux cellulaires. La DNase thermostable est spécifique de *S.aureus*.
- **La hyaluronidase** : Est une enzyme thermolabile hydrolysant l'acide hyaluronique, substance fondamentale du tissu conjonctif : elle favorise ainsi la diffusion des staphylocoques dans le tissu conjonctif (Rouergue et Tourret, 2003)
- **La lipase** : 80 % des souches produisent cette enzyme qui semble constituer un facteur de virulence dans les abcès où, en modifiant les lipides bactériens, elles favorisent la survie des staphylocoques.

### 3.9 Résistance des staphylocoques aux antibiotiques :

#### 3.9.1 Résistance à la novobiocine :

Les staphylocoques à coagulase négative sont habituellement classés selon le critère de sensibilité ou de résistance à la novobiocine. La novobiocine est un antibiotique bactériostatique peu utilisé en thérapeutique, pouvant s'avérer très actif sur les bactéries à Gram positif, en particulier les  $\beta$ galactosidase staphylocoques. Son action consiste en l'inhibition de la réplication de l'acide désoxyribonucléique (ADN), ce qui empêche la fixation de l'ATP sur la sous-unité B de l'ADN gyrase, phénomène fournissant l'énergie nécessaire au fonctionnement de cette enzyme. Ce sont généralement les souches de

*Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus cohnii cohnii*, *Staphylococcus cohnii urealyticus* et *Staphylococcus xylosum* qui sont résistantes à la novobiocine (**Marchal et al., 1987**).

### 3.9.2 Résistance à la pénicilline :

Actuellement 90 % des *staphylocoques* sont résistants à la pénicilline G. Le mécanisme de résistance à la pénicilline repose sur la synthèse par la bactérie d'une enzyme appelée  $\beta$ -lactamase ou pénicillinase qui hydrolyse le cycle  $\beta$ -lactame des pénicillines et les rend inactives. Le gène *blaZ* qui code pour cette enzyme est porté par un plasmide ou un transposon. Le gène *blaZ* est sous le contrôle d'un système répresseur / anti répresseur (*blaR1* / *blaI*). La production de  $\beta$ -lactamase est le plus souvent inductible (**Lowy, 2003**).

### 3.9.3 Résistance à la vancomycine :

La cible des glycopeptides est le résidu D-ala-D-ala du peptidoglycane. Le mécanisme de résistance hétérogène à la vancomycine (souches hétéro-VISA et VISA) est lié à un épaissement de la paroi bactérienne qui piège les glycopeptides dans les couches superficielles en les empêchant d'atteindre la membrane cytoplasmique où le peptidoglycane est synthétisé (**Walsh et Howe, 2002**).

### 3.9.4 Résistance des *staphylocoques* autres antibiotiques :

*Staphylococcus aureus* a développé des résistances à quasiment tous les antibiotiques mis sur le marché. Les mécanismes impliqués comprennent la synthèse d'enzymes inactivatrices, la modification de la cible des antibiotiques et des systèmes d'efflux qui diminuent la concentration de l'antibiotique dans la bactérie (Tableau 3) (**Corne, 2004**). La résistance des *staphylocoques* à coagulase négative est comparable à celle observée chez *Staphylococcus aureus*. Leurs fréquences de résistances peuvent même parfois être plus élevées notamment chez *S.epidermidis* et *S.haemolyticus*, fréquemment responsables d'infections nosocomiales (**Jidar, 2007**).

**Tableau 3:** Mécanismes de résistance des staphylocoques aux antibiotiques.

Antibiotiques	Mécanismes de résistance	Références
<b>Les Beta lactamines</b>	une production d'enzymes (pénicillinases) ou par modification de la cible PLP	[(Leclercq,2002) ; (Corne, 2004) ; (Eveillard, 2007)].
<b>Les Glycopeptides</b>	épaississement de la paroi bactérienne qui piège les glycopeptides dans les couches superficielles en les empêchant d'atteindre la membrane cytoplasmique où le peptidoglycane est synthétisé	[(Fauchere et Avril ,2002) ; (Corne, 2004)].
<b>Les Aminosides</b>	production d'enzymes à partir d'un plasmide R. Ces enzymes sont de trois catégories : les phospho transférases, les adényltransférases et les acétyltransférases	(Tchougoune, 2007)
<b>Les Macrolides, Lincomycines, Streptogramines (MLS)</b>	modification de la cible	(Merlet, 2010)
<b>Les Tetracyclines</b>	sécrétion d'une protéine qui empêche la pénétration intrabactérienne de l'antibiotique	(Tchougoune, 2007)
<b>Les Fluoroquinolones</b>	une modification de la cible	(Quincampoix et Mainardi ,2001)

## **Notre objectif consiste à :**

- Réalisation d'un examen cytbactériologique des urines (ECBU) pour confirmer le diagnostic d'une infection urinaire.
- Décrire les caractéristiques cliniques et microbiologiques des infections urinaires à staphylocoques, comme étude thérapeutique préalable.
- Isoler et identifier des staphylocoques qui provoquent une infection urinaire.
- Étudier la sensibilité des staphylocoques aux antibiotiques.

### **1. Population étudiée :**

Au cours de notre stage qui a duré 45 jours au laboratoire de bactériologie (laboratoire d'établissement public hospitalier de Mostaganem), nous avons réalisé un travail sur un groupe de patient (30 personnes) présentant des signes d'une infection urinaire.

### **2. Prélèvement et transport au laboratoire :**

#### **2.1 Prélèvement:**

L'urine est normalement un milieu stérile qu'il peut être facilement contaminé par la flore commensale. Le prélèvement est effectué au laboratoire, le matin, après restriction hydrique la veille. Après désinfection soigneuse de la région génitale avec un antiseptique, le patient élimine le premier jet, puis recueille quelques millilitres d'urines dans un pot stérile. **(Sedrati, 2014).**

#### **2.2 Le transport et la conservation des urines :**

Une fois prélevées, les urines doivent être acheminées le plus rapidement possible au laboratoire. La conservation du recueil doit être la plus courte possible, le transport sera fait dans un emballage réfrigérant en moins de 2 heures vers le laboratoire **(Roland, 2006).**

Le prélèvement d'urine doit être individualisé par une étiquette comportant : le nom et prénom du malade, la date.....etc.

### **3. Examen cytbactériologique des urines (ECBU)**

L'infection urinaire est confirmée par l'ECBU, lorsque les résultats positifs, sont accompagnés d'un antibiogramme testant la sensibilité du germe isolé aux différentes classes d'antibiotiques. Cet examen doit être réalisé avant tout traitement par antibiotique **(Roland, 2006).**

#### **3.1 Examen macroscopique :**

Consiste à déterminer l'aspect des urines :

- La couleur.
- L'odeur.



- La transparence.
- La viscosité.

### 3.2 Examen microscopique (cytologique):

Après avoir bien homogénéisé l'échantillon par centrifugation à (3000t/min) pendant 10min, on dénombre les leucocytes et les hématies. A l'état normal, l'urine est très pauvre en éléments cellulaires : environ  $10^3$  hématies et moins de  $10^4$  leucocytes/ml et quelques cellules de desquamation de la muqueuse. On peut aussi y trouver également des cylindres hyalins et des cristaux (**Darbas et al., 2007**).

#### 3.2.1 Les leucocytes :

En cas d'infection urinaire, les leucocytes sont pratiquement toujours rencontrés en grand nombre ( $> 10^4$  leucocytes/ml) car dans ce type d'infection, la multiplication bactérienne s'accompagne d'une mise en œuvre des défenses immunitaires, d'où une réaction cellulaire qui, dans son aspect le plus intense, se traduit par une leucocyturie très importante, la pyurie. Il convient toutefois d'interpréter prudemment une leucocyturie négative ( $<10^3$  leucocytes/ml) ou faiblement positive, notamment chez des patients dont les défenses immunitaires sont affaiblies (nouveau-né de moins de 3 mois, femme enceinte, ...) (**Darbas et al., 2007**).

#### 3.2.2 Les hématies :

Elle est normalement  $\leq 10^4$ /ml. Selon son intensité, l'hématurie peut être microscopique ou macroscopique. Les traumatismes, les calculs, les tumeurs siégeant en un point quelconque de l'appareil urinaire, la tuberculose, les troubles de la coagulation (traitements anticoagulants) peuvent être à l'origine d'hématurie, mais il existe aussi des cystites hématuriques (**Darbas et al., 2007**).

#### 3.2.3 Les cellules :

Les cellules épithéliales proviennent des tubules rénaux ou des voies excrétrices, leur signification est inconnue (**Darbas et al., 2007**).

#### 3.2.4 Les cylindres :

Ils représentent les moulages de tubules rénaux éliminés dans les urines. Leur squelette est la protéine physiologique de Tamm-Horsfall qui constitue le cylindre hyalin, le seul qui ne soit pas pathologique. Dans cette protéine peuvent s'agréger des hématies, des leucocytes, des globules graisseux qui constituent des cylindres hématiques, granuleux, graisseux lesquels sont pathologiques (**Darbas et al., 2007**).

#### 3.2.5 Les cristaux :

Ils ne sont pas pathologiques quand ils sont constitués de substances normalement présentes dans l'urine (acide oxalique, acide urique ou urate, sels de calcium). Seuls les cristaux de phosphate ammoniaco-magnésien ont un intérêt dans le diagnostic d'une infection urinaire car ils sont en faveur d'une infection par une bactérie uréasique (**Darbas et al., 2007**).

### 3.2.6 Les micro-organismes

Nous cherchons la présence de bactéries, de levures, de *Trichomonas*. Lorsque le nombre de bactéries est compris entre 20 000 et 30 000 bactéries/ml, nous effectuons une coloration de Gram à partir de culot des échantillons (**Darbas et al., 2007**).

#### 4. Isolement et identification des staphylocoques :

##### 4.1 Ensemencement :

L'isolement permet d'obtenir des colonies isolées sur les milieux gélosés. L'urine est ensemencée sur milieu solide (Gélose nutritive, Chapman...) que l'on incube en aérobiose.

Les milieux de culture apportent aux bactéries les substances indispensables à leur croissance à savoir carbone, azote, hydrogène. Ces milieux d'isolement sont:

- La gélose nutritive est utilisée pour la culture des germes qui ne présentent pas d'exigences particulières.
- Le milieu Chapman est utilisé pour la culture des Cocci Gram positif.
- Les milieux d'enrichissement, ce sont des milieux qui permettent une multiplication importante des germes.

L'incubation des cultures bactériennes se fait de 18 à 24 heures à 37° C (**Roland, 2006**).

##### 4.2 L'identification :

L'identification consiste à mettre en évidence quelques caractères importants (morphologie des colonies, coloration de Gram, recherche de l'oxydase et de la catalase). Qui permettront de ranger le germe isolé dans une famille, genre et espèce.

Elle est basée sur des tests biochimiques et réalisée au moyen du portoir réduit de Le Minor à partir d'une colonie. Cette identification est effectuée par le système API 20E. La lecture est effectuée après 18 heures d'incubation à 37° C. (**Roland, 2006**).

##### 4.2.1 Examen macroscopique :

Le milieu Chapman est un milieu sélectif pour les staphylocoques, sa teneur élevée en chlorure de sodium limite le développement de certains germes autres que *Staphylococcus*. Les micro-organismes fermentant le mannitol donnent des colonies jaunes. Ce caractère est un critère d'orientation pour l'identification de *Staphylococcus aureus* (**Kara, 2014**).

##### 4.2.2 Test de mobilité :

Pour mettre en évidence la mobilité du *Staphylococcus*, on met la suspension bactérienne entre lame et lamelle dans une goutte d'eau physiologique stérile, et on réalise un examen microscopique.

**4.2.3 Coloration de Gram :** La coloration de Gram est effectuée à partir de colonies cultivées sur milieu de Chapman, pour confirmer le mode de regroupement et classifier les bactéries.

- **Principe :**

La coloration de Gram permet de distinguer les bactéries à Gram négatif qui apparaissent roses et les bactéries à Gram positif qui apparaissent violettes. Cette différence de coloration est liée à des différences de nature de la paroi bactérienne. Elle permet de nous renseigner sur :

- Le type Gram + ou Gram –
- La forme des bactéries
- La taille
- Le mode de regroupement

✓ **Technique**

- Réaliser un frottis et le fixer.
- Verser quelques gouttes de violet de gentiane et attendre 1 minute.
- Rincer abondamment à l'eau distillée.
- Verser quelques gouttes de Lugol pendant 1 minute
- Rincer abondamment à l'eau distillée
- Décolorer pendant dix secondes à l'alcool.
- rincer immédiatement à l'eau distillée
- Recouvrir la lame avec la fuchsine pendant 1 minute
- laver la lame avec l'eau distillée.
- Sécher la lame en la tamponnant avec du papier Joseph.
- Observer à l'objectif x100 à l'immersion dans l'huile et à pleine lumière.

#### **4.2.4 Etude biochimique :**

##### **4.2.4.1 Test de catalase :**

La catalase est une enzyme contenant du Fer, qui catalyse la décomposition de peroxyde d'oxygène ( $H_2O_2$ ) en  $H_2O$ . La catalase a été révélée en déposant sur une lame en verre propre, une colonie bactérienne en présence de  $H_2O_2$  à 10 volumes. Une réaction catalase positive se traduit par l'apparition de bulles, suite au dégagement d'oxygène (**Lévy et al, 1992**).

##### **4.2.4.2 Recherche de staphylocoagulase :**

Nous cherchons la présence de la staphylocoagulase libre (SCL), pour cela nous prélevons 0,5 ml de plasma de lapin, nous additionnons 0,5 ml d'une suspension dense du germe à étudier. Nous incubons à 37°C pendant 24heures (**Roland, 2006**).

✓ **Lecture :**

- Prise en masse du plasma de lapin → coagulation de ce plasma par une coagulase libre (+).
- Pas de Prise en masse du plasma de lapin → absence de coagulase libre (-).

Les souches de *Staphylococcus aureus* provoquent la coagulation du plasma en un temps variant d'une demi-heure à 24h. Un caillot moins compact visible avant la 24<sup>ème</sup> heure est considéré comme positif.

**4.2.4.3 Le système API STAPH (BioMérieux®) :**

Le principe consiste à inoculer dans des microtubes à l'aide d'une pipette pasteur une suspension bactérienne homogène. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs (VP1 VP2, NIT1 NIT2 et ZYM A ZYM B). La lecture de ces réactions se fait à l'aide d'un tableau de lecture permettant une identification de l'espèce bactérienne et la détermination du biotype (**Kara, 2014**).

**5. Antibiogramme :**

L'antibiogramme est un examen effectué pour tester la bactérie vis-à-vis d'un panel d'antibiotiques pour déterminer la sensibilité aux antibiotiques à partir d'une colonie et guider le choix d'un traitement.

Les disques des antibiotiques sont très standardisés. Nous pouvons avoir des aminosides, des B-lactamines, ... plusieurs sortes d'antibiotiques sont proposées (Tableau 4) (**Roland, 2006**).

✓ **Préparation de l'inoculum :**

L'inoculum est préparé à partir d'une souche bactérienne de 18 à 24 heures.

Nous prélevons au moins trois colonies de la bactérie à étudier à l'aide d'une pipette pasteur munie d'une poire, ces derniers sont introduits dans un tube à bout contenant 10 ml d'eau distillée stérile pour obtenir une suspension bactérienne. Ensuite, l'inoculum est ajusté à l'étalon 0,5 Mac Ferland ( $10^8$  UFC/ml). Pour cela nous prélevons une certaine quantité de la première suspension toujours à la pipette pasteur munie d'une poire puis le volume est introduit dans un autre tube à bout rodé contenant 10 ml d'eau distillée stérile, cette suspension servira à l'ensemencement (**Roland, 2006**).

✓ **Technique :**

Les méthodes de diffusion ou antibiogrammes standards sont les plus utilisées aux laboratoires. Des disques de papier buvard, imprégnés d'antibiotique à tester, sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche étudiée et incubé les boîtes à 37°C pendant 24 heures. Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture (**Burnichon, 2003**).

**Tableau 4 : Les antibiotiques utilisés pour l'antibiogramme.**

Les antibiotiques testés	Charge des disques en $\mu\text{g}$
Cefotaxime (CTX)	30 $\mu\text{g}$
Ampicilline (AMX)	10 $\mu\text{g}$
Ciprofloxacine (CIP)	5 $\mu\text{g}$
Amoxicilline (OX)	25 $\mu\text{g}$
Nalidixic acid (NAL)	1 $\mu\text{g}$
Penicilline G (P)	30 $\mu\text{g}$
Amoxicilline /clavulanate (AMC)	20 $\mu\text{g}$ /10 $\mu\text{g}$

#### 6. Chimie des urines par les bandelettes réactives:

Les bandelettes urinaires permettent une analyse simple et rapide, l'intérêt essentiel du dépistage par les bandelettes urinaires destinées à la recherche de:

- Sang
- Protéine
- Nitrites
- Glucose
- Acétones
- Leucocytes
- pH

#### 7. Utilisation de la bandelette :

Comme des règles d'utilisation de la bandelette, il est important de vérifier avant l'utilisation d'une bandelette, sa date de péremption et de respecter les conditions de conservation (dans un endroit sec et frais, à l'abri de l'humidité, de la lumière, de la chaleur, à température entre 15°C et 30°C (Vorkauffer, 2011)).

- Immerger brièvement la bandelette de manière à ce que toutes les zones réactives soient au contact de l'urine.
- La bandelette doit être égouttée en passant le bord de la bandelette contre le rebord du récipient.
- Le bord de la bandelette est tapoté une seconde sur une surface absorbante.

- La bandelette est maintenue en position horizontale pour empêcher toute interférence entre les plages réactives et la contamination de l'urine par les doigts.

La lecture est faite en rapprochant la bandelette de l'échelle colorimétrique visuellement (Fig. 3) (Marrhich, 2008).



**Figure 3** : les bandelettes urinaires

# 1. Résultats d'examen cyto bactériologique des urines (ECBU) :

## 1.1 Examen macroscopique :

Après la réception des échantillons nous avons déterminé quelques aspects macroscopiques afin de pouvoir classifier les échantillons. Nos observations sont montrées dans le tableau 5.

**Tableau 5** : Résultats de l'étude macroscopique.

Aspect macroscopique	Etat normal	Etat d'une infection
<b>transparence</b>	Non trouble	Trouble
<b>Odeur</b>	Normal	Mauvaise
<b>viscosité</b>	Non visqueux	Visqueux
<b>Couleur</b>	Transparent ou jaune claire	Jaune foncé, rouge brique (acide urique), rose (urates)

Des travaux réalisés par Djedid et *al*, (2009) montrent que la couleur de l'urine normale est claire, d'aspect jaune citrin, et celle de l'urine infectée présente un trouble, ictérique, hématurique, d'odeur nauséabonde.

Nous avons noté dans quelques échantillons la présence de sédiments : blanchâtres (phosphate), rouge brique (acide urique), rose (urates).

## 1.2 Examen cytologique :

Plusieurs types cellulaires et des cristaux ont été trouvés dans le culot bactérien après la centrifugation telle que les cellules épithéliales, les leucocytes.....etc (Tableau 6).

Les leucocytes ont été trouvés en grand nombre surtout chez les femmes de tranche 21-44 ans (période de l'activité sexuelle) et chez les hommes de plus 44 ans; car dans ce type d'infection, où la multiplication bactérienne s'accompagne d'une mise en œuvre des défenses immunitaires.

La présence des cellules épithéliales signifie qu'elles proviennent des tubules rénaux ou des voies excrétrices. Ces cellules sont très nombreuses chez les jeunes femmes à cause d'une contamination vaginale.

**Tableau 6** : les moyennes des résultats obtenus par l'examen cytologique et la variation de pH en fonction de l'âge pour les deux sexes.

Age	7mois- 20ans		21ans- 44ans		Plus de44ans	
	H	F	H	F	H	F

Sexe					
pH	6	6,5	6	7	6,5 7,5
Les leucocytes (Nbr /mm <sup>3</sup> )	7-8	6-7	4-5	++++	12-13 8-10
Les hématies (Nbr /mm <sup>3</sup> )	0-1	4-5	1-2	8-10	5-6 0-1
Les cellules épithé- liales (Nbr /mm <sup>3</sup> )	4-5	2-3	6-7	+++++	3-4 5-6
Les cristaux de Na et de P (Nbr /mm <sup>3</sup> )	3-4	1-2	7-8	+++++	4-5 +++

Nos résultats montrent la présence d'un nombre élevé de cristaux de phosphate en comparant avec le nombre de cristaux de sodium.

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par Douham et Nil, 2012, qui ont montré que la présence des cristaux de sodium n'est pas pathologique, contrairement aux cristaux de phosphate qui sont pathologiques; car ils sont en faveur d'une infection par une bactérie urésique.

Les hématies sont rarement présentes dans les urines des femmes après la ménopause par contre chez les femmes adultes sont nombreuses à cause du cycle mensuel et de l'activité sexuelle et chez les hommes de plus 44 ans.

## 2- Identification des *staphylocoques* :

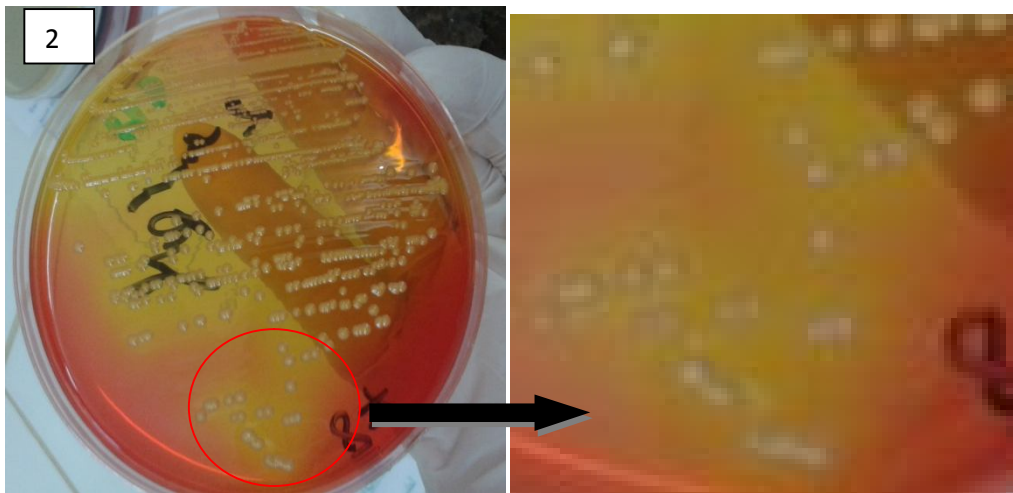
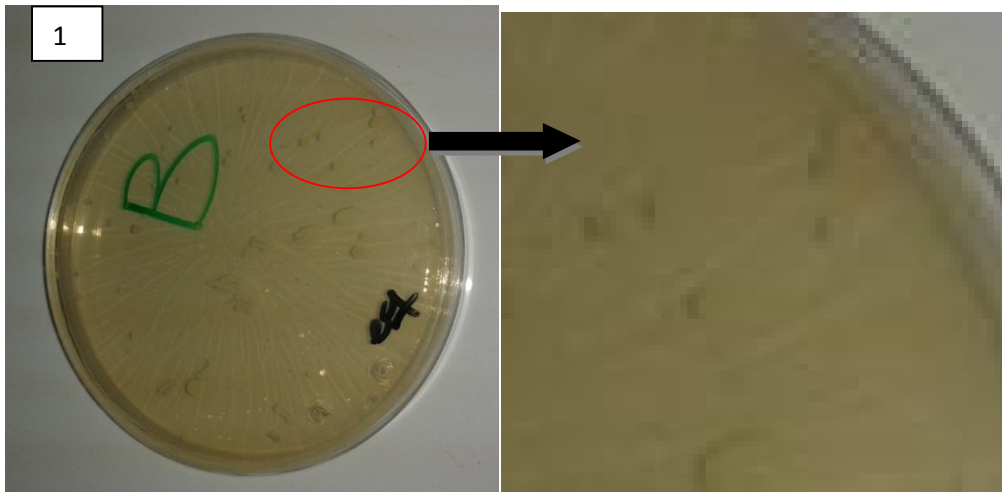
### 2-1-Etude macroscopique :

**Sur milieu gélose nutritive (GN) :** Après l'incubation pendant 24 heures à 37°C, nous observons des colonies d'une couleur crème et ronde (Fig. 4).

**Sur milieu Chapman :** Après l'incubation pendant 24 heures à 37°C, nous observons des colonies jaunâtres et rondes (Fig. 4).

Nos résultats sont similaires avec ceux obtenus par **Denniset *al.* (2011)**, qui ont montré que la présence de colonies blanchâtres ou jaunâtres sur le milieu de culture Chapman, indique la présence de *Staphylococcus*.



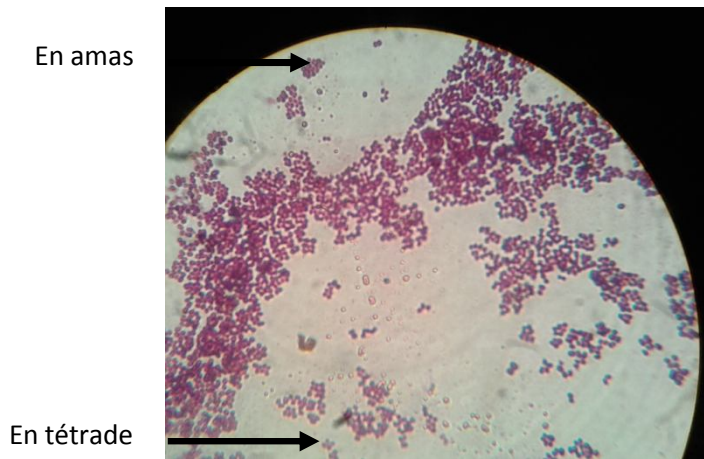


**Figure 4** : mise en œuvre des staphylocoques sur les deux milieux de culture ; gélose nutritive (1) et Chapman (2)

## 2.2 L'étude microscopique :

Après la coloration de Gram, nous observons des cocci à Gram positif, isolés ou groupés en diplocoques ou en amas ayant la forme de grappes de raisin (Fig. 5).

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par Achille (2006), qui ont montré que les staphylocoques sont des cocci à Gram positif groupés en amas ou en tétrade.



**Figure 5:** Observation microscopique des staphylocoques après une coloration de gram (x 100)

### 2.2.1 Test mobilité :

Selon Willey et *al.* (2010), Les staphylocoques sont des *cocci* immobiles.

Les résultats obtenus sont en accord avec la littérature ; nous avons observé l'absence de mobilité et de flagelles.

### 2.3 L'étude biochimique :

#### 2.3.1 Test catalase :

-Le mélange d'eau oxygénée ( $H_2O_2$ ) avec la suspension bactérienne résulte l'apparition de bulles d'oxygène ce qui traduit la présence d'une catalase positive. Donc les staphylocoques isolés sont catalase positive (Fig. 6). Ces résultats sont similaires avec l'étude de Clave(2013), qui a montré que *Staphylococcus sp* est catalase positive.



**Figure 6:** résultat de test catalase

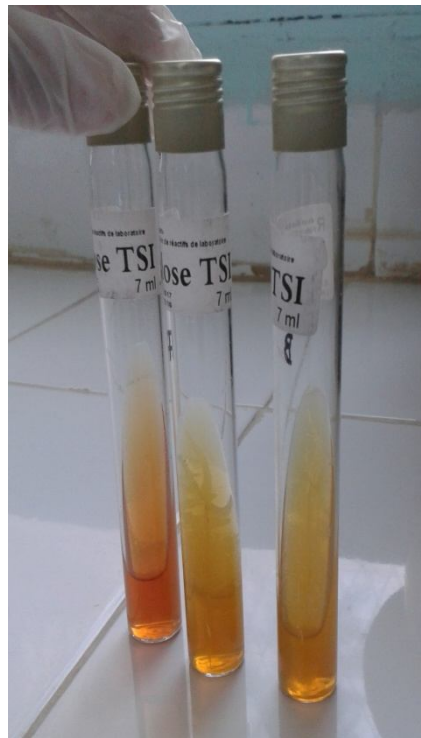
### 2.3.2 Résultat de TSI :

Après incubation des souches bactériennes dans le milieu TSI, nous avons observé que *Staphylococcus sp* est Lactose (+) et saccharose (+) par virage de couleur.

Selon Pereyre (2011), le *Staphylococcus aureus* est capable de fermenter les deux sucres (Lactose, saccharose). (Fig. 7).

### 2.3.3 Test de H<sub>2</sub>S :

Après incubation des souches bactériennes dans le milieu TSI, nous avons constaté que *Staphylococcus sp* ne produit pas de gaz à partir des trois sucres ni de sulfure de fer (FeS) de couleur noir, donc la bactérie n'est pas productrice d'H<sub>2</sub>S(Fig. 7).



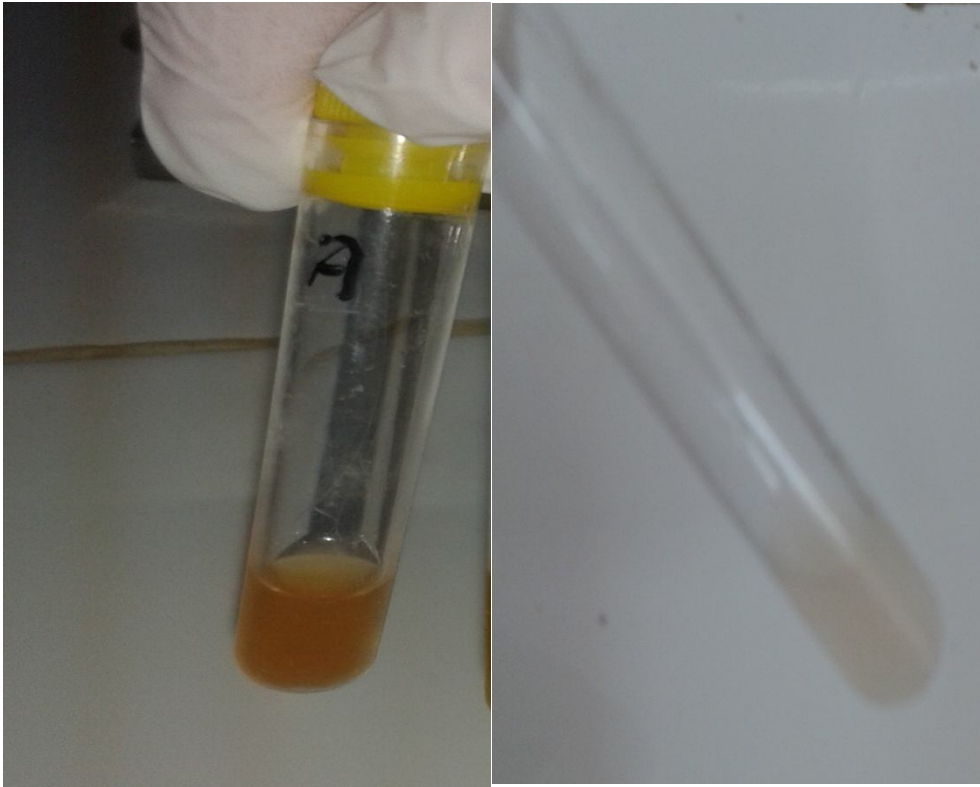
**Figure 7:** Résultat de test TSI pour *Staphylococcus spp*

### 4. Résultat de test staphylocoagulase :

Après l'incubation nous avons obtenu deux types de coagulases; une coagulase négative et une coagulase positive donc ce genre de staphylocoque (*Staphylococcus*) a différent type de coagulase (Fig 8).

Selon Berche *et al.*, (1989) les *Staphylococcus aureus* sont capable de produire une enzyme extracellulaire (staphylocoagulase) donc *Staphylococcus aureus* est une staphylocoque à coagulase positive.

Selon Karam (2004), *S. saprophyticus* et *S. epidermidis* sont des staphylocoques à coagulase négative.



**Figure 8:** Résultat de test staphylocoagulase pour *S. epidermidis* (à gauche) et *S. aureus* (à droite)

## 6. Lecture de l'API Staph :

Nous avons utilisé le test API pour une souche de *Staphylococcus*, la lecture de résultats de l'acidification des sucres est comme suit (Fig.9):

**Le glucose :** changement de couleur du rouge vers le jaune prouve un résultat positif donc le *Staphylococcus* a dégradé le glucose.

**Le fructose :** changement de couleur vers le jaune orangé prouve un résultat positif, d'où on déduit que le *Staphylococcus* a fermenté le fructose.

**Le mannose :** pas de changement de couleur indique un résultat négatif, donc le *Staphylococcus* ne fermente pas le mannose.

**Le maltose :** pas de changement de couleur vers le jaune montre un résultat négatif, donc le *Staphylococcus* ne fermente pas le maltose.

**Le lactose :** changement de couleur vers le jaune prouve un résultat positif, donc le *Staphylococcus* a fermenté le lactose.

**Le mannitol :** pas de changement de couleur vers le jaune indique un résultat négatif, donc le *Staphylococcus* ne fermente pas le mannitol.

**Le xylitol :** la couleur reste rouge, résultat négatif, donc xylitol n'a pas été métabolisé.

**Le mélibiose :** la couleur reste rouge, résultat négatif, donc mélibiose n'a pas été métabolisé.

**La xylose :** la couleur reste rouge, résultat négatif, donc xylose n'a pas été métabolisé.

**Le raffinose :** la couleur reste rouge, résultat négatif, donc raffinose n'a pas été métabolisé.

**Le  $\alpha$ -méthyle-D-glucoside :** persistance de couleur initiale rouge, donc un résultat négatif, c'est-à-dire ce sucre n'a pas été métabolisé.

**Le N-acétyl-glucosamine :** pas de changement de couleur, donc pas d'acidification.

**Le saccharose :** le virage de couleur vers l'orange est un l'indicateur de l'acidification à partir du substrat carbohydrate.

En plus des résultats de l'acidification des sucres, l'API Staph a donné des résultats des tests enzymatiques :

**Nitrate de potassium :** résultat négatif, pas de changement de couleur, donc le *Staphylococcus* n'a pas traduit le nitrate en nitrite.

**Le test de voges-proskauer (VP) :** était positif, il y a un virage de couleur du transparent vers le rose ; *Staphylococcus* a produit l'acétyle méthyle-carbinol à partir du pyruvate de sodium.

**La phosphatase alcaline** n'était pas présente, il n'y avait pas de changement de couleur.

Une uréase positive indique la présence de l'uréase.

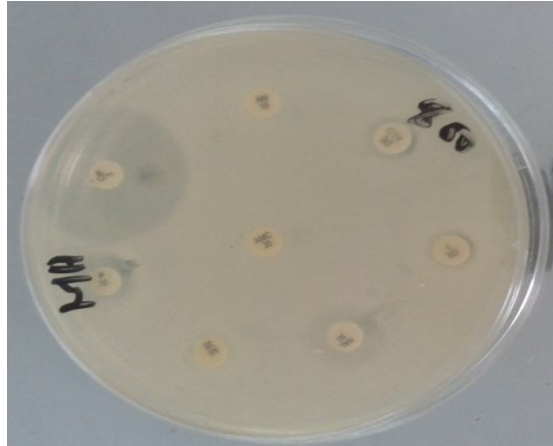
Ainsi que l'**arginine déshydrolyase** négatif ont été également observées (figure API Staph) suivant le profil numérique à 7 chiffres : 6406110 l'espèce *Staphylococcus capitis* a été identifiée. Ce test a besoin d'un autre test confirmatif qui est l'identification moléculaire par la PCR.



**Figure 9** : Résultat de l'API staph

## 6. Antibiogramme :

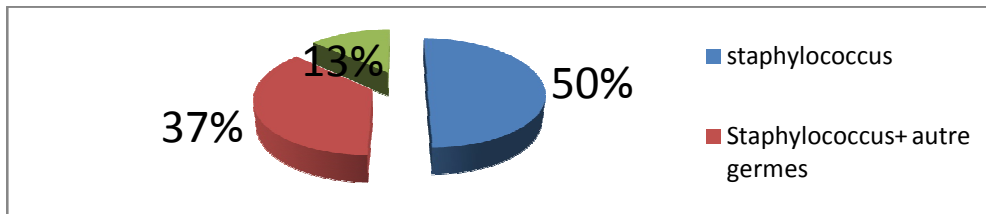
Les résultats obtenus à partir de l'antibiogramme montrent que les staphylocoques isolés présentent une sensibilité vis-à-vis de différents antibiotiques (Fig. 10).



**Figure 10**: Effet des antibiotiques sur *Staphylococcus sp*

Le *Staphylococcus* est sensible pour oxacilline, Cefotaxime, Pénicilline G et Ciprofloxacine.

Selon Rakotoarivony *et al.*, (2009), *Staphylococcus aureus* est sensible à oxacilline. De même, Fauchère et Avril (2002), ont montré que la pénicilline G est très active sur les souches de *S. aureus* non productrice de pénicillinase.



Diagnostic

Dans notre travail, nous avons effectué une recherche bibliographique qui illustre l'appareil urinaire et sa pathologie d'infection urinaire.

Les analyses effectuées au laboratoire de bactériologie (laboratoire d'établissement public hospitalier de Mostaganem) sont basées sur la méthode de l'ECBU et les analyses biochimique et microbiologique.

Le résultat de cette étude montre que chez la plus part des malades une présence de leucocyte, bactériurie, cristaux, cellules épithéliales.

Les germes trouvés dans les urines des malades sont : staphylocoque et d'autres bactéries.

Les résultats obtenus par l'antibiogramme montrent une forte sensibilité de *Staphylococcus sp* à ciprofloxacine d'où le diamètre d'inhibition est 3.2 cm et faible sensibilité à cefotaxime, pénicilline et oxacilline.

## ✚ A

- ✚ **Archer GL, Bosilevac JM (2001).** Signaling antibiotic resistance in staphylococci. *Science* 291: 1915-1916.
- ✚ **Arifur R (2011).** Species Distribution, Antimicrobial Susceptibility and some Virulence Factors of Coagulase- Negative *Staphylococci* Isolated from Different Clinical Specimens at Mymensingh Medical College, Mymensingh. These de doctorat ES science: Department of Microbiology Mymensingh Medical College Mymensingh, Bangladesh. Bailey J.C., Lochart B.P., Redpath M.B. (1995). The epider : p70
- ✚ **Al alam D. (2008).** Impacte de l'interaction entre les cellules épithéliale bronchique et *staphylococcus aureus* sur le chimiotactisme des lymphocytes T dans la mucovisidose. Thèse de doctorat ES science. Université de REIMS Champagne Ardenne UFR de Pharmacie : p 185.

## ✚ B

- ✚ **Bailey JC, Lochart BP, Redpath MB (1995).** The epidermolytic (exfoliative) toxins of S.A. *Med and Microbial Immunol.* 184: p 53-61.
- ✚ **Berche P, Gaillard J-L et Simonet M (1989).** bactériologie : les bactéries des infections humaines, médecine-science, Flammarion, 2<sup>ème</sup> tirage : p 274.
- ✚ **Berger-Bachi B (1994).** Expression of resistance to methicillin. *Trends Microbiol* 2: p 389-393
- ✚ **Bes M, Brun Y (2002).** *Staphylococcus*. Actualités taxonomiques et identification. *Rev Fr Lab* :P 23,30.
- ✚ **Bisognano C (2000).** Impact de la résistance antibiotique et des fluoroquinolones sur l'adhérence à la fibronectine de *Staphylococcus aureus* : étude fonctionnelle et mécanismes moléculaires. Thèse de doctorat : Université de Genève faculté des sciences département de biologie animale : P 110.
- ✚ **Brun Y et Bes M (1990).** Méthodes diagnostiques des staphylocoques à coagulase négative *Méd. et Mal. Infect.*, hors série Mars : p 16-23.
- ✚ **Burin des roziers MPC (2002).** Les biofilm. Thèse de doctorat ES science : Ecole national Vétérinaire d'Alford : P 92.
- ✚ **Burnichon N, (2003).** l'antibiogramme : détermination des sensibilités aux antibiotiques des bactéries : p86

## ✚ C

- ✚ **Chevalier C (2009).** Fonction et mécanismes d'action de l'ARNIII et de nouveau ARN non codant de *Staphylococcus aureus*. Thèse de doctorat ES science : Université de strasbourg, école doctorale des sciences de la vie et de la santé : p 290
- ✚ **Clave D (16mais 2013).** laboratoire de bactériologie hygiène, institut fédératif de biologie, CHU de Toulouse : p1



- ✚ **Collignon A, Hombrouck C, Torlotin J-C (2007).** Infectiologie. 3ème édition. Wolters Kluwer France, France : p 281-290.
- ✚ **Corbière Morot-Bizot S (2006).** Les *staphylocoques* à coagulase négative dans l'écosystème des salaisons. Thèse de doctorat ES science. Université d'Auvergne, école doctorale des sciences de la vie et de la sante : P 64, 133
- ✚ **Corne P (2004).** *Staphylococcus aureus* dans un service de réanimation : étude génétique, phénotypique et épidémiologique. Thèse de doctorat ES science: Université de Montpellier I U.F.R. de Meecine : p 174.

#### ✚ D

- ✚ **Daniel JGT, David W (2003).** Les infections urinaires : une approche clinique. Pharmacothérapie, 36 (5): 246-255.
- ✚ **Darbas A, Marchandin H, Bourgeois N, Charachon S (2007).** Diagnostic et suivi des infections urinaires le bon usage de l'examen cyto bactériologique des urines. MIC Néphrologie, Faculté de Montpellier – Nîmes. P 1-8
- ✚ **Davido B (2010).** Etude de la prise en charge ambulatoire des infections cutanées communautaires à *staphylocoque* doré. Thèse de doctorat ES science. Université Denis Diderot (Paris VII) Faculté de médecine Paris : p 7, 61.
- ✚ **Dennis F, marie-cécile P, christian M, edouard B,roland Q (2010).** bactériologie médicale .Masson: P126, 256.
- ✚ **Derbé B, Saighi D (2004).** Urologie. Paris : P 94-97
- ✚ **Djedid S, ouahabi H, belhauri N, benguedih A, (2009).** les infections urinaires. pharmacie, univercité Abou baker belhaid , telemcen : P1.
- ✚ **Douham S, Nil R (2012).** les infections urinaires. L'examen cyto bactériologique de l'urine. P 42

#### ✚ E

- ✚ **Elaine N, Marieb (2008).**biologie humain. 8<sup>eme</sup> ed. canada : P 7- 544- 545-552-554-549-550-551
- ✚ **Emeline A (2015).** Les infections urinaires communautaires bactériennes : évaluation des connaissances de l'équipe officinale et des conseils apportés aux patients. Thèse de doctorat ES science en pharmacie, université de lorraine : P 7, 11, 12.
- ✚ **Eveillard M (2007).** Politique de dépistage de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline à l'admission : adaptation à la diversification des facteurs de risque de portage, conséquences de cette politique pour les indicateurs de surveillance et la transmission. Thèse de doctorat : Ecole doctorale D'Angers : p 159.

## F

- ✚ **Fauchère JL et Avril JL (2002).** bactériologie générale et médicale : P 216, 218
- ✚ **Ferron A (1984).** bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine, par les professeurs de bactériologie médicale. Paris, 12 : p 115-126
- ✚ **Fleurette J (1982).** *Staphylocoques* et Microcoques. Dans le Minor L., Veynon M., Bacterio Med. Flammarion Méd. - Sciences; Paris 1<sup>ère</sup> ed: p 773-792.
- ✚ **Fomba M (2006).** Rôle pathogène et sensibilité aux antibiotiques des *Acinetobacter baumani* et des *staphylocoques* à coagulase négative a l'hôpital du point G thèse de doctorat ES science : Faculté de médecine, de pharmacie et d'odonto-stomatologie : P 95.
- ✚ **Fusillo MH, Weiss DL (1959).** Qualitative estimation of staphylococcal deoxyribonuclease. [J Bacteriol.](#) ; 78: p 520-2.

## G

- ✚ **Gangoué-pieboji J, bedenic B, koulla-shiro s, randegger c, adiego d, (2005).** Extended-spectrum- $\beta$ -lactamases-producing enterobactériaceae in yaounde, cameroon. J clin microbial, 43: p 273-7.
- ✚ Garrity G.M., Lilburn T.G., Cole J.R., Harrison S.H., Euzéby J. and Tindall B.J(2007). Taxonomic Outline of the Bacteria and Archaea, Release 7.7 March 6," Part 9- the Bacteria: Phylum" Firmicutes": Class "Bacilli": p 77.
- ✚ **Ghuysen JM (1994).** Molecular structures of penicillin-binding proteins and beta-lactamases. Trends Microbiol 2: p 372-380.
- ✚ **Gougous A (2005).** Physiologie des reins et des liquides corporelle. Ed : Multi mondes : p117
- ✚ **Gras D (2006).** Etude des interactions entre les cellules épithéliales respiratoires humaines normales et mucoviscidique et *Staphylococcus aureus* thèse de doctorat ES science. Université de REIMS Champagne Ardenne U.F.R. de médecine : p 185
- ✚ **Gueye O (2007).** Utilisation des méthodes biométriques dans l'identification de quelques *Bacillus* à Gram négatif : P 35

## H

- ✚ **Hartman BJ et Tomasz A (1984).** Low-affinity penicillin-binding protein associated with betalactam resistance in *Staphylococcus aureus*. J Bacteriol 158: 513-516.
- ✚ **Hennekinne J (2009).** Nouvelles approches pour la caractérisation des toxines infectieuses alimentaires a *staphylocoques* a coagulase positive. Thèse de doctorat ES science. L'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (Agro Paris Tech) : p 183.
- ✚ **Hiramatsu K, Cui L, Kuroda M, Ito T (2001).** The emergence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Trends Microbiol 9: p 486-493.
- ✚ **Hoehn K, Marieb E (2010).** Anatomie et physiologie humaines adaptation de la 8e édition américaine. Pearson, Paris : p 1116-1148.

## ✚ J

- ✚ **Jidar K (2007)**. Prévalence du *Staphylocoque* doré résistant à la méthicilline chez les patients hospitalisé en dermatologie. Thèse de doctorat ES science. Université Paris Descart faculté de médecine: p 55.

## ✚ K

- ✚ **Kamina P (2007)**. Carnet d'anatomie thorax-abdomen-pelvis. Maloine, Paris : 122-145.
- ✚ **KaraTerki I. (2014)**. Caractirisation et évaluation de la formation de biofilme de souches de staphylocoques isolées de sondes urinaires chez les patients hospitalisés au CHU de Tlemcen. Thèse de doctorat ES science en Biologie cellulaire et biochimie, université Abou bekr belkaid Tlemcen : P 26, 27
- ✚ **Karam O. (2004)**. Sepsis à "*staphylocoque epidermidis*" chez les grands prématurés : situation à Genève, entre 1995 et 2002. Thèse de doctorat: Université de Genève : P 41.
- ✚ **Karhat AM (2011)**. L'infection urinaire au cours de la grossesse. Thèse de doctorat ES science en médecine, université sidi Mohamed ben Abdallah : P11.
- ✚ **Katayama Y, Ito T, Hiramatsu K (2000)**. A new class of genetic element, *staphylococcus* cassette chromosome mec, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 44 : p 1549-1555.
- ✚ **Kirkland B, Briggs JP, Trivette SL, Wilkinson WE, Sexton DJ (1999)**. The impact of surgical-site -infections in the 1990s. Attributable mortality, excess length of hospitalization, and extra costs. Infect Control Hosp Epidemiol, 20: P 725-730.

## ✚ L

- ✚ **Labischinski H (1992)**. Consequences of the interaction of beta-lactam antibiotics with penicillin binding proteins from sensitive and resistant *Staphylococcus aureus* strains. Med Microbiol Immunol (Berl) 181: p 241-265
- ✚ **Lantotte P, merghetti L, quentin R (2011)**. bacteriologie medical.2<sup>eme</sup> edition, Paris : p 45
- ✚ **Le Minor L, Richard C, (1993)**. Méthodes de laboratoire pour l'identification des entérobactéries, institut pasteur, publication
- ✚ **Levy E, eyal Z, Chet I. and hochman A, (1992)**. Resistance mechanisms of septoria tritici to antifungal products of pseudomonas. Physiol. Mol. Plant pathol. 40: p 163-71.
- ✚ **Louise M (2003)**. Introduction à la Microbiologie. Canada : P 801

## ✚ M

- ✚ **Marchal N., Bourdon j. L., Richard C. L (1987)**. Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Doins Editeurs, Paris 56
- ✚ **Marrhich B (2008)**. Les antibiotiques utilisent dans les infections urinaires. thèse de doctorat ES science en pharmacie, université cheikh anta diop de Dakar : p 24-25

✚ **Merlet A (2010).** Implication de la leucocidine de Panton et Valentine dans les infections sévères à *Staphylococcus aureus* en Nouvelle-Calédonie thèse de doctorat ES science: Université Bordeaux 2 des sciences médicales : P 117

✚ **Michel vaubourdolle (2007).** Biochimie hématologie. 3<sup>ème</sup> édition wolters kluwer SA : p 152-153

✚ N

✚ **Nauciel C (2000).** Bactériologie médicale. Edition Masson- Paris .

✚ O

✚ **Obré A et buttiaux R (1981).** Bactériologie médicale et vétérinaire (systématique bactérienne) :p38, 40,42

✚ P

✚ **Pereyre S, (2011).** *Staphylococcus aureus*, laboratoire de bactériologie CHU. Bordeaux

✚ R

✚ **Rakotoarivony ST, Riel AM, Razafimpanarivo M, Velomora A, Randriamiarana JM, Randrianjafisamindarakotroka N (2009).** Profil bactériologique des infections urinaires nosocomiales en réanimation chirurgicale de deux CHU à Antananarivo. *Revue d'Anesthésie-Réanimation et de Médecine d'Urgence*, 1(3):p 15-17.

✚ **Roland Achille YF (2006).** Profil antibiotypique des bactéries responsables d'infection urinaire communautaire. Thèse de doctorat ES science en pharmacie, université de Bamako : p 39, 40 ,42, 44.

✚ **Rosato AE, Kreiswirth BN, Craig WA, et al (2003).** *mecA-blaZ* corepressors in clinical *Staphylococcus aureus* isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 47: p 1460-1463.188

✚ S

✚ **Sedrati A(2005).** Etude de l'antibiorésistance des souches bactériennes à l'origine des infections infantiles à l'EPH d'Ouargla. Mémoire de master en microbiologie appliquée. Université KASDI MARBEH-OUARGLA : P 24

✚ T

✚ **Trouillet (2011).** Physiopathologie des infections ostéo-articulaires à *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*. Mémoire : Minister de l'enseignement supérieur et de la recherche école pratique des hautes études : p 102

✚ U

✚ **Utsui Y et Yokota T (1985).** Role of an altered penicillin-binding protein in methicillin- and cephem-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 28: p 397- 403.

✚ V

✚ **Vorkauffer S (2011).** Les infections urinaires communautaires bactériennes de l'adulte: prise en charge diagnostique et thérapeutique. Thèse de doctorat ES science en médecine, université Henri Poincaré Nancy : P 34

✚ W

✚ **Walev I, Weller U, Strauch S, Foster T, Bhakdi S (1996).** Selective killing of human monocytes and cytokine release provoked by sphingomyelinase (beta-toxin) of *Staphylococcus aureus*. *Infectiol and Immunol*; 64 (8) : p 2974-2979

✚ **Walsh TR, Howe RA (2002).** The prevalence and mechanisms of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Annu Rev Microbiol* 56 : p 657-675.

✚ **Weckman BG, Catlin BW (1957).** Deoxyribonuclease activity of micrococci from clinical sources. *J Bacteriol*; 73 (6): p 747–753.

✚ **Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ (2010).** *Microbiologie*, 3<sup>ème</sup> édition. De boeck: p 579.