



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques

Référence / 2018

MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Microbiologie Fondamentale et Appliquée

Présenté et soutenu par :
BENSALAH Sofiane

Le:mercredi 27 juin 2018

LES EXAMENS CYTOBACTÉRIOLOGIQUES DES URINES ENTRE LES METHODES CLASSIQUES ET LES METHODES AUTOMATISÉES

Jury :

Mme. RICHIDE Rima	MAA	Université de Biskra	Président
Mme. BENHARZALLAH Naouel	MCB	Université de Biskra	Rapporteur
Mme. OUAMANE Hamida	Dr	Faculté de pharmacie Alger	Co-rapporteur
Mme. ARIG Soulef	MAA	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire: 2017 - 2018

وَاللَّهُ أَخْرَجَكُمْ مِنْ بُطُونِ أُمَّهَاتِكُمْ لَا تَعْلَمُونَ شَيْئًا وَجَعَلَ لَكُمُ السَّمْعَ وَالْأَبْصَارَ وَالْأَفْئِدَةَ لَعَلَّكُمْ
تَشْكُرُونَ (78) (النحل)

L'accomplissement de la présente recherche et l'aboutissement aux résultats auxquels nous sommes abouti n'auraient pu voir le jour que grâce aux soutiens, aux appuis et encouragements de ceux et celles qui ont bien voulu me venir en aide dans les meilleurs comme dans les mauvais moments, tout au long de la période du travail et tout au long de mon parcours universitaire.

Dr BËNHARZALLAH Naouel pour laquelle j'exprime mon grand remerciement d'avoir accepté de diriger ce mémoire, d'avoir contribué à son enrichissement aussi bien sur le plan du contenu qu'au plan du contenant et au plan de la méthodologie.

Dr OUVAMANE Hamida qui m'a gentiment, gracieusement et aimablement offert toutes les conditions favorables et mis à ma disposition tous les moyens de l'ensemble de l'équipement de son laboratoire juste pour que les manipulations des analyses soient correctes et que les résultats soient valables scientifiquement. Combien je me sentais motivé, encouragé et surtout favorisé. Comme je n'oublie pas les biologistes Yasser Mohammed ROMEILI, GHARBI Khadidja, ABDAIM Asma et NAOUI Hadjar. A vous tous et toutes j'exprime mon vif remerciement et ma profonde gratitude.

Dr TRABSA Hayat qui m'a donné beaucoup d'espoir et qui m'a pris en charge depuis ma 2^{ème} année en licence et qui n'a pas cessé depuis que j'ai fait sa connaissance en tant qu'enseignante de proposer et de choisir un thème qui convient à mes compétences scientifiques, de discuter les problématiques, les difficultés des thèmes et leurs convergences et divergences. Je vous adresse mes meilleurs remerciements et mon profond respect.

Dr LËGOUIL Ouided Docteur en biologie clinique à l'hôpital HakimSaadane – Biskra qui m'a réservé non seulement le bon accueil mais aussi le gentil comportement et le sourire permanent. Merci infiniment à vous chère Docteur.

Au président et membres du jury qui ont bien voulu lire et évaluer ce travail. J'adresse un grand et profond respect à Monsieur MOUSSI Abdelhamid, chef de département de biologie et à l'ensemble de ses collaborateurs pédagogues, administratifs, techniciens des laboratoires, auxiliaires de la scolarité, de la bibliothèque et surtout Mlle SOLTANI Aalima technicienne de laboratoire.

Au Pr FERHI A., Pr CHALA A., Dr ZERARKA M.F., Dr KIRAM A., Dr DAKHIA F, M. TOUAHRIA L et Mr. TITAOUINE pour leurs conseils, leur disponibilité et leur gentillesse.

*A vous tous, j'adresse l'expression de mes vifs
Remerciements et le témoignage de ma profonde reconnaissance*

A la mémoire de mes grands-parents maternels et paternels

A mes chers parents

- ✓ *Pour leurs amours non conditionné*
- ✓ *Pour leurs sacrifices permanents*
- ✓ *Pour leur disponibilité toujours utile*

A mon cher et unique frère

- ✓ *Pour sa sympathie et sa bonneté*
- ✓ *Pour son calme et sa gentillesse*
- ✓ *Pour son sérieux et sa bonne volonté d'aboutir*

A mes adorables sœurs

- ✓ *Sans elles, je ne peux déguster le charme familial*
- ✓ *Sans elles, l'amour fraternel ne saura peut-être pas né*

A tous les membres de ma famille

A tous mes chers amis

Table de matières

TABLE DE MATIERES.....	4
LISTE DES TABLEAUX	6
LISTE DES FIGURES	7
LISTE DES ABREVIATIONS.....	8
INTRODUCTION GENERALE	9

Partie Bibliographique

Chapitre 1

Généralité sur les infections urinaires et la résistance bactérienne

1.DEFINITION.....	14
2.LES TYPES DES INFECTIONS URINAIRES	14
2.1.La cystite.....	14
2.2.L'urétrite infectieuse.....	14
2.3.La pyélonéphrite.....	15
3.MICROORGANISMES RESPONSABLE DE L'INFECTION URINAIRE	15
3.1.Bactéries à gram négative	15
3.2.Bactéries à gram positive	17
4.LES FACTEURS DE RISQUES DES INFECTIONS URINAIRES	17
4.1.Anatomique.....	17
4.2.Bactérien	17
5.LES MODES D'AQUISITIONS DE L'INFECTION URINAIRES	18
6.L'ANTIBIORESISTANCE	18
6.1.Définition	18
6.2.Les types de la résistance bactérienne.....	19
6.3.Les mécanismes de la résistance bactérienne	19
6.4.Facteurs de développement de la résistance bactérienne.....	20

Chapitre 2

Automatisation des examens cyto bactériologique des urines

1.DEFINITION.....	22
1.1.Diagnostique	22
1.2.Examen cyto bactériologique des urines.....	22
2.AUTOMATISATION DES EXAMENS CYTOBACTERIOLOGIQUES DES URINES.....	22
2.1.Présentation de l'automate de cytologie SYSMEX UF-500i.....	23
2.2.Présentation de l'automate d'antibiogramme automatisé Vitek 2 compact.....	24

Partie Expérimentale

Chapitre 3

Matériels et Méthodes

I.MATERIELS.....	29
II.METHODES.....	30
1.ECHANTILLONAGE.....	30
2.METHODE CLASSIQUE (MANUELLE).....	32
2.1.Analyse cytologique (examen microscopique).....	32
2.1.1.Examen macroscopique après culture bactérienne.....	33
2.1.2.Coloration de Gram	33
2.1.3.Identification biochimique	34
2.2.Analyse bactériologique (Antibiogramme par diffusion de disques)	35
3.METHODE AUTOMATISE.....	36
3.1.Analyse cytologique (SYSMEX UF-500i).....	36
3.2.Identification bactériologique.....	36
3.2.1.Culture bactérienne.....	36
3.2.2.Antibiogramme par Vitek2 compact.....	37

Chapitre 4

Résultats et discussion

I.STATISTIQUES.....	40
II.METHODE CLASSIQUE (MANUELLE).....	46
1.Analyse cytologique : examen microscopique.....	46
2.Identification bactériologique.....	47
III.METHODE AUTOMATISE.....	53
1.Analyse cytologique (annexe 3)	53
2.Identification bactériologique.....	55
IV.ANALYSE, DISCRIPTION ET COMPARAISON ENTRE LES DEUX METHODES.....	61
CONCLUSION GENERALE.....	40
REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE.....	65
ANNEXES.....	70
Résumé.....	88

Liste des tableaux

Tableau 1: les caractéristiques physiologique et l'aspect des urines stériles.....	13
Tableau 2: les mécanismes de la résistance bactérienne(Sylvie.C, 2009).....	19
Tableau 3: facteurs contribuent à la résistance bactérienne (Sylvie.C, 2009).....	20
Tableau 4: informations de bases sur les malades étudiés.....	31
Tableau 5: Répartition de la gamme de malades étudiés selon l'âge par rapport au sexe.....	40
Tableau 6: Nombre de malade infecté par un des espèces responsable des IU.....	43
Tableau 7: Répartition des espèces responsables des IU selon le type de Gram.....	43
Tableau 8: Pourcentage de domination selon le type de Gram.....	44
Tableau 9: Information générale sur le malade exemple.....	46
Tableau 10: les Résultats de l'analyse cytologique par BU pour le malade N°28.....	47
Tableau 11: Les caractères morphologiques observés pour les colonies des microorganismes présentes chez le sujet N° 28.....	48
Tableau 12: les résultats obtenus de la galerie API 20 E.....	48
Tableau 13: Résultats d'antibiogramme par diffusion des disques pour <i>E.coli</i> ATCC 25922.....	49
Tableau 14: Résultats d'antibiogramme par diffusion des disques pour Streptocoque pneumonie ATCC 49619.....	50
Tableau 15: Résultats d'antibiogramme par diffusion des disques pour le malade N°28.....	51
Tableau 16: informations sur le cas étudié.....	53
Tableau 17: Résultats d'examen cytologique fournit par l'UF-500i.....	54
Tableau 18: résultats de la bandlette urinaire pour le sujet N° 28.....	55
Tableau 19: Résultats de la CMI et l'interprétation d'antibiogramme fournit par le Vitek2.....	59
Tableau 20 : La game des ATB utilisés acer leur dose et la marque de fabricantur.....	71

Liste des figures

Figure 1: schéma de l'appareil UF-500i.....	23
Figure 2: analyse des signaux de l'UF-500i.....	24
Figure 3: automate d'antibiogramme Vitek2.....	26
Figure 4: carte d'antibiogramme du Vitek.....	26
Figure 5: les résultats de l'analyse cytotbactériologique affichés par UF-500i.....	54
Figure 6: lecture des résultats affichés par UF-500i.....	55
Figure 7: Résultats d'antibiogramme fournit par le Vitek 2 (page 1/2).....	56
Figure 8: Résultats d'expertise par l'AES du Vitek 2.....	56
Figure 9: rapport de l'identification bactérienne après la modification du système AES.....	58
Figure 10: niveau de fiabilité fournit par Vitek 2 du phénotype obtenu avec celui de la base de données du système AES.....	59

Liste des abréviations

IU : Infection Urinaire

ECBU : Examen cyto bactériologiques des urines

BU : bandelette urinaire

ATB : Antibiotique

BGN : Bactéries Gram négatif

BGP : Bactérie Gram positif

AES :Advanced Expertise system

CMI : concentration minimale inhibitrice

Introduction Générale

Combien sont importants et indispensables les nombreux sujets ayant des relations étroites avec la vie de l'Homme en général et avec tout ce qui touche le corps humain en particulier. Mais, ce qui nous intéresse, dans cette recherche, c'est bien le domaine des examens cyto bactériologiques dans le contexte des infections urinaires, définies comme "la présence de germe en nombre anormalement élevé dans les voies urinaires". A ce stade, nous pouvons dire que le processus d'analyse des infections urinaires nécessite au préalable de définir les méthodes d'analyse; en d'autres termes, comment pouvons-nous valider le type de méthodes à utiliser dans les examens cyto bactériologiques : la méthode classique ou celle dite automatisée ? Laquelle des deux est fiable et conduit à des résultats justes et objectifs, et quelle est la contribution de chacune des deux méthodes. Telle est donc la question fondamentale qui forme la problématique de la présente recherche, et laisse en même temps prévoir les hypothèses émises pour parvenir à un équilibre entre les deux méthodes.

Pour répondre à cette question, nous pouvons dire que l'« examen cyto bactériologique » lié d'une manière directe aux infections urinaires, est considéré parmi les examens les plus prescrits. Ce type d'examen « permet de diagnostiquer une infection urinaire et d'identifier le germe responsable afin de recourir au traitement le plus efficace. Son interprétation est simple (l'urine étant normalement stérile), mais dépend aussi de la qualité de sa réalisation ».

Quant à l'automatisation pour traiter l'ensemble des cas, en plus la restructuration des laboratoires de biologie tant hospitalière que privée, l'automatisation dans l'analyse des échantillons biologiques est actuellement possible grâce à l'apparition des outils analytiques robotisés. Cette automatisation possède plusieurs avantages: d'abord, elle consiste à créer une liaison automatisée entre les différentes phases du processus analytique afin que le nombre d'interventions manuelles sur un échantillon soit le plus faible possible. Ensuite, en utilisant l'automatisation on parvient souvent à des résultats justes, objectifs et rapides. Enfin, l'automatisation permet une meilleure prise en charge de toutes les opérations analytiques.

Enfin, les connaissances théoriques qui seront proposées au cours de ce travail et les analyses pratiques avec les résultats auxquels nous allons aboutir, montreront les différences entre la méthode classique et la méthode automatisée dans tous les processus analytiques en matière des infections urinaires et surtout en ce qui concerne l'examen cyto bactériologique. Restons seulement convaincus que l'automatisation demeure une des pratiques les plus fiables et dont l'intérêt soit toujours en faveur de la santé des patients et au progrès de la société.

Partie Bibliographique

Chapitre 1
Généralité sur
les infections urinaires
et la résistance
bactérienne

L'infection urinaire est une des infections communautaires les plus fréquentes. Les voies urinaires représentent le second site d'infection bactérienne après l'arbre respiratoire chez l'adulte comme chez l'enfant. En milieu hospitalier, il s'agit de la 1^{ère} cause d'infections associées aux soins.

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. Les bactéries sont à l'origine de la plupart des infections urinaires (Benrais, 2002).

Le tractus urinaire est normalement stérile, l'IU correspond à l'agression d'un tissu de l'arbre urinaire par un ou plusieurs micro-organismes, généralement une réponse inflammatoire et des symptômes de nature et d'intensité variables selon le terrain (Hamraras, 2015).

Tableau 1: les caractéristiques physiologique et l'aspect des urines stériles

Aspects des urines	Etat normal	Etat pathologique
Couleur	- jaune claire : polyurie -jaune foncé : oligurie	- jaune orange : malade fébrile. - rouge : présence d'hémoglobine. - brun verdâtre : présence de pigments biliaires. - Noir : anomalie enzymatique congénitale
Odeur	- Difficile à définir	-cétonique : diabète - Fétide : fièvre grave, cancer du rein et de la vessie.
Transparence	-Claire	- Trouble : présence de pus.
Viscosité	-Légèrement supérieur à celle de l'eau.	-modification par présence de pus, protéines et graisses

1. DEFINITION

Une infection urinaire est une infection qui peut toucher une ou plusieurs parties du système urinaire : les reins, les uretères, la vessie et l'urètre. Elle se manifeste le plus souvent par des douleurs ou une sensation de brûlure lors de la miction, parfois par des douleurs abdominales et de la fièvre. L'infection urinaire se caractérise par une multiplication de microorganismes au sein de l'arbre urinaire (bactériurie) s'accompagnant d'une réaction inflammatoire avec afflux de leucocytes (leucocytaire). Cette infection est majoritairement féminine, le risque d'infection est moindre chez le sexe masculin (Painvert et *al.*, 2007).

Selon Mondor (2004), les principaux signes d'une infection urinaire sont :

- Brûlures mictionnelles.
- Douleurs pelviennes ou lombaires.
- Hyperthermie.
- Urine trouble, foncée, nauséabonde.

2. LES TYPES DES INFECTIONS URINAIRES

2.1. La cystite

La cystite ne s'accompagne jamais de fièvre, la symptomatologie associée à des degrés divers : (Anglaret et Mortier, 2003).

- Mictions fréquentes ou peu abondantes, avec parfois impériosité.
- Brûlures mictionnelles, urines troubles, parfois hématurie macroscopique.
- Une cystite peut être totalement asymptomatique, révélée par l'examen microscopique des urines (cas fréquent pendant la grossesse).

2.2. L'urétrite infectieuse

Si l'infection touche uniquement l'urètre, il s'agit souvent d'infection sexuellement transmissible courante chez les hommes et les femmes. Les germes en cause : la chlamydia et le gonocoque (Anglaret et Mortier, 2003).

2.3. La pyélonéphrite

La symptomatologie associe des signes de cystite, qui peuvent précéder les autres symptômes de plusieurs jours, mais être absents dans 40% des cas.

Une fièvre, avec parfois des frissons et des signes septiques variés (pouvant aller jusqu'au choc septique). Cette fièvre peut parfois être isolée (en particulier chez la personne âgée et le nourrisson), mais s'accompagne souvent de douleurs lombaires et abdominales.

Une nouvelle terminologie des IU avait déjà été proposée en 2008 par AFSSAPS (Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé), mais a été affinée en 2014 par la SPILF (Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française).

- **IU simple** : survenant chez des patients non à risque de complication.
- **IU a risque de complication** : survenant chez des patients ayant un ou plusieurs facteurs de complication :
 - Toute anomalie organique ou fonctionnelle de l'arbre urinaire.
 - Grossesse.
 - Sujet âgé de plus de 75 ans ou de plus de 65 ans et classé « fragile » (Fried et al., 2001).
 - Immunodépression sévère.
 - Insuffisance rénale chronique sévère (clairance de la créatinine < 30 ml/min).
- **IU grave** : Ce sont les IU, qu'elles soient simples ou à risque de complication, qui s'accompagnent de signes de gravité : sepsis grave, choc septique et indication de drainage chirurgical ou interventionnel.

3. MICROORGANISMES RESPONSABLE DE L'INFECTION URINAIRE

3.1. Bactéries à gram négative

- *Escherichia-coli* (colibacille) 63% : est une espèce commensale du tube digestif de l'homme et des animaux. *E. Coli* est une entérobactérie qui se développe en 24h à 37°C dans les milieux gélosés en donnant des colonies rondes, lisses, a bords

réguliers, de 2 à 3mm de diamètre, non pigmentées(Avril *et al.*, 1992).C'est l'agent le plus fréquent des infections urinaires(Hamburger,1979).

- *Protéus*14%: genre bactérien comprenant des bacilles à Gram négatif appartenant à la famille des Entérobactéries. Les bactéries du genre *proteus*sont présentes à l'état naturel, dans le sol, les eaux d'égout et en faible quantité, dans le tube digestif de l'homme. *Proteus mirabilis* est le deuxième germe responsable d'infection urinaire chez les patients non hospitalisés, après *E.Coli*. Ce germe est généralement sensible aux antibiotiques. (Wainsten, 2012).
- *Klebsiellapneumonia*23% :genre bactérien comprenant des bacilles à Gram négatif. Il est présent dans la flore fécale de l'homme, commensale sur la peau, les muqueuses et les voies respiratoires. *Klebsiellapneumonia* : est une bactérie immobile, elle donne après une incubation de 24h à 37°C des colonies de 03 à 04mm de diamètre, bombées et muqueuses. Elleconstitue un germe multirésistant à partir duquel se développentdes épidémies d'infections (infections urinaires, pulmonaire, ou septicémie) acquises en milieuhospitalier. (Wainsten, 2012).
- *Entérobacter*: fait partie de la famille *entérobacteriaceae*. C'est un bacille dont l'habitat privilégié est l'intestin humain et animal. On en trouve également dans les matières fécales, les eaux usées et les produits laitiers. Il existe plusieurs bactéries du genre *Enterobacter*. Certaines peuvent être à l'origine d'infections urinaires et nosocomiales. (Wainsten, 2012).
- *Pseudomonas* : genre bactérien de bacilles à Gram négatif comportant un nombre important d'espèces, pour la plupart présentes à l'état naturel sur toute la surface du globe, dans le sol, les eaux et les plantes. Bactérie nosocomial possédant un pouvoir pathogène étendu, elle est responsable de nombreuses infections : pneumonie, gastro entérites infantiles et infection urinaire (cystites, pyélonéphrites).L'espèce la plus fréquemment responsable d'infections humaines est *Pseudomonasaeruginosa*. (Wainsten, 2012).

3.2. Bactéries à gram positive

- Les Staphylocoque 14% : les staphylocoques sont des coques à Gram positif non encapsulées, ayant un aspect en grappe au microscope optique. (Pebret et Veron, 1993) Cette bactérie est susceptible de sécréter différentes toxines et des enzymes, qui entraînent des lésions suppuratives et nécrotiques. (Wainsten, 2012).
- Streptocoque 86% : leur présence dans les eaux et les aliments, signifie une contamination fécale d'origine humaine ou animale. Ceux sont des coques immobiles anaérobies facultatifs généralement non capsulés, disposés en très courtes chainettes et légèrement ovoïdes. Les Streptocoques se cultivent sur gélose ordinaire, leur température optimale est de 37°C, mais ils se cultivent bien en 45°C.

4. LES FACTEURS DE RISQUES DES INFECTIONS URINAIRES

Il existe plusieurs facteurs de risque qui jouent un rôle important dans la cause des infections urinaire (Anglaret et Mortier, 2003).

4.1. Anatomique

- Flux urinaire : Le lavage des voies urinaires par le flux urinaires est le principal mécanisme de défense contre les germes. Tous les états qui provoquent une stase urinaire, favorisent donc les infections : sténose urétérale ou urétrale, grossesse (par diminution du péristaltisme urétéral), vessie neurologique, hypertrophie prostatique.
- Longueur d'urètre : Un urètre court favorise la remontée des germes vers la vessie, ce qui explique la fréquence des infections chez la femme.

4.2. Bactérien

Certaines bactéries (en particulier *E. coli*) possèdent des facteurs de virulence particuliers, liés à la présence de pili, de certains antigènes O ou de polysaccharides capsulaires (antigènes K1), à la production d'hémolysine, etc.

En générale, tout geste urologique invasif (sondage vésical, cystoscopie, dilatation urétrale...) expose au risque d'infection.

5. LES MODES D'ACQUISITIONS DE L'INFECTION URINAIRES

Le mode de pénétration des germes dans les urines peut être (Boccon et *al.*, 2000) :

- par voie ascendante : (la plus fréquente), les germes remontent du méat urétral dans la vessie. Soit d'une façon spontanée (chez la femme dont l'urètre est court), soit d'une façon provoquée par la mise en place d'une sonde ou la réalisation d'une cystoscopie.
- Par voie hématogène : c'est la plus rare, lors de bactériémie ou de septicémie surtout chez l'immunodéprimé ou le diabétique.
- Par voie lymphatique : à partir d'infections des organes pelviens (maladie inflammatoire de l'intestin, suppuration pelviens).

REMARQUE :

Certaines infections sont de type endogène, c'est-à-dire qu'elles sont causées par des microorganismes qui font partie de la flore normale, mais qui peuvent devenir des pathogènes opportunistes. Lorsque les circonstances leurs sont favorables, ces espèces parviennent à se multiplier et à perturber l'homéostasie de la personne qui les héberge.

Cependant, le traitement des IU est basé notamment sur l'utilisation des antibiotiques pour éliminer les germes causantes de la maladie, mais sur le terrain, le pouvoir d'agression des IU s'élève jour après jour ce qui a met en jeu un phénomène biologique s'appelle la résistance bactérienne.

6. L'ANTIBIORESISTANCE

6.1. Définition

La résistance bactérienne est la capacité d'une bactérie à développer une tolérance à un antibiotique spécifique. L'émergence de la résistance peut se produire par mutation spontanée dans l'ADN de la bactérie et / ou par transfert de gènes résistants aux antibiotiques.

Une bactérie est dite « résistante » quand elle échappe à l'action de l'antibiotique supposé actif, prescrit au malade, c'est ce qui se manifeste par un échec clinique relatif ou absolu de l'antibiothérapie. Dans la majorité des infections, un échec clinique se traduit par

l'absence d'amélioration (fièvre, état général, etc.) après environ 72 heures de traitement et la prescription d'un deuxième antibiotique (Burgess, 1999).

« ... un mauvais usage de la substance aboutirait à ce que, au lieu d'éliminer l'infection, on apprenne aux microbes à résister à la pénicilline et à ce que ces microbes soient transmis d'un individu à l'autre jusqu'à ce qu'ils atteignent un chez qui ils provoqueraient une pneumonie ou une septicémie que la pénicilline ne pourrait guérir... » (Fleming, 1945).

6.2. Les types de la résistance bactérienne

- La résistance naturelle ou intrinsèque correspond à la capacité de résister à la présence d'un antibiotique pour toutes les souches d'une espèce ou d'un genre bactérien. La Société Française de Microbiologie (SFM) définit la résistance naturelle comme la caractéristique d'une espèce bactérienne qui se traduit par des concentrations minimales inhibitrices (CMI) supérieures à la concentration critique supérieure des tests de sensibilité pour l'antibiotique concerné
- La résistance acquise, on oppose à la résistance naturelle, propriété d'espèce ou de genre, la résistance acquise qui est une propriété de souche. Cette dernière correspond à la capacité de supporter une concentration d'antibiotique beaucoup plus élevée que celle supportée par les autres souches de la même espèce. Elle peut s'acquérir soit par mutation chromosomique, soit par acquisition de matériel génétique exogène (Carmaltet *al.*, 1999).

6.3. Les mécanismes de la résistance bactérienne

Tableau 2: les mécanismes de la résistance bactérienne (Sylvie., 2009)

Mécanismes de résistance	Conséquences
Inhibition enzymatique	Production d'une enzyme qui inactive ou détruit l'antibiotique ; le mécanisme de résistance le plus répandu.
Réduction de la perméabilité cellulaire	Changements de perméabilité de la paroi ou de la membrane bactérienne empêchant le médicament d'atteindre sa cible.
Altération des sites de liaison cible par l'antibiotique	Baisse de l'affinité de l'antibiotique pour son site d'action.

Pompes à efflux	Antibiotique éjecte de la cellule par transport actif et site d'action devenant inaccessible
-----------------	--

6.4. Facteurs de développement de la résistance bactérienne

Tableau 3: facteurs contribuent à la résistance bactérienne(Sylvie., 2009)

FACTEURS	EXEMPLES
Emergence de la résistance	<p>Usage abusif d'antibiotiques.</p> <p>Gravite accrue de l'état des malades hospitalises.</p> <p>Manque de fidélité au traitement.</p> <p>Durée trop courte ou dose sous-thérapeutique</p> <p>Diagnostic non confirme d'infection bactérienne.</p> <p>Utilisation inadéquate d'antibiotiques dans les pays en voie de développement.</p>
Propagation des souches résistantes	<p>Mesures d'hygiène inadéquates dans les hôpitaux ;</p> <p>Non-respect des directives de lutte contre les infections ;</p> <p>Promiscuité des patients hospitalises ;</p> <p>Réduction du personnel infirmier et de soutien ;</p> <p>Déplacements accrus des patients (transferts de patients colonises ou infectes entre hôpitaux et milieu communautaire) ;</p>
Utilisation d'antibiotiques dans le secteur agro-alimentaire.	<p>Animaux destinés à la consommation.</p> <p>Agriculture et aquaculture.</p>
Utilisation d'antiseptiques et de	<p>Agents antibactériens dans les produits d'entretien ménager, le dentifrice, les pastilles contre le mal de gorge, les savons,</p>

désinfectants	etc.
---------------	------

Chapitre 2
Automatisation
des examens
cytobactériologique
des urines

1. DEFINITION

1.1. Diagnostique

Acte médical et para médical qui permet d'identifier la nature et la cause dont un patient est atteint.

Un diagnostic différentiel est l'acte par lequel le médecin, observe des phénomènes révélant un trouble de fonctionnement ou une lésion, élimine l'hypothèse de l'existence d'une maladie proche de celle qu'il cherche à identifier.

Le diagnostic étiologique consiste enfin à identifier la cause de l'affection identifiée (Identification d'un germe, mise en évidence d'un dérèglement hormonale).

1.2. Examen cyto bactériologique des urines

L'examen cyto bactériologique des urines (ECBU) consiste à analyser les urines d'une personne pour déceler une éventuelle IU et pour déterminer quels sont les germes en cause. Le but est d'adapter ensuite au mieux le traitement antibiotique.

ECBU est un examen de biologie médicale, étudiant l'urine d'un patient et déterminant notamment la concentration des hématies et des leucocytes, la présence ou non de cristaux et de germes bactériens. Il est fréquemment utilisé pour détecter une infection urinaire.

L'agression successif est répété des infections urinaires et le nombre de cas suspecte qui s'élève jour après jour en Algérie en cas particulier et sur le niveau mondiale en cas générale a met en jeu la nécessité d'automatiser les examens cyto bactériologique des urine.

2. AUTOMATISATION DES EXAMENS CYTOBACTERIOLOGIQUES DES URINES

L'examen cyto bactériologique des urines comprend deux analyses :

- Analyse cytologique (SYSMEX UF-500i)
- Analyse bactériologique (VITEK2)

2.1. Présentation de l'automate de cytologie SYSMEX UF-500i

L'UF-500i est un analyseur automatique d'urine destiné au diagnostic in vitro. Cet appareil est capable de détecter les échantillons « anormaux » avec une grande précision, ce qui permet d'accroître l'automatisation et l'efficacité dans les laboratoires. L'UF-500i peut analyser jusqu'à 60 échantillons par heure et afficher les numérations d'érythrocytes, de leucocytes, de cellules épithéliales, de cylindres urinaires et de bactéries en tant que paramètres principaux. Il fournit également des informations sur la présence ou non de cristaux, de levures, de petites cellules rondes, de cylindres urinaires pathologiques, de mucus et de spermatozoïdes (COGNEE, 2013).

L'UF-500i utilise la cytométrie en flux et un laser rouge à semi-conducteur pour analyser les différents éléments urinaires. Le système réalise tous les processus de façon automatique, de l'aspiration de l'échantillon à la lecture des résultats. Les résultats d'analyse et les graphiques sont affichés sur l'écran de l'IPU et transmis au SIL.

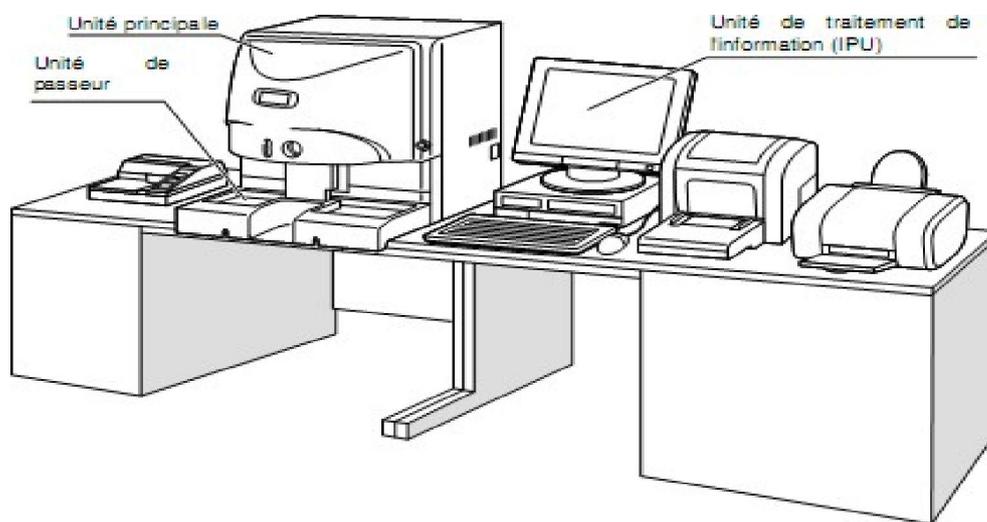


Figure 1: schéma de l'appareil UF-500i

Une fois que les substances spécifiques des cellules ont été soumises à une coloration fluorescente puis placées en suspension, elles sont recouvertes de liquide Sheath et éjectées via une buse pour former une seule ligne. Chaque cellule urinaire est alors éclairée par un faisceau laser orienté avec précision. Les cellules individuelles fluorescent et diffusent la lumière à différents degrés. C'est l'analyse de ces signaux électriques qui permet à chaque cellule urinaire de se démarquer des autres en générant un histogramme unidimensionnel basé sur l'intensité fluorescente ainsi qu'un scattergramme

bidimensionnel basé sur l'intensité fluorescente et sur l'intensité de la lumière diffusée (COFRAC, 2011).

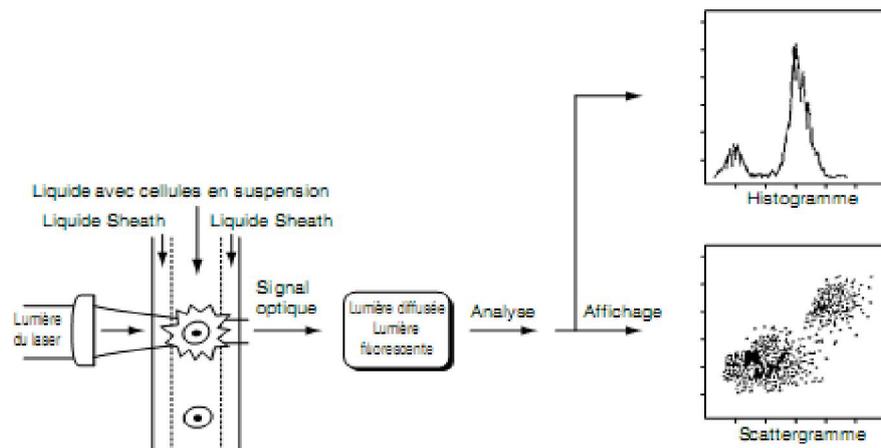


Figure 2: analyse des signaux de l'UF-500i

L'analyseur UF--□500i s'appuie sur les principes de la cytométrie en flux et classe les cinq éléments organisés de l'urine tant que RBC (érythrocytes), WBC (leucocytes), EC (cellules épithéliales), CAST (cylindres urinaires) et BACT (bactéries), puis il les affiche quantitativement. Les formes d'onde des signaux de la lumière diffusée vers l'avant, de la lumière diffusée vers le côté et de la lumière fluorescente sont analysées quant à la hauteur, l'amplitude et d'autres facteurs. Cette analyse fournit des informations comme la taille des cellules et l'état de leur surface, les caractéristiques de coloration et les longueurs des zones colorées. Les cellules urinaires sont classées selon les caractéristiques des formes d'onde du signal de chaque cellule, selon un algorithme de classification (Klein, 2014).

2.2. Présentation de l'automate d'antibiogramme automatisé Vitek 2 compact

En 2006, en France et en Europe trois firmes commercialisent des systèmes automatisés pour lesquels les réactifs ont reçu un numéro d'enregistrement à l'agence des médicaments ou à l'agence européenne. La société bioMérieux commercialise le Vitek ®. Ce dernier a évolué et possède deux modèles le Vitek ® 1 (aujourd'hui appelé Vitek ® 32) sous quatre versions modulables (32, 60, 120 et 240) et Vitek 2 avec deux versions 60 ou 120 (CROIZE, 2007).

Les automates ont été conçus pour faire les diagnostics dans deux domaines distincts: Dans le domaine clinique : l'analyse d'un échantillon réalisé à partir d'un prélèvement

biologique (sang, salive, urine ...) qui permet la détection et mesure la présence d'agents pathogènes (bactéries, virus, champignons) ou de substances secrétées par le corps humain.

Dans le domaine industriel : l'analyse d'un échantillon réalisé à partir d'un produit alimentaire, pharmaceutique, cosmétique, ou de son environnement de production pour garantir sa parfaite innocuité et la sécurité des consommateurs.

Le Vitek 2 compact, utilisé au cours de notre étude, est un automate d'identification des bactéries et d'antibiogramme. Il est créé pour les petits laboratoires qui souhaitent disposer d'un système automatisé capable de traiter la majorité de leurs tests de routine avec des résultats rapides grâce à son logiciel Expert, Advanced Expert System™ (AESTM) qui offre des avantages importants pour le biologiste, le clinicien et également pour le patient.

En plus d'une grande fiabilité, le biologiste peut être certain de détecter des résistances même faiblement exprimées. Le médecin dispose d'un rapport validé le jour même, et sera alerté en cas de résistance aux antibiotiques. Ce rapport leur permet d'étayer son diagnostic et le cas échéant, de modifier l'antibiothérapie le plus précocement possible. Le patient, quant à lui, est rapidement soigné par un traitement antibiotique.

Il comprend une base de données d'identification étendue qui vous permet de détecter davantage de micro-organismes. Toutes les phases d'identification, de la lecture à l'enregistrement des résultats, sont automatisées, optimisant ainsi l'organisation du laboratoire. Étant donné que le système fonctionne avec des cartes identifiées par des codes-barres, la traçabilité complète est assurée et les risques d'erreur de transcription sont réduits.



Figure 3: automate d'antibiogramme Vitek2

L'efficacité du système Vitek 2 compact repose sur la technologie de colorimétrie avancée : le système lit les cartes de test VITEK de dernière génération toutes les 15 minutes grâce à trois longueurs d'onde différentes. Ces cartes contiennent 64 puits pour assurer une précision absolue. Grâce à cette technique, la quantité de données analysées est plus importante, ce qui améliore la précision des résultats.

Grâce à ce système, la durée de préparation et de réponse est réduite, avec une obtention des résultats entre 2 et 18 heures. Le logiciel Vitek2 Compact étant particulièrement intuitif, la formation des techniciens est moins longue, ce qui se traduit par une productivité accrue.

Les systèmes Vitek2 sont également des solutions de référence en matière d'antibiogrammes et de détection de résistances.

Basés sur la micro dilution en milieu liquide, ces systèmes automatisés permettent à votre laboratoire de réaliser des antibiogrammes le jour même. De ce fait, la productivité de votre laboratoire augmente.

**Figure 4:** carte d'antibiogramme du Vitek

Partie Expérimentale

Chapitre 3

Matériel et Méthodes

Pour le but de montrer les nouvelles techniques de réalisation d'un ECBU, la recherche présente a été réalisée au niveau laboratoire OUMANE des analyses médicales à Biskra. L'étude a été faite sur une large gamme de malade de tout âge pendant 2 mois (31/01/2018 – 29/03/2018)

L'idée de la recherche consiste de faire un examen cyto bactériologique pour chaque malade par deux méthodes :

- La méthode classique ou manuelle par l'utilisation des disques d'antibiotiques.
- La méthode automatisée dont on a utilisé des automates UF500-i pour la numération des cellules et des bactéries et le Vitek 2 pour l'identification des bactéries et faire l'Antibiogramme.

La recherche consiste à proposer un protocole de travail simple et applicable en vue les moyens disponible pour atteindre l'objectif souhaité, dont à la fin ; on comparera les avantages et les inconvénients de chaque méthode et essayant d'améliorer les expériences et adapter les nouvelles techniques et technologies universelle avec les obstacles (financières et académiques) qui nous font face dans les laboratoires algériens.

I. MATERIELS

- Biologique : les urines dans des flacons stériles.
- Chimique
 - Milieu de culture nutritif (gélose nutritif)
 - Milieu de culture Muller Hinton (Bio-Mérieux)
 - Milieu chromagare (Bio-Mérieux)
 - Les disques d'antibiotique (annexes)
 - Réactifs colorants de Gram
 - Galerie d'Identification API20E (Bio-Mérieux)
- Appareillage
 - SYSMEX UF-500i (Bio-Mérieux)
 - VITEK 2 compact (Bio-Mérieux)
 - DensiCHEK plus (Bio-Mérieux))

- Etuve (SELECTA T)
- Microscope optique.
- Cellule de mallassez(SUPERIOR MARIENFIELD GERMANY)

II. METHODES

1. ECHANTILLONAGE

Les deux méthodes commencent par le prélèvement des urines, pour cela ; les échantillons (les urines) entrés au laboratoire doit être :

- Prélévés au sein de laboratoire tandis que la première miction matinale en évitant la contamination de l'urine et après désinfection locale avec une solution antiseptique.
- Les premières gouttes seront éliminées et les 20-50ml suivant seront recueillis dans des flacons urinaires stériles.
- Chez la femme, le recueil se fait, si possible, en dehors la période menstruelle ou d'infection vaginale.
- Codifier les flacons (nom, prénom, et la date) avant d'être transporté au plateau technique du laboratoire.
- Il existe quelque cas où on accepte des urines prélevés en dehors du laboratoire c'est bien pour les Patient sondé à demeure et les nouveaux née en particulier.
- Chez le petit enfant on doit utiliser un collecteur stérile spécifique. Ce dispositif à usage unique adapté à l'anatomie se pose après désinfection soigneuse et ne peut être laissé en place plus d'une heure. Passé ce délai, si l'enfant n'a pas uriné, le dispositif est éliminé et remplacé par un collecteur neuf. Dès la miction terminée le collecteur est enlevé et les urines sont transvasées soigneusement dans un flacon stérile puis acheminées rapidement vers le laboratoire.

Tableau 4: informations de bases sur les malades étudiés

N°	Immatriculation du malade	Sexe	Age	Interrogatoire	Lieu de prélèvement
01	511802240279	Féminin	30 ans	Femme enceinte	Au laboratoire
02	511802250136	Masculin	3 mois	1 ^{er} ECBU	Collecteur stérile
03	511802250339	Masculin	40 ans	Diabétique	Au laboratoire
04	511802250348	Masculin	60 ans	Diabétique	Au laboratoire
05	511802250360	Féminin	33 ans	Etat normale	Au laboratoire
06	511802250382	Masculin	38 ans	Etat normale	Au laboratoire
07	511802250390	Féminin	18 mois	1 ^{er} ECBU	Collecteur stérile
08	511802250394	Féminin	34 ans	Etat normale	Au laboratoire
09	511802260046	Féminin	4 ans	1 ^{er} ECBU	Maison
10	511802260390	Féminin	29 ans	Etat normale	Au laboratoire
11	511802260401	Masculin	17 ans	Diabétique	Au laboratoire
12	511802260417	Masculin	4 ans	1 ^{er} ECBU	Maison
13	511802260430	Féminin	40 ans	Etat normale	Au laboratoire
14	511802270081	Féminin	9 ans	1 ^{er} ECBU/ Diabétique	Maison
15	511802270084	Masculin	78 ans	Hospitalisation/sous traitement/diabétique	Sonde
16	511802270381	Féminin	40 ans	Etat normale	Au laboratoire
17	511802270382	Féminin	33 ans	Etat normale	Au laboratoire
18	511802280092	Féminin	6 ans	1 ^{er} ECBU	Maison
19	511803040052	Féminin	8 ans	1 ^{er} ECBU	Maison
20	511803040060	Féminin	22 ans	Etat normale	Au laboratoire
21	511803040297	Masculin	29 ans	Sous traitement	Au laboratoire
22	511803100306	Masculin	38 ans	Diabétique	Au laboratoire
23	511803100358	Féminin	38 ans	Diabétique/sous traitement	Au laboratoire
24	511803110004	Féminin	30 ans	Diabétique	Au laboratoire
25	511803110080	Féminin	21 ans	Etat normale	Au laboratoire
26	511803110171	Féminin	48 ans	Etat normale	Au laboratoire
27	511803110347	Féminin	60 ans	2ECBU/ Diabétique	Au laboratoire
28	511803120356	Féminin	38 ans	Etat normale	Au laboratoire
29	511803120394	Féminin	24 ans	Femme enceinte	Au laboratoire
30	511803120400	Féminin	23 ans	Etat normale	Au laboratoire
31	511803130053	Féminin	3 ans	hospitalisation	sonde
32	511803140116	Masculin	30 ans	Etat normale	Au laboratoire
33	511803170116	Féminin	64 ans	hospitalisation	Sonde
34	511803170263	Masculin	47 ans	2 ECBU	Au laboratoire
35	511803170307	Féminin	18 ans	Etat normale	Au laboratoire

2. METHODE CLASSIQUE (MANUELLE)

La réalisation correcte de l'ECBU nécessite à répondre aux objectifs suivants :

- Connaitre les différentes circonstances cliniques président la réalisation d'un ECBU et influençant la conduite méthodologique.
- Procéder en toute circonstance au recueil aseptique des urines et garantir leur acheminement correct vers le laboratoire si le prélèvement est fait en dehors de laboratoire.
- Connaitre les principales espèces microbiennes responsables d'infection du tractus urinaire (ITU) afin de l'identifier.
- Savoir réaliser l'ECBU dans ses différentes étapes.
- Etre capable d'interpréter les résultats de l'ECBU en toute circonstance.
- Connaitre les différents antibiotiques utilisables dans ITU afin de composer le meilleur antibiogramme.

2.1. Analyse cytologique (examen microscopique)

L'examen direct est réalisé par une homogénéisation de l'échantillon à l'aide du vortex puis dépôt d'une goutte d'urine à l'aide d'une pipette Pasteur sur la cellule de mallassezrecouverte par une lamelle, le liquide ne doit pas déborder. L'observation par microscope optique se fait au grossissement 10 x 40. Les différents éléments qui peuvent exister dans les urines sont :

- les hématies (globules rouges) : normalement l'urine ne doit pas contenir d'hématies.
- les leucocytes (globules blancs) : la présence de nombreux leucocytes, notamment en amas indique, généralement, une infection des voies urinaires.

- les levures : elles accompagnent parfois la présence de glucose dans les urines, de cellules épithéliales, de cristaux, de cylindres et de germes (soit des formes cocci, soit bacillaires).
- les bactéries désignent présence d'une inflammation des voies urinaires.

2.1.1. Examen macroscopique après culture bactérienne

Après une observation microscopique, on commence un protocole de travail pour le sujet atteint d'une infection urinaire. Cet examen permet de déterminer la forme, le relief, la consistance et l'aspect des colonies sur boîte de Pétri à l'œil nu.

- Dans une zone stérile ; on remplit les boîtes de pétri avec GN et la laisser sécher.
- Ensemencement de l'urine sur le GN par anse calibrée.
- Ensuite les boîtes ensemencées sont incubées à 37 °C pendant 24 heures.
- La lecture se fait par l'observation des boîtes à l'œil nu.
- En cas d'observation de deux types de germes (milieu bi-microbien) ; il faut ré-isolé chaque espèce sur son milieu de culture sélectif.
- Après incubation à 37 C°/24 heures, l'observation est réalisé (la forme, taille, couleur et les bordures des colonies) a l'œil nu pour l'identifier plus tard.

2.1.2. Coloration de Gram

- Avec une pipette pasteur on prend une colonie isolé d'après le milieu mono-bactérien et la mettre sur une lame propre.
- On ajout quelques gouttes du réactif bleu de méthylène et laisser une minute.
- Après rinçage avec quelques gouttes d'éthanol, la lame est disposée pour la fixation au bleu de méthylène.
- Ensuite ; quelques gouttes de réactif Lugol et laisser une minute.
- Ensuite on colore la lame avec la Fushine et laisser une minute.
- Sécher la lame et l'Observer au microscopique.

REMARQUE

La coloration de Gram permet au laborantin de connaître le type de galerie il faut l'utiliser car la galerie des entérobactéries n'est la même que celle des bacilles ou des streptocoques par exemple.

2.1.3. Identification biochimique

La galerie API 20E (spécifique pour les entérobactéries) est un système standardisé pour l'identification des bactéries selon les caractères biochimiques.

Elle comporte 20 micro-tubes contenant des substrats déshydratés. Les micro-tubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue en consultant la liste de profils à l'aide du logiciel d'identification.

➤ *Préparation de l'inoculum*

Les colonies bien isolées sur milieu gélosé sont prélevées à l'aide d'une pipette, les cellules jeunes (18 à 24 heures) sont préférentiellement utilisées.

Une à quatre colonies morphologiquement identiques sont prélevées et mises en suspension dans de l'eau physiologique. La suspension bactérienne est soigneusement homogénéisée dans le milieu. Elle doit être utilisée extemporanément.

➤ *Inoculation de la galerie*

Les tubes des tests (et non les cupules) sont remplis avec la suspension précédente pour éviter la formation de bulles d'air au fond des tubes. La pointe de la pipette est posée sur le côté de la cupule en inclinant légèrement la boîte chargée de la suspension bactérienne vers l'avant.

Les tubes et cupules des tests qui portent un cadre tels que GLU ont été remplis avec la suspension et les cupules des tests soulignés tels que ADH et URE ont été remplis aussi avec la suspension sur laquelle a été ajoutée une couche d'huile de paraffine (anaérobiose).

Il faut remplir la boîte d'incubation des tubes des tests avec un peu d'eau pour éviter la dessiccation lors de l'incubation à 35°C pendant 24 heures.

Après incubation, la galerie sera lue et les résultats comparés au tableau de lecture. Sur la fiche de résultats sont notées toutes les réactions spontanées ou révélées par l'addition des réactifs.

2.2. Analyse bactériologique (Antibiogramme par diffusion de disques)

Un antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une bactérie vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques. Le principe consiste à placer la culture de bactéries en présence des antibiotiques et à observer les conséquences sur le développement et la survie de celle-ci.

Il existe trois types d'interprétation selon le diamètre du cercle qui entoure le disque d'antibiotique : souche / bactérie sensible, intermédiaire ou résistante.

La gélose de Mueller Hinton est un milieu de base qui permet la réalisation de l'antibiogramme standard. Elle est coulée en boîtes de Pétri.

L'inoculum est préparé à l'aide de 3 à 5 colonies isolées et prélevées puis mises dans un tube contenant de l'eau physiologique et l'homogénéiser par le Vortex, l'observation de suspension est réalisé manuellement.

L'ensemencement se fait par écouvillonnage (méthode de Kirby) : le milieu est ensemencé par stries très serrées en 3 passages en faisant pivoter de 60°.

Les disques d'antibiotiques sont déposés sur la gélose avec une pince métallique stérile. Les boîtes sont incubées 24 h à 37°C.

La lecture doit se faire dans les délais recommandés : 18 à 24 heures pour la méthode par diffusion pour les bactéries de croissance rapide et 2 à 3 jours pour les espèces de croissance difficile.

La zone d'inhibition circulaire est mesurée par le diamètre en millimètres selon divers moyens (règle, compas ou pied à coulisse).

REMARQUE

Il faut tester la qualité des disques d'antibiotique de temps-en-temps, on réalisant un antibiogramme standard par des souches de référence, ces dernières sont des espèces génétiquement modifier dont elles sont sensible à tous les antibiotiques, alors l'antibiotique qui présent une zone de petit diamètre est antibiotique de qualité moyenne.

3. METHODE AUTOMATISE

3.1. Analyse cytologique (SYSMEX UF-500i)

SYSMEX UF-500i est une automate analytique qui analyse les urines et traite ses composés à l'aide de plusieurs réactifs. Son protocole de fonctionnement est très simple il suffit de met à sa disponibilité les urines et attendre les résultats après une à deux minutes.

- Verser les urines collectées dans les flacons stériles dans des tubes de 10 ml.
- Faire l'étiquetage et/ou le marquage des tubes avant le lancement de l'analyse.
- Déposer les tubes sur un portoir son volume 10 tubes de 10 ml à la fois.
- Glisser le portoir dans le plateau de l'appareil et lancer l'analyse.
- Le résultat sera prêt quelques minutes plus tard.
- A la fin de l'examen ; retirer le portoir et jeter les urines et ensuite les tubes.
- Avant de relancer une autre série à analyser, laisser un peu de temps à la machine de faire son auto entretiens.

3.2. Identification bactériologique

3.2.1. Culture bactérienne

Dans le but d'identifier les microorganismes présents dans les urines, on fait un ensemencement de l'urine sur un milieu de culture chromogène.

Les milieux chromogènes sont des milieux de culture qui permettent de mettre en évidence une enzyme spécifique d'une espèce bactérienne (ou fongique) ou d'un groupe d'espèces. Ils utilisent des substrats spécifiques de cet enzyme qui après dégradation forment des produits colorés.

- Devant un bec Benzène ; remplir les boîtes de pétrie par la gélose et les laisser refroidir.
- Ensemencer les urines sur la gélose par lance de platine calibrée
- Identifier chaque boîte avant de la mettre dans l'étuve pour incubation 24H/35C°.

3.2.2. AntibioGramme par Vitek2 compact

- Préparation de l'inoculum
- Dans un tube de 10 ml, une suspension bactérienne doit être préparée, on identifie chaque tube parce que le Vitek 2 est capable de faire 10 antibiogrammes à la fois.
- Homogénéiser quelques colonies avec 3.5 ml eau distillée stérile pour avoir une concentration de 0.5-0.6 pour les bactéries à gram négative utilisant une machine calculatrice de la suspension bactérienne.
- Scanner le code barre de chaque tube par le bras de lecture par infra-rouge du Vitek 2 pour qu'il arrive à trouver les informations du malade dans la base de données du laboratoire et ensuite classer les résultats de l'antibiogramme avec les résultats de l'examen cytologique de chaque malade.
- Déposer les cassettes de Vitek 2 sur le portoir en parallèle avec les tubes (le choix de la cassette selon l'espèce) dont un tuyau relie entre la cassette et le tube de la suspension.

REMARQUE :

La différence entre un antibiogramme automatisé pour les bactéries à Gram négatives et/ou les bactéries à gram positive est en deux points essentiels :

- La concentration de la suspension bactérienne : (0.5-0.6) pour BGN et (5.5-6.5) pour BGP.
- Le modèle de la cassette : il existe des cassettes pour BGN et autre pour BGP.
- Lancement de l'antibiogramme

Les cassettes et les tubes de la suspension seront mets sur un portoir et l'entré dans le Vitek 2 pour commencer la procédure de l'antibiogramme qui se déroule dans 3 étapes :

- 1- la première étape est le remplissage de la suspension dans les cassettes sur le portoir.
- 2- la deuxième étape est séparation des cassettes et les tubes, dans un autre compartiment du Vitek2, la machine coupe le tuyau qui a fait le remplissage de la suspension dans les trous de la cassette.
- 3- Le transfert des cassettes à l'étuve à l'intérieur du Vitek 2 et faire la lecture de la cassette chaque 15 minutes.

REMARQUE :

Les résultats de l'antibiogramme et l'interprétation seront prêts dans 7-10 H.

Chapitre 4

Résultats et discussion

La recherche consiste de proposer un protocole de travail simple et applicable en vue des moyens disponibles pour atteindre l'objectif souhaité, dont à la fin ; on comparera les avantages et les inconvénients de chaque méthode et essayant d'améliorer les expériences et adapter les nouvelles techniques et technologies universelles avec les obstacles (financiers et académiques) qui nous faces dans les laboratoires algériens.

Les deux méthodes commencent par le prélèvement des urines, cette dernière est une étape essentielle aux fiabilités des résultats et plusieurs recherches scientifiques publiées prouvaient que la fiabilité des résultats dépend indirectement la qualité du prélèvement.

I. STATISTIQUES

Plusieurs sont les recherches qu'on étudie les infections urinaires depuis des centaines d'années, la casier totalité ont prouvées que (Bouakkaz et Boucherbit, 2017) :

- Les IU touchent beaucoup plus les femmes que les hommes.
- Les sujets âgés (plus de 50 ans) plus suspectent d'avoir une IU que les jeunes.
- *Escherichia coli* est la première espèce responsable des IU.

Pour le but de confirmer cette hypothèse, on a réalisé une étude statistique sur l'échelle de 35 malades par le logiciel numérique de statistique SPSS ; les résultats comme ceci :

Tableau 5: Répartition de la gamme de malades étudiés selon l'âge par rapport au sexe

Effectif	l'âge de malade			Total
	0-2 ans	2-18 ans	18-80 ans	
sexe Féminin	1	5	18	24
Masculin	1	2	8	11
Total	2	7	26	35

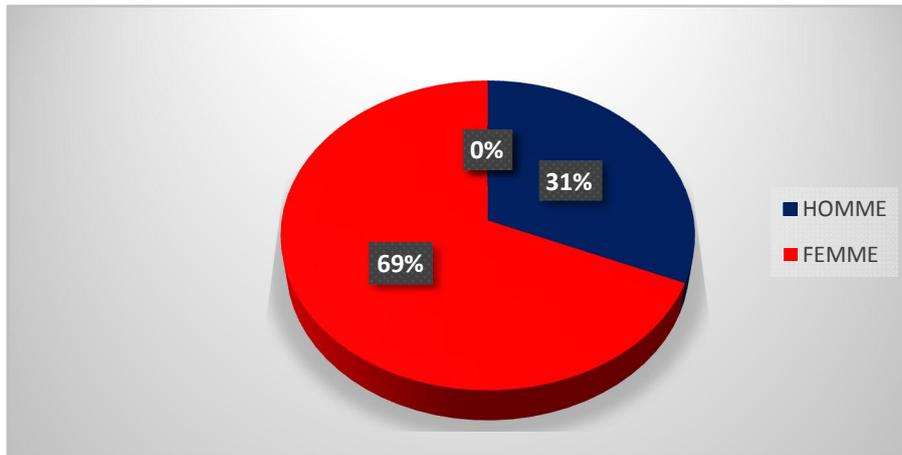


Figure 5: Pourcentage des cas infectés selon le sexe

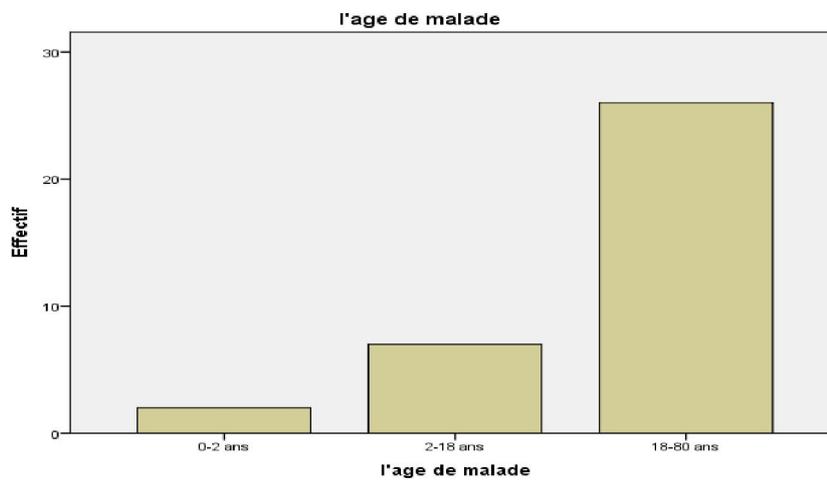


Figure 6: Répartition des malades selon l'âge

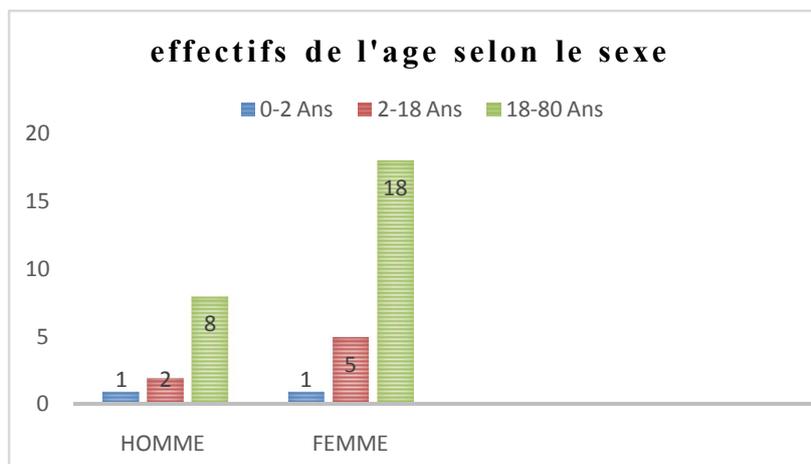


Figure 7: Répartition des malades selon le sexe et l'âge

Sur la gamme de 35 malades on a eu 24 cas d'infection urinaire pour sexe féminin 69 %, tandis que 11 cas pour le sexe masculin 31 %, alors on dit que la première hypothèse est vérifiée et confirmée (Bouakkaz et Boucherbit, 2017).

Selon la société française de la santé publique (SFSP), environ 2 millions de femmes ont régulièrement des infections urinaires.

Toutes les infections urinaires n'ont pas la même origine ; cependant, la majorité est causée par une bactérie. Cependant le système urinaire est composé de différents organes qui filtrent, produisent, transportent et stockent l'urine. On retrouve :

- les reins, qui nettoient le sang et éliminent les déchets qui vont constituer l'urine.
- les uretères, qui transportent l'urine en direction de la vessie.
- la vessie, qui est le réservoir de l'urine.
- l'urètre, qui est le canal qui permet d'uriner et donc de vider la vessie.

Chacun de ces organes peut s'infecter, mais les infections les plus courantes touchent la vessie et l'urètre. C'est ainsi que l'infection urinaire se déclenche.

Alors ; pourquoi les femmes sont les plus souvent infectées par les IU ?

La réponse à cette question est tout simplement anatomique.

En effet, chez les femmes l'urètre est situé près de l'anus. Lors de l'évacuation des selles, les bactéries en présence se trouvent relativement proche de l'urètre et sont donc en mesure de s'y engouffrer et causer des infections. En outre, les femmes qui s'essuient avec un mouvement de l'arrière vers l'avant, ont plus de chances de transporter ces bactéries de l'anus vers l'urètre; et donc de contracter une infection urinaire.

Par ailleurs, l'urètre de la femme est plus court que celui des hommes. Les bactéries ont donc moins de distance à parcourir pour atteindre la vessie et l'infecter...

Les relations sexuelles peuvent aussi être à l'origine d'infections urinaires chez les femmes. Cela s'explique par le fait que les bactéries peuvent être poussées dans l'urètre pendant l'acte.

Il apparaît que les femmes enceintes sont aussi plus sujettes aux infections urinaires. Le fait de porter un bébé applique une pression sur l'ensemble du système urinaire, ce qui le fragilise et augmente le risque d'infection.

La deuxième hypothèse toujours des statistiques avec le logiciel SPSS, on vérifiant le facteur des espèces responsables des IU et le pourcentage de chacun entre eux.

Tableau 6: Nombre de malade infecté par un des espèces responsable des IU

	Effectifs	Pourcentage	Pourcentage valide	Pourcentage cumulé
<i>Escherichia coli</i>	21	60,0	60,0	60,0
<i>Klebsiellapneumoniae</i>	7	20,0	20,0	80,0
<i>Proteusmirabilis</i>	3	8,6	8,6	88,6
<i>Streptococcus agalctiae</i>	3	8,6	8,6	97,1
<i>pseudomonasaeruginosa</i>	1	2,9	2,9	100,0
Total	35	100,0	100,0	

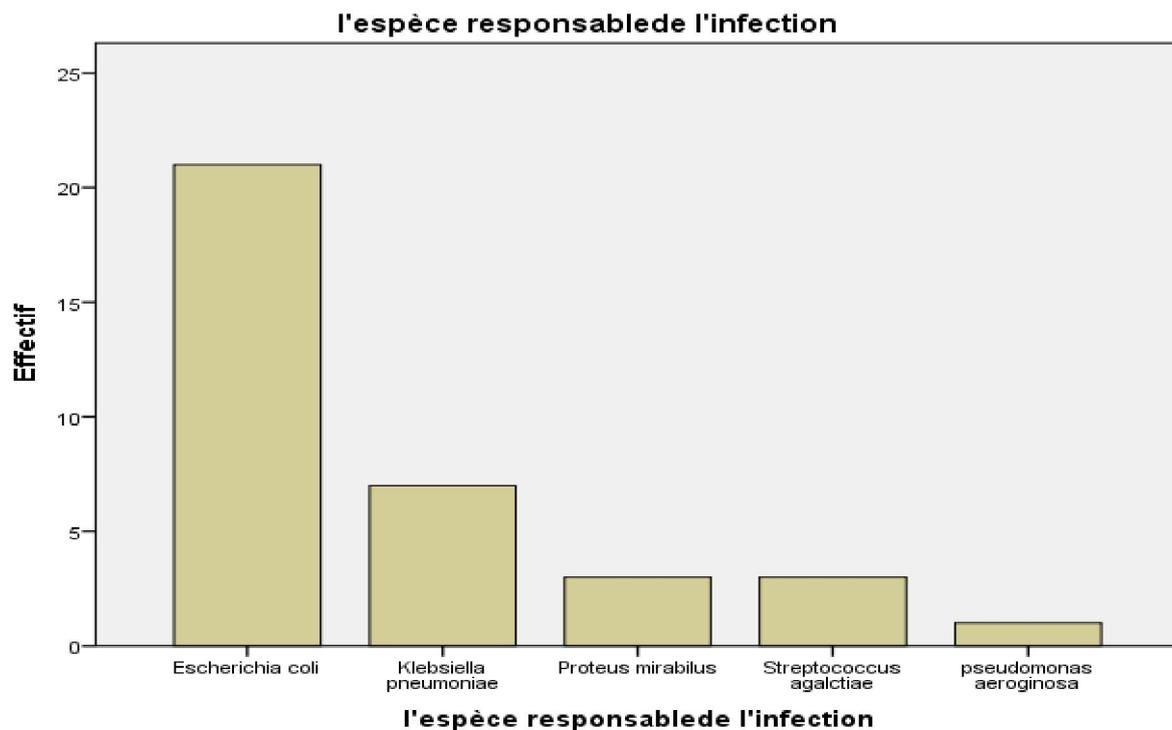


Figure 8: les bactéries responsables des infections urinaires

Tableau 7: Répartition des espèces responsables des IU selon le type de Gram

Effectif		Gram		Total
		BGN	BGP	
	<i>Escherichia coli</i>	21	0	21
	<i>Klebsiellapneumoniae</i>	7	0	7
	<i>Proteusmirabilis</i>	3	0	3
	<i>Streptococcus agalctiae</i>	0	3	3
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	0	1
Total		32	3	35

Tableau 8: Pourcentage de domination selon le type de Gram

	Effectifs	Pourcentage	Pourcentage valide	Pourcentage cumulé
BGN	32	91,4	91,4	91,4
Valide BGP	3	8,6	8,6	100,0
Total	35	100,0	100,0	

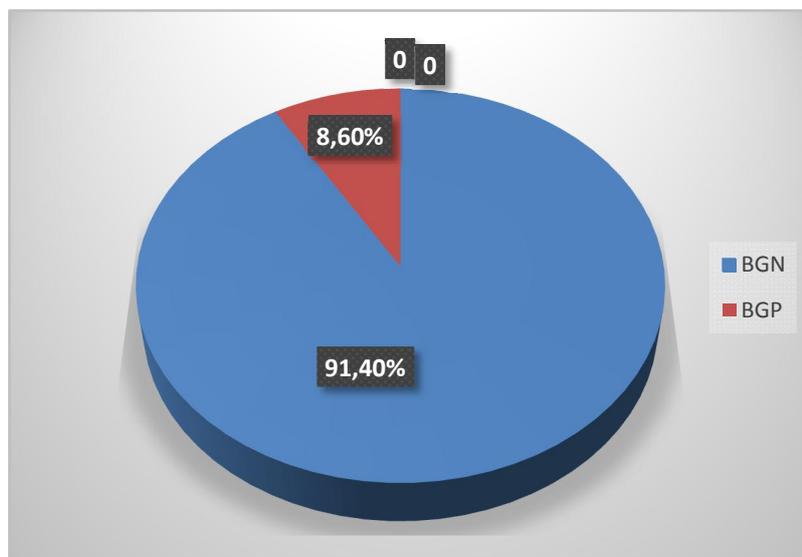


Figure 9: Pourcentage de domination selon le type de gram

A la fin, on confirme par des résultats statistiques selon un échèle de 35 cas étudié que *E.coli* est la première bactérie responsable des IU avec 21 cas dont les BGN sont les dominantes avec un pourcentage de 91.40% et les BGP 8.6 %.

L'*Escherichia coli* (*E. coli*) est une bactérie qu'on retrouve naturellement au sein de la flore intestinale d'origine alimentaire, elle en constitue même 80 %.

Elle empêche d'autres bactéries de coloniser la flore intestinale et d'engendrer des maladies. Lorsqu'elles sont dans l'intestin, la majorité de ses souches sont inoffensives et ne provoquent aucun symptôme. Certaines sont en revanche pathogènes et provoquent des troubles intestinaux.

La bactérie *E. coli* peut d'autre part être à l'origine d'infections urinaires (cystites) lors du passage de ces bactéries de l'intestin vers la vessie. Celles-ci touchent surtout les femmes en raison de leur anatomie.

D'autre part ; des bactéries vaginales transmissible par rapport sexuelle provoque les espèces *E.coli* latentes pour provoquer une IU.

« *Gardnerella vaginalis* (*G. vaginalis*), cette bactérie qui va réveiller *E. coli* dans la vessie, et l'induire ainsi à déclencher une nouvelle infection urinaire. Car la vessie, comme de nombreux organes est habitée par son propre microbiome ou communauté de microbes, dont ces réservoirs d'*Escherichia coli* latentes. On sait que les infections urinaires se produisent le plus souvent lorsque les bactéries qui vivent à l'intérieur de l'intestin pénètrent dans les voies urinaires et en particulier dans la vessie. Chez les jeunes femmes sexuellement actives, environ 80% des infections urinaires sont causées par *E. coli*... »

Autrement ; la répétition de l'acquisition d'une IU et le traitement par les antibiotiques, augmente le pouvoir de résistance d'une espèce donne, ce qui manifeste une diminution de l'auto immunité par le temps, ce qui explique le nombre élevé des sujet adultes et âgés infectés par rapports aux sujets jeunes et enfants.

II. METHODE CLASSIQUE (MANUELLE)

La notion méthode classique désigne une méthode de réalisation d'un ECBU par des moyens simples tels que le microscope optique pour l'examen cytologique et une des méthodes manuelles connus de l'antibiogramme, dans cette recherche on a utilisé la méthode diffusion par disque.

L'infection urinaire est actuellement définie par la présence de bactéries (généralement des *Enterobacteriaceae*) dans les urines qui, normalement, sont stériles. L'infection des voies urinaires se fait presque toujours par voie ascendante et par des bactéries commensales de l'intestin.

L'examen cyto bactériologique des urines est un examen microbiologique qui permet à la fois de diagnostiquer une infection urinaire en examinant la forme (cocci, bacillaire) et la mobilité des germes donc de les identifier de façon précise (examen bactériologique) et de déterminer aussi la présence de leucocytes, d'hématies, de cristaux et de levures (examen cytologique) [14].

1. Analyse cytologique : examen microscopique

A partir d'une culture, l'examen à l'état frais se pratique sur les cultures en milieu liquide (en milieu solide, la mobilité s'exprime mal et de façon aléatoire). Le but de le réaliser est de voir si y'a une infection ou non par l'absence ou la présence élevé des bactéries, hématies et leucocytes.

Le malade qu'on a proposé comme exemple pour expliquer le déroulement de cette méthode est un malade a été orienté au laboratoire par son médecin pour un ECBU dont le prélèvement a était au niveau du laboratoire.

Tableau 9: Information générale sur le malade exemple

Malade N°	sexe	Age	Interrogatoire	Prélèvement	Aspect des urines
28	femme	38 ans	Etat normale	Au laboratoire	Légèrement trouble

- L'observation microscopique montre :
 - Plusieurs 120éléments/mm³ sur cellule de Mallassez.
 - Présence de nombreuses hématies.
 - Nombreuses cellules épithéliales.
 - Présence de cristaux (oxalate de calcium).
- Résultats de la bandelette urinaire

Tableau 10: les Résultats de l'analyse cytologique par BU pour le malade N°28

Malade N°	PH	Densité	Leucocyte	Sang	Nitrite	Protéine
28	5	1.030	++	+	+++	+

REMARQUE

Malgré qu'il y ait un nombre élevé de leucocytes et hématies mais on ne peut pas confirmer la présence d'une infection urinaire si on ne voit pas la culture.

2. Identification bactériologique

- Observation macroscopique des colonies après ensemencement et incubation à 35 C°/24H. : culture de concentration 10^5 .

Dans ce stade on est sure que ce malade est un porteur d'une infection urinaire et qu'il est nécessaire d'effectuer une identification microbienne et un antibiogramme.

NOTER BIEN

La déclaration de la présence d'une infection urinaire est basée sur :

- La présence d'un taux élevé des leucocytes et hématies dans les urines.
- Un profil bactérien de concentration égale ou supérieur à $10^5/\text{mm}^3$.

Tableau 11: Les caractères morphologiques observés pour les colonies des microorganismes présentes chez le sujet N° 28

Caractères morphologique	Forme	Relief	transparence	surface	Consistance	pigment
résultats	ronde	bombée	opaque et souvent confluyente	Lisse	Non muqueuse	Non pigmenté

- Observation microscopique

La coloration de Gram (observé sous microscope optique à Gx100) montre des bacilles de couleur rose ça veut dire que l'espèce bactérienne est de Gram négative.

- Chimie urinaire

Tableau 12: les résultats obtenus de la galerie API 20 E

Test	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
résultats	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+
Codes	5			1			4			4			5			7			2	

Le code 5144572 et les autres informations collecter d'après les examens macro et microscopique correspond à l'espèce *Escherichia coli*.

REMARQUE

Il existe notamment une autre méthode utilisée dans les laboratoires pour l'identification biochimique dont on réalise une série de test (urée-indole, TSI et ONPG) pour savoir les caractéristiques biochimique de l'espèce.

- Antibiogramme par diffusion de disques (Annexes 04)

Au début de notre étude, on a testé la qualité de nos antibiotiques sur des des souches de référence:

- *E.coli* ATCC 25922 (pour les BGN)
- *Streptocoque pneumonie* ATCC 49619(pour les BGP).

Les résultats de la sensibilité obtenus par la suite après incubation 24H/37C° comme ceci :

Tableau 13: Résultats d'antibiogramme par diffusion des disques pour *E.coli* ATCC 25922

Antibiotiques	Charge du disque	Diamètre mesuré (mm)	Diamètre critique (mm)
AMPICILLINE	10 µg	19	16-22
AMOXICILLINE	20/10 µg	20	18-24
PEPIRACILLINE	100 µg	34	24-30
CEFALOTINE	30 µg	31	15-21
CEFOXITINE	30 µg	32	23-29
CEFOTAXIME	30 µg	44	25-31
AMIKACINE	30 µg	26	19-26
GENTAMYCINE	10 µg	23	19-26
TOBRAMYCINE	10 µg	23	18-26
A.NALDIXIQUE	30 µg	30	22-28
CIPROFLOXACINE	5 µg	40	30-40
NITROFURANTOINE	300 µg	32	20-25
TRIMETHOPRIME/ SULFAMETHOXAZOLE	1.25/23.75 µg	32	23-29
IMIPENEME	10 µg	11	26-32

Tous les diamètres obtenus sont égaux ou supérieurs à celle de référence sauf l'IMIPENEM qui a un diamètre inférieur, alors on a l'éliminé de la liste des ATB utilisés dans cette recherche.

- *streptocoque pneumonie* ATCC 49619

Tableau 14: Résultats d'antibiogramme par diffusion des disques pour *Streptocoque pneumonie* ATCC 49619

Antibiotiques	Charge de disque	Diamètre mesuré (mm)	Diamètres de référence
AMOXICILLINE	20/10 µg	40	-
CIPROFLOXACINE	5 µg	28	-
TRIMETHOPRIME/ SULFAMETHOXAZOLE	1.25/23.75 µg	27	20-28
NITROFURANTOINE	300 µg	24	23-29
CEFOXITINE	30 µg	33	33-41
TETRACYCLINE	30 µg	36	27-31
PENICILLINE	10 µg	48	24-30
TIGECYCLINE	30 µg	23	23-29
ERYTHROMYCINE	15 µg	29	25-30
DOXYCYCLINE	30 µg	36	25-34
VACOMYCINE	30 µg	22	20-27
HLG	-	32	

A la fin on a eu une gamme d'antibiotique de bonne qualité prêts à être utilisés.

- Antibiogramme

Après l'exécution du protocole d'antibiogramme et incubation pendant 24H/37 C° on a obtenu les résultats suivants pour le cas étudié malade N° 28.

Tableau 15:Résultats d'antibiogramme par diffusion des disques pour le malade N°28

Antibiotiques	Diamètre mesuré(mm)	Diamètre résistance	Diamètre intermédiaire	Diamètre de sensible	Interprétation
AMPICILLINE	-	<= 13	14-16	>= 17	Résistant
AMOXICILLINE	10	<= 13	14-16	>= 18	Résistant
PEPIRACILLINE	10	<= 17	18-20	>=20	Résistant
CEFALOTINE	13	<= 14	15-17	>= 18	Résistant
CEFOXITINE	25	<= 14	15-17	>= 18	Sensible
CEFOTAXIME	28	<= 22	23-25	>= 26	Sensible
AMIKACINE	20	<= 14	15-16	>= 17	Sensible
GENTAMYCINE	16	<= 12	13-14	>15	Sensible
TOBRAMYCINE	16	<= 12	13-14	>= 15	Sensible
A.NALDIXIQUE	22	<= 13	14-18	>= 19	Sensible
CIPROFLOXACINE	26	<= 15	16-20	>21	Sensible
NITROFURANTOINE	20	<= 14	15-16	>= 17	Sensible
TRIMETHOPRIME/ SULFAMETHOXAZOLE	-	<=10	11-15	>= 16	Résistant

- lecture interprétative

Les souches chez le sujet N° 28 présentent une résistance pour cinq types d'antibiotiques : ampicilline, amoxicilline, piperacilline, cefalotine et triméthoprimesulfaméthoxazole, car le diamètre obtenu est inférieur à celui de la barre de résistance.

Ceci est la conséquence d'une résistance bactérienne vers ces ATB à force de l'utilisation répétée, c'est-à-dire que l'antibiotique n'a pu éliminer la souche non parce l'ATB est de faible dose, mais parce que la souche a développé un mécanisme de défense vers cet antibiotique.

De l'autre côté ; la bactérie est sensible vers le reste des ATB de notre gamme, mais par cette méthode (mesure de diamètre) on ne peut pas confirmer quel est l'ATB qu'a l'effet parfait sur le malade ou bien la dose car la CMI est encore inconnu.

C'est vrai qu'on est en courant quels sont les ABT qu'ont un pouvoir de toxicité vers les souches étudiées, mais sans savoir la CMI on fait un risque d'une résistance bactérienne vers un ATB qu'est aujourd'hui capable de l'éliminer, parce que la CMI donne la dose d'ATB exacte et suffisante pour éliminer toutes les colonies.

Alors on peut dire que ; par cette méthode, le choix d'un ATB d'après la collection dont la souche est sensible vers lui se fait d'une manière dite au hasard.

- Les avantages de cette méthode
 - Cette méthode permet aux nouveaux techniciens de maîtriser la manipulation manuelle.
 - Oblige le microbiologiste d'avoir une performance scientifique importante pour comprendre ce qui se passe sur la plaque.
 - L'utilisation de cette technique prouve le niveau et la compétence du technicien puisque c'est la base en microbiologie.
- Les inconvénients de cette méthode
 - Une procédure très longue (48 heures de plus)
 - Méthode demande beaucoup de matériels et plusieurs étapes.
 - Toujours avoir la peur d'une contamination.
 - Possibilité d'avoir des faux résultats conséquence de la mauvaise manipulation et/ou le non-respect des règles de stérilisation.
 - La possibilité d'avoir des erreurs de gestion et classification des échantillons.

III. METHODE AUTOMATISE

Cette recherche traite essentiellement un des automates de cytologie urinaire les plus rencontrés sur le marché français en décrivant succinctement son principes et performances analytiques. La cytologie manuelle présente généralement des résultats semi-quantitatifs et une relative variabilité inter-opérateur. Elle consomme du temps et d'effort.

Les résultats d'identification et d'antibiogramme par Vitek 2 compact sont obtenus sur une fiche technique imprimée automatiquement avec l'ensemble des paramètres du malade.

L'automate Vitek 2 compact affiche l'espèce de la souche inconnue ainsi que le profil de résistance et de sensibilité de cette souche aux antibiotiques testés. Il utilise 18 antibiotiques de plus pour chaque souche étudiée. Par contre, l'antibiogramme classique utilise moins de 18 antibiotiques (soit 10 à 13 antibiotiques).

- Information sur le malade (le même cas étudié par la méthode classique)

Tableau 16: informations sur le cas étudié

Malade N°	sexe	Age	Interrogatoire	Prélèvement	Aspect des urines
28	femme	38 ans	Etat normale	Au laboratoire	Légèrement trouble

1. Analyse cytologique(annexe 3)

L'automate de cytologie urinaire permet de rendre un résultat quantitatif, rapide et plus fiable. L'automate permet de standardiser la cytologie urinaire et offre une économie substantielle en temps technicien.

Les urines transférés à la payasse de bactériologie dans des flacons seront remplis dans des tubes de 10 ml pour commencer l'examen cytologique par la UF-500.

la UF-500 peut traiter 10 tubes au même temps c'est pour ça la codification des tube est indispensable. Après quelque minute on a obtenu les résultats suivants :

Tableau 17: Résultats d'examen cytologique fourni par l'UF-500i

Hématies/ μ l	Leucocytes/ μ l	Bactéries/ μ l	Levures/ μ l	Cristaux/ μ l
Référence \leq 20	Référence \leq 25	Référence \leq 1000	présence	Présence
239.6	35.1	2332.5	1.7	71.3

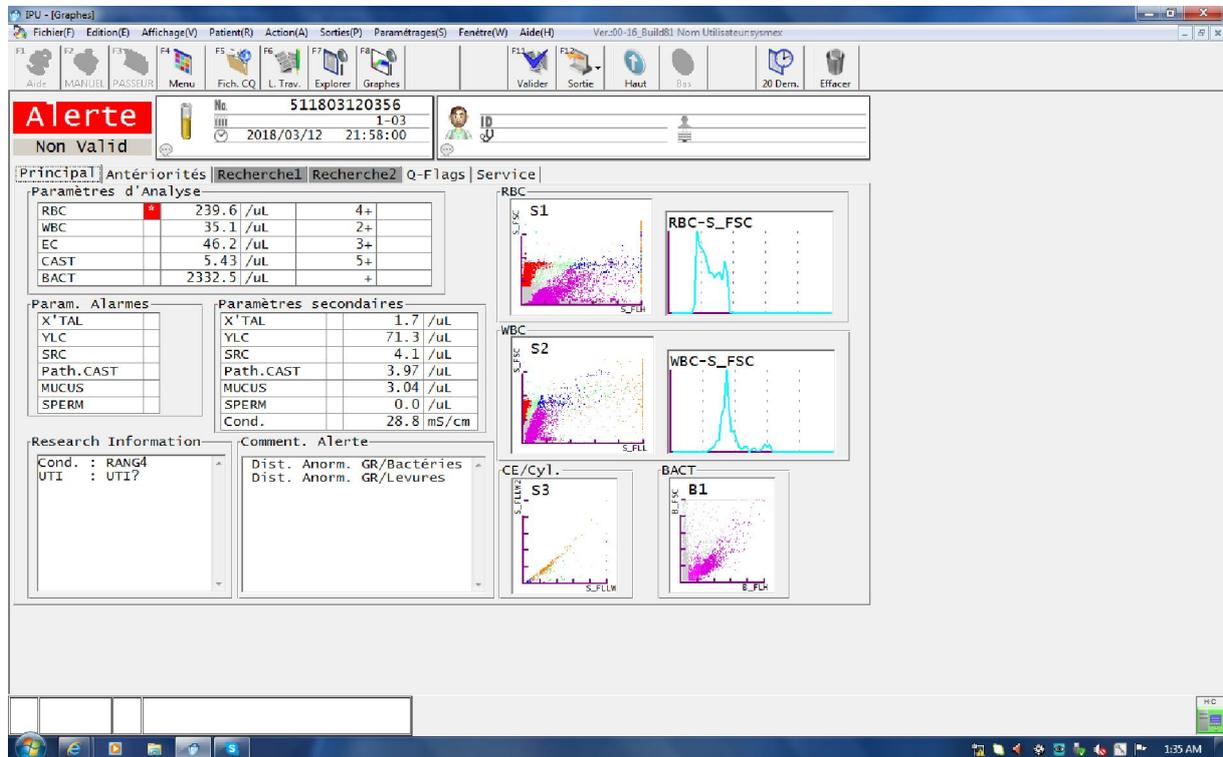


Figure 10: les résultats de l'analyse cyto bactériologique affichés par UF-500i

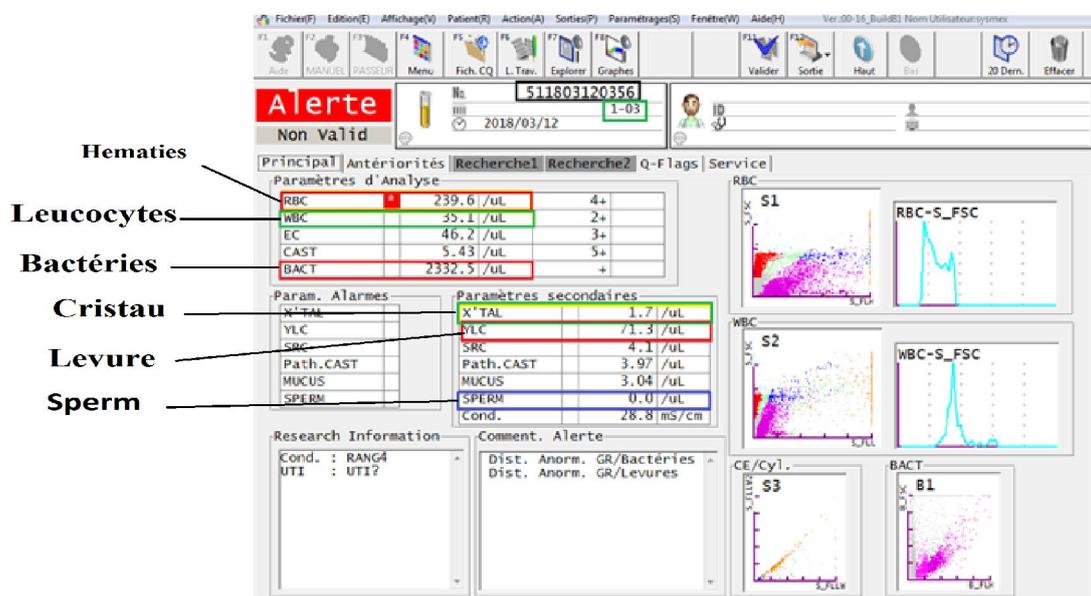


Figure 11: lecture des résultats affichés par UF-500i

- Observation microscopique

Contrairement à la méthode classique, l'utilisation du microscope optique n'est pas pour voir s'il y ait des leucocytes ou des hématies, mais pour voir le type des cristaux si la machine annonce leur présence dans les urines.

Pour ce cas, le type des cristaux présent dans les urines c'est bien l'oxalate de calcium.

- Bandelette urinaire

En fait ; l'utilisation de la bandelette dans cette méthode est pour confirmer les résultats obtenus et éviter tout risque d'erreur.

L'interprétation des résultats de la bandelette se fait selon le virage de couleur sur la bandelette et les comparés avec le menu sur la boîte des bandelettes.

Tableau 18: résultats de la bandelette urinaire pour le sujet N° 28

Malade N°	PH	Densité	Leucocyte	Sang	Nitrite	Protéine
1802120356	5	1.030	+++	++	+++	+

2. Identification bactériologique

- Culture microbienne

Dans le but d'identifier les microorganismes présents dans les urines, on fait un ensemencement de l'urine sur un milieu de culture chromogène : milieu Chromagare

Après incubation, une culture microbienne sur milieu chromagare constitué par des colonies de couleur **rose**, c'est-à-dire l'espèce est : *E. coli*. (Annexes 02)

- antibiogramme par le Vitek 2 (Annexes 04)

LAM OUAMANE

N°Client bioMérieux : 13744
 Référence du système : VK2C 13744

Rapport du laboratoire

Imprimé le 13 mars 2018 07:36 GMT+01:00
 Imprimé par : LabTech
 Version du rapport : 2 / 2
 ID du patient : 1803120356
 Balise : EGBU

Nom du patient :
 Groupe d'isolats : 511803120356-1

Type de carte : AST-N233 Instrument de test : 000617229C1F (LAM OUAMANE)

Numération :
 Germe sélectionné : Escherichia coli

Informations sur l'identification	
Germe sélectionné	Escherichia coli
Commentaire sur l'ident :	Entré le : 12 mars 2018 09:37 GMT+01:00 Par : LabTech

Résultats Antibiogramme	Carte : AST-N233	N°de lot : 6330075403	9 nov. 2016 12:00 GMT+01:00		
	12 mars 2018 16:34 GMT+01:00	État : Final	Heure de l'analyse : 7,00 heures		
Antibiotique	CMI	Interprétation	Antibiotique	CMI	Interprétation
Ampicilline	>= 32	R	Imipénème	<= 0,25	S
Amoxicilline/acide clavulanique	>= 32	R	Amikacine	4	S
Ticarcilline	>= 128	R	Gentamicine	2	S
Pipéracilline/tazobactam	>= 128	R	Tobramycine	2	S
Céfaloine	32	R	Acide nalidixique	4*	*R
Céfoxime	<= 4	S	Ciprofloxacine	<= 0,25	S
Céfotaxime	<= 1	S	Ofloxacine	0,5	S
Ceftazidime	<= 1	S	Nitrofurantoïne	<= 16	S
Ertapénème	<= 0,5	S	Triméthoprime/sulfaméthoxazole	>= 320	R

*= Antibiotique déduit **= Modification AES ***= Modification Utilisateur

Résultats AES :		Global
		Dernière modification : 14 nov. 2016 11:20 GMT+01:00
		Normes/Phénotype : CLSI-based+ : Natural Resistance
Niveau de fiabilité :	Concordant après correction	

Version de VITEK 2 Systems installée : 07.01
 Norme d'interprétation des CMI : Global CLSI-based
 Nom du jeu de paramètres AES : Global CLSI-based+Natural Resistance
 Politique d'interprétation thérapeutique : NATURAL RESISTANCE
 Dernière modification du paramètre AES : 14 nov. 2016 11:20 GMT+01:00

Figure 12: Résultats d'antibiogramme fournit par le Vitek 2 (page 1/2)

- expertise du système AES

Résultats Antibiogramme			Carte : AST-N233	N° de lot : 6330075403	Date : 9 févr. 2018 12:00 GMT+01:00
			Terminé : 12 mars 2018 16:34 GMT+01:00	État : Final	Heure de l'analyse : 7,00 heures
Antibiotique	CMI	Interprétation	Antibiotique	CMI	Interprétation
Ampicilline	>= 32	R	Imipénème	<= 0,25	S
Amoxicilline/acide clavulanique	>= 32	R	Amikacine	4	S
Ticarcilline	>= 128	R	Gentamicine	2	S
Pipéracilline/tazobactam	>= 128	R	Tobramycine	2	S
Céfalotine	32	R	Acide nalidixique	4*	*R
Céfoxitine	<= 4	S	Ciprofloxacine	<= 0,25	S
Céfotaxime	<= 1	S	Ofloxacine	0,5	S
Ceftazidime	<= 1	S	Nitrofurantoïne	<= 16	S
Ertapénème	<= 0,5	S	Triméthoprime/sulfaméthoxazole	>= 320	R

*= Antibiotique déduit **= Modification AES ***= Modification Utilisateur

Figure 13: Résultats d'expertise par l'AES du Vitek 2

Le système AES est un système de contrôle qui s'intervient lors d'une erreur de résultats, il single l'erreur et le corrige à partir de son base de données qui contient des milliers de phénotypes pour souches étudiées. (Explication du principe de AES partie théorique chapitre2).

Dans ce cas, il y avait une incompatibilité de la CMI obtenu de l'antibiotique *acidenalidixique* l'autre de l'expert AES pour avoir une identification phénotypique correcte.

AES interprète la sensibilité ou la résistance de la souche vers *l'acide nalidixique* selon le barème suivant :

- **Phénotype sauvage** : si CMI entre 0.5 µg- 8 µg.
- **Sensibilité** : si CMI <= 16 µg.
- **Résistance** : si CMI >= 32 µg.

Comme la CMI qu'on a obtenu = 4 µg, l'AES intervenait et changeait l'interprétation de la sensibilité vers la résistance car le ce phénotype devient reconnue par l'expert quand la CMI sera >= 8 µg.

Le vitek2 nous fournit aussi un document dont l'explication de l'expertise de l'AES est claire, bien détaillé et encore le phénotype de l'espèce et l'autre modifier pour une meilleure identification.

Il compare alors le phénotype obtenu avec le modèle enregistré du phénotype de la même espèce

S'il trouve un caractère anormal, l'AES s'intervient et modifier le phénotype anormal à celui correspond à l'espèce.

LAM OUAMANE
Rapport AES

N°Client bioMérieux : 13744
Référence du système : VK2C 13744

Imprimé par : LabTech
Imprimé : 14 mars 2018 10:24 GMT+01:00

Numéro d'échantillon : 511803120356-1

Date de l'analyse : 12 mars 2018 17:29 GMT+01:00

Germe sélectionné : Escherichia coli
Fiabilité AES : Concordant après correction (voir différences CMI/test)

Fiabilité de l'ID :

Phénotypes

Famille d'antibiotiques	Phénotypes détectés
BÉTA-LACTAMINES	OXA-1 BÉTALACTAMASE RESSEMBLANTE, PÉNICILLINASE ACQUISE
AMINOSIDES	SAUVAGE
QUINOLONES	RÉSISTANCE PARTIELLE
FURANES	SAUVAGE
TRIMÉTHOPRIME/SULFAMIDES	RÉSISTANT

Interprétations thérapeutiques

Antibiotique	Modifications de l'interprétation	Raison (règle ou phénotype)
Acide nalidixique	Modifier S en R	Écart de CMI

⊕ Différences CMI/Ab

Famille d'antibiotiques	Antibiotique(s)/test	Phénotypes détectés	Description des résultats
QUINOLONES	Acide nalidixique	RÉSISTANCE PARTIELLE	Dilutions valeur CMI 5 trop faible pour meilleure correspondance du phénotype.

Déductions d'antibiotiques

Aucun(e)

Figure 14: rapport de l'identification bactérienne après la modification du système AES

À la fin du processus on obtient le résultat final concernant le phénotype bactérien avec remarque du niveau de fiabilité.

Résultats AES :	Dernière modification : 14 nov. 2016 11:20 GMT+01:00	Normes/Phénotype : Global CLSI-based+ : Natural Resistance
Niveau de fiabilité :	Concordant après correction	

Figure 15: niveau de fiabilité fournit par Vitek 2 du phénotype obtenu avec celui de la base de données du système AES

- Interprétation d'antibiogramme

Tableau 19: Résultats de la CMI et l'interprétation d'antibiogramme fournit par le Vitek2

Resultants Antibiogramme	Carte : AST-N233		N°de lot : 6330075403	Péréemption : 9 févr. 2018 12:00 GMT+01:00	
	Terminé le : 12 mars 2018 16:34 GMT+01:00		État: al Fin	Heure de l'analyse : 7,00 heures	
Antibiotique	CMI	Interprétation	Antibiotique	CMI	Interprétation
Ampicilline	>= 32	R	Imipénème	<= 0,25	S
Amoxicilline/acide clavulanique	>= 32	R	Amikacine	4	S
Ticarcilline	>= 128	R	Gentamicine	2	S
Pipéracilline/tazobactam	>= 128	R	Tobramycine	2	S
Céfalotine	32	R	Acidénalidixique	4*	*R
Céfoxitine	<= 4	S	Ciprofloxacine	<= 0,25	S
Céfotaxime	<= 1	S	Ofloxacine	0,5	S
Ceftazidime	<= 1	S	Nitrofurantoïne	<= 16	S
Ertapénème	<= 0,5	S	Triméthoprim/sulfaméthoxazole	>= 320	R

La souche responsable de l'infection pour ce malade est *escherichiacoli*, d'après l'antibiogramme ; elle est sensible pour plusieurs antibiotique : ampicilline, amoxicilline, pipéracilline, céfalotine et Triméthoprim/sulfaméthoxazole mais savoir la sensibilité d'une souche a un antibiotique donné n'est pas suffisante pour le traitement du malade.

Donc il faut choisir un des antibiotiques qui a vraiment inhibé la croissance de la souche, le médecin doit alors choisir un antibiotique d'après les résultats de l'antibiogramme avec précision.

Comme tous les malades qu'on a étudiés sont des malades normaux (ne présentent aucune maladie virale et/ou chronique ou bien des femmes enceinte) le choix d'antibiotique se fait selon deux critères :

1. CMI : l'antibiotique qui a la plus petite concentration d'antibiotique à effet maximale sur la souche car l'augmentation de la concentration ou la dose de l'antibiotique cause un risque de toxicité pour le malade.
2. Allergie vers un antibiotique : le médecin prend en considération si le malade présente une allergie vers l'antibiotique choisit.

Appliquant un choix d'antibiotique sur notre malade exemple selon les critères au-dessus, on exprime que l'antibiotique idéal pour ce malade est *Ertapénème* ou *ciprofloxacine* car les deux antibiotiques ont une **CMI $\leq 0.5 \mu\text{g}$** .

Les avantages et les inconvénients de cette méthode

- Un protocole très rapide et facile.
- Des résultats exacts sans aucun doute.
- Aide à contrôler le développement de la résistance bactérienne.
- Le technicien qui n'est pas capable de maîtriser les techniques classique n'est capable de maîtriser celle-ci.

Pour les inconvénients, il est illogique de dire qu'il y a pas d'inconvénients clairs, mais on considère les pannes mécaniques dites techniques de la machine, ou bien l'absence des produits nécessaires pour le fonctionnement des appareils tel que les réactifs comme des inconvénients.

IV. ANALYSE, DISCRIPTION ET COMPARAISON ENTRE LES DEUX METHODES

L'existence des laboratoires d'analyse médicale est axée sur les moyens classiques pour l'identification des bactéries d'intérêt clinique mais les scientifiques ne s'arrêtent pas sur ces moyens, ils cherchent toujours à aller plus loin, au-delà des performances. Leurs recherches leur ont permis d'automatiser les moyens classiques pour faciliter l'identification et l'antibiogramme en même temps.

Nous allons comparer les deux méthodes selon plusieurs critères dont on prend en considération les points critiques et de comparaisons entre les deux méthodes.

1- Multi-fonctionnement

La méthode classique sépare entre l'identification et l'antibiogramme par les différentes étapes de chacune dont l'identification de l'agent pathogène est orientée par l'examen direct, par l'aspect des colonies sur milieu usuel et par des tests simples et classiques d'identification biochimique (Frederic et *al.*, 2008).

Parallèlement à l'identification, un antibiogramme doit être réalisé sur gélose de Mueller Hinton par la méthode de diffusion des disques chargés d'antibiotiques. Il permet de dépister la résistance des bactéries aux antibiotiques et de réévaluer le traitement empirique (Frederic *et al.*, 2008).

Mais les automates proposent des plaques éventuellement combinées, dites « combo », regroupant l'identification et l'antibiogramme. L'automate Vitek 2 possède des cartes séparées mais les résultats de lecture sont interprétés conjointement (Freney, 2007).

La multitude des plaques associées à l'identification, le nombre et le type d'antibiotiques variables selon les groupes bactériens sont des arguments non négligeables dans le choix de l'automate.

2- Fiabilité

Les automates sont plus fiables pour une bonne identification et un bon antibiogramme que les moyens classiques parce que ces derniers présentent un risque de contamination au cours des différentes étapes de manipulation manuelle ; les méthodes

automatisées, par contreprésentent un nombre minimum d'étapes par conséquent, le risque de contaminationdiminue.

Au même temps; l'automate donne des résultats exacte de la CMI par contre les résultats de la méthode manuelle sont des estimations.

3- Informatique

L'informatique des automates peut posséder une ou plusieurs fonctions allant de la reconnaissance automatique des plaques à une connexion sur une informatique centrale en passant par une gestion des résultats. Ces multifonctions peuvent être intéressantes dans un cadre de réorganisation et de traçabilité : elles permettent de mettre à la disposition du biologiste, s'il n'en avait pas, un outil épidémiologique (Freney, 2007).

La méthode classique d'identification et d'antibiogramme ne possède aucun type d'informatique, toutes les étapes se font manuellement et avec l'observation à l'œil nu. Ces techniques manuelles doivent déterminer les différents caractères des bactéries inconnues.

4- Le système expert

L'identification bactérienne est validée par le biologiste en vu des résultats biochimiques et de ceux de l'antibiogramme. L'ensemble est corrélé à la nature du prélèvement et à l'épidémiologie. Un système Expert existe pour l'ensemble des automates permettant de valider l'identification à l'antibiogramme ; il peut être plus ou moins performant.

Il est généralement possible de modifier ou de rajouter des règles d'expertise interne (Frederic et *al.*, 2008).

Ainsi, le système Expert n'existe que dans les automates seulement et l'identification et l'antibiogramme au niveau des moyens classique n'utilisent pas ce système et l'interprétation des résultats se fait manuellement.

5- Cout

- Le coût de l'appareil lui-même correspondant à l'investissement de base pour le fonctionnement (l'existence de plusieurs modèles pour un même automate permet d'avoir le choix selon le nombre d'identifications ou d'antibiogrammes quotidiens).

Les appareils les plus automatiques étant compris dans une même fourchette de prix public voisine de 100 000 euros(Freney, 2007).

- Le coût de consommables, aussi bien le support des tests que les tubes, pipettes ou réactifs de révélation, correspond au prix de revient d'une identification sans tenir compte de l'amortissement de l'appareil.

- Les coûts des pièces de maintenance, du papier d'impression ainsi que les coûts indirects correspondant éventuellement à l'identification à refaire, interviennent aussi dans le prix global de revient (Freney, 2007).

Les moyens utilisés pour l'identification et l'antibiogramme classiques (les milieux de culture, les boîtes de Pétri...), sont moins chers que les automates.

6- Temps

Les résultats d'identification et d'antibiogramme au niveau des moyens classiques sont lents : 24 à 96 heures à cause de la préparation manuelle de toutes les étapes du début jusqu'à la fin c'est-à-dire l'inoculation, l'ensemencement, l'incubation qui prend beaucoup de temps et enfin la lecture, mais l'automatisation de l'identification et de l'antibiogramme permet sur l'étape d'inoculation et d'incubation-lecture un gain de rapidité réel de 3 à 7 heures. L'identification bactérienne est rendue plus vite.

La lecture des résultats par les automates dépend de différents facteurs : la taille de l'inoculum, l'agitation des dispositifs ensemencés, l'analyse informatique des lectures très fréquentes des tests et les systèmes de détection de la positivité des réactions.

Conclusion Générale

Arrivé au terme de cette recherche au cours de laquelle nous avons essayé d'examiner un sujet très important et très profond. Il s'agissait d'une étude comparative entre deux méthodes d'analyse des échantillons liés aux infections urinaires: la méthode classique et celle dite automatisée. En effet, les différentes définitions proposées à ces deux méthodes montrent clairement que les l'automatisation dans les recherches récentes est plus utilisée au monde par rapport à la méthode classique. Contrairement à ce qui se passe en Algérie où la méthode classique domine l'automatisation. Aussi, bien qu'elles ne s'opposent pas, les deux méthodes se partagent plusieurs aspects positifs, et c'est ainsi qu'elles se complètent. Cependant, les analyses que nous avons menées ont bien mis l'accent sur les avantages de l'automatisation que nous résumons dans ce qui suit:

- L'automatisation s'est avérée plus fiable que la méthode classique dans le sens où elle réalise l'ensemble des opérations analytique avec beaucoup de précision, objectivité et scientificité;
- L'automatisation avec ces outils de pointe et ces techniques de rigueur facilite la réalisation de toutes les tâches en un temps record;
- L'automatisation demeure une méthode qui ouvre les issues et les perspectives pour accéder à d'autres objets de recherche surtout en matière de résistance bactérienne et/ou l'utilisée pour l'étude et l'identification d'autre maladies d'origine bactérienne ou fongiques.

De toute manière, nous avons cherché dans cette étude à valoriser la fiabilité de l'une ou de l'autre méthode pour proposer un outil valable et efficace dans l'analyse des données en matière d'examen cytot bactériologique.

Aussi, diversifier les méthodes d'analyse et multiplier les moyens adéquats selon les caractéristiques de chaque type d'analyse et de chaque opération dans le processus d'un système d'examen cytot bactériologique. Il est enfin souhaitable de recommander la dotation des laboratoires installés par des outils de pointe et de tailles technologiques incontestables. Encore, la compétence en matière de connaissances fondamentales (pour les praticiens) et la maîtrise en matière technique (pour les techniciens) doivent être prises en charge par les instances et les institutions scientifiques dans les différentes opérations des analyses cytot bactériologiques.

Référence

Bibliographique

Bibliographie

I. OUVRAGES

1. AFSSAPS (Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé). Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires chez l'adulte. *Médecine Mal Infect* 2008;38 Suppl 3:S203–252.
2. Avril J.L., Dabernat H., Denis F., Monteil H., (1992). *Bactériologie clinique*. 2^{ème} édition ; Edition Ellipses ; Paris. PP : 149-151.
3. Ben Rais N. et Ghfir I. 2002. Anatomie et physiologies de l'appareil urinaire. Edition Lammare ; France. PP : 5-10.
4. Burgess, D.S. (1999) Pharmacodynamic principles of antimicrobial therapy in the prevention of resistance. *Chest*, , 115(3 Suppl): p. 19S-23S.
5. Carbonnelle B., Denis F., Marmonier A., Pinon G et Vargues R. (1987). *Bactériologie Médicale : Techniques usuelles*. S.I.M.E.P. S. A., Paris, p 121-137; 146-155.
6. Carmalt J.L., Baptiste K.E., and Chirino-Trejo J.M. (1999) *Actinobacillus lignieresii* infection in two horses. *J Am Vet Med Assoc*, , 215(6): p. 826-8
7. Croize J., Recule C., Pelloux I., Chantepedrix V., & Maurin M. (2007). L'automatisation en bactériologie: un challenge continu. L'expérience du Centre Hospitalier Universitaire de Grenoble. *Spectra biologie*, 160, 45.
8. Delarras C. (2007). *Microbiologie pratique pour le laboratoire (d'analyses ou de contrôle sanitaire)*. Ed médicales internationales TEC et DOC. p105 -107-108.
9. Dumontet M., Fuss-Ohlen I., Beaudoux J. L., Perrin A., Vassault A., Giroud C., ... & Robineau, S. (2004, January). Présentation, à l'usage des laboratoires d'analyses de biologie médicale, des normes de métrologie (Document A). In *Annales de Biologie Clinique* (Vol. 62, No. 1, pp. 121-125).
10. Ellatif O. (2011). Place des fluoroquinolones dans le traitement des infections urinaires dans les établissements de santé lorrains, université Henri Poincaré-Nancy 1.
11. Frederic J., Elvire M-K., Audrey M et Cavalloa J-D. (2008) Les difficultés d'interprétation de l'examen cytot bactériologique des urines *Revue francophone des laboratoires* - novembre 2008 - n°406 // p 52-53-57.
12. Freney J, Renaud P, Leclercq R Et Riegl P. (2007). *Précis de bactériologie clinique*. 2^{ème} Ed ESKA. p153 et 1012 1013.
13. Fried L.P., Tangen C.M., Walston J., Newman A.B., Hirsch C., Gottdiener J., et al. (2001) Frailty in older adults: evidence for a phenotype. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*;56:M146–156.
14. Geraldine P et Delphine R. (2003). Critères de choix d'une méthode d'identification. *DES*. p13.

15. Guide technique d'accréditation pour l'évaluation des incertitudes de mesure en biologie médicale COFRAC, 2011
16. Hamburger J. (1979). Petite encyclopédie médicale. Guide de pratique médicale, 15^{ème} édition ; Edition Flammarion. PP : 713-1402.
17. Klein J. P. (2011). L'accréditation en bactériologie. Revue Francophone des Laboratoires, 2011(436), 39-50.
18. Klein J.P., & Bazin P.O. (2014). L'audit en bactériologie clinique: du concept à la réalisation. Revue Francophone des Laboratoires, 2014(461), 77-93.
19. Le parrainage des antimicrobiens : vision 2010 Pharmactuel Vol. 42 Supplement 2 Decembre 2009
20. Maleb A., Sebbar E.H., Lahlou Y.B., Frikh M., Mikou K.A., Lemnouer, A., & Elouennass M. (2017). Évaluation des performances de l'automate de cytologie urinaire Sysmex UF-1000i. IRBM News, 38(6), 194-198.
21. Mandell G.L., Bennett J.E., Dolin R. Mandell. Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases. Sixième édition, Elsevier, Churchill Livingstone éditeurs, USA. Edition en ligne. <http://www.ppidoonline.com> (site visité le 1er avril 2009).
22. Mondor H. (2004). Les infections urinaires hautes et basses + parasitologie. France
23. Mortier, E., Toure S., Seyler C., Bloch M., & Anglaret X. (2003). Urinary pH in HIV-infected adults in Ivory Coast and in France. Aids, 17(13).
24. Pascal P., & Beyerle F. (2006). Les référentielles qualités applicables dans les laboratoires d'analyses de biologie médicale. Pathologie Biologie, 54(6), 317-324
25. Pebret F., Veron M. (1993).). Pathologie infectieuse et démarche de soins. Tom 1 ; Edition Heures de France. PP : 257-258.
26. Peyrou M. (2001). Antibiorésistance des souches bactériennes d'origine équine: étude bibliographique et exemple de l'hôpital vétérinaire de St-Hyacinthe (Doctoral dissertation).
27. Philippon A. (2000). Cours de bactériologie médicale : Entérobactéries. Faculté de médecine Cochin-Port-Royal Paris, France.
28. Plainvert C., Bidet P., Peigne C., Barbe V., Médigue C., Denamur E., ... & Bonacorsi S. (2007). A new O-antigen gene cluster has a key role in the virulence of the Escherichia coli meningitis clone O45: K1: H7. Journal of bacteriology, 189(23), 8528-8536.
29. Ravery V., Javerliat I., Toublanc M., Boccon-Gibod L., Delmas V., & Boccon-Gibod L. (2000). Caractéristiques des cancers prostatiques chez les français d'origine afro-antillaise. Progrès en urologie, 10(2), 231-236.
30. SPILF - Mise au point - Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires de l'adulte 2014. http://www.infectiologie.com/site/medias/Recos/2014-infections_urinaireslong.pdf (accessed June 5, 2015).

31. Twizeyimana E. (2016). Automates et uroculture: la cytologie urinaire. Revue Francophone des Laboratoires, 2016(482), 25-33.
32. Vilde G et Nauciel C. (2005). Bactériologie médicale connaissances et pratique. Masson. Paris
33. Wainsten J.P. (2012). La Larousse Médical. Edition Larousse ; Paris Cedex 06.

II. THESE ET MEMOIRE

1. Liazid A. (2012). Etude sur de la résistance aux antibiotiques des bactéries à Gram négatif non fermentaire au niveau de C. H. U. de Tlemcen. Université Abou Bekr Blkaid-Tlemcen.
2. Bakhoun I. (2004). Contrôle de qualité et validation de différentes méthodes d'identification bactérienne. Université Cheikh Antadiop de Dakar. Faculté de médecine, de pharmacie. Et d'odontologie -stomatologie.
3. Bouakkaz H et Boucherbit S. 2017. L'examen cytobactériologique des urines chez l'adulte : microbiologie fondamentale et appliquée. Mémoire de master, Université des Frères Mentouri Constantine.
4. Boudellaa Y et Bougattoucha W. (2010). Examen cytobactériologique des urines. Mémoire en ligne. Ecole de formation paramédicale de Skikda Algérie.
5. Boukhemis A., et Boutersa A. (2015). Identification et antibiorésistance de souche d'Escherichia coli et de Klebsiella pneumoniae des infections urinaires à l'aide des moyens classiques et des moyens automatisés : microbiologie fondamentale et appliquée. Mémoire de master, Université des Frères Mentouri Constantine.
6. Cognee. (2013). Validation de méthode en bactériologie cytologie urinaire automatisée. mémoire de diplôme universitaire : formation aux normes de qualité en vigueur applicables aux laboratoires de biologie médicale. Paris.

III. SITE WEB

1. -<http://www.biomérieux.com/fr/les-applications-du-diagnostic-clinique>.
2. -<http://www.biomérieux.com/fr/focus-industrie>.
3. -<http://www.biomerieux-diagnostics.com/vitek-2-compact>.
4. -<http://coproweb.free.fr/pagbac/enterob2.htm>.
5. -<http://www.microbes-edu.org/etudiant/entero.html>.
6. -<http://Sante-medecine.Commentca-marche.net/faq/7594-Escherichia-colisymptomes-et-traitement-definition>.
7. -<http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/resistlacta/POLY.Chp.9.html>.

Annexes

Tableau 20 : La game des ATB utilisés acer leur dose et la marque de fabricantur

Antibiotiques	Charge du disque	Marque du fabricantur
AMPICILLINE	10 µg	LIOFLICHEM
AMOXICILLINE	20/10 µg	HEMEDIA
PEPIRACILLINE	100 µg	LIOFLICHEM
CEFALOTINE	30 µg	LIOFLICHEM
CEFOXITINE	30 µg	LIOFLICHEM
CEFOTAXIME	30 µg	LIOFLICHEM
AMIKACINE	30 µg	LIOFLICHEM
GENTAMYCINE	10 µg	LIOFLICHEM
TOBRAMYCINE	10 µg	LIOFLICHEM
A.NALDIXIQUE	30 µg	LIOFLICHEM
CIPROFLOXACINE	5 µg	LIOFLICHEM
NITROFURANTOINE	300 µg	CYPRESSDIAGNOSTICS
TRIMETHOPRIME/ SULFAMETHOXAZOLE	1.25/23.75 µg	LIOFLICHEM
IMIPENEME	10 µg	LIOFLICHEM
PENICILLINE	10 µg	LIOFLICHEM
TIGECYCLINE	30 µg	LIOFLICHEM
ERYTHROMYCINE	15µg	LIOFLICHEM
DOXYCYCLINE	30 µg	CYPRESSDIAGNOSTICS
VACOMYCINE	30 µg	LIOFLICHEM
HLG	120 µg	LIOFLICHEM

ANNEXE 1

Compositions chimiques des milieux de culture et des réactifs

1- Les milieux de cultures

Gélose nutritive

Extrait de viande de bœuf.....	01g
Extrait de levure.....	02g
Peptone.....	05g
Chlorure de sodium.....	05g
Gélose.....	15g
pH.....	7,4

Gélose Mueller-Henton

Infusion de viande de boeuf.....	300m
Peptone de caséine	17,5g
Amidon de maïs	1,5g
Agar	10g
pH.....	7,4

2- Réactifs

Réactif de kovacs

Para diméthylaminobenzaldehyde	05g
Alcool iso amylique	75ml

Acide chlorhydrique (376)

25ml

Bleu de méthylène

Bleu de méthyle	01g
Eau distillée.....	20ml
Acide lactique	20g
Glycérol	40g
Phénol	20g

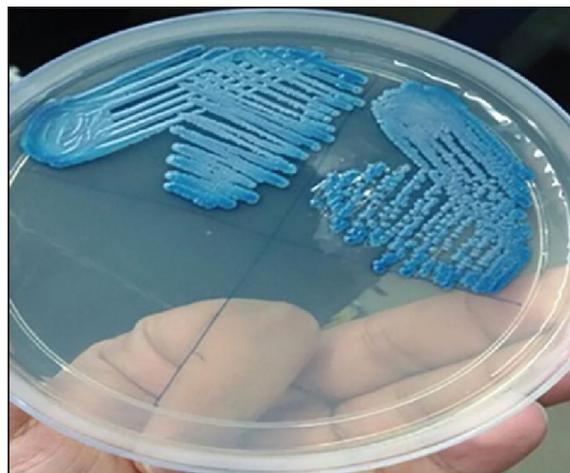
ANNEXE 2

**Aspect des colonies bactériennes et
leurs couleurs sur milieu
chromagare**

- *Escherichia coli*



- *Klebsiellapneumoniae*



- *Proteus mirabilis*



- *Pseudomonas aeruginosa*



- *Streptococcus agalctiae*



ANNEXE 03

**Résultats de l'analyse
cytobactériologique par l'UF-500i**

MALADE N°	HEMATIES	LEUCOCYTES	BACTERIES	LEVURES	CRISTAUX	ASPECT D'URINE
01	02	180	10500	absence	-	Trouble
02	<10 ¹	<10 ²	5300	présence	-	Clair
03	53	4600	18300	présence	-	Trouble
04	20	1250	34500	Absence	-	Clair
05	1700	1000	7900	Absence	-	Trouble
06	80	<10 ²	6000	Absence	-	Clair
07	65	<10 ²	1500	Absence	-	Clair
08	80	<10 ²	3000	Absence	-	Clair
09	15	04	2095	Absence	-	Clair
10	10	25	42200	Absence	-	Légèrement trouble
11	218	12	2000	Absence	-	Légèrement trouble
12	62	10	14400	Absence	-	Clair
13	20	10	3005	Absence	-	Clair
14	2000	45	7600	Absence	-	Hématique
15	125	30	2084	Absence	-	Clair
16	15	<10 ²	2300	Absence	-	Clair
17	2000	17	1600	Absence	+	Hématique
18	4345	2205	5799	absence	-	Hématique
19	870	91	2860	Absence	-	Clair
20	20	10	18000	Absence	-	Clair
21	21	06	2700	Absence	-	Clair
22	<10 ¹	03	1600	Absence	-	Clair
23	300	30	30000	Absence	-	Légèrement trouble
24	3700	44	35816	Absence	-	Hématique
25	3211	26	31414	Absence	-	Hématique
26	40	02	1500	Absence	-	Clair
27	5500	30	1400	Absence	-	Hématique
28	239	35	2332	présence	+	Légèrement trouble
29	20	20	29300	Absence	-	Trouble
30	2000	10	13400	Absence	-	Hématique
31	13	02	49996	Absence	-	Trouble
32	102	100	35781	Absence	-	Trouble
33	5508	10	2347	Absence	-	Hématique
34	185	25	10100	Absence	-	Légèrement trouble
35	55	15	1200	Absence	-	Clair

ANNEXE 04

**Les résultats d'antibiogramme
pour tous les malades par les deux
méthodes étudiées**

N° malade		01	02	03	04	05	06	07	08	10	11	12	13	14	15	16
Espèces (BGN)		<i>E.coli</i>	<i>kp</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>kp</i>	<i>E.coli</i>						
ANTIBIOTIQUES	AMPICILLINE	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S
	AMOXICILLINE	S	R	R	R	I	I	R	R	S	R	R	I	S	R	S
	PEPIRACILLINE	S	R	R	R	R	I	R	R	I	R	R	R	S	R	S
	CEFALOTINE	R	R	S	R	I	I	R	I	S	R	I	S	S	R	S
	CEFOXITINE	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
	CEFOTAXIME	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S
	AMIKACINE	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S
	GENTAMYCINE	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	TOBRAMYCINE	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	A.NALDIXIQUE	S	I	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S
	CIPROFLOXACINE	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S
	NITROFURANTOIN E	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
TRIMETHOPRIME/ SULFAMETHOXAZ OLE	S	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	I	S

Somme Manuelle

N° malade	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	
Espèces (BGN)	<i>kp</i>	<i>E.coli</i>	<i>Proteus</i>	<i>kp</i>	<i>Proteus</i>	<i>kp</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>kp</i>	<i>E.coli</i>	<i>Proteus</i>	<i>kp</i>	<i>pseud</i>	
ANTIBIOTIQUES	AMPICILLINE	S	R	S	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	
	AMOXICILLINE	S	S	S	S	I	R	S	I	I	R	I	R	R	S	I	S	R
	PEPIRACILLINE	S	R	S	I	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S
	CEFALOTINE	S	I	S	S	R	R	R	R	R	S	S	R	I	I	S	S	R
	CEFOXITINE	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
	CEFOTAXIME	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
	AMIKACINE	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	GENTAMYCINE	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	TOBRAMYCINE	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	A.NALDIXIQUE	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R
	CIPROFLOXACINE	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	NITROFURANTOINE	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	I	I	R
TRIMETHOPRIME/ SULFAMETHOXAZOLE	S	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	R	

Somme Manuelle

Somme Manuelle

N° malade		09	34	19
Espèces (BGP)		<i>streptococcus</i>	<i>streptococcus</i>	<i>streptococcus</i>
ANTIBIOTIQUES	GENTAMICINE A HAUTE CONCENTRATION	R	I	S
	ERYTHROMICINE	R	R	R
	CLINDOMYCINE	R	R	R
	TEICOPLANINE	S	S	S
	VANCOMYCINE	S	S	S
	TETRACYCLINE	R	R	R
	NITROFURANTOINE	S	S	S
	TRIMETHOPRIME/ SULFAMETHOXAZOLE	R	R	S

N° malade	01	02	03	04	05	06	07	08	10	11	12	13	14	15	16
-----------	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----

Espèces (BGN)		<i>E.coli</i>	<i>kp</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>kp</i>	<i>E.coli</i>						
ANTIBIOTIQUES	AMPICILLINE	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
	AMOXICILLINE	S	R	R	R	I	S	I	S	S	R	R	S	S	R	S
	PEPIRACILLINE	S	S	R	R	S	S	I	R	S	I	R	S	S	S	S
	CEFALOTINE	I	R	S	I	I	I	S	S	S	R	I	S	R	R	S
	CEFOXITINE	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
	CEFOTAXIME	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
	AMIKACINE	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	GENTAMYCINE	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	TOBRAMYCINE	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	A.NALDIXIQUE	R	S	S	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S	R	S
	CIPROFLOXACINE	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S
	NITROFURANTOIN E	S	I	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S
TRIMETHOPRIME/ SULFAMETHOXAZ OLE	S	S	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	S	R	S	

Somme Automatique

N° malade	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33
-----------	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----

Espèces (BGP)	<i>kp</i>	<i>E.coli</i>	<i>Proteus</i>	<i>kp</i>	<i>Proteus</i>	<i>kp</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>kp</i>	<i>E.coli</i>	<i>Proteus</i>	<i>kp</i>	<i>pseud</i>
AMPICILLINE	R	R	S	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
AMOXICILLINE	I	S	S	S	I	S	S	I	I	R	I	R	R	S	R	S	R
PEPIRACILLINE	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R	S	R	R	S	S	S	S
CEFALOTINE	R	I	S	S	R	S	S	R	R	I	I	R	R	S	R	S	R
CEFOXITINE	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R
CEFOTAXIME	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R
AMIKACINE	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
GENTAMYCINE	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
TOBRAMYCINE	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
A.NALDIXIQUE	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	R
CIPROFLOXACINE	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
NITROFURANTOINE	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	R
TRIMETHOPRIME/ SULFAMETHOXAZOLE	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R

Somme Automatique

Somme Automatique

N° malade		09	34	19
Espèces (BGP)		<i>streptococcus</i>	<i>streptococcus</i>	<i>streptococcus</i>
ANTIBIOTIQUES	GENTAMICINE A HAUTE CONCENTRATION	I	R	S
	ERYTHROMICINE	R	R	R
	CLINDOMYCINE	R	R	R
	TEICOPLANINE	S	S	S
	VANCOMYCINE	S	S	S
	TETRACYCLINE	R	R	R
	NITROFURANTOINE	S	S	S
	TRIMETHOPRIME/ SULFAMETHOXAZOLE	R	S	S

Résumé

Le thème qui a fait l'objet de la présente recherche a été traité différemment et sous plusieurs angles. Il s'agit en fait d'un phénomène scientifique lié aux examens cyto bactériologiques et vise surtout à établir une étude comparative entre la méthode classique et la méthode automatisée des urines lors d'une infection. Toutes les analyses que nous avons effectuées sur plus d'une trentaine d'échantillons dans un laboratoire suffisamment équipé de machines ultra-sensibles dans la détermination des résultats, ont montré que l'automatisée demeure la méthode la plus fiable, efficace et rapide. Cependant, le biologiste utilisant ces machines d'automatisation ne peut aboutir à un parfait savoir de fonctionnement de ces machines que sur la base de très bonnes connaissances théoriques et de profondes compétences pratiques de la méthode classique. Cette réalité laisse, par conséquent, confirmer que dans le processus d'analyse et de traitement des infections urinaires, la relation est complémentaire entre les deux méthodes notamment pour quelques techniques de payasse et non dans le protocole de travail.

Mot clés : infections urinaires, examens cyto bactériologique des urines, automatisation de l'ECBU

ملخص:

كثيرا ما شكل موضوع هذه الدراسة لقاءات علمية تناولت بالدرس والتحليل ظاهرة العدوى البولية عند الانسان. وكان اقتراح هذا الموضوع يهدف الى ابراز العلاقة الموجودة بين طرق وأنماط التحاليل لظاهرة العدوى البولية لاسيما ما يسمى بالطريقة الكلاسيكية والطريقة الآلية. وقد اتضح -من خلال جل العمليات التحليلية التي تتجاوز ثلاثون حالة والتي قمنا بها بمخبر خاص يتوفر على هياكل استيعاب هائلة وآلات عالية الجودة من الجيل الجديد لعالم التكنولوجيات الحديثة ذات الدقة المتناهية في ابراز النتائج – بأن طريقة التحاليل الآلية تبقى الطريقة الأنجع والأدق والأسرع من نظيرتها الكلاسيكية. غير أن الأحيائي الذي يرغب في استخدام العمليات الآلية والحصول على نتائج دقيقة وصحيحة يجب عليه أن يتوفر مسبقا على معارف نظرية وقدرات تطبيقية بالطريقة الكلاسيكية. وعليه، نستنتج بأن العلاقة بين الطريقتين تكون تكاملية من حيث بعض التقنيات اليدوية المخبرية وليس لها أية علاقة بطريقة تنفيذ بروتوكول التحليل.

الكلمات المفتاحية: التهابات المسالك البولية، الفحوص البكتيرية الجينية للبول.

Summary

The theme of this research has been treated differently and from several angles. It is actually a scientific phenomenon related to cyto bacteriological examinations and aims above all to establish a comparative study between the classical method and the automated method of urine during an infection. All the analyzes that we carried out on more than thirty samples in a laboratory sufficiently equipped with ultra-sensitive machines in the determination of the results, showed that the automated one remains the most reliable, efficient and fast method. However, the biologist using these automation machines cannot be satisfied with a perfect operation of these machines on the basis of very good theoretical knowledge and deep practical practices of the classical method. This reality, confirms that in the process of analysis and treatment of urinary tract infections, the relationship is complementary between the two methods especially for some techniques and not in the working protocol.

Key words: urinary tract infections, cyto bacteriological examinations of urine, ECBU automation