

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITÉ DJILLALI LIABES DE SIDI BEL ABBES

FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

Mémoire

De fin d'études pour l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la nature et de la vie (S.N.V.)

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Intitulé du thème :

**Etude de la formation de biofilm des
souches uropathogènes isolées des
enfants de CHU de Sidi Bel Abbes.**

Présenté par : Melle Allali Samiha

Melle Ali Bey Marwa.

Mémoire soutenu devant l'honorable jury composé de :

President de jury: **Mr** Dr Marroki Ahmed (M.A./UDL/SBA)

Examinatrice: **Mme** Dr Bousmaha Leila Ep Marroki (M.A./UDL/SBA)

Promoteur: **Mme** Dr Kara Terki Ibtissem (M.A./UDL/SBA)

Année universitaire 2020 - 2021

Session : Juillet.

Remerciements

Nous remercions *Dieu* qui a fait que nous sommes, et que tous cela soit rendu possible.

Au terme de ce travail, il nous est agréable d'exprimer nos remerciements à tous ce qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire. Nous tenons à remercier en premier Mme *Kara Terki Ibtissem* pour nous avoir encadré et accepté la responsabilité de ce travail « nous vous remercions pour votre aide, votre gentillesse, votre patience, de votre générosité et nous avons eu un grand honneur de travailler sous votre direction, bénéficier de vos remarques, compétences, idées... nous prions le bon dieu de vous garder pour toutes les promotions qui suivent, et de vous faire atteindre les plus hauts grades de réussite ».

Nous remercions à Mr *Marroki Ahmed* d'avoir accepté de présider le jury.

Un grand merci à Mme *Bousmaha Leila* Ep Marroki d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.

Et un remerciement spécial à tous les enseignants qui ont contribué à notre formation dans ces 5 années universitaires ainsi que pour leur soutien, leur dévouement et le respect dont ils ont fait preuve à notre égard.

Nous adressent aussi nos plus sincères remerciements à Chef service de laboratoire centrale de Sidi Bel Abbes Mr *Harachi* pour leur soutien, conseils dans toutes les circonstances et l'acceptation de prélever les échantillons pathologiques dans leurs services.

La liste est longue mais il nous tient particulièrement à cœur de remercier toutes les personnes qui nous ont consacré une partie de leur temps et qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, Trouvez ici notre sincères reconnaissances.

Dédicace

*Je dédie ce travail en guise de témoignage d'un grand respect et d'une
profonde reconnaissance*

A mon très cher père,

*A la mémoire de mon cher père **Kadour** qui a été toujours dans mon
esprit et dans mon cœur, je vous dédie aujourd'hui ma réussite. Que
Dieu, le miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis.*

*A ma très chère mère : **Bouhenni Yamina***

*Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer
le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu n'as cessé de
me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes
études. En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, reçoit ce
travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime.*

Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie.

*A ma chère grande sœur de cœur : **Safia***

*Pour son encouragement permanent, et son soutien moral, je te dédie
ce travail. Puisse Dieu le tout puissant exhausser tous tes vœux.*

*A mon binôme **Ali bey Marwa***

*Merci d'être toujours à mes côtés, par ta présence, par ton amour
dévoué et ta tendresse. Je prie dieu le tout puissant pour qu'il te donne
bonheur et prospérité.*

A tous les amis et les camarades,

Rania, Zineb, Asma, Khedidja, Nihed, Kawther, Fatima, Meriem

*Pour toute l'ambiance dont tu m'as entouré, pour toute la spontanéité
et ton élan chaleureux.*

*A toute la famille **Bouhenni** et toute la famille **Allali** et mon cousin
Youcef,*

ALLALI SAMIHA

Dédicace

Je dédie ce travail aux plus proches à mon cœur.

Mes très chers parents

Ammar et Trari Mimouna

Il n'y a pas assez de mots pour décrire à quel point je vous suis reconnaissant. Vous m'avez tous les deux beaucoup appris et vos leçons sont et seront toujours les clés de mes exploits. Vous êtes les vrais héros

et sans votre support incontestable je ne serai arrivé jusqu'ici.

*A mes chers frères **Mohammed, Bilal et Ahmed** pour leur amour et leur encouragement, puisse Dieu le tout puissant exhausser tous vos*

vœux.

A ma grande famille

Mes tantes, mes oncles ainsi que mes cousins et cousines pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire.

*A ma cousine **Fatima Zahraa** pour son encouragement permanent, et leur soutien moral et ma cousine **Ranim**.*

*A mon binôme **Allali Samiha "Aya"***

Ma partenaire de mémoire, mon amie...

Je te remercie pour tout ce que tu m'as apporté et je te souhaite le meilleur pour la suite, et que le bonheur et la réussite t'accompagnent chaque jour de ta vie.

*A mes chères amies **Mimi, Kheira, Hafssa, Zineb, Asma, Atika,***

Khadija, Fatima, yasmine.

En souvenir de nos éclats de rire et des bons persévérer jusqu'à l'aboutissement de ce travail. Qu'ils retrouvent, dans ce travail,

l'expression de ma reconnaissance.....

ET à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.

ALIBEY MARWA

Liste des Tableaux

Tableau 1: Principales espèces bactériennes responsables de l’IU (POURRAT et al., 1993)	6
Tableau 2 : Principaux constituant de la matrice du biofilm	9
Tableau 3: Classification de l'adhérence bactérienne par la technique TCP selon Mathur et al., (2006)	27
Tableau 4: Distribution d’échantillons étudié selon le sexe	29
Tableau 6: Caractéristique générales des patients étudiés	31
Tableau 7 : Résultats de l’étude macroscopique normal et infecté	32
Tableau 8 : Résultats d’observation microscopique d’échantillons d’urines	34
Tableau 9 : Résultats des bandelettes urinaires	36
Tableau 10 : Résultats des tests bactériologiques	37
Tableau 11 : Dépistage de souches testées pour la détection de la formation de biofilm par les deux méthodes TCP, TM	45
Tableau 12: Résultats de CMIB et leur interprétation	46
Tableau 13 : Répartition des infections urinaires selon les résultats d’ECBU	47
Tableau 14 :	47

Liste de figures

Figure 1 : Structure de biofilm (Rabin et al.,2015).....	9
Figure 2 : cycle de vie d'un biofilm et les facteurs influençant sa forme (Toyofuku et al., 2015).....	10
Figure 3 : Test biochimique d'urine (bandelette urinaire).....	18
Figure 4 : Morphologie des colonies.....	20
Figure 5 et 6 : Observation microscopique de la colonie bactérienne après la coloration de gram.....	21
Figure 7 : Test de catalase.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 8 : Test d'oxydase.....	22
Figure 9 : Test d'indole positif et négatif	24
Figure 10 : Répartition d'échantillon selon l'âge	30
Figure 11 : Répartition des sujets selon le statut hospitalisé/non hospitalisé	31
Figure 12 : L'aspect des urines trouble et claire	33
Figure 13 : Observation macroscopique des souches bactériennes sur milieu GN, Hektoen et Chapman.	37
Figure 14 : <i>Serratia liquefaciens</i>	40
Figure 16 : <i>Staphylococcus Saprophytica</i>	40
Figure 15 : <i>Salmonella spp</i>	40
Figure 17 : <i>Klebsiella pneumoniae</i>	41
Figure 18 : Répartition des souches isolée.	41
Figure 19 : Production de slime bactérienne chez <i>E.coli</i> (E13v) et <i>Staphylococcus saprophytica</i> (E27) sur milieu rouge congo.	43
Figure 20 : formation de biofilm par technique TCP.	43
Figure 21 : formation de biofilm par technique TCP.	45
Figure 22 : Echelle colorimétrique de référence des bandelettes urinaires.	47

Table des matières

Introduction	1
Partie I. Synthèse bibliographique	2
I. L'infection urinaire	2
1 Définition	2
2 Les symptômes d'une infection urinaire	2
3 Les types des infections urinaires.....	2
3.1 Bactériurie asymptomatique	2
3.2 Bactériurie symptomatique	3
3.3 Infection urinaire nosocomiale (IUN)	3
4 Origine de l'infection urinaire	3
4.1 Infection endogène	3
4.2 Infection exogène	4
II. Les causes de l'infection	4
1 Facteurs généraux	4
2 Facteurs anatomique	4
3 Facteurs liées au sexe	4
4 Facteurs liées à l'âge	5
5 Le sondage urinaire	5
6 Germes responsables d'infection urinaires.....	6
7 Facteurs de virulence	7
III. Les biofilms	8
1 Définition des biofilms	8
2 Composition et organisation de biofilm.....	8
2.1 Composition	8
2.2 Organisation	9
3 Les étapes de formation de biofilm bactérien.....	10
3.1 L'attachement	10
3.2 Formation des micro-colonies	11
3.3 Maturation de biofilm	11
3.4 Dispersion du biofilm	12
4 Rôle du Biofilms dans les infections urinaires	12

5	Prévention de l'infection urinaire.....	13
Partie II. Matériel et Méthodes.....		15
1	Lieu et période d'étude	15
2	Population étudiée	15
3	Recueil des données	15
4	Prélèvement et transport des urines	15
4.1	Prélèvement	15
4.2	Le transport et la conservation des urines	16
5	Examen cyto bactériologique des urines (ECBU).....	16
5.1	Examen macroscopique des urines	16
5.2	Tests biochimiques (Bandelette urinaire)	17
5.3	Examen microscopique – cytologique	18
6	Isolement et identification des urines.....	19
6.1	Ensemencement des urines	19
6.2	L'identification	20
6.2.1	Morphologie des colonies	20
6.2.2	Coloration de gram	20
6.2.3	Tests d'orientation	21
6.2.4	La galerie d'identification biochimique	24
7	Purification et conservation des souches isolées.....	25
8	Formation de biofilm bactérien.....	26
8.1	Etude de la formation du biofilm par la méthode in vitro de coloration au cristal violet sur microplaques (TCP)	26
8.2	Méthode du rouge Congo agar (RCA)	27
8.3	Méthode en tube	27
9	Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice du Biofilm (CMIB)	28
Partie III. Résultats et discussion.....		29
1	Résultats du prélèvement.....	29
1.1	Répartition d'échantillons en fonction du sexe	29
1.2	Répartition d'échantillons en fonction d'âge	30
1.3	Répartition d'échantillons des sujets selon le statut hospitalisé/externe.....	30
1.4	Répartition des sujets selon leur pathologie	31
2	Résultats d'examen cyto bactériologique des urines (ECBU).....	32
2.1	Examen macroscopique	32
2.2	Examen cytologique.....	33
2.3	Bandelettes urinaire	35
3	Résultats des analyses bactériologiques.....	36
3.1	L'identification	36
3.2	Résultats des tests bactériologiques	37

3.3	Les galeries	39
3.4	Répartition des souches	41
4	Détection et évaluation de la formation du biofilm.....	42
4.1	Résultats de la technique RCA	42
4.2	Technique de microplaques 96 puits (TCP)	43
4.3	Méthode en tube TM	44
4.4	comparaison entre les technique TM TCP et RCA	45
5	Résultats de CMIB	46

Introduction

Introduction

L'infection urinaire est l'une des infections bactériennes les plus fréquentes, en médecine générale, après les infections respiratoires, et la plus souvent rencontrée aussi bien en milieu communautaire qu'en milieu hospitalier avec un taux de 40%. Elle se rencontre chez l'adulte, comme chez l'enfant. **(Riegel, 2003; Mohammadi, 2013).**

La prévalence de l'infection urinaire chez l'enfant dépend de multiples facteurs, notamment de l'âge et du sexe ; elle est plus fréquente chez les garçons, au-dessous de l'âge de 3 mois et plus fréquente chez les filles, au-dessus de l'âge de 1 an. Dans le 1/3 des cas, l'infection urinaire, chez l'enfant, est liée à une malformation des voies urinaires **(Mohammadi, 2013)**. Les signes et les symptômes d'une infection urinaire sont souvent non spécifiques, en particulier chez le nouveau-né et le nourrisson **(Djanaoussine Samira et al., 2014)**.

Ces infections peuvent être compliquées par la formation de biofilm. En effet, Dans le domaine de la santé 65% des infections bactériennes sont dues à la présence de biofilm **(CCLIN, 2014)**.

Dans les voies urinaires, la formation de biofilm confèrent aux bactéries une résistance envers la réponse immunitaire, et également une résistance à des concentrations importantes d'antibiotiques. La formation de biofilm joue un rôle majeur dans la colonisation des corps étrangers dans les voies urinaires tels que les cathéters urinaire. **(Hancock et al., 2007 ; Tremblay et al., 2014)**.

Dans ce contexte plus particulièrement le but de notre travail est de :

- Rechercher et détecter l'infection urinaire chez les enfants de différent âge.
- Isoler, identifier et caractériser les différents genres bactériens en cause.
- Evaluer la capacité des souches isolées à adhérer et à former un biofilm.
- Connaitre le rôle du biofilm dans la résistance des germes responsables des infections urinaires.

Synthèse bibliographique

Partie I : Synthèse bibliographique

I. L'infection urinaire

1 Définition

L'infection urinaire (IU) est définie par la présence des germes pathogènes dans l'urine et pouvant toucher une ou plusieurs parties de système urinaire.

Une infection des voies urinaires est une infection qui peut survenir dans n'importe quelle région des voies urinaires, y compris les uretères, la vessie, les reins ou l'urètre ; Les infections de la vessie (cystite) et les infections de l'urètre (urétrite) sont les plus fréquentes (**Schmiemann et al., 2013**).

2 Les symptômes d'une infection urinaire

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

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

3 Les types des infections urinaires

3.1 Bactériurie asymptomatique

La bactériurie asymptomatique (AB), est définie comme la présence de bactéries dans l'urine d'un individu sans signes ou symptômes d'une infection des voies urinaires, elle est présent chez 3 à 5 % des jeunes femmes en bonne santé et est plus fréquente chez les patients diabétiques et les personnes âgées (**Cai et al., 2012**). En microbiologie, elle est définie par la présence de bactéries dans les urines en quantité significative (> 1 million de germes).

Alors en absence de tout symptôme (pas de température, pas de frissons, pas de douleur, etc....) il s'agit d'une situation clinique fréquente notamment chez les patients à l'autosondage dont les urines sont la plupart du temps colonisées et chez les patients porteurs de sonde à demeure dont les urines sont toujours colonisées. Il faut éviter les traitements antibiotiques dans ces contextes car ils n'apportent aucun bénéfice aux patients et ne peuvent que sélectionner des souches résistantes (**G. Richet., et al.,1962**)

3.2 Bactériurie symptomatique

Elle est définie par la présence des plusieurs symptômes d'une IU qui amènent à consulter ou qui doivent être recherchés. Ces signes peuvent être :

- Les cystites
- Emission d'urines troubles
- Une odeur malodorante des urines
- La fièvre et les frissons qui sont les symptômes majeurs d'une IU (**G. Richet., al.,1961**)

3.3 Infection urinaire nosocomiale (IUN)

Ce sont les infections urinaires basses secondaires à un manœuvre endo-urinaire (sonde vésicale, endoscopie) ou survenant après 48h d'hospitalisation chez un patient auparavant indemne de toute infection. Elle sont en au première rang des infections acquises à l'hôpital représentant 4% de l'ensemble de ces infection et touchant près 3% des sujets hospitalisés .De 60% à 80% des IU nosocomiales surviennent sur sonde,5% après des manœuvre instrumentale tandis que 20% ne connaissent pas d'autre origine que l'hospitalisation (**Suetens et al.,2007**).

4 Origine de l'infection urinaire

4.1 Infection endogène

Les infections endogènes ou auto-infections sont celles où le malade fait une infection à ses propres germes, qui sont souvent d'origine digestive, dont le risque est d'autant plus important lorsqu'il existe une incontinence anale ou une diarrhée, ou au décours d'une procédure invasive de soins (sondage vésicale, cathétérisme ...), ou en raison d'une fragilité particulière. Ces cas ne peuvent qu'être majorés au cours

de l'alitement à l'hôpital du fait de l'immobilisation et de la situation de dépendance du patient (**Marrhich, 2008**).

4.2 Infection exogène :

Les infections d'origine exogène sont celles où le malade fait une infection à partir d'un germe qui lui a été transmis, soit par manuportage (via le personnel de soins ou plus rarement, directement d'un patient à un autre), soit par du matériel ou un instrument mal désinfecté, ou encore par l'environnement hospitalier (eau, air, surface, alimentation ...) (**Marrhich, 2008**).

II. Les causes de l'infection urinaire

1 Facteurs généraux

- Une mauvaise hygiène locale
- Une vulvite
- Un reflux vaginal
- Le cathétérisme vésical
- La mise en place d'une sonde urinaire pour une période prolongée (**Lacobelli et al., 2009**).

2 Facteurs anatomique

- Flux urinaire : tous les états qui provoquent une stase urinaire, favorisent donc les infections : sténose urétérale ou urétrale, grossesse ...
- Longueur de l'urètre : un urètre court favorise la remonté des germes vers la vessie, ce qui explique la fréquence des infections chez la femme.
- les vêtements trop serrés favorisent la remontée des germes dans l'urètre.
- Les corps étrangers (lithiase), calcifications (bilharziose) ou tumeurs des voies urinaires.
- Les malformations urologiques : méats urétraux en position ectopique, reflux vésico-urétéraux (**Anglaret et al., 2003**).

3 Facteurs liées au sexe

- **Chez la femme**

- La proximité du méat urétral de l'anus et du vagin favorise sa colonisation.
- L'urètre court : les bactéries atteignent plus facilement la vessie.
- Le pH vaginal chez la femme ménopausée ou la femme enceinte est moins acide, ce qui favorise la colonisation du vagin par des bactéries de la flore intestinale (*Escherichia coli* et autres entérobactéries). Ces germes peuvent ensuite progresser vers le méat urétral.
- Les rapports sexuels favorisent la colonisation de l'urètre par les germes commensaux du vagin.
- La grossesse provoque des phénomènes de stase (**Schaeffer, 1992 ; SPILF et al., 2002**).

➤ **Chez l'homme**

- Avec l'âge, l'hypertrophie prostatique (physiologique ou cancéreuse) ainsi que la diminution des sécrétions acides prostatiques (naturellement bactéricides), augmentent le risque d'infection (**Johnson, 1991 ; SPILF et al., 2002**).

4 Facteurs liées à l'âge

L'âge est un facteur de risque important pour contracter une infection urinaire. Dans la population pédiatrique, les garçons de moins de 3 mois ont un risque plus élevé mais, chez les enfants plus âgés, le risque chez les filles est plus important. Pour les garçons, la circoncision semble réduire le risque d'IU (**Daniel et al., 2003**).

5 Le sondage urinaire

La pose de sonde urinaire est le premier facteur responsable du développement d'une infection urinaire.

Les sondes urinaires sont des dispositifs médicaux utilisés pour :

- permettre l'évacuation des urines en cas de rétention aigue
- le drainage permanent en cas rétention chronique ou inconsciente
- un but thérapeutique (lavage, instillation).

Il est admis qu'un sondage évacuateur simple est peu infectant, son risque infectieux a été estimé à 4% environ. En revanche, une sonde laissée chez un patient se colonise de façon systématique en moins de dix jours. En effet, le risque infectieux est évalué de 5 à 10% par jour de sondage. Ce risque est aggravé par la

manipulation de la sonde et il est globalement réduit de 20% si le système de sondage est clos (**Lecomte et al., 1999**).

6 Germes responsables d'infection urinaires

Dans la plupart des cas, les infections urinaires sont causées par des bactéries à Gram négatif provenant de la flore intestinale dont le principale représentant est *L'Escherichia coli* qui est l'agent responsable dans plus de 80 % des d'infections urinaire (**Relman et al., 2009**).

L'Escherichia coli qui est l'agent responsable dans plus de 80 % des infections (**Daniel et al., 2003**).

Les autres germes les plus souvent identifiés dans les infections urinaires sont *Klebsiella* (entre 2,6% [19] et 3,2% [17]) et *Proteus mirabilis* (7,8% [19]) qui prédomine chez le garçon (réservoir préputial) ou en cas de lithiase associée. Plus rarement, d'autres bacilles à Gram négatif peuvent être impliqués (*Pseudomonas* et *Enterobacter* notamment). Les germes de type cocci à Gram positif (streptocoque du groupe B et entérocoque : 4,3% [17]) sont surtout présents chez le nouveau né et le nourrisson, alors que *Staphylococcus saprophyticus* est identifié majoritairement chez l'adolescente. Les infections fongiques, rares, se rencontrent lors d'immunodépression ou d'antibiothérapie de long cours (**Köves rt al., 2016**).

Tableau 1: Principales espèces bactériennes responsables de l'IU (POURRAT *et al.*, 1993).

Espèces bactériennes		Origine	Rôle infectieux
Entérobactéries	<i>E.coli</i>	iléon terminal, colon.	-C, BA, PN, P
	<i>Proteus mirabilis</i>	-voies génitales	
	<i>Providencia</i>	basses, urètre	-C,BA, PN
	<i>Klebsiella</i>	antérieur.	
	<i>Entérobacter</i>	-environnement	
	<i>Serratia</i>	hospitalier	-BA, PN, P
	Entérocoques		
	Streptocoque du groupe D	-iléon terminal, colon -voies génitales	-C, BA, PN

Cocci Gram positif	<i>Staphylocoques</i> - <i>S. aureus</i> - <i>S. épidermidis</i> - <i>S. saprophytica</i>	basses -l'urètre antérieur et postérieur	
		-voies génitales basses	-C, BA, PN
Bacilles Gram négatif	<i>Pseudomonas</i>	-urètre antérieur -peau (commensaux) -environnement hospitalier	
		-colon -peau -environnement hospitalier	-C, BA, PN, P

C : cystite, **BA** : bactériurie asymptomatique, **PN** : pyélonéphrite, **P** : prostate

7 Facteurs de virulence

Les facteurs de virulence font référence aux propriétés qui permettent à un micro-organisme pour s'établir et se répliquer sur ou à l'intérieur d'une espèce hôte spécifique.

Les facteurs de virulence cruciaux d'*E coli* uropathogènes (UPEC) sont nombreux (flagelle, curli, fimbriae P, fimbriae de type 1, hémolysine, aérobactine, adhésine, etc.) décrits à plusieurs reprises ils confèrent une résistance contre les défenses de l'hôte, les bactéries virulentes sont également capables de produire des molécules qui inhibent la réponse du système immunitaire de l'hôte, augmentant ainsi la persistance bactérienne et les dommages tissulaires. Les facteurs de virulence sont codés par des gènes regroupés sur des îlots de pathogénicité. Ils agissent collectivement et peuvent être activés ou désactivé au cours de l'infection (**Köves et al., 2016**).

Classiquement, la bactérie possède des facteurs de virulence, tels que des fimbriae pour l'adhérence, des flagelles pour se déplacer, et divers mécanismes pour échapper aux défenses de l'hôte. Certaines souches d'*E. Coli* colonisent les voies urinaires sans produire d'infection urinaire, et auraient ainsi même un rôle protecteur sous forme «d'effet de niche» (**Dalal et al., 2009**).

La capacité des *E Coli* à former un biofilm est considérée aussi comme un facteur de virulence permettant le développement bactérien en milieu hostile.

III. Les biofilms

1 Définition des biofilms

Les biofilms sont des communautés bactériennes associées à la surface qui jouent des rôles à la fois bénéfiques et nocifs dans la nature, la médecine et l'industrie.

Il existe plusieurs concepts pour le biofilm, mais actuellement, la définition communément admise est celle établie en 2002 par William Costerton (**Jamal, 2015**) « Le biofilm est un ensemble de microorganismes, formé de la même espèce ou d'espèces différentes, qui forment une communauté (**Ziad et al., 2016**), adhérente à des surfaces biotiques ou abiotiques et caractérisée par la sécrétion d'une matrice adhésive et protectrice d'exopolymères (**Chatane et al., 2017**). Ces surfaces peuvent prendre plusieurs formes ; minérales (roche) ou organiques (peau, tube digestif des animaux, racines et feuilles des plantes), industrielles (canalisation, surface alimentaires ou coques des navires) ou médicales (prothèse, cathéter, valves cardiaques) » (**Ziad et al., 2016**).

2 Composition et organisation de biofilm

2.1 Composition

Dans la plupart des biofilms, les microorganismes représentent moins de 10 % de la masse sèche, alors que la matrice peut représenter jusqu'à plus de 90 % (**Daouadji, 2010**).

Le développement de l'architecture des biofilms bactériens est en grande partie lié à la production de la matrice extracellulaire par les bactéries du biofilm, incluant des protéines, des enzymes, des polysaccharides, des acides nucléiques (ARN, ADN), des lipides, des glycolipides et des cations (**Tableau 02**) (**Flemming et al., 2010**). En plus de ces composants, l'eau est le composant majeur, avec plus de 97%, responsable du flux des nutriments à l'intérieur de la matrice du biofilm (**Sutherland, 2001**).

Tableau 2 : Principaux constituant de la matrice du biofilm

Composés		% de la matrice
Eau		Environ 97 %
Cellules microbiennes		2-5 % (beaucoup d'espèces)
Polysaccharides polysaccharides	Homo/ hétéro	1-2 % (Neutre et polyanionique)
Protéines (Extracellulaire et résultants de lyse) ADN et ARN		< 1-2 % (beaucoup y compris les enzymes)
Ions		< 1-2 % (lyse cellulaire).

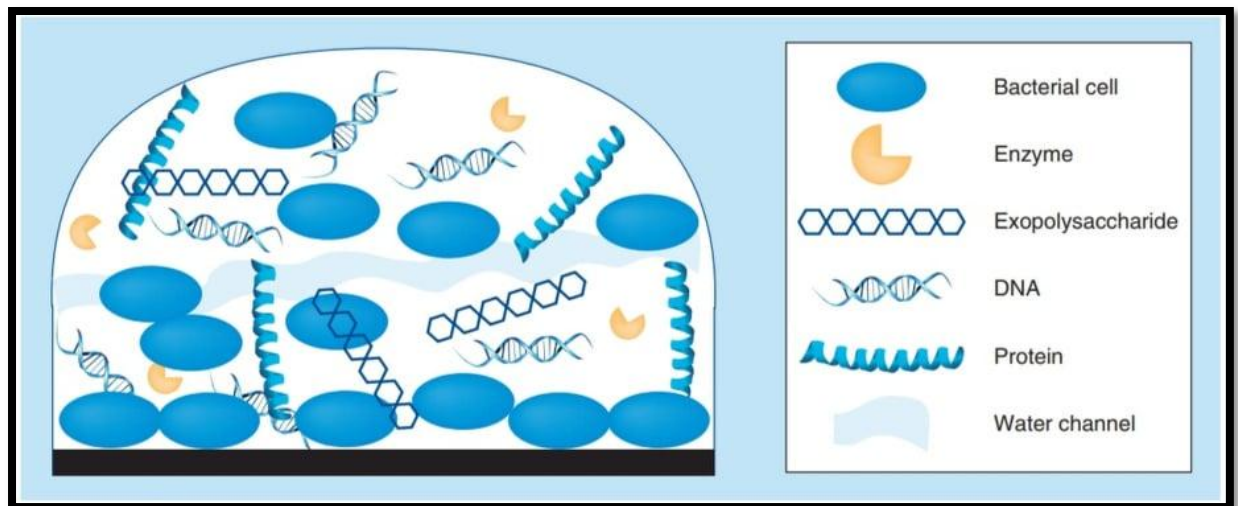


Figure 1 : Structure de biofilm (Rabin et al.,2015)

2.2 Organisation

- Les microorganismes sont organisés à l'intérieur de la matrice sous forme de micro-colonies.
- Les micro-colonies au sein des biofilms sont séparées par des canaux aqueux qui forment un réseau de circulation permettant, d'une part d'acheminer l'oxygène et les nutriments dans les régions enfouies du biofilm, et d'autre part d'évacuer les déchets.
- Le matériel soluble peut diffuser à travers la matrice d'EPS et être utilisé par les bactéries.
- Le biofilm n'est pas un environnement homogène car il présente des

zones à teneurs variables en oxygène ou en nutriments et qui présentent des valeurs de pH différentes.

- Les régions au centre des agrégats bactériens sont généralement anaérobies et pauvres en nutriments, alors que celles situées près des canaux ou de l'interface entre le biofilm et le liquide sont mieux oxygénées et plus riches en nutriments (Chatane et al., 2017).

3 Les étapes de formation de biofilm bactérien

La formation du biofilm est un processus hautement complexe, dans lequel les cellules microbiennes passent de la forme planctonique à la forme sessile (Okada et al., 2005). Il a été supposé que la formation du biofilm est dépendante de l'expression de certains gènes spécifiques contrôlant leur formation (Okada et al., 2005). Le processus de formation de biofilm est une série d'étapes conduisant à l'adaptation à une multitude de conditions nutritionnelles et environnementales (Waite et al., 2005).

Dans ce processus, les micro-organismes subissent des changements après leur adhésion à une surface. Les différentes étapes du cycle de vie dans un biofilm sont montrées dans la Figure 2.

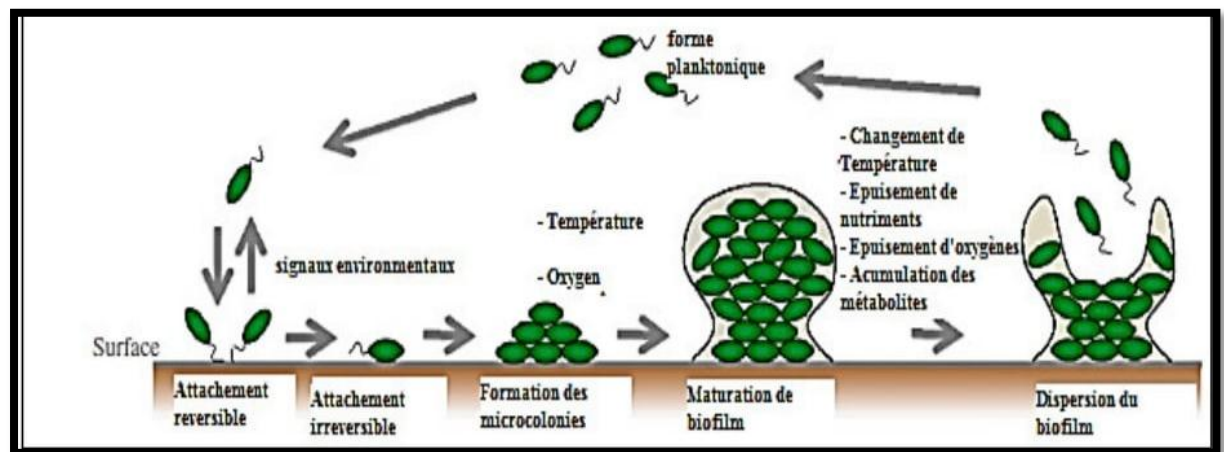


Figure 2 : cycle de vie d'un biofilm et les facteurs influençant sa forme (Toyofuku et al., 2015).

3.1 L'attachement

L'attachement à la surface est l'un des processus les plus importants car il représente un tournant de la vie planctonique au mode biofilm. Il a été étudié en

détail chez *Pseudomonas aeruginosa* qui a été utilisé comme organisme modèle pour la formation de biofilm (**Toyofuku et al., 2015**).

L'étape de l'attachement pourrait être encore classée comme un processus en deux étapes : attachement réversible initiale et attachement irréversible (**Rabin et al., 2015**).

-Premièrement, les cellules bactériennes se fixent à la surface de manière réversible au pôle des cellules, ce qui est appelé attachement réversible. Les appendices cellulaires tels que flagelles, pili et fimbriae sont impliqués dans l'attachement. A ce stade, la bactérie peut s'engager au mode de vie du biofilm ou quitter la surface et revenir au mode de vie planctonique (**Toyofuku et al., 2015**).

-La deuxième étape : qui signifie à la phase irréversible de l'attachement bactérienne à une surface par la production de matrice EPS, (extracellularpolymeric substances) qui aide à l'adhérence entre la cellule et la surface. (**Toyofuku et al., 2015**).

3.2 Formation des micro-colonies

La formation des micro-colonies provient après l'adhésion à une surface biotique ou abiotique et la liaison devient stable, dont le résultat est la formation de micro-colonies. La multiplication des bactéries dans le biofilm est le résultat des signaux chimiques. Le mécanisme génétique de la production des EPS est activé lorsque l'intensité du signal dépasse un certain seuil (**Costerton et al., 1999**).

Alors par l'intermédiaire du signal chimique, les cellules bactériennes commencent à se diviser, tout en prenant une place dans la matrice exopolysaccharidique, entraînant la formation des micro-colonies (**Muhsin et al., 2015**).

3.3 Maturation de biofilm

La formation des micro-colonies induit l'expression de certains gènes liés à la formation du biofilm. Ces gènes sont nécessaires pour la synthèse des EPS présentant la charpente du biofilm.

Dans le biofilm, EPS est responsable pour l'adhérence aux surfaces et le maintien de l'architecture tridimensionnelle du biofilm. De plus, l'EPS entourant le biofilm protège les cellules bactériennes contre divers stress tels que l'antimicrobiens, système immunitaire de l'hôte, oxydation et cations métalliques. À l'intérieur du biofilm, l'EPS retient les molécules de signalisation quorum sensing (QS), extracellulaires enzymes et produits métaboliques. Par conséquent, l'EPS prend en charge la communication cellule-cellule et la dégradation des substances (**Toyofuku et al., 2015**).

Il est reporté que l'attachement du biofilm peut activer la formation de la matrice extracellulaire. La formation de la matrice est suivie par la formation des canaux d'eau, pour le transport des nutriments dans le biofilm. Ces canaux sont considérés comme un système circulatoire, distribuant différents nutriments, et faisant sortir les déchets des micro-colonies du biofilm (**Parsek et al., 2003; Toyofuku et al., 2016**).

3.4 Dispersion du biofilm

Après la formation du biofilm, les bactéries quittent le biofilm sur une base régulatrice. Le détachement des cellules bactériennes planctoniques du biofilm est en effet programmé (**Costerton et al., 1999**).

L'étape de dispersion est également critique pour le cycle de vie du biofilm. Biofilms disperse en raison d'une myriade de facteurs, tels que le manque de nutriments, compétition intense, population trop grande, etc. La dispersion pourrait se produire dans tout le biofilm ou juste une partie de celui-ci (**Rabin et al., 2015**).

Cependant, la plupart du temps les bactéries commencent à se détacher tout en reprenant leur forme planctonique à l'issue d'un quorum quenching (**Baselga et al., 1994; Muhsin et al., 2015**).

Parfois la dispersion du biofilm est causée par l'action d'activité enzymatique hydrolysant l'alginate (**Costerton et al., 1999; Muhsin et al., 2015**).

Du biofilm mature, certaines cellules bactériennes sont transférées vers croissance planctonique. Ces cellules dispersées explorent d'autres niches et attachent à nouveau à une nouvelle surface. Ainsi, la dispersion n'est pas seulement l'étape finale du cycle de vie du biofilm mais aussi le début d'un autre cycle de vie (**Toyofuku et al., 2015**).

4 Rôle du Biofilms dans les infections urinaires

La formation d'un biofilm au cours des infections urinaires a été évoquée dès **1985 par Elliot et al.**, qui ont réalisé des biopsies vésicales à des patients ayant une histoire d'infection urinaire à répétition et des urines stériles au moment de l'examen. Ils ont décrit pour la première fois des bactéries persistantes sur l'épithélium vésical et ont alors suggéré que l'absence de bactéries détectées dans les urines ne reflétait pas l'absence de bactéries dans la vessie. En inoculant dans des vessies de souris des UPEC isolés de cystites diagnostiquées chez des femmes, (**Mulvey et al., 2001**) ont constaté l'invasion de la paroi vésicale par des communautés bactériennes et les ont quantifiés au fil du temps. Le nombre de ces communautés bactériennes

diminuait rapidement dans les premières heures de l'infection, du fait d'une exfoliation massive de l'épithélium et de l'afflux de polynucléaires neutrophiles. Mais, deux à sept jours après, leur quantité restait stable, et ceci jusqu'à six semaines, créant un réservoir quiescent de bactéries indétectables dans 58% des échantillons d'urines.

En effet, Dans les voies urinaires, la formation de biofilm confèrent aux bactéries une résistance envers la réponse immunitaire, et également une résistance à des concentrations importantes d'antibiotiques.

La formation de biofilm joue aussi un rôle majeur dans la colonisation des corps étrangers dans les voies urinaires tels que les sondes urinaires. Les bactéries présentes dans les biofilms adhèrent et colonisent régulièrement à la surface des corps étrangers même en présence d'antibiotiques, créant ainsi la base de la bactériurie liée au cathéter, qui est considérée comme universelle dans le cathétérisme à long terme (**Hancock et al., 2007 ; Tremblay et al., 2014**).

Le mécanisme de formation de biofilm sur une sonde urinaire est simple. Une fois la sonde posée, un film protéique va se déposer à sa surface et favoriser la fixation de micro-organismes et par conséquent entraîner la formation d'un biofilm. Une fois que les bactéries ont colonisé la sonde et l'uro-épithélium, elles s'adaptent au nouvel environnement formé et se procurent des nutriments. La production bactérienne de toxines et d'enzymes dans l'environnement entraîne une dégradation des tissus avoisinants et une libération de nutriments (**Jacobsen et al., 2008**).

Ainsi la détection précoce des biofilm peut être l'une des étapes essentielles pour la prévention et la gestion des infections urinaires nosocomiales (**Martín et al., 2007**).

5 Prévention de l'infection urinaire

Chez les enfants, certaines précautions simples sont susceptibles de renforcer les mécanismes naturels de défense qui doivent systématiquement accompagner avec le traitement :

- Boissons abondantes.
- De ne pas retenir trop longtemps l'envie d'uriner.
- De pratiquer une toilette vulvaire au savon à un pH adapté.
- De s'essuyer toujours de l'avant vers l'arrière avec le papier hygiénique après avoir
- uriné ou après être allé à la selle.

- D'éviter de porter des sous-vêtements en fibres synthétiques ou des pantalons trop serrés.
- Exonération vésicale la plus complète possible, notamment lors du coucher.
- Eviter la constipation.
- Recherche et traitement d'éventuelles lésions gynécologiques (**Federli, 2006;Mohammedi, 2013**).

Matériels et méthodes

Partie II. Matériel et Méthodes

1 Lieu et période d'étude

Cette étude est réalisée au laboratoire de Microbiologie Appliqué de la faculté de science biologique UTMA Sidi Bel Abbès durant la période de presque 2mois allant du 10/04/2021 au 06/06/2021.

2 Population étudiée

Cette étude a concerné :

Un groupe de 40 patients (nourrisson et enfants de 2 à 15ans) présentant des signes d'une infection urinaire qui se sont présentés au niveau de laboratoire central ou bien sont hospitalisés au niveau de service de pédiatre CHU Sidi Bel Abbès pour le dépôt d'un prélèvement urinaire. Ces patients ont préalablement consulté un médecin pédiatre ou un généraliste, et ont été redirigés vers le laboratoire.

3 Recueil des données

Pour chaque patient, nous avons reporté sur une fiche de renseignement les données épidémiologiques concernant :

- Nom et prénom
- Le sexe
- L'âge
- Hospitalisation ou pas.
- La date de prélèvement.

4 Prélèvement et transport des urines

4.1 Prélèvement

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

- **Pour le nouveau-né et nourrisson**

Chez le nourrisson on doit utiliser un poche adhésive stérile (technique la plus facile). Ce dispositif à usage unique adapté à l'anatomie se pose après désinfection soigneuse de la partie uro-génitale du bébé et ne peut être laissé en place plus de 30 mn. 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.

- **Pour l'enfant**

Demander de réaliser une toilette génito-urinaire à l'eau et au savon et de bien rincer, en lui expliquant comment faire :

- * demander de se laver les mains.
- * demander de faire une toilette intime minutieuse en aller du pubis vers l'anus.
- * demander d'élimination 1er jet urinaire ; recueil dans un flacon stérile.

4.2 Le transport et la conservation des urines

Les urines, une fois recueillies, doivent être examinées dans les heures qui suivent et par conséquent immédiatement transportées au laboratoire. En cas d'impossibilité, il importe de les conserver au réfrigérateur entre 0 et +4°C, car à température ambiante, les rares bactéries de l'urine normale se multiplient rapidement risquant de faire poser à tort le diagnostic d'infection urinaire (**Pierre, 2012**).

Au-delà de 12h à 4°C, elle ne sera pas modifiée, mais les leucocytes peuvent s'altérer et se grouper en amas (**Mrrhich ,2008**).

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

5 Examen cyto bactériologique des urines (ECBU)

L'ECBU permet d'apprécier de façon quantitative et qualitative la présence d'éléments figurés (leucocyturie, hématurie, cellules épithéliales) et de micro-organismes (bactériurie, candidurie). Pour avoir de bons résultats, il faut respecter les conditions de recueil, de conservation et de transport d'urine (**Ryte, 1995**).

5.1 Examen macroscopique des urines

L'examen macroscopique des urines est réalisé afin de déterminer :

•L'aspect

Habituellement trouble, il peut être limpide, clair, jaune, sanglant, franchement purulente ou hématurique.

• La couleur

A l'état normal l'urine peut être limpide, jaune claire. A l'état pathologique elle peut avoir une couleur :

- Incolore (diabète insipide)
- Rouge en cas de présence de sang, de pigment alimentaire ou après absorption des médicaments à base de phénol.
- Jaune orangé dans le cas des maladies fébriles aiguës.
- Brun et jaune foncée dans les ictères
- Blanchâtre ou laiteuse en cas de cholurie, Pyurie, Lipidurie
- Verdâtre ou Bleuâtre (Intoxication au THYMOL, PHENOL LISOL, Les infections dues aux *pseudomonas*) et enfin trouble en cas de féculerie.

•L'odeur

A l'état pathologique, il peut apparaître des substances volatiles à cause de certaines maladies d'odeur anormale à celle de l'urine.

L'odeur des urines chez les sujets malades donne les signes suivants :

- Acre en cas d'infection par les colibacilles
- Acétone en cas d'acidose diabétique
- Ammoniacque en cas de fermentation in vitro
- Nauséabonds chez les alcooliques.

• La transparence

A l'état normal, les urines fraîches sont généralement limpides. A l'état pathologique, les urines sont troubles à l'émission.

5.2 Tests biochimiques (Bandelette urinaire)

La technique consiste à faire plonger la bandelette directement dans l'urine et à comparer après une minute son virage à une grille témoin (**ROSTOKER et al., 1991**). Ce test ne remplace ni l'examen microscopique ni la culture.

Ce test est réalisé pour tester les paramètres suivants :

- PH
- Présence d'albumine
- Présence d'acétone
- Présence de nitrite



Figure 3 : Test biochimique d'urine (bandelette urinaire)

5.3 Examen microscopique – cytologique

C'est l'observation au microscope photonique (G x 400), entre lame et lamelle, d'une goutte du culot d'urine. Cette étude permet d'identifier les divers constituants présents dans le culot à savoir :

- Hématies.
- Leucocytes : la présence plus de 5 leucocytes par champs suspecte une infection.
- Bactéries : leurs présences n'indiquent pas obligatoirement une infection et leur absence n'élimine pas une infection.
- Cristaux : les cristaux de l'oxalate de calcium, les cristaux de phosphate amoniacomagnésium ou cristaux d'acide urique).

- Cylindres (ils peuvent être hématiques, leucocytaires ou purulents).
- Cellules épithéliales, vésicales, cellules rondes rénales ; o Trichomonas ; o Levures ; o Spermatozoïdes.

6 Isolement et identification des urines

6.1 Ensemencement des urines

L'isolement permet d'obtenir des colonies isolées sur les milieux gélosés. L'urine est ensemencée sur milieu solide (Gélose nutritive, Chapman...) que l'on incube en aérobiose. Les milieux de culture apportent aux bactéries les substances indispensables à leur croissance à savoir carbone, azote, hydrogène. Ces milieux d'isolement sont :

- La gélose nutritive (GN) est utilisée pour la culture des germes qui ne présentent pas d'exigences particulières.
- Le milieu Chapman est utilisé pour la culture des Cocci Gram positif.
- Les milieux d'enrichissement, ce sont des milieux qui permettent une multiplication importante des germes. L'incubation des cultures bactériennes se fait de 18 à 24 heures à 37° C (**Roland, 2006**).

A l'aide d'une micropipette on dépose sur chaque milieu 0.5 ml d'urine qu'on étale en râteau sur toute la surface de la gélose.

On laisse sécher et on incube les trois milieux à une température de 37° pendant 24h à 48h.

➤ L'isolement

- Placer les flacons des milieux de cultures dans le bain marie, et après laisse à refroidir pour utiliser
- Coller les boites de pétri par les géloses, et laisse à solidifié.
- Avec une pipette pasteur en prend 0.5ul D'urine et ensemencer à l'aide d'une anse se forme des stries.
- Porter les boites à l'étuve 37° C/ 24h, pour l'incubation.

6.2 L'identification

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

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

6.2.1 Morphologie des colonies

L'observation macroscopique des cultures se fait en décrivant la forme et la taille des colonies, l'opacité et l'aspect de la surface, ainsi que la consistance et la pigmentation des colonies.

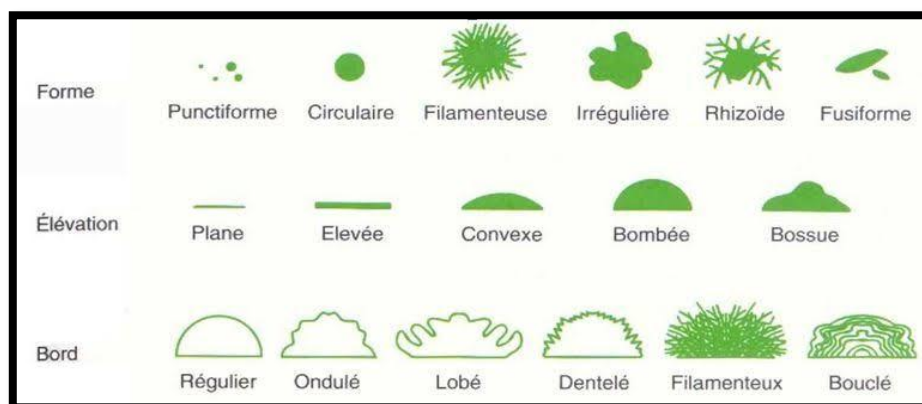


Figure 4 : Morphologie des colonies

6.2.2 Coloration de gram

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

Elle permet de nous renseigner sur :

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

➤ Technique

- Réaliser un frottis (avec une anse stérile, prélever, dans la zone stérile du bec, une colonie bactérienne de la boîte de Pétri. Les diluer dans une goutte d'eau sur une lame, Ne pas trop étaler)
- Fixer le Frottis confectionne à la chaleur de la flamme du bec bunsen
- Couvrir le frottis de solution de Violet de Gentiane pendant une minute (1min)
- Rincer abondamment à l'eau distillée.
- Recouvrir le frottis avec le Lugolle pendant une minute (1min) ;
- Rincer abondamment à l'eau distillée
- Décolorer pendant dix secondes à l'alcool.
- Rincer immédiatement à l'eau distillée
- Recouvrir le frottis de Fuchsine pendant une minute (1min) ;
- laver la lame avec l'eau distillée.
- Sécher la lame en la tamponnant avec du papier Joseph.
- Observer à l'objectif x100 à l'immersion dans l'huile et à pleine lumière.

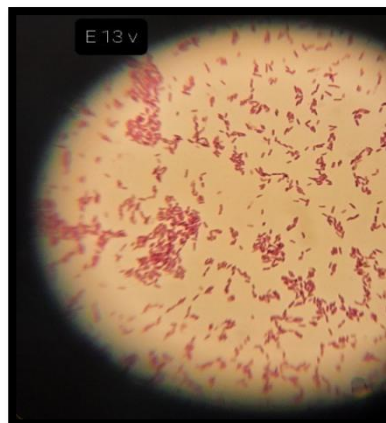
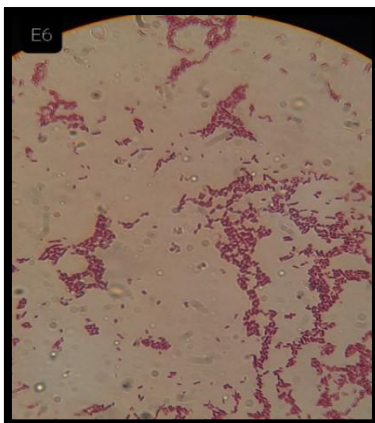


Figure 5 et 6 : Observation microscopique de la colonie bactérienne après la coloration de gram

6.2.3 Tests d'orientation

a. Test de catalase

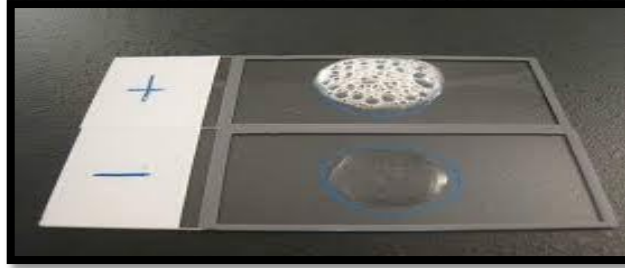
Ce test est à la base de l'identification des bactéries à Gram positif. Tout d'abord une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes est déposée sur une lame propre et sèche. Ensuite l'inoculum bactérien est ajouté à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée. Les

résultats sont observés immédiatement.

Si la souche est positive il y'aura un dégagement

à la production

provenant de la dégradation d'H₂O₂. Si la souche est catalase négative il y'aura donc absence de dégagement gazeux dû à l'absence de production d'O₂ provenant de la dégradation d'H₂O₂ (**Bezziche et al.,2018**).



observés

catalase

gazeux dû
d'O₂

Figure 6: test de catalase

b. Test d'oxydase

La recherche de l'oxydase est un test fondamental pour l'identification des bacilles à Gram négatif.

Tout d'abord un disque de papier filtre est imprégné d'une goutte de réactif et déposé sur une lame propre. Une colonie parfaitement isolée est prélevée avec une pipette Pasteur, puis écrasée sur le disque pendant une dizaine de secondes, l'observation des résultats est immédiate.

Si le papier présente une tache violette c'est-à-dire le substrat a été oxydé, donc la bactérie possède une oxydase. Si le papier reste incolore c'est-à-dire qu'il n'y a pas eu de réaction, la bactérie ne possède pas donc l'enzyme (**Figure 7**).

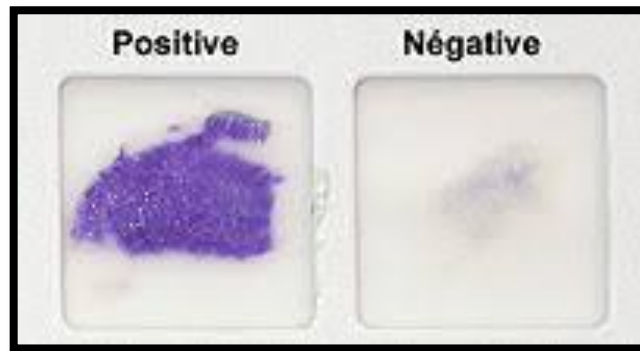


Figure 8: Test d'oxydase

c. Test d'indole

Le milieu Urea Indole permet la mise en évidence des caractères d'identification des Entérobactéries).

➤ **Application**

Le test d'indole consiste à mettre notre souche dans l'eau peptone ou l'eau physiologique pendant 24h à 37°C.

Après l'incubation, on ajoute le réactif d'EHRlich KOVACS.

- Réaction positive (indole positive) : coloration rouge cerise en surface du tube.
- Réaction négative (indole négatif) : pas de coloration.

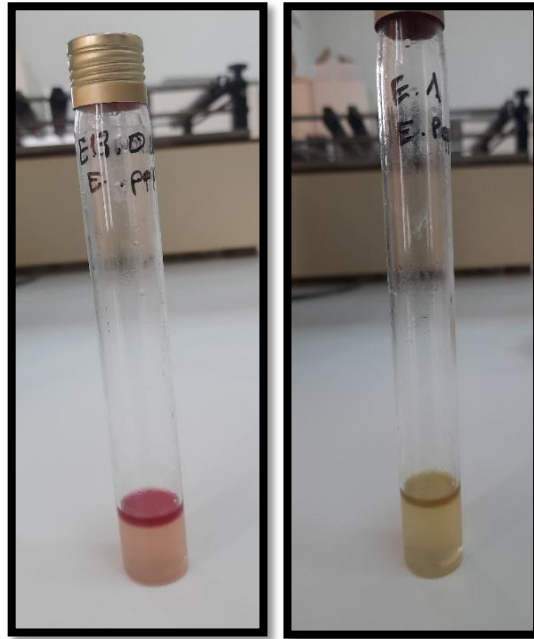


Figure 8 : Test d'indole positif et négatif

6.2.4 La galerie d'identification biochimique

La galerie API® (Appareillage et Procédé d'Identification) est un ensemble de petits tubes prêts à l'emploi permettant l'identification de microorganismes par la réalisation rapide et facile de tests biochimiques miniaturisés.

Dans notre étude on a utilisée 2 types de galerie API qui sont :

6.2.4.1 Galerie Api 20 E

La galerie Api 20 E permet la recherche de 20 caractères biochimiques par des réactions enzymatiques. Les réactions produites au cours de l'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par addition de réactifs (Mikael et al.,1993). Les souches à identifier avec la galerie Api 20^E sont des *Enterobacteriaceae*, donc sont ceux qui font parties des bacilles à Gram négatif (BGN), producteurs de la catalase et réducteurs des nitrates en nitrites et qui ne possèdent pas du cytochrome oxydase c.

a. Préparation de la suspension bactérienne

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

b. Inoculation de la galerie

- Mettre de l'eau physiologique dans le fond de la boîte afin de créer une atmosphère humide.
- Remplir le micro tube de la galerie avec la suspension bactérienne à l'aide d'une pipette Pasteur. Au sein du micro tube, on distingue deux parties, le tube et la cupule. Selon les tests, la suspension bactérienne doit être placée dans le tube et la cupule (CIT, VP, GEL) ou uniquement dans le tube des autres tests.
- Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en ajoutant l'huile de vaseline.
- Refermer la boîte, puis écrire le numéro de patient.
- Incubation à 37°C pendant 24h.

c. Lecture et interprétation

- Prendre notes sur la fiche de lecture des résultats obtenus pour les tests à lecture spontanée.
- Révélation des tests nécessitant l'addition de réactifs.
 - TDA : ajouter une goutte du réactif TDA.
 - IND : ajouter une goutte du réactif de Kovacs.
 - VP : ajouter une goutte du réactif VP 1 et une goutte du réactif VP II.
- Noter les résultats sur la fiche de lecture et calculer le profil numérique.

6.2.4.2 Le système API STAPH (BioMérieux®)

Le principe consiste à inoculer dans les microtubes à l'aide d'une pipette Pasteur une suspension bactérienne homogène qui reconstitue les milieux déshydratés. 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 permettant une identification de l'espèce bactérienne et la détermination du biotype (**Kara, 2014**).

7 Purification et conservation des souches isolées

Toutes les souches identifiées sont conservées en double réplique sur une gélose nutritive inclinée +4°C.

8 Formation de biofilm bactérien

8.1 Etude de la formation du biofilm par la méthode in vitro de coloration au cristal violet sur microplaques (TCP)

Afin de quantifier les capacités de production de biofilms par les souches étudiées, l'essai de coloration au CV est souvent préféré en raison de sa simplicité et sa fiabilité. Cette méthode permet une culture et une quantification in vitro de biofilms bactériens. Le CV est un colorant qui se fixe sur les polysaccharides du peptidoglycane et colore sans spécifier toutes les biomasses, toutes sortes de cellules vivantes ou mortes, aussi bien que la matrice (composée de substances polymériques extracellulaires) du biofilm bactérien.

Ce colorant fait de ce test utile un moyen pour estimer la réponse global en mode biofilm d'un isolat. À travers cette méthode, une souche peut être classée comme ; non formatrice, faiblement formatrice, moyennement formatrice ou fortement formatrice de biofilm (**Chatane et al., 2017**).

Les microplaques utilisées étaient en polystyrène comportant 96 puits sur lesquelles les bactéries vont adhérer et former un biofilm. La détermination quantitative de la formation de biofilm dans les microplaques à 96 puits a été réalisée selon les recommandations de **Christensen et al. (1982)** avec une durée d'incubation prolongée à 48h.

Les bactéries ont été cultivées en milieu BHIB et incubées toute une nuit à 37°C. Chaque culture jeune est ajustée pour l'obtention de 108UFC/mL et diluée au 1/100ème dans le même milieu (BHIB). Chaque puits de la plaque est rempli avec 0,2mL de cette dilution. Les microplaques sont recouvertes, scellées stérilement et incubées pendant 48h à 37°C. Après incubation, les puits des microplaques sont vidés, rincés 3 fois avec de PBS, séchés en position inversée et colorés avec 200µL de cristal violet a 0,5%. Après 30min d'incubation, l'excès du cristal violet est éliminé par 5 lavages successifs avec 300 µL d'eau distillée stérile. Le colorant incorporé par les cellules ayant adhéré ou ayant formé un biofilm est solubilisé avec 200 µL d'éthanol à 95% (v/v). La quantité de cristal violet solubilisé est mesurée par la lecture de la DO à 570nm dans un lecteur ELISA Auto Reader (**Kara 2014**).

Tableau 3: Classification de l'adhérence bactérienne par la technique TCP selon Mathur et al., (2006).

Valeur D.O	Adhérence	Formation de biofilm
< 0,120	non adhérente	Non formatrice
0,120 – 0,240	faiblement adhérente	Faiblement formatrice
> 0.240	fortement adhère	Fortement formatrice

8.2 Méthode du rouge Congo agar (RCA)

C'est une technique qualitative consiste à l'ensemencement des souches testées pour leurs capacité à produire un biofilm sur milieu Rouge Congo (**Chaieb et al., 2005**).

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

Les souches sont ensemencées par stries en surface du milieu Rouge Congo coulé en boîtes Pétri et incubé à 37° pendant 24h à 48h (**Mathur et al., 2006**).

Evaluation de couleur des colonies, selon Satorres et Alcaraz en 2007, les colonies des souches non productrices sont de couleur rose rouges tandis que celle qui ont la capacité à produire un slime sont de couleur noires à surface ou presque noire (**Nasr et al., 2012**). Les colonies des souches de phénotype variable donnaient des colonies à centre noir et à contour rouge à centre rouge et à contour noir (**Touati et al., 2007**).

8.3 Méthode en tube

C'est une technique décrite en 1982 par **Christensen et al.**, qui permet une évaluation qualitative de la formation du biofilm.

La méthode en tubes (TM) semble facile à réaliser mais la lecture des résultats peut-être difficile, car plusieurs auteurs stipulent que la formation du biofilm est considérée comme positive quand un film visible recouvre la paroi et le bas du tube alors que d'autres considère que la formation d'un anneau à l'interface liquide n'est pas indicative de la formation du biofilm (**Bentiba et al., 2017**).

A partir d'une culture jeune de 24h, une colonie estensemencée dans 10mL de bouillon BHIB supplémenté de 2% de saccharose. Après incubation à 37°C pendant 24h les tubes sont lavés avec du PBS (pH 7,3) puis séchés. Chaque tube est ensuite coloré avec du cristal violet (0,1%) pendant 5 minutes. Une fois le colorant supprimé, les tubes sont lavés avec de l'eau distillée et laissés sécher. La formation du biofilm est considérée positive quand un film visible double la paroi et le fond du tube. La formation d'un anneau à l'interface liquide n'est pas indicative de la formation du biofilm (**Mathur et al., 2006**).

9 Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice du Biofilm (CMIB)

Après formation d'un biofilm jeune de 48 h par la technique TCP (décrite précédemment), les microplaques de 96 puits sont rincées 3 fois avec du PBS avant l'ajout du BHIB additionné d'antibiotiques à des concentrations allant de 8192...../ml à 0.0625...../ml.

Après 24h à 37°C, les puits de la microplaque sont soigneusement rincés, séchés et colorés avec du cristal violet suivant la technique standard. La DO est mesuré à 590 nm par la lecteur ELISA. Après incubation, la DO du puits témoin sans antibiotiques est comparée à celle des différentes concentrations d'antibiotiques. L'élimination de la formation du biofilm par les agents antimicrobiens se traduit par une densité optique inférieure à celle de la DO initiale. Par conséquent, la valeur CMIB représente la plus faible dilution à laquelle les bactéries sessiles ne parviennent pas à repousser.

Résultats et discussion

Partie III. Résultats et discussion

1 Résultats du prélèvement

Une étude sur les infections urinaires chez des enfants de différents âge et sexe a été faite sur 40 échantillons urinaires dans le service de pédiatre et le laboratoire central du CHU Sidi Bel Abbes :

1.1 Répartition d'échantillons en fonction du sexe

Les résultats obtenus dans le tableau indiquent que dans l'ensemble des 40 cas, l'infection urinaire est prédominante chez le sexe féminin avec un pourcentage de 55% et 45% pour le sexe masculin.

Tableau 4: Distribution d'échantillons étudiée selon le sexe.

Sexe	Femmes	Hommes	Total
Nombre	22	18	40
Effectifs (patients) %	55%	45%	100%

Les résultats obtenus indiquent que dans l'ensemble des 40 cas, la prédominance est du sexe féminin avec un pourcentage de 55% et 45% pour le sexe masculin.

Cette prédominance féminine (55%) s'explique par l'anatomie de l'appareil urinaire féminine, qui est composée d'un urètre court qui mesure environ 5cm de longueur et s'ouvre entre le clitoris et l'ouverture du vagin dans le vestibule de celui-ci. Son ouverture est insuffisante pour protéger contre les souillures du vagin et du rectum ; de ce fait, il y a souvent des contaminations microbiennes avec des irritations inflammatoires. Contrairement à celui de l'homme qui mesure environ 20 à 25cm ce qui diminue le risque d'infection urinaire. L'effet des sécrétions prostatiques permet d'offrir chez l'homme une protection supplémentaire.

La fréquence des infections urinaires chez le sexe féminin (55%) peut s'expliquer par le passage des germes, de l'urètre vers la vessie, est particulièrement facile chez la fille dont l'urètre est court et surmonté d'un sphincter plus large que chez le garçon (Kabirou, 2002).

1.2 Répartition d'échantillons en fonction d'âge

Notre étude a été faite sur des enfants d'âge qui varie entre 2 et 15 ans et des nouveaux née de 5 jours à 2 mois, 75% de notre population est constituée d'enfants, 17,5% (7/40cas) des nourrissons et 7.5% (03/40cas)nouveaux né selon l'histogramme suivant :

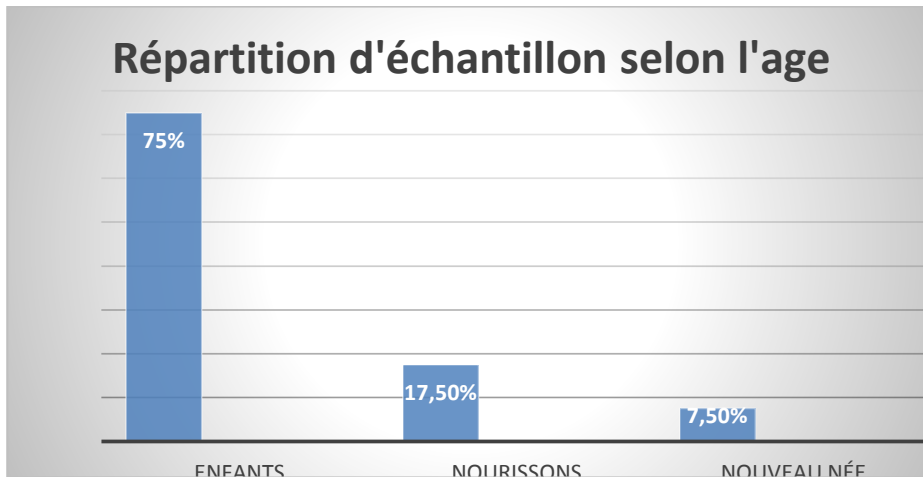


Figure 9 : Répartition d'échantillon selon l'âge

L'infection urinaire est une pathologie qui varie en fonction de l'âge. Elle peut survenir à tout âge. Selon la littérature, les infections urinaires hautes et basses apparaissent surtout lors des premières années de vie.

Cette étude rapporte une moyenne d'âge de 7 ans. Les enfants ont représenté la population la plus touchée (75%), ce qui rejoint les données de la littérature.

La répartition selon l'âge montre que les enfants sont plus touchés que les nourrissons, parce que les (IU) à cet âge sont plus fréquentes.

1.3 Répartition d'échantillons des sujets selon le statut hospitalisé/externe

Durant la période de notre étude, nous avons noté 17.5% des patients hospitalisés au sein de service de Pédiatrie de CHU-SBA, contre 82.5% de patients externes.

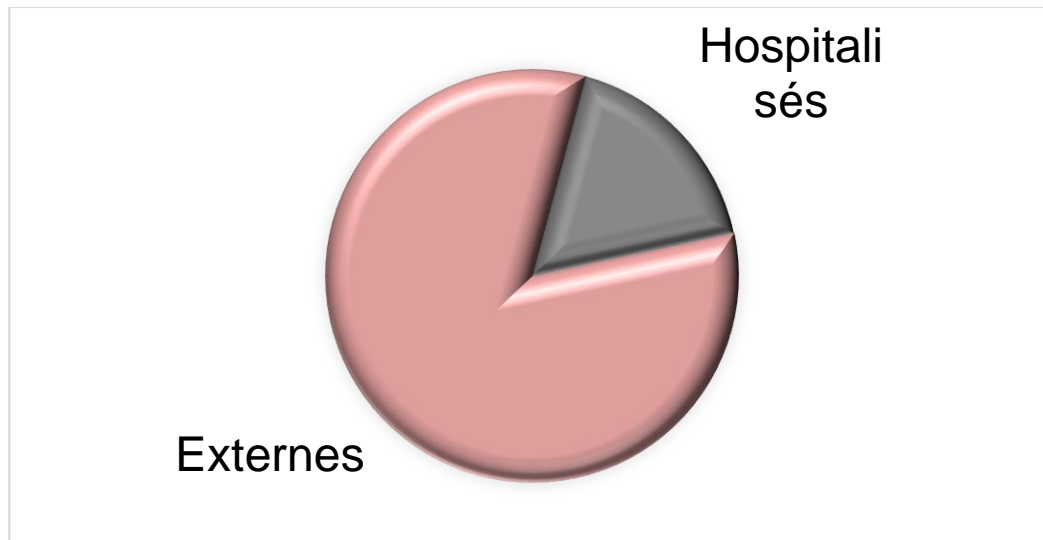


Figure 10 : Répartition des sujets selon le statut hospitalisé/non hospitalisé

L'hôpital est considéré comme un écosystème particulier, les infections urinaires nosocomiales y sont très fréquentes. Aussi l'hospitalisation reste une situation à risque car elle associe la dépendance totale du malade, l'existence d'effractions vésicales pérennisées, le catabolisme important et l'altération des mécanismes de défense immunitaire.

1.4 Répartition des sujets selon leur pathologie

Sur les 40 patients étudiés au CHU de Sidi Bel Abbes, 05 sont diabétiques, 03 représentent des malformations et les autres patients présentent d'autres pathologies. **(Tableau 6)**.

En effet, l'état général du patient est en relation directe avec le risque infectieux puisque certains facteurs de risques sont bien connus comme l'état nutritionnel (amaigrissement ou obésité), les patients neutropéniques, immunodéprimés (greffe d'organe), les patients diabétiques et la femme enceinte pour favoriser l'IUN **(Lobel, 2003)**.

Tableau 5: Caractéristique générales des patients étudiés

Pathologie	Nombre de sujets
Diabétique	05
Uropathie malformative	03
Autre	32

Le diabète : les urines contenant de petites quantités de sucre représentent un excellent milieu de culture pour les bactéries, c'est un des facteurs expliquant les complications infectieuses urinaires chez les diabétiques.

Celui-ci est régulièrement incriminé et pourrait favoriser les infections urinaires par différents mécanismes soit par altération de la vidange vésicale ou par modification de la composition de l'urine permettant une plus grande croissance microbienne (Butreau et al., 1997).

2 Résultats d'examen cytobactériologique des urines (ECBU)

2.1 Examen macroscopique

Après la réception des échantillons nous avons déterminé quelques aspects macroscopiques afin de pouvoir classer les échantillons. Nos observations sont montrées dans le **tableau07** :

Tableau 6 : Résultats de l'étude macroscopique normal et infecté.

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

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



Figure 11 : L'aspect des urines trouble et claire

L'aspect macroscopique permet de donner une idée préliminaire sur l'existence d'une infection urinaire. Sur les échantillons analysés trois types d'aspects macroscopique ont été détectés : trouble, légèrement trouble et clair (**figure12**) :

- **Urine claire** : due à une bonne hydratation du patient ce qui indique souvent que la personne est en bonne santé.
- **Urine légèrement trouble /trouble** : est un symptôme et non une maladie. Elles ne traduisent d'ailleurs pas forcément un problème nécessitant un traitement ; elles peuvent être dues à une alimentation riche en phosphates (fromages, charcuteries, saucisses, etc.), tandis qu'elles peuvent être liées à une IU basse (cystite) ou bien une IU haute (pyélonéphrite).

2.2 Examen cytologique

Le résultat d'examen microscopique est représenté dans le **tableau 08** dont on a recherché les globules blancs, globules rouges, cellules épithéliales, les cristaux, les levures et les germes.

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

Tableau 7 : Résultats d'observation microscopique d'échantillons d'urines

	Les leucocytes (Nbr /mm3)	Les hématies (Nbr /mm3)	Les cellules épithéliales (Nbr /mm3)	Les cristaux de Na et de P (Nbr /mm3)
E1	04	00	00	02
E3	04	02	01	00
E4	00	00	00	00
E6	00	00	01	00
E7	02	00	02	00
E8	00	00	00	00
E9	01	04	03	02
E13	00	00	00	00
E14	02	00	00	02
E15	02	00	00	02
E16	02	00	02	00
E21	00	00	00	00
E22	02	00	00	00
E23	00	00	00	00
E24	02	00	02	00
E27	04	02	02	00

D'après l'analyse au microscope des échantillons d'urines recueillies, nous avons constaté la présence significative de leucocytes. Et la présence des hématies et des cellules épithéliales. La présence des cristaux.

2.3 Bandelettes urinaire

D'après les bandelettes urinaire on a trouvé la moyenne du pH urinaire se situé entre 6 et 7 atteignant chez quelques patients une valeur de 8. Et la glycosurie était positive chez 8,8 %.

Des patient présente de leucocyte (++) ; nitrite (+) ; sang (+) et la négativité d'autres tests. Ces résultats peuvent s'expliqué comme suis :

- La présence du leucocyte estérase reflète l'activité des polynucléaires dans les urines et détecte la leucocyturie, le nombre de leucocytes varie en fonction de l'état d'hydratation et la durée de stagnation des urines dans la vessie.
- L'existence de sang dans les urines peut être expliquée par l'inflammation des voies urinaires et fréquemment dans les infections urinaires, mais aussi lors d'autres pathologies rénales ou des voies excrétrices.
- La présence de nitrite témoigne de la présence d'entérobactérie, particulièrement *E. coli*, car étant capable de synthétiser une enzyme, la nitrate-réductase, qui catalyse la transformation de nitrate en nitrite (**Sinnassamy et al., 1989**).
- La densité urinaire est habituellement entre 1,015 et 1,020 mais peut varier entre 1,001 et 1,030. Une densité dépassant 1,010 représente la concentration urinaire, observée surtout avec l'urine du matin donc le patient souffrant d'insuffisance rénale car il a perdu ses mécanismes de concentrations et de dilutions urinaires.
- Le pH urinaire est normalement acide à cause de l'alimentation.
- On observe toutefois un pH urinaire alcalin, dans le cas d'une maladie avec perte rénale de bicarbonate ou en présence de certaines bactéries urinaires qui décomposent l'urée en ammoniac (**Gougoux, 2005**).
- La présence simultanée de leucocytes et des nitrites constitue une forte supposition d'infection urinaire. (**Tolofoudie, 2000; Kabirou, 2002**).

Les résultats obtenus sont représentés dans le **tableau09** :

Tableau 8 : Résultats des bandelettes urinaires

Echantillon	Ph	Leucocyte (leu/ μ L)	Densité
E1	06	500	1.010
E3	05	Négatif	1.010
E4	05	Négatif	1.010
E6	6.5	500	1.025
E7	6	70	1.025
E8	7	125	1.025
E13	06	500	1.010
E21	7	500	1.010
E22	6	125	1.025
E23	6.5	125	1.010
E24	6	25	1.010
E25	5	Négatif	1.010
E27	8	500	1.025
E28	5	Négatif	1.010
E30	5	15	1.010
E35	6	15	1.10

3 Résultats des analyses bactériologiques

D'après notre étude on a trouvé des différents espèces, les majoritairement isolées sont : *Escherichia coli*, *Serratia liquefaciens*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* et des *Staphylocoque saprophyticus* et d'autres espèces Cocci à gram négatif.

3.1 L'identification

Différents caractères cultureux ont été observés après 24 heures d'incubation à 37°C sur milieu GN, Hektoen et Chapman.

Certaines des souches bactériennes en cause de l'infection urinaire ont été identifiées directement sur milieu Hektoene selon leur morphologie, aspect et couleur des colonies. Les résultats obtenus montrent des petites colonies bombées identiques orange avec virage de couleur de milieu vers le rouge due à la



Figure 12 : Observation macroscopique des souches bactériennes sur milieu GN, Hektoen et Chapman.

fermentation du lactose et d'autre colonie bombées verts identique ; ces caractères correspondent aux caractères d'*E. coli* (**figure13**).

3.2 Résultats des tests bactériologiques

La coloration de Gram permet d'étudier la morphologie et le Gram des bactéries. D'après notre étude on a trouvé différentes formes : les bacilles, des cocci en amas et des cocci en chaînette. Des bactéries à Gram positif ainsi que des bactéries à Gram négatif.

Les tests bactériologiques nous permettent d'isoler 17 souches bactériennes, leurs caractéristiques sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau 9 Résultats des tests bactériologiques

Echantillon	Morphologie des colonies	Coloration de gram	catalase	oxydase	Indole
E1 O	bacille Colonies bombées et Muqueuse	Gram -	Positif	Négatif	Négatif
E1 V	bacille Colonies bombées et Muqueuse	Gram-	Positif	Négatif	Négatif
E4	bacille Colonies bombées et Muqueuse	Gram-	Positif	Négatif	Négatif
E6	Coco bacille	Gram-	Positif	Négatif	Positif

	Colonies lisses, régulières, blanchâtres et opaques				
E7	Bacille Colonies petites et vert	Gram-	Positif	Négatif	Négatif
E8 V	Colibacille Colonies lisses, régulières, blanchâtres et opaques	Gram-	Positif	Négatif	Positif
E8 O	Colibacille Colonies lisses, régulières, blanchâtres et opaques	Gram-	Positif	Négatif	Positif
E13 V	Colibacille Colonies lisses, régulières, blanchâtres et opaques	Gram-	Positif	Négatif	Positif
E13 O	Colibacille Colonies lisses, régulières, blanchâtres et opaques	Gram-	Positif	Négatif	Positif
E13 N	Colibacille Colonies lisses, régulières, blanchâtres et opaques	Gram-	Positif	Négatif	Positif
E21 O	Bacille Colonies lisses et brillantes, bombées à	Gram-	Positif	Négatif	Négatif

	contour régulier				
E21 V	Bacille Colonies lisses et brillantes, bombées à contour régulier	Gram-	Positif	Négatif	Négatif
E22	Bacille Colonies lisses et brillantes, bombées à contour régulier	Gram-	Positif	Négatif	Négatif
E23 O	Bacille Colonies lisses et brillantes, bombées à contour régulier	Gram-	Positif	Négatif	Négatif
E23 V	Bacille Colonies lisses et brillantes, bombées à contour régulier	Gram-	Positif	Négatif	Négatif
E27	cocci petite Colonies lisses et brillantes, bombées à contour régulier	Gram +	Positif	Négatif	Négatif
E24		Gram-	Positif	Négatif	Négatif

3.3 Les Galeries

Les résultats de galerie API 20 E ont permis de mettre en évidence les espèces appartenant aux genres : *E.coli*, *Serratia liquefaciens*, *Salmonella spp*, *Klebsiella pneumoniae* et *Acinetobacter baumannii*.

- Galerie API® 20Staph : Elle nous a permis l'identification des *staphylocoques saprophyticus*.

Les résultats obtenus durant notre étude concernant les 2 types de galeries API qu'on a utilisée sont les suivants :



Figure 13: *Serratia liquefaciens*

Figure 14 : *Salmonella spp*



Figure 15 *Staphylococcus Saprophytica*

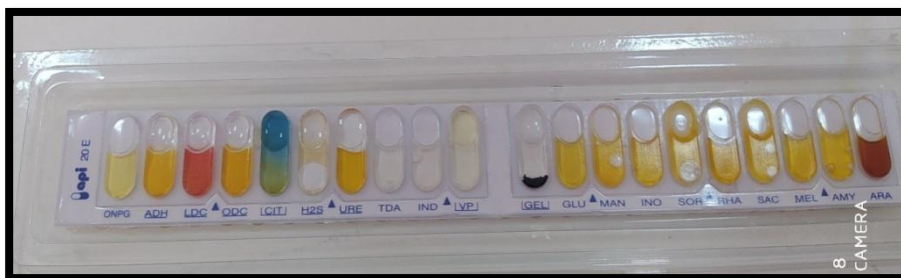


Figure 16: *Klebsiella pneumoniae*

3.4 Répartition des souches :

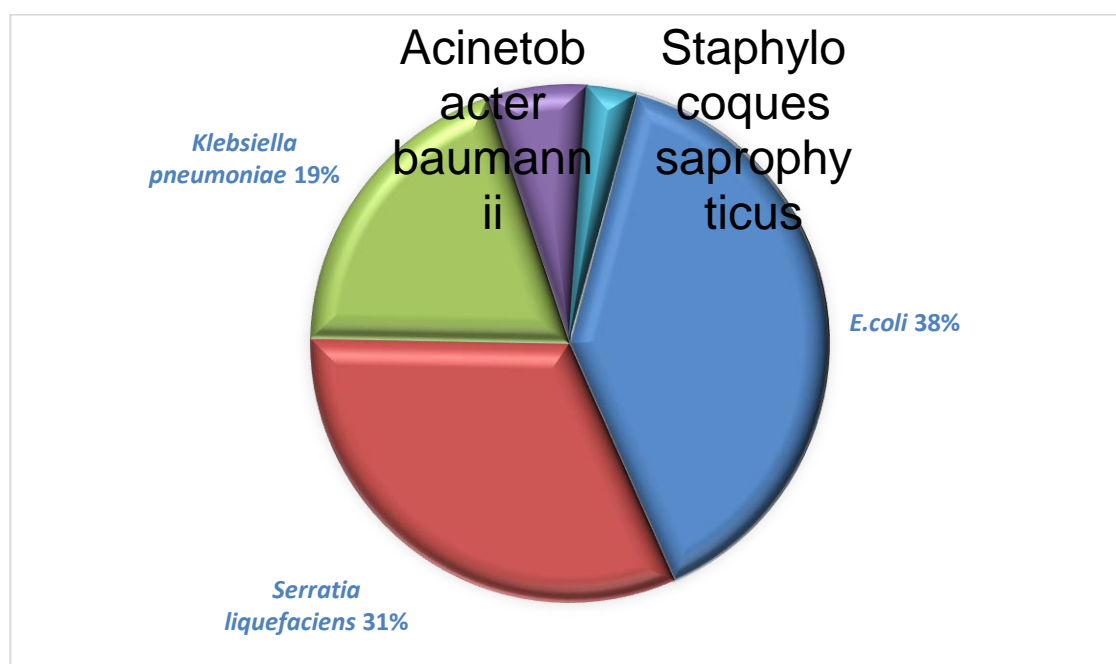


Figure 17 : Répartition des souches isolée.

La **figure 18** montre que *E. coli* reste la souche la plus impliquée dans les IU avec un taux de 38% (6/17), suivi par *Serratia liquefaciens* avec un taux de 31% (5/17), suivi par *Klebsiella pneumoniae* avec 19%, *Acinetobacter baumannii* qui est présenter avec un faible taux de 6% (1/17).

Ces résultats restent similaires à ceux de la littérature telle que les travaux d'Ankur en 2013 réalisés sur 1022 cas en Hinde, ont montré qu'*Escherichia coli* présente une fréquence de (42,76%), *Klebsiella pneumoniae* (38,46%), ainsi qu'un taux de 18,78% pour les autres souches qui sont indiquées lors d'une infection urinaire.

La prédominance d'*E. coli*, peut s'expliquer par les facteurs spécifiques d'uropathogénicité. En effet, Il existe une forte colonisation périnée par les entérobactéries d'origine digestive, et en particulier *E. coli* qui possède des adhésines, capables lier la bactérie à l'épithélium urinaire d'empêcher son élimination par les vidanges vésicales. (Bourdat, 2003 ; Chadli et al., 2008).

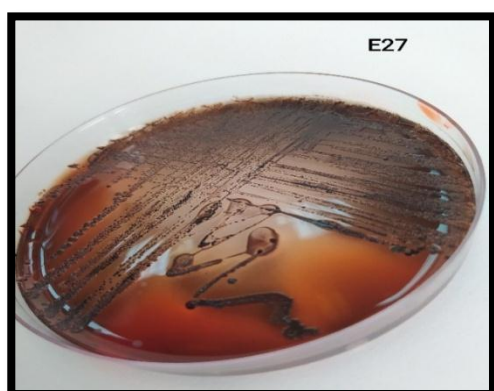


du
coli
de
et

4 Détection et évaluation de la formation du biofilm

4.1 Résultats de la technique RCA

Cette méthode qualitative se base sur le caractère phénotypique des souchesensemencées sur milieu Rouge Congo. Les résultats obtenus nous ont permis de constater que tous les 17 souches isolées de sondes urinaires présentent un phénotype positif dans le milieu Rouge Congo (Figure19). Ce qui traduit leur capacité de produire le slime.



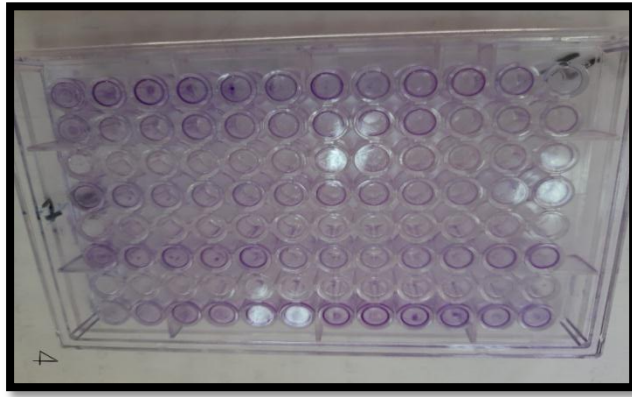


Figure 18: Production de slime bactérienne chez *E.coli* (E13v) et *Staphylococcus saprophytica* (E27) sur milieu rouge congo.

4.2 Technique de microplaques 96 puits (TCP)

La détermination quantitative de la formation de biofilm chez toutes nos souches a été réalisée par la technique sur microplaques TCP (**figure20**). Cette méthode permet une culture et une quantification in vitro de biofilms bactériens.

Le CV est un colorant qui se fixe sur les polysaccharides du peptidoglycane et colore sans spécifier toutes les biomasses du biofilm bactérien.

Ce colorant fait de ce test utile un moyen pour estimer la réponse global en mode biofilm d'un isolat. À travers cette méthode, une souche peut être classée comme ; non formatrice, faiblement formatrice, moyennement formatrice ou fortement formatrice de biofilm (**Chatane et al., 2017**).

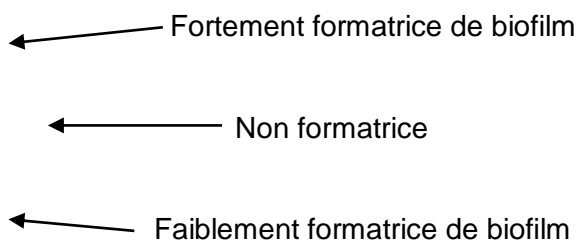


Figure 19 : formation de biofilm par technique TCP.

Notre étude a montré que seulement 05 souches sur 17 souches isolées sont fortement formatrices de biofilm par la technique TCP et 11 souches sont faiblement formatrices de biofilm.

D'après **Donlan (2008)**, la colonisation bactérienne peut avoir lieu dans les 24 heures suivant la pose du dispositif, selon le même auteur, au contact du flux urinaire, la surface de la sonde se recouvre alors d'un film protéique qui est susceptible de modifier les propriétés physico chimiques de la surface interne de la sonde et favoriser ainsi la formation de biofilm 3 jours après sa pose.

Espinasse et al. (2010) le confirme également, il cite que le biofilm microbien s'installe en 24 à 72 heures après la pose de la sonde. Si certaines espèces bactériennes dotées d'une uréase (*Proteus* sp., *Providencia*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*) sont présentes dans le biofilm, elles hydrolysent l'urée en ammoniac libre induisant une augmentation du pH urinaire et la précipitation de minéraux sous forme de cristaux de struvite ou d'hydroxyapatite qui s'incrustent sur la sonde. L'incrustation qui siège autour du ballonnet et dans la lumière de la sonde entraîne une réduction du canal de drainage et une stagnation des urines, favorisant ainsi la survenue de bactériurie. C'est une particularité du biofilm des sondes vésicales. La sonde favorise non seulement l'acquisition de l'infection mais aussi sa promotion, rendant l'arbre urinaire plus vulnérable à l'infection dès lors que la vessie est colonisée : persistance de résidu à cause d'un drainage imparfait, action mécanique érosive sur la muqueuse urothéliale.

Ceci a pour conséquence la persistance d'un risque infectieux après l'ablation du dispositif pendant au moins 48 heures, voire 7 jours (**Espinasse et al., 2010**).

4.3 Méthode en tube TM

La méthode en tubes (TM) semble facile à réaliser mais la lecture des résultats peut-être difficile, car plusieurs auteurs stipulent que la formation du biofilm est considérée comme positive quand un film visible recouvre la paroi et le bas du tube. Alors que d'autres considère que la formation d'un anneau à l'interface liquide n'est pas indicative de la formation du biofilm (**Bentiba et al., 2017**).





Figure 20 : formation de biofilm par technique TCP.

4.4 Comparaison entre les technique TM TCP et RCA

Dans notre étude, la technique en tube présentait une bonne corrélation avec la technique TCP pour les souches fortement productrices de biofilm. Par conséquent, il était difficile de différencier entre les souches faiblement et non productrices de biofilm (**Tableau 11**).

Tableau 10 : Dépistage de souches testées pour la détection de la formation de biofilm par les deux méthodes TCP, TM

Technique	Nombre de souches		
	Absence	Modérée	Fort
TCP	02	10	05
TM	07	02	08

Par conséquence, la technique TCP est la plus largement utilisée et est considérée comme un test standard pour la détection de la formation de biofilm.

Elle permet une détermination quantitative pour comparer l'adhésion des différentes souches et aussi examiner un grand nombre d'isolats simultanément (**Rasha et al ., 2012**).

C'est une technique quantitative pratique et économique pour l'identification des facteurs et des conditions de cultures optimales pour la formation de biofilm. Cependant, elle peut être moins précise pour déterminer la capacité des souches à sécréter le slime bactérien (**Castro Melo et al., 2013**).

Pour cette raison **Racha et al. (2012)** ont proposé la méthode de culture sur RCA comme une alternative à la méthode TCP pour le dépistage de la formation de biofilm par les staphylocoques étant plutôt facile à réaliser, elle prend moins de temps, elle est sensible et spécifique.

5 Résultats de CMIB

Tableau 11 : Résultats de CMIB et leur interprétation

Souches	E13V	E27	E13O	E8V	E10	E13N	E7	E23	E22
CMIB μ g/ml	128	128	256	1.2	0.25	1.2	01	01	01
Interprétation	R	R	R	S	S	S	S	S	S

R : résistant, **S** : sensible.

Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par Bose et al., en (2019) et Khan et al., (2011) où ils annoncent que les souches formatrices de biofilm sont plus résistantes aux antibiotiques que les non formatrices.

En effet, les souches productrices de biofilm sont 10 à 1000 fois moins sensibles aux antibiotiques que les souches planctoniques, le biofilm empêche la pénétration des antibiotiques et les concentrations nécessaires pour éradiquer les bactéries productrices de biofilm sont plus élevées que celles requises pour éliminer les souches qui ne produisent pas de biofilm.

Conclusion

Conclusion

L'infection urinaire (IU) chez les enfants est l'infection bactérienne la plus commune et la cause d'un fardeau important pour les ressources du système de santé, elle est caractérisée par l'existence d'une bactériurie pathologique.

Cette étude réalisée au laboratoire de Microbiologie Appliqué de la faculté de science biologique UTMA Sidi Bel Abbes nous permet d'isoler, identifier et caractériser les différents genres bactériens responsables des infections urinaires et Connaitre le rôle de biofilm dans la résistance de ces germes.

Parmi les 40 prélèvements urinaires reçus au laboratoire, on a trouvé 17 cas positifs par rapport à 23 cas négatifs. Les résultats épidémiologiques ont montré que les entérobactéries représentent la grande majorité des bactéries responsables des IU, dont *Escherichia coli* est l'espèce la plus incriminée (38%).

En effet, Les souches d'E. coli uropathogènes (UPEC) sont responsables d'environ 80% des infections urinaires chez l'enfant [9]. Non seulement celles-ci possèdent différents facteurs de virulence mais elles ont aussi la capacité de former un biofilm au niveau de la paroi vésicale.

La persistance des infections au sein du tractus urinaire s'explique par le fait que les bactéries du biofilm résistent aux mécanismes de défense immunitaire de l'hôte, via la production de capsules, de protéases de peptides antimicrobiens et de lipopolysaccharides .Etant moins sensibles aux antibiotiques, elle cause le risque de récurrence de l'infection.

Il n'existe pas à ce jour de méthodes phénotypiques simple permettant de prédire la capacité d'une souche à produire un biofilm, il devient donc essentiel d'améliorer nos connaissances afin de trouver de nouveaux moyens de prévenir ou de traiter les infections associées aux biofilms

En conclusion, une meilleure identification des facteurs favorisant l'IU et leur prévention pourrait permettre de réduire d'une façon considérable la fréquence de ces infections. La prévention demeure le meilleur moyen de lutte. Le reflet d'une politique générale d'hygiène et la bonne gestion de l'écologie du service sont aussi des paramètres fondamentaux à prendre en compte pour éviter l'éclatement d'épidémies hospitalières.

Les références bibliographiques

A

AFISSA HS (2014), Etude de l'antibiorésistance des souches de Staphylocoques isolées à partir des dispositifs médicaux à l'hôpital de Mohamed Boudiaf. Mémoire du master. Université KasdiMerbah. Ouargla (Algérie), 67 p

ANGLARET. X et MORTIER. E ,(2003). Maladies infectieuses 3ème édition. P109-110. (Les infections urinaires chez le nourrisson et l'enfant)

Ankur G., Sumit G., Reshma A., Suneel B., Manish K. D., Arti A. (2013). Changing trends in resistance pattern as an alarm by bacteria before it's too late to treat. Journal of Dental and Medical Sciences. 6 suppl 12 : 55_56.

B

Baselga, R., Albizu, I., & Amorena, B. (1994). *Staphylococcus aureus capsule and slime as virulence factors in ruminant mastitis. A review. Veterinary Microbiology*, 39(3-4), 195–204. doi:10.1016/0378-1135(94)90157-0

BENTIBA K ; BENTIBA L, (2017), Evaluation de la capacité des souches de Staphylococcus spp à former des biofilms dans l'industrie laitière. Mémoire du Master. Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana (Algérie), 72 p

Bezziche Rania Nesrine, Bounemour Amira. (2018). LES BACTERIES RESPONSABLES DES INFECTIONS URINAIRES. Constantine.

Butreau-Lemaire M ,Botto H. (1997). Infections urinaires nosocomiales. Progrès en Urologie.7 : 674-682.

C

Cai, T., Mazzoli, S., Mondaini, N., Meacci, F., Nesi, G., D'Elia, C., ... Bartoletti, R. (2012). *The Role of Asymptomatic Bacteriuria in Young Women With Recurrent Urinary Tract Infections: To Treat or Not to Treat? Clinical Infectious Diseases*, 55(6), 771–777.

Castro Melo P., Ferreira L .M., Filho A. N., Zafalon L. F., Godoy Vicente H .I., de Souza V.(2013). Comparison of methods for the detection of biofilm formation by Staphylococcus aureus isolated from bovine subclinical mastitis. Brazilian journal of microbiology.44 (1): 1517-8382.

CCIIN. (2014). Enquête Interregional de prevalence.

Chaieb K., Mahdouani K., Bakhrouf A. (2005). Detection of icaA and icaD loci by polymerase chain reaction and biofilm formation by *Staphylococcus epidermidis* isolated from dialysate and needles in a dialysis unit. *Journal of Hospital Infection*, 61(3), 225-230.

CHATANE I ; ZIADI C (2017), Analyse phénotypique et quantification de la formation de biofilm par les bactéries d'intérêt médical. Mémoire du master. Université des Frères Mentouri. Constantine (Algérie), 100 p.

Christensen G.D., Simpson W.A., Bisno A.L., Beachey E.H. (1982). Adherence of slime-producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surfaces. *Infectiology and Immunology*. 37: 318-326.

Costerton, J. W. (1999). *Bacterial Biofilms: A Common Cause of Persistent Infections*. *Science*, 284(5418), 1318–1322.

D

DAOUADJI DS (2010), Détection de biofilm à staphylocoques sur cathéters veineux, Mémoire du master. Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen (Algérie), 99 p.

Dalal, S., Nicolle, L., Marrs, C. F., Zhang, L., Harding, G., & Foxman, B. (2009). *Long-Term Escherichia coli Asymptomatic Bacteriuria among Women with Diabetes Mellitus*. *Clinical Infectious Diseases*, 49(4), 491–497.

Daniel J et Williamson D. (2003). Les infections urinaires. Une approche Clinique. *Pharmactuel*. 5 Suppl 36. p. 246-255.

Darbas H., Marchandin H., Bourgeois N. et Sylvie M-C. (2007). Diagnostic et suivi des infections urinaires le bon usage de l'examen cyto-bactériologique des urines. Faculté de Montpellier – Nîmes, p. 4-5.

Djanaoussine Samira. Debbou Laldja. (2014). Etude des infections urinaires chez les enfants âgés de moins de 16 ans et enquête épidémiologique au niveau de laboratoire d'analyse médicale privé Dr. Kadi de Sidi-Aich..p01.

Donlan R. M. (2008). Biofilms on central venous catheters: is eradication possible?. In *Bacterial biofilms* (pp. 133-161). Springer Berlin Heidelberg.

E

Elliott T., Reed L., Slack R., Bishop M. (1985). Bacteriology and ultrastructure of the bladder in patients with urinary tract infections. 11, p 191-199.

Espinasse F., Page B., Cottard-Boulle B. (2010). Risques infectieux associés aux dispositifs médicaux invasifs. *Revue francophone des laboratoires*, 2010(426), 51-63.

F

Federli I.(2006).Prévention de l'infection urinaire. Service de médecine préventive hospitalière. CHUV. p 93.

Flemming, H.-C., &Wingender, J. (2010). *The biofilm matrix. Nature Reviews Microbiology*, 8(9), 623–633. doi:10.1038/nrmicro2415

G

Gougoux A. (2004).L'analyse d'urine. Université de Montréal, pp ; 69-7.

H

Hancock V., Ferrieres L., Klemm P. (2007). Biofilm formation by asymptomatic and virulent urinary tract infections Escherichia coli strains. *FEMS MicrobiolLett*; 267: p. 30–7.

J

Jacobsen S.M., Stickler D.J., Mobley H.L.T. (2008) .Complicated catheter-associated urinary tract infections due to Escherichia coli and Proteus mirabilis. *Clinical Microbiolgy Review*. (21) 1:26-59.

JAMAL D (2015), Influence de stress environnementaux sur les propriétés physicochimiques de jeunes biofilms en cours de formation : Etude par spectroscopies vibrationnelles infrarouge-Raman et de force AFM. P 30.

Johnson J.R. (1991). Virulence factors in Escherichia coli urinary tract infection.*ClinMicrobiolRev*. 4: p.80–128.

K

Kabirou F. O. (2002). Étude de l'infection urinaire chez l'enfant malnutri dans le service de pédiatrie "A" de L'hôpital national de Niamey. Thèse de doctorat en Médecine. Université de Bamako. Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie. Mali.135p.

KaraTerki I. (2014). Caractirisation et évaluation de la formation de biofilme de souches de staphylocoques isolées de sondes urinaires chez les patients hospitalisés au CHU de Tlemcen. Thèse de doctorat ES science en Biologie cellulaire et biochimie, université Abou bekrbelkaid Tlemcen : P 26, 27

Köves B., Wullt B. (2016). The Roles of the Host and the Pathogens in Urinary Tract Infections. *Eur. Urol. Suppl.* 15, p.88–94. Disponibles sur « <https://doi.org/10.1016/j.eursup.2016.04.005> » Consulté le 20 avril 2018.

Kropec, A., Maira-Litran, T., Jefferson, K. K., Grout, M., Cramton, S. E., Gotz, F., ... Pier, G. B. (2005). *Poly-N-Acetylglucosamine Production in Staphylococcus aureus Is Essential for Virulence in Murine Models of Systemic Infection. Infection and Immunity*, 73(10), 6868–6876.

L

Lacobelli, S., Bonsante, F., & Guignard, J.-P. (2009). *Infections urinaires en pédiatrie. Archives de Pédiatrie*, 16(7), 1073–1079. doi:10.1016/j.arcped.2009.03.001

Lecomte F, Lebeau B. (1999). Les infections urinaires de la femme: vérités polémiques et nouveautés futures. John Libbey Eurotext. 179 p.

Lobel B. (2003). Infections urinaires nosocomiales (IUN) en chirurgie (dont urologie) : qui traiter, quand traiter et comment traiter ? *Médecine et maladies infectieuses*. 33 : 483–487.

M

MARTINEZ L.R et CASADEVALL A. (2007). Cryptococcus neoformans biofilm formation depends on surface support and carbone source and reduces fungal cellls susceptibility to heat, cold and UV light. *Appl. Environ. Microbiol.* 4592-4601.

Mathur T, Singhal S, Khan S, Upadhyay DJ, Fatma T, Rattan A. (2006). Detection of biofilm formation among the clinical isolates of Staphylococci: An evaluation of three different screening methods. *Indian Journal of Medical Microbiology* .24 (1):25-9.

Michael B.et Smith H. (1993). Dépistage des infections des voies urinaires chez les nourrissons et les enfants asymptomatiques. Canada, pp 247-259.

Mohammedi S. (2013). L'infection urinaire, chez l'enfant. *Santé-MAG*. 15, p10-11.

MRRHICH B, (2008). Les antibiotiques utilisés dans les infections urinaires. P 4

Muhsin J., Ufaq T., Tahir H. et Saadia A., 2015. Bacterial Biofilm: Its Composition, Formation and Role in Human Infections, *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 4: 1-14.

Mulvey M., Schilling J., Hultgren S. Juillet 2001. Establishment of a persistent Escherichia coli reservoir during the acute phase of bladder infection. Vol 69, n°7, p.4572-4579.

N

Nasr R., AbuShady H., Hussein H., (2012). Biofilm formation and presence of icaAD gene in clinical isolates of Staphylococci, *The Egyptian Journal of Medical*

Human Genetics. 13 : 269–274.

O

Okada, M., Sato, I., Cho, S. J., Iwata, H., Nishio, T., Dubnau, D., & Sakagami, Y. (2005). *Structure of the Bacillus subtilis quorum-sensing peptide pheromone ComX*. *Nature Chemical Biology*, 1(1), 23–24.

P

Parsek, M. R., & Singh, P. K. (2003). *Bacterial Biofilms: An Emerging Link to Disease Pathogenesis*. *Annual Review of Microbiology*, 57(1), 677–701. doi:10.1146/annurev.micro.57.030502.090720.

PIERRE Cochat,(2012) . (Hôpital Edouard-Herriot - Lyon) C@mpus National de pédiatrie et chirurgie pédiatrique TICEM – UMVF

POURRAT et GUIBERT. (1993). Bilan urinaire en pratique médicale quotidienne, biologiste et praticien, N 93, Paris.

R

Rabin, N., Zheng, Y., Opoku-Temeng, C., Du, Y., Bonsu, E., & Sintim, H. O. (2015). *Biofilm formation mechanisms and targets for developing antibiofilm agents*. *Future Medicinal Chemistry*, 7(4), 493–512. doi:10.4155/fmc.15.6

Racha A. N., Abu Shady H.M., Hussein H.S. (2012). Biofilm formation and presence of icaAD gene in clinical isolates of staphylococci. *Egyptian Journal of Medical Human and Genetic* .13: 269–274.

Relman D., Falkow S. (2009). A molecular perspective of microbial pathogenicity. In: G.L. Mandell, J.E. Bennett, R. Dolin (Eds.) *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. ed 7. Churchill Livingstone/Elsevier, Philadelphia, PA.

Riegel P. (2003). Aspect bactériologique des infections urinaire nosocomiales. *Médecine et maladies infectieuses*. 33, 255-265.

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

ROSTOKER G., BENMAADI A. & LAGRUE G. (1991). Infections urinaires hautes : pyelonephrites, *Encycl. méd.-chir. Urol*

RYTER. A.(1995) . : Structure et anatomie fonctionnelle de l'appareil urinaire .*Bactériol Méd*, Chapitre 1.

S

Schaeffer A.J. (1992). Infections of the urinary tract; Campbell's urology; Philadelphia: WB Saunders; p 731-806.

Schmiemann G., Gágyor I., Hummers-Pradier E., Bleidorn J. (2013). Resistance profiles of urinary tract infections in general practice - An observational study. *BMC Urology* 12(1):33. doi:10.1186/1471-2490-12-33.

Sedrati A(2014). Etude de l'antibiorésistance des souches bactériennes à l'origine des infections infantiles à l'EPH d'Ouargla. Mémoire de master en microbiologie appliquée. Université KASDI MARBEH-OUARGLA : P 24

Sinnassamy P., Bersman A., Brackman D., et Lasfargue G. (1989). Infection de l'appareil urinaire chez l'enfant. *Encycl-med-chirg (Paris-France). Pédiatrie*, 4085 Suppl 10 : 8 -1.

SPILF et AFU. (2002). Infections urinaires nosocomiales; Paris : institut pasteur.

Suetens C, Morales I, Savey A, Palomar M, Hiesmayr M, Lepape A, Gastmeier P, Schmit JC, Valinteliene R, Fabry J. (2007). European surveillance of ICU acquired infections (HELICS-ICU): methods and main results, *J Hosp Infect*; 65 Suppl 2:171-3.

Sutherland, I. (2001). *The biofilm matrix – an immobilized but dynamic microbial environment. Trends in Microbiology*, 9(5), 222–227. doi:10.1016/s0966-842x(01)02012-1.

T

Tolofoudie B. (2000). Aspects cliniques et thérapeutiques de la pyélonéphrite aiguë dans le service de néphrologie de l'Hôpital du Point G. Thèse médecine. Bamako.

Touati A., Achour W., Abbassi M.S., Ben Hassen A. (2007). Detection of ica genes and slime production in a collection of *Staphylococcus epidermidis* strains from catheter-related infections in neutropenic patients. *Pathology and Biology*. 55: 277–282.

Toyofuku, M., Inaba, T., Kiyokawa, T., Obana, N., Yawata, Y., & Nomura, N. (2015). *Environmental factors that shape biofilm formation. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 80(1), 7–12. doi:10.1080/09168451.2015.1058701.

Tremblay Y., Hathroubi S., Jacques M. (2014). les biofilms bactériens: leur importance en santé animale et en santé publique. p.110-116.

W

Waite, R. D., Papakonstantinou, A., Littler, E., & Curtis, M. A. (2005). *Transcriptome Analysis of Pseudomonas aeruginosa Growth: Comparison of*

Gene Expression in Planktonic Cultures and Developing and Mature Biofilms. Journal of Bacteriology, 187(18), 6571–6576. doi:10.1128/jb.187.18.6571-6576.2005.

Z

ZIAD Y ; HAYOUN K (2016), L'influence des propriétés physicochimiques sur l'adhésion bactérienne. Mémoire du master. Université des Frères Mentouri. Constantine (Algérie), 82 p

Les Annexes

Les annexes

Annexe 01

1-Fiche Malade :

Nom :

Prénom :

Externe interne service

L'âge :

Le sexe : féminin masculin

Annexe 2

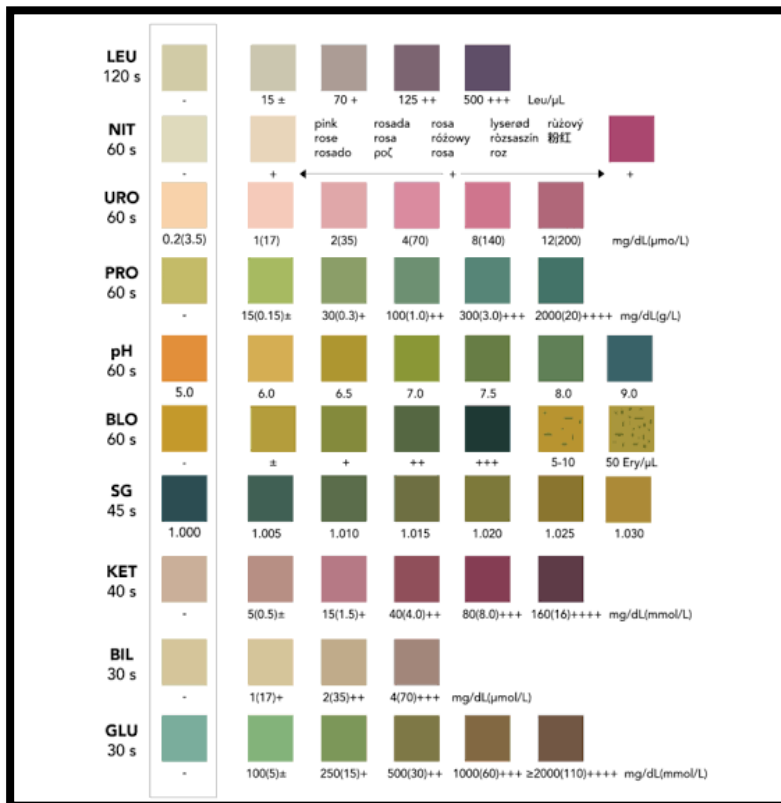


Figure 21 : Echelle colorimétrique de référence des bandelettes urinaires.

Annexe 3

1. Milieux de culture

➤ Gélose nutritive :

Extrait de viande	01g
Extrait de levure	02g
Peptone	05g
Chlorure sodium.....	05g
Agar agar.....	15g
Ph=7,4	

➤ Milieu Chapman :

Extrait de viande.....	1g
Peptone.....	10g
Chlorure de sodium... ..	75g
Mannitol.....	10g
Rouge de phénol.....	0,025g
Agar.....	15g
pH = 7,2	

➤ Milieu Hektoen (Biotechlab)

Protéose

peptone.....
 12,0g
 Extrait de levure :
 3,0g
 Lactose
 :
12,0g
 Saccharose
 : 12,
 0g
 Salicine
 :
2,0g
 Citrate de fer III et d'ammonium
 révélateur d'H₂S.....1,5g
 Sels biliaires :
 inhibiteur.....9,0g
 Fuchsine acide :
 inhibiteur.....0,1g
 Bleu de bromothymol : inhibiteur de
 Ph.....0,065g
 Chlorure de sodium : maintien de la pression
 osmotique.....5,0g
 Agar.....
14,0g
 PH= 7,60

➤ **Rouge congo**

BHIB

37.....

...g/L

Saccharose

.....50 g/L

Agar agar

.....10

gr/L

Rouge

congo.....0,

8 g/L

➤ **Brain heart broth BHIB (pH =7.4) :**

Infusion de cervelle de

veau.....12.5g

Infusion de coeur de

boeuf.....5.0g

Peptone.....

.....10.0g

Glucose.....

.....2.0g

Chlorure de sodium.....2.0g
Phosphatase di sodique.....5g

2. Colorants

➤ **Violet de Gentiane**

Violet de gentiane01g
Ethanol à 90°C.....100ml
Phénol02g
Eau distillée.....100ml

➤ **Lugol**

Iode01g
Iodure de patagium02g

Eau

distillée.....

.

.....300ml

➤ **Fuchsine**

Fuchsine

basique.....

01g

Alcool éthylique à

90°C.....10ml

Phénol

.....

...05g

Eau

distillée.....

.....10ml

➤ **Bleu de méthylène**

Bleu de méthyle

.....01g

Eau

distillée.....

.....20ml

Acide lactique

.....20g

Glycérol

.....

40g

➤ **violette cristalline**

Cristal
violet.....
...2g
Alcool éthylique à
95%..... 20 ml
Citrates d'ammonium
monohydraté..... 0.8 g
Eau
deminéralisée..... 80
ml

3. Réactifs

➤ **Réactif de VPI**

α -
naphthol.....
.....6g
Alcool à 90°
..... 100
ml

➤ **Réactif VPII**

NaOH 4N

➤ **Réactif de Kovacs**

Alcool amylique ou isoamylique
..... 150 ml

p.Dimethylaminobenzaldehyde.....
.....10 g

Acide chlorhydrique concentré
..... 50 ml

➤ Réactif de Tryptophane désaminase (TDA)

Soluté de perchlorure de fer $FeCl_3$
..... 10ml

Eau distillée
.....
20m

4. Les solvants

➤ L'eau physiologique :

Chlorure de Sodium.....9g
Eau distillée1000 mL

➤ Tampon phosphate salin (PBS) :

NaCl..... 8.0 g/L
KCl.....0.2 g/L
Na₂HPO₄.....1,42 g/L
KH₂PO₄.....0,24 g/L

Annexe 04

Tableau 12 : Répartition des infections urinaires selon les résultats d'ECBU

	Nombre	Taux(%)
Total	40	100%
Cas positif(+)	17	42.5%
Cas négatif(-)	23	57.5%

Annexe 05

Tableau 13 :

	Age	Sexe	Macroscopique	Hospitalisé/Non
E1	07 ans	F	Trouble rouge	Non hospitalisé
E2	11ans	F	Claire jaune	
E3	09ans	M	Claire jaune	
E4	05ans	F	Trouble jaune	Hospitalisé
E5	15ans	M	Claire jaune	Non hospitalisé
E6	12ans	F	Trouble jaune	
E7	07ans	F	Claire jaune	
E8	09ans	F	Trouble jaune	Hospitalisé
E9	11ans	M	Claire jaune	

				Non hospitalisé
--	--	--	--	-----------------

E10	04ans	F	Claire jaune	
E11	04ans	M	Claire jaune	
E12	07ans	M	Claire jaune	
E13	12ans	F	Claire jaune	
E14	07ans	F	Claire jaune	Hospitalisé
E15	11ans	F	Claire foncé	Non hospitalisé
E16	12ans	F	Claire jaune	
E17	04ans	F	Trouble jaune	
E18	12ans	M	Trouble foncé	
E19	02ans	M	Trouble foncé	
E20	09ans	F	Claire jaune	
E21	15ans	F	Claire jaune	
E22	11ans	F	Trouble foncé	
E23	07ans	F	Claire jaune	Non hospitalisé
E24	14ans	F	Trouble foncé	Hospitalisé
E25	02ans	M	Claire jaune	Non hospitalisé
E26	01ans	M	Claire jaune	
E27	07ans	F	Trouble foncé	Hospitalisé
E28	8 mois	M	Claire jaune	
E29	03ans	F	Claire jaune	
E30	07jours	M	Claire jaune	

				Non hospitalisé
--	--	--	--	-----------------

E31	11ans	M	Claire jaune	
E32	2mois	F	Claire jaune	
E33	15ans	F	Trouble jaune	
E34	1ans	M	Claire jaune	
E35	9jours	M	Claire jaune	
E36	12ans	M	Claire jaune	
E37	6mois	M	Claire jaune	Non hospitalisé
E38	13ans	M	Claire jaune	
E39	15jours	M	Claire jaune	
E40	8ans	M	Claire jaune	

Résumé

L'infection urinaire (IU) chez les enfants est l'infection bactérienne la plus commune et la cause d'un fardeau important pour les ressources du système de santé, elle est caractérisée par l'existence d'une bactériurie pathologique.

Cette étude réalisée au laboratoire de Microbiologie Appliqué de la faculté de science biologique UTMA Sidi Bel Abbes a montrée que Parmi les 40 prélèvements urinaires reçus au laboratoire, on a trouvé 17 cas positifs par rapport à 23 cas négatifs. Les résultats épidémiologiques ont montré que les entérobactéries représentent la grande majorité des bactéries responsables des IU, dont *Escherichia coli* est l'espèce la plus incriminée (38%).

Les études d'adhésion bactérienne et de formation du biofilm ont révélé que plus de la moitié des souches produisaient un slime bactérien par la technique du rouge congo 94%, 30% d'entre elles étaient fortement formatrice de biofilm par la technique TCP. 47% de souches ont formé un biofilm par la technique TM.

Il devient essentiel d'améliorer nos connaissances sur le rôle des biofilms dans les infections urinaires afin de trouver de nouveaux moyens de prévenir ou de traiter ces dernières.

La détection de biofilm dans les infections urinaire était recherchée par la méthode de culture de tissu en plaque (TCP) et la méthode de production de slime par méthode Rouge Congo (RCA) et la méthode en tube (TM) nous permet de dire que la méthode des microplaques (TCP) était la plus efficiente et la mieux indiquée pour une évaluation quantitative de l'adhésion bactérienne sur une surface et la méthode RCA était la plus efficace pour la production de slime bactérien, ces 2 méthodes ont donné de bons résultats.

MOTS-CLES : Infection urinaire- enfant- prélèvement urinaire- biofilm.

Abstract

Urinary tract infection (UTI) in children is the most common bacterial infection and the cause of a significant burden on the resources of the health system; it is characterised by the existence of pathological bacteriuria.

This study carried out in the Applied Microbiology laboratory of the faculty of Biological Science of UTMA Sidi Bel Abbes showed that among 40 urine samples received at the laboratory, 17 positive cases were found compared to 23 negative cases. Epidemiological results have shown that enterobacteria represent the vast majority of bacteria responsible for UI, of which *Escherichia coli* is the most implicated species (38%).

Studies of bacterial adhesion and biofilm formation revealed that more than half of the strains produced a bacterial slime by the technique of Congo red 94%, 30% were highly biofilm forming by the TCP technique. 47% of strains formed a biofilm by the TM technique.

It is becoming essential to improve our knowledge of the role of biofilms in order to find new ways to prevent or treat the latter.

The detection of biofilm in urinary tract infections was sought by the tissue culture plate method (TCP) and the Congo red method of slime production (RCA) and the tube method (TM) allows us to say that the micro plate method (TCP) was the most efficient and the better indicated for a quantitative evaluation of bacterial adhesion to a surface and the RCA method was the most efficient for the production of bacterial slime, these 02 methods have given the better results.

KEY WORDS: Urinary Infection - children- urine samples- biofilm.

ملخص

تعد عدوى المسالك البولية عند الأطفال أكثر أنواع العدوى البكتيرية شيوعاً وسبباً في عبيء كبيراً على موارد الجهاز الصحي ، وتتميز بوجود البيلة الجرثومية المرضية. تتيج لنا هذه الدراسة التي أجريت في مختبر الأحياء الدقيقة التطبيقي بكلية العلوم البيولوجية ليتما سيدي بلعباس ان تبين لنا انه من بين 40 عينة بول وردت في المختبر تم العثور على 17 حالة ايجابية مقابل 23 حالة سلبية. أظهرت النتائج البوانية ان البكتيريا المعوية تمثل الغالبية العظمى من البكتيريا المسؤولة عن واجهة المستخدم. تعتبر الاشريكية القولونية . % أكثر الأنواع تورطاً فيها 38 . كشفت دراسات الالتصاق البكتيري و تكوين الأغشية الحيوية ان أكثر من نصف السلالات أنتجت سلايم بكتيريا بتقنية كونغو الأحمر 30 منها كانت مكونة بقوة للأغشية الحيوية بتقنية الصفيحة الميكروسكوبية. 47 من السلالات منتجة للغشاء الحيوي بتقنية الانابيب. أصبح من الضروري تحسين معرفتنا بدور الأغشية الحيوية في التهابات المسالك البولية من اجل إيجاد طرق جديدة لمنع او علاج هذا الأخير. تم التحقيق في الكشف عن الغشاء الحيوي في عدوى المسالك البولية من خلال طريقة لوحة زراعة الأنسجة وطريقة الكونغو الحمراء لإنتاج الوحل و طريقة الأنبوب أن تسمح لنا بالقول ان طريقة الصفيحة الدقيقة كانت الأكثر كفاءة و طريقة الكونغو هي الأكثر فعالية لإنتاج الوحل البكتيري و قد أعطت هاتان الطريقتان نتائج جيدة. كلمات البحث عدوى المسالك البولية. الأطفال. عينة البول. الغشاء الحيوي.

