



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES FES DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA vie

Licence Science et technique Section biologie & santé PROJET DE FIN D'ETUDE

Profil bactériologique des infections urinaires à l'Hôpital Al Farabi d'Oujda durant 45 jours avec comparai les malades hospitalisés et les malades externes

Présenté par : Mlle ASMAE ZERROUKI.

Encadré par :

• Pr. Nour-edinne CHADLI (FSTF)

• Dr. Mohammed BOURCHID (Laboratoire de bactériologie, CRF, Oujda)

Soutenu Le: 17 Juin 2010

Devant le jury composé de :

Pr. Nour-edinne CHADLI : Président
 Pr. Rachida TLEMCANI : Examinateur
 Pr. Amal AZZOUZI : Examinateur

Année universitaire: 2009/2010

<u> DEDICACE</u>

A MES CHERS PARENTS

Aucune dédicace, aucun mot, aucun acte ne saurait exprimer à leur propre valeur, le dévouement et l'amour que je vous porte.

Rien au monde ne pourrait compenser tous les sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation et mon bien être.

Veuillez trouver en ce travail, qui est aussi le votre, l'expression de ma profonde reconnaissance, mon respect et mon estime.

Puisse Dieu vous accorder la santé, le bonheur et une longue vie.

A MON CHER FRERE SOUFIANE

J'admire en toi ta générosité et ta sympathie et ton esprit de famille. Je te souhaite grand succès dans tes études et bonheur dans ta vie.

<u>REMERCIEMENTS</u>

Je remercie Dieu qui me donne la force, la volonté et l'espoir pour réussir ma vie.

Je suis redevable au Dr. Mohammed Bourchid, qui a bien voulu accepter d'encadrer ce travail avec une disponibilité constante et qui m'a prêté son aimable attention pour l'élaboration de ce travail. Je suis sincèrement reconnaissante, Monsieur, votre sens de devoir, vos qualités humaines et professionnelles sont pour moi un modèle à suivre. Merci beaucoup.

Je tiens à remercier les professeurs Mme Rachida Tlemcani et Mme Amal Azzouzi de vouloir accepter de juger ce modeste travail.

Je remercie sincèrement Monsieur Nour-edinne Chadli, pour m'avoir encadré tout au long de ce stage et m'avoir apporté ses précieux conseils ainsi que sa disponibilité. Monsieur j'aimerais bien vous remercier pour toute la confiance que vous m'aviez accordée. Veuillez bien trouver dans ces quelques lignes l'expression de toute ma reconnaissance.

Mes remerciements les plus distingués vont aussi à tous les professeurs de la faculté des sciences et techniques de Fès et je souhaite que ce travail soit le fruit et le témoin de la bonne formation acquise grâce a leur effort.

Je remercie Monsieur Stitou Lahsen et Monsieur Bousaidi Amine au sein du laboratoire, pour leurs conseils lucides et pertinents, et surtout pour leur grand soutien moral durant ma période de stage, sans oublier de remercier tout le personnel du laboratoire.

AVANT PROPOS

Présentation du Centre hospitalier régional Al Farabi

C'est le centre hospitalier régional Al Farabi qui est doté de 450 lits et il est constitué de :

- Département médical : formé des spécialités suivantes :
- Diabétologie endocrinologie.
- Gastrologie entérologie.
- Pneumologie phtisiologie.
- Neurologie.
- Infectieuse.
- Dermatologie.
- Rhumatologie.
- Médecine interne.
- Hématologie.
- Cardiologie.
- Néphrologie.
- Département chirurgicale :
- Chirurgie générale.
- Urologie.
- Traumatologie orthopédie.
- ORL stomatologie.
- Ophtalmologie.
- Neurochirurgie.
- Chirurgie thoracique.
- Chirurgie plastique.
- Chirurgie vasculaire.
- Département mère enfant : formé des spécialités suivantes :
- Pédiatrie.
- Chirurgie pédiatrique.
- Gynéco obstétrique.
- Département urgence- réanimation constitué de :
- Service des urgences.
- Service de réanimation.
- Département medico technique constitué de :
- Le laboratoire de biologie médicale.
- Le laboratoire d'anatomopathologie.
- Service de radiologie.

- Service d'exploration fonctionnelle.
- Centre régionale de transfusion sanguine.

Le laboratoire de biologie médicale : le service où j'ai effectué mon stage est constitué de sept unités :

- Secrétariat et salle de prélèvement sanguin et gynécologique.
- Unité d'immuno sérologie.
- Unité d'hématologie.
- Unité d'hémostase.
- Unité de biochimie.
- Unité des urgences.
- Unité de bactériologie-virologie-parasitologie et mycologie. Cette dernière unité où j'ai réalisé ce travail, traite plusieurs paramètres à savoir :
- Etude cytobactériologique urinaire : ECBU.
- Etude cytobactériologique du prélèvement vaginal.
- Coproculture.
- Parasitologie des selles.
- ❖ Etude cytobactériologique du LCR et recherche des antigènes solubles.
- ❖ Etude cytobactériologique des liquides d'épanchement (liquide pleural, liquide d'ascite, liquide articulaire ...).
- Etude cytobactériologique du pus des cathéters.
- Etude cytobactériologique des hémocultures.
- ❖ Mycologie (peau glabre, phanères, cuire chevelu, tissus).
- Spermogramme : spermo-culture.
- * Recherche de rotavirus dans les selles.
- ❖ Détection du virus de la grippe H1N1.
- **\Display** Etude des infections nosocomiales.
- Préparation de milieu de culture
- ❖ Entretien du matériel du laboratoire : centrifugeuse, balance de précision, lecteur ELISA, autoclave, micropipette, vortex.
- * Contrôle de différentes températures (étuve, réfrigérateur, congélateur).
- Veiller sur la propreté, l'hygiène de laboratoire.
- Eliminer les déchets selon la procédure.
- Observer et transcrire les résultats avec validation du responsable du laboratoire.
- ❖ Analyse statistique des différents paramètres réalisés.

Liste des abréviations des antibiotiques

AM: Ampiciline

AMC: Amoxicilline + acide calvulanique

AMX: Amoxicilline

AN: Amikacine

ATM: Aztreonam

CAZ: Cephtazidine

CF: Cephalotine

CIP: Ciprofloxacine

CL: Colistine

CRO: Ceftraxone

CXM: Céfuroxime

E: Erytromicine

FA: Acide Fusidique

FFL: Fosfomycine

FOX: Céfoxitine

GM: Gentamicine

L: Lincomycine

NA: Acide Nalidixique

NN: Tobramycine

NOR: Norflaxacine

P: Pénicilline

PIP: Piperacilline

PR: Piristinamycine

RA: Rifampicine

TE: tétracycline

TEC: Teicoplanine

TIC: Ticaciline

TIM: Ticarciline + acide clavulanique

VA: Vancomycine

Liste des abréviations

ADH : Arginine di hydrolase BGN : bacille à gram négatif

.CIT : Citrate Citr : Citrate

ECBU: examen cytobactériologique des urines.

GEL: Gelatinase

Gram-: gram négatif Gram+: gram positif H2S: production de H2S

IU: infection urinaire

Lact: Lactose

LDC: Lysine décarboxylase

Mob: Mobilité

ONPG: β galactosidase

ODC :Ornhitine décarboxylase

R : Résistance

Rex : Résistance chez les malades externes Rh : résistance chez les malades hospitalisés

S : sensibilité

Sex : Sensibilité chez les malades externes Sh : Sensibilité chez les malades hospitalisés

TDA: Tryptophane Désaminase

URE: Uréase

VP: sodium pyruvate.

SOMMAIRE

Avant propos	5
Liste des abréviations des antibiotiques	8
Liste des abréviations.	9
Introduction générale.	13
Partie I : étude bibliographique	14
I. Définition de l'infection urinaire	15
I.1.Infection nosocomiale	15
II. La clinique de l'infection urinaire	15
II.1.Infection symptomatique.	15
II.1.1.Infections basse.	15
II.1.2.Infections hautes.	15
II.2.Infection asymptomatique	16
II.3.Les facteurs de risques de l'infection urinaire	16
II.3.1.Les causes anatomiques	17
III. Les germes responsables de l'infection urinaires	17
III.1.Les enterobacteriaceae	17
III.1.1.Escherichia coli.	18
III.1.2.Klebsiella	18
III.1.3.Proteus.	18
III.1.4.Enterobacter	18
III.2.Les bacilles non fermentatifs.	19
III.2.1.Pseudomonas aeruginosa	19
III.3.Les cocci à Gram positif.	20
III.3.1.Staphylocoque à coagulase négative	20
III.3.2.Staphylocoque coagulase-négatifs	20
III.3.3.Les streptocoques.	20
III.4.Les levures.	20
III.5.Les parasites.	20
Partie II : Matériel et Méthode.	22
IV. Matériels	23
IV.1.Malades ciblés	23
VI.1.1.Les malades hospitalisés.	23
VI.1.2.Les malades externe.	23
V Méthodes	23

V.1Prélèvement.	23
V.1.1.Technique de prélèvement	23
V.2.Examen cytobactériologique	24
Premier jour	25
V.2.1.Examen macroscopique.	25
V.2.2.Mise en culture	25
V.2.3.Examen microscopique à l'état frais	25
Deuxième jour.	26
V.2.4.Identification du germe et antibiogramme. Troisième jour.	
Partie III : Résultats	31
VI. Résultats	32
VI.1.Fréquence de l'infection urinaire en milieu hospitalier et externe	32
VI.2.Fréquence de l'infection urinaire selon le sexe.	32
VI.3.Fréquence des infections urinaires selon le sexe et le groupe	32
VI.4.Fréquence des cas positifs	33
VI.5.Le nombre des cas positifs selon le sexe.	33
VI.6.Le nombre des cas positifs selon le sexe et le groupe	34
VI.7.Le nombre de sexe selon les cas positifs	34
VI.8.Les germes hospitaliers et germes externes	35
VI.9.Sensibilité des différents germes isolés aux antibiotiques testés	36
VI.9.1.Antibiogramme d'Escherichia coli	37
VI.9.2.Antibiogramme de Klebsiella pneumoniae	37
VI.9.3.Antibiogramme de Proteus mirabilis	38
VI.9.4.Antibiogramme de Streptocoque Sp.	39
VI.9.5.Antibiogramme de staphylocoque à coagulase négative	39
VI.9.6.Antibiogramme de Pseudomonas aeruginosa	
Partie IV : Discussion.	
Conclusion	
Annexes	

INTRODUCTION

Introduction générale

Les reins sont parmi les organes nobles de l'organisme.

Ils assurent la filtration du sang et permettent l'élimination des déchets par l'excrétion des urines, qui sont des liquides biologiquement stériles.

Ces urines excrétées vont être éliminés vers l'extérieur par les voies urinaires qui sont les uretères, la vessie et l'urètre.

L'infection du tractus urinaires se produit le plus souvent à partir de la flore fécale et périnéale par voie ascendante. (Procédure opératoire standardisées de biologie médicale, 2001)

L'examen cytobactériologique des urines est un examen essentiel pour diagnostiquer l'infection urinaire en identifiant le germe responsable et surveiller le traitement instauré par le médecin pour juguler l'infection.

Car en absence du traitement efficace de la conséquence pathologique sévère qui peuvent entrainer des complications graves (atteinte de la fonction rénale).

Objectif du travail:

L'objectif de mon travail est de récolté tous les examens cytobactériologique des urines (ECBU) réalisés au niveau du laboratoire de l'hôpital Al Farabi d'Oujda et de faire durant 45 jours une étude comparative entre les malades hospitalisés et les malades externes de point de vu :

- Quantité d'examen réalisé.
- Nombre d'examen positif.
- La variété des germes isolés.
- La sensibilité des germes isolés aux antibiotiques.



I. Définition de l'infection urinaire :

L'infection urinaire (IU) est causée par la prolifération anormale d'agent infectieux, habituellement une bactérie.

L'IU est ascendante, c'est-à-dire que l'agent infectieux pénètre dans l'urétre puis dans la vessie et commence à se multiplier, et peut remonter jusqu'aux reins (pyélonéphrite).

I.1.Infection urinaire nosocomiale:

Une infection est dite nosocomiale si elle survient après 48 heures d'hospitalisation chez un sujet auparavant en dehors de toute hospitalisation. (Chartier.E, 2003)

II. La clinique de l'infection urinaire :

Les symptômes d'infection urinaire sont définies d'une façon générale par :

II.1.Infection symptomatique:

On distingue deux types d'IU, infections basses et infections hautes.

II.1.1.Infections basses:

Il existe trois types d'IU basses : la cystite, l'urétrite et la prostatite.

Ils se distinguent selon la localisation de l'infection.

a. Cystite:

Il s'agit de l'inflammation de la vessie qui se manifeste par une brulure mictionnelle, envies fréquentes d'uriner (pollakiurie) et poids au bas ventre (pesanteur vésicale).

Elle est plus courante chez les femmes, mais les hommes peuvent aussi en souffrir. (Chartier., E, 2003)

b. Urétrite:

Elle touche l'urètre (le conduit qui relie la vessie au méat urinaire), elle a comme symptômes la difficulté à uriner et une douleur à l'écoulement urinaire.

C'est une infection sexuellement transmissible courante chez les hommes, les femmes peuvent aussi en souffrir. (Infection urinaire., encyclopédie médicale., Doctissimo)

c. Prostatique :

Il s'agit de l'infection du parenchyme prostatique, qui touche les hommes. Ses symptômes sont la fièvre, les frissons, des troubles urinaires comme la dysurie et la pollakiurie, des douleurs périnéales ou sus pubiennes et la rétention des urines. (Bernard.,D, 1992)

II.1.2.Infection hautes:

a. Pyélonéphrite:

C'est une infection grave du parenchyme rénal.

Elle a comme symptômes, la fièvre, les frissons et les douleurs lombaires. (Bernard.D, 1992)

II.2.Infection asymptomatique :

Les infections asymptomatiques sont des infections sans symptômes et doivent être dépisté chez les personnes à risques.

II.2.1.Personnes à risques :

- Les hommes atteints d'une hypertrophie bénigne de la prostate ou d'une prostatite. Lorsqu'elle augmente de taille, la prostate comprime l'urètre, ce qui ralentit l'évacuation de l'urine.
- Les femmes enceintes sont particulièrement à risque en raison de la pression exercée par le bébé sur le système urinaire, mais aussi des changements hormonaux inhérents à la grossesse.
- Les femmes ayant une vaginite causée par une baisse d'hormones œstrogènes, après la ménopause.
- Les personnes diabétiques, en raison du taux élevé de sucre dans leur urine, qui constitue un milieu favorable au développement bactérien, et de leur sensibilité accrue aux infections.
- Les personnes chez qui on a introduit une sonde dans l'urètre. Les personnes qui ne peuvent uriner, qui sont inconscientes ou gravement malades ont souvent besoin d'une sonde le temps de retrouver leurs fonctions urinaires. Certaines personnes qui ont une atteinte au système nerveux en auront besoin toute leur vie. Les bactéries se servent alors de la surface du tube pour infecter le tractus urinaire. Parfois contractées à l'hôpital, ces bactéries ont pu développer une certaine résistance nécessitant le recours à des antibiotiques plus puissants.
- Les personnes qui ont une anomalie structurale des voies urinaires, qui souffrent de calculs rénaux ou de divers troubles neurologiques. (Nathalie DUMARCET, 2008)

II.3.Les facteurs de risques de l'infection urinaire :

- Avoir une mauvaise hygiène génitale. Après être allé à la selle, s'essuyer vers l'avant avec le papier hygiénique est un facteur de risque.
- L'activité sexuelle.
- Chez certaines femmes qui utilisent un diaphragme.
- Utilisation de spermicides.
- Trouble du comportement mictionnel (mictions rares, retenus, incomplètes).
- Anomalies organique ou fonctionnelle du tractus urinaire. (Bernard Lobel et Claude-James Soussy., 2007)

II.3.1.Les causes anatomiques :

• Chez la femme :

l'IU est favorisée par la faible longueur de l'urètre, la modification de l'acidité vaginale par la diminution normale des hormones (œstrogènes) et des sécrétions vaginales après la ménopause, certaines habitudes d'hygiène (douches vaginales avec des produits qui déséquilibrent la flore bactérienne habituelle du vagin qui est un lactobacillus) qui facilitent la colonisation du vagin et de l'urètre par des bactéries d'origine digestive comme Escherichia coli.

L'infection est surtout favorisée par les rapports sexuels, car le frottement au niveau du méat urinaire lors des rapports favorise l'entrée dans l'urètre et dans la vessie des microbes normalement présents au niveau du vagin. Souvent, la première infection coïncide avec le début de l'activité sexuelle ("cystite de la lune de miel"). L'utilisation de gel spermicide est un facteur

Les prolapsus de l'utérus et de la vessie, qui entraînent une mauvaise vidange de la vessie, favorisent également l'infection. La grossesse peut favoriser l'infection car la compression par l'utérus entraîne une dilatation voire une certaine obstruction des uretères.

• Chez l'homme :

la longueur de l'urètre et les sécrétions prostatiques acides (au rôle antibactérien) expliquent en partie la rareté des infections chez l'homme jeune. Chez l'homme plus âgé, la diminution de ces sécrétions, l'augmentation du volume prostatique et surtout la mauvaise vidange vésicale liée à l'obstacle prostatique favorisent la survenue des infections génitourinaires.

• Chez les deux sexes :

le diabète et les maladies neurologiques entraînant une mauvaise vidange vésicale sont des facteurs favorisant l'infection urinaire. (J Young., 2009)

III. Les germes responsables de l'infection urinaire :

Il existe plusieurs agents infectieux responsables d'IU.

On distingue les bactéries (les entérobactéries, les bacilles non fermentatif, les cocci à Gram positif), les levures et les parasites.

III.1.Les enterobacteriaceae:

La famille des enterobacteriaceae comprend de nombreux genres bactériens répondant à la définition suivante :

- bacilles à Gram négatif.
- aér-anaérobies.
- mobiles ou immobiles.
- facilement cultivables.
- fermentant le glucose.

- réduisant les nitrates en nitrites.
- dépourvus d'oxydase. (cours de bactériologie, virologie, immunologie-Anne Decoster) Ils regroupent plusieurs types de germes dont les plus isolés au niveau des urines : *Escherichia coli, Klebsiella, Proteus*.

III.1.1.Escherichia coli:

C'est un saprophyte de l'intestin qui dans certaines conditions va devenir virulent et déterminer des infections, notamment urinaires.

E. coli est un bacille non capsulé et mobile par ciliature péritriche.

Escherichia coli forment sur milieux solides de grosses colonies opaques à centre légèrement plus foncé, et possèdent les caractères biochimiques qui caractérisent l'espèce (tableau N°1 ci dessous (milieux de culture en microbiologie médicale)).

III.1.2.Klebsiella:

Les *Klebsiella* sont des saprophytes du tube digestif et des voies aériennes supérieures qui peuvent être également rencontrées dans la nature. Le biotype le plus souvent rencontré est *Klebsiella pneumoniae* encore appelé *Pneumobacille* de Fueollander. Ce sont des bacilles immobiles, souvent capsulés qui possède les caractères biochimiques qui caractérisent l'espèce (tableau N°1 ci dessous).

On rencontre assez souvent un autre biotype constitué par *Klebsiella oxytoca*. *Klebsiella* forment sur milieux solides de grosses colonies muqueuses, goutte de miel. La différentiation entre les deux biotypes est que *Klebsiella pneumoniae* est indol- et *Klebsiella oxytoca* est indol+.

III.1.3.Proteus:

Les germes de ce genre sont des hôtes du tube digestif de l'homme. *Proteus Mirabilis* est le plus fréquemment rencontré. Ce sont des germes très mobiles par action du flagelle. On les trouve également dans la nature où ils jouent un rôle de putréfaction, et possède les caractères biochimiques qui caractérisent l'espèce (tableau N°1 ci dessous).

La production d'indole va permettre de différencier *Proteus mirabilis* qui est Indole – de *Proteus retigeri* et *morganii* qui sont indoles (+).

Les Proteus donnent des colonies bleues, translucides. Ils envahissent la surface de la gélose en formant des halos de cultures en ondes concentriques à partir du point d'inoculation.

III.1.4.Enterobacter:

Ce sont des entérobactéries VP + (Voges-Prauskauer (+), c'est-à-dire qu'il y a production d'acétoine).

Les *Enterobacter*, présents dans l'environnement, sont également des commensaux du tube digestif.

Tableau 1 : les caractères biochimiques des entérobactéries.

	Escheri chia	Citroba cter	Enterob acter	Klebsi ella	Serr atia	Salmo nella	Shig ella	Prot eus	Provide ncia	Yersi nia
Gluc	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lact	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
ONPG	+	+	+	+	+	-	+/-	-	-	+
Indole	+	-	-	+/-	-	-	+/-	+/-	+	+/-
VP (Acéto ïne)	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+
Citr	-	+	+	+	+	+/-	-	+/-	+	-
Mob.	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+*
Urée	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+
PDA	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
H2S	-	+/-	-	-	-	+	-	+/-	-	-

Figure1 : les caractères biochimiques des entérobactéries.

III.2.Les bacilles non fermentatifs :

III.2.1.Pseudomonas aeruginosa:

Pseudomonas aeruginosa (Ps. a) est un petit bacille fin, très mobile grâce à un cil polaire, sporulé et mucoîde, commensal du tube digestif mais peu abondant chez le sujet sain. Il occasionne de nombreuses infections chez les sujets fragilisés.

Pseudomonas aeruginosa produit deux pigments qui diffusent dans le milieu de culture : la pyocyanine, bleu vert, soluble dans le chloroforme et la pyoverdine, jaune vert, dégage une odeur de jasmin par production d'orthoamino-acétophénome fluorescent et soluble dans l'eau.il donne des colonies à surface mates. L'odeur de seringa des cultures est également caractéristique.

III.3.Les cocci à Gram positif:

III.3.1.Staphylocoque aureus:

Staphylococcus aureus est une cocci à Gram positif apparaissant en amas à l'examen microscopique.

Il est immobile, non sporulé. Il cultive facilement sur milieux ordinaires en aérobiose comme en anaérobiose en formant, sur milieux solides, des colonies lisses, luisantes et bombées, plus ou moins pigmentées en jaune or d'où l'appellation *Staphylococcus aureus* ou staphylocoque "doré".

III.3.2.Staphylocoque coagulase-négatifs:

Simples commensaux de la peau et des muqueuses, par l'absence de coagulase ce qui les différencie de *Staphylococcus aureus*.

III.3.3.Les streptocoques:

La famille des *Streptococcaceae* regroupent la plupart des espèces responsables d'infections humaines. Les caractéristiques communes à toutes ces espèces sont les suivantes : cocci à Gram positif, non sporulés, immobiles, dépourvus de catalase et d'oxydase, ne réduisant pas les nitrates et résistants aux aminosides.

Les germes responsables des IU sont staphylocoque du groupe B et D.

b. *Streptocoque du groupe B* :

Les *streptocoques* du groupe B ou *Streptococcus agalactiae* sont responsables de mammite chez les bovidés. Chez l'homme, ce sont des commensaux de l'intestin et des voies génitales de la femme.

Ce sont des streptocoques \(\beta \) hémolytiques.

c. *Streptocoques du groupe* D :

Ils sont des streptocoques non hémolytiques, commensaux du tube digestif de l'homme et des animaux.

Sur gélose du sang, ils cultivent facilement en donnant de petites colonies, le plus souvent non hémolytiques mais parfois entourées d'une zone d'hémolyse α ou β . (B.Carbonnelle ., 1990)

III.4.Les levures :

Les infections urinaires fongiques surviennent essentiellement chez des patients présentant des facteurs de risque locaux ou généraux tels que : sonde urinaire, diabète, immunodépression, hospitalisation en réanimation...L'origine de l'infection est la plupart du temps endogène (les levures responsables proviennent du patient lui-même, notamment du tube digestif) et il s'agit de champignons du genre *Candida* albicans.

La recherche du candida s'effectue par un examen mycologique des urines. (H.,Darbas, 2007)

III.5.Les parasites :

Le parasite rencontré dans les urines est *Trichomonas vaginalis*.

C'est un parasite flagellé, de transmission vénérienne non kystique, il forme des fois des formes amiboïdes. Il contient deux paires de flagelles dans l'extrémité apicale. (cours de bactériologie, virologie, immunologie- Anne Decoster)

Matériel

<u>Et</u>

<u>Méthode</u>

IV. Matériels:

IV.1.Malades ciblés:

VI.1.1.Les malades hospitalisés :

Tous les services hospitalisés envoient au laboratoire les prélèvements urinaires pour effectuer l'ECBU sans exception, avec une prédominance des autres services, et surtout les services d'urologie.

VI.1.2.Les malades externes :

Ils proviennent de :

- Centre de santé civile.
- Centre de diagnostic polyvalent.
- Consultation des médecins privé de la ville.
- Malades de prison civile.

V. Méthodes:

V.1Prélèvement:

C'est une étape primordiale qui conditionne la qualité des résultats. Il peut se dérouler à l'hôpital ou à domicile, l'essentiel étant de bien expliquer aux patients les conditions à respecter en évitant la contamination de l'urine, lors de la miction, par la flore commensale qui colonise l'urètre et la région périnéale.

V.1.1. Technique de prélèvement :

- L'urine est recueillie au mieux le matin, en absence de miction depuis trois heures, avant antibiothérapie ou après l'arrêt de traitement.
- Après toilette soigneuse à l'eau et au savon antiseptique, suivie d'un rinçage au sérum physiologique ou à l'eau afin que des traces de savon ou d'antiseptique ne soient pas entrainées par le jet d'urine.
- L'homme nettoie la verge et le gland, la femme nettoie les petites, lèvres et la vulve en allant du méat urinaire vers l'anus. En cas de perte vaginales, même banales, il faut mettre une protection vaginale (un tampon hygiénique ou une compresse).
- Le patient élimine le premier jet urinaire (10 à 50 ml et non pas quelque gouttes) afin de laver l'urètre antérieur et de le débarrasser de sa flore commensale.
- Il recueille le 2éme jet de la miction (20 à 30 ml au minimum) dans un pot stérile ouvert juste avant le recueil et refermé juste après, en écartant les grandes lèvres chez la femme et en rétractant le prépuce chez l'homme pour ne pas toucher le bord supérieur du récipient et le contaminé.

a. Cas particulier:

* Le nourrisson:

Chez le petit enfant, on doit utiliser un collecteur stérile spécifique (une poche stérile). Ce dispositif à usage unique adapté à l'anatomie se pose avec soin autour des organes génitaux de l'enfant après leur soigneuse désinfection, il ne faut pas le laissé en place plus de 20 à 30 minutes à cause de risque de contamination par les selles. Passé ce délai, si l'enfant n'a pas uriné, le dispositif est éliminé et remplacé par un collecteur neuf. Dés la miction terminée, le collecteur est ôté et les urines sont transvasées rapidement vers le laboratoire. (H.,Darbas, 2007)

* Chez une personne sondée :

Lavage des mains, puis recueil par ponction (seringue, aiguille stérile) dans la paroi de la sonde après désinfection, il ne faut pas prélever les urines dans le sac collecteur, et ne pas déconnecter la sonde du sac pour prélever les urines. (B.,Carbonnelle, 1990)

* Patient incontinent:

Chez la femme:

Chez la femme incontinente, un prélèvement après toilette génitale soigneuse peut être considéré comme acceptable. Le recueil des urines par sondage urinaire à l'aide d'une sonde de petit calibre ne doit donc pas être systématique. Il n'est acceptable que si le recueil des urines lors de la miction est impossible.

Chez l'homme:

Chez l'homme, le recueil par sondage urinaire à l'aide d'une sonde de petit calibre est à éviter car facteur de risque de prostatite. Il est préférable de recueillir l'urine au moyen d'un collecteur pénien, voire par cathétérisme sus-pubien en cas de rétention d'urine. (B.,Carbonnelle, 1990)

V.2. Examen cytobactériologique :

L'examen cytobactériologique des urines est un ensemble de techniques étudiant les germes et les cellules contenus dans le prélèvement d'urine afin de déterminer si cette dernière révèle ou non une infection et quel est le germe en cause.

Il a été réalisé par plusieurs étapes qui sont réparties sur trois jours :

- Examen macroscopique.
- La culture.
- Examen microscopique.
- Chimie urinaire.
- Identification biochimique.
- Coloration de Gram.
- Antibiogramme.

Premier jour:

V.2.1.Examen macroscopique :

Il consiste à l'homogénéisation d'urine par retournement du flacon et on note l'aspect des urines, l'aspect peut être selon les urines clair, peu clair, trouble, hématique.

Pour les autres examens (pH), ils ne sont pas réalisés par le laboratoire de la structure d'accueil.

V.2.2.Mise en culture :

Elle permet l'isolement des bactéries et leur numération. Elle doit être quantitative par ensemencement d'une quantité connue d'urine sur un milieu gélosé en boite de pétri.

La culture sur milieu usuel :

CLED (Cystéine, Lactose, Electrolyte déficient) (voir annexe 1) est un milieu approprié pour les urines (il a l'avantage d'inhiber l'envahissement de la culture par le Proteus).

L'ensemencement se fait stérilement par une anse calibré d'un microlitre (qui correspond à 100 colonies en cas de culture positif).

Après l'ensemencement, les boites sont incubées à 37°C au niveau de l'étuve, et la lecture se fait le lendemain en dénombrant le nombre de colonies existantes et en décrivant leur aspect, leur taille, s'il y a un seul type de colonie ou plusieurs, ce qui va nous orienté à l'identification des germes mis en culture. (milieux de culture en microbiologie médicale)

V.2.3. Examen microscopique à l'état frais :

Il consiste à mettre un volume de 5 ml d'urine dans un tube, puis centrifugation à une vitesse de 1500tr/min pendant 10 minutes. Après centrifugation, on jette le surnageant dans l'eau de javel et on laisse le culot, qui est ensuite mis entre lame et lamelle et vu au microscope optique, pour dénombrer les leucocytes en cellule de Malassez et en rapportant les résultats au ml.

a. Examen en cellule de Malassez:

Une cellule de Malassez est une cellule quadrillée comportant 100 rectangles (10 bandes horizontales et 10 bandes verticales).

Son volume est de 1 mm³ soit 1 μ l. Le volume d'un rectangle est donc de $1/100=10^{-2}$ mm³ (μ l).

Un nombre de leucocytes (n) est compté dans x rectangles.

Le calcul consiste à ramener le nombre de leucocytes pour 100 rectangles c'est-à-dire pour un volume de 1 mm³ (1 µl) et de multiplier par 1000 pour avoir la leucocyturie (nombre de leucocytes dans 1 ml c'est-à-dire dans 1000 mm³).

Leucocyturie =
$$\frac{n \times 100}{x} \times 1000 = \frac{\text{nombre de leucocytes comptés}}{\text{nombre de rectan gles comptés}} \times 10^{5}$$

b.Examen cytologique:

Il est réalisé pour la recherche des leucocytes, des hématies, des cristaux, des cylindres, des levures et des parasites dans les urines (annexe 2).

***** La leucocyturie :

En cas d'infection urinaire, les leucocytes sont pratiquement toujours rencontrés en grand nombre (> 104 leucocytes/ml), car dans ce type d'infection, la multiplication bactérienne s'accompagne d'une mise en œuvre des défenses immunitaires, d'où une réaction cellulaire qui, dans son aspect le plus intense, se traduit par une leucocyturie très importante, la pyurie. Il convient toutefois d'interpréter prudemment une leucocyturie négative (<103 leucocytes/ml) ou faiblement positive, notamment chez des patients dont les défenses immunitaires sont affaiblies (nouveau-né de moins de 3 mois, femme enceinte, ...), dans la feuille d'examen on va noter : absence, rares, quelques, assez nombreux et nombreux (annexe 2).

\L'hématurie:

La présence du sang dans les urines, Les traumatismes, les calculs, les tumeurs siégeant en un point quelconque de l'appareil urinaire, la tuberculose, les troubles de la coagulation (traitements anticoagulants) peuvent être à l'origine d'hématurie. (voir annexe 2).

! Les cellules :

Les cellules épithéliales proviennent des tubules rénaux ou des voies excrétrices. (annexe 2).

! Les cylindres :

Ils représentent les moulages de tubules rénaux éliminés dans les urines. (annexe 2).

Les cristaux :

Ils ne sont pas pathologiques quand ils sont constitués de substances normalement présentes dans l'urine (acide oxalique, acide urique ou urate, sels de calcium). Seuls les cristaux de phosphate ammoniaco-magnésien ont un intérêt dans le diagnostic d'une infection urinaire car ils sont en faveur d'une infection par une bactérie uréasique. (annexe 2).

Les micro-organismes :

On notera la présence de bactéries, de levures, de *Trichomonas*. (annexe 2).

❖ Le mucus : Présence de mucus dans les urines. (annexe 2). (H.,Darbas, 2007)

Deuxième jour :

V.2.4.Identification du germe et antibiogramme :

Se fait la lecture de milieu de culture ensemencée précédemment.

S'il n'y a pas de poussé des colonies sur le milieu de culture CLED. Le résultat est rendu négatif (absence d'infection)

S'il y a poussé de colonies : on dénombre leur nombre (plus de 100 sur milieu CLED) et on procède à l'identification des germes isolés.

a. Identification biochimique:

L'identification biochimique se réalise par la galerie Api, la galerie classique n'est guerre utilisé.

Elle se réalise par la galerie api 20E pour les entérobactéries.

Principe:

La galerie API 20E compote 20 microtubes contenant des substrats sous forme déshydratée.

Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanées ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du tableau d'identification.



Figure 1 : la galerie Api 20 E vierge.

Technique:

- Préparation de la galerie :

Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

- Préparation de l'inoculum :

Faire une suspension bactérienne, dans une ampoule de Suspension Medium ou dans un tube d'eau distillée stérile (5 ml d'eau distillé), d'opacité légère avec une seule colonie prélevée sur un milieu gélosé.

- Inoculation de la galerie :

Remplir les tubes et les cupules des tests : CIT, VP, GEL avec la suspension bactérienne.

Remplir uniquement les tubes des autres tests.

Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H2S en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.

Refermer la boîte d'incubation et la placer à 35-37°C pendant 18 à 24 heures.

Lecture:

- Après incubation, révélation de certain test par des réactifs :
- On ajoute une goutte du réactif Kovacs pour la révélation de l'indole.
- On ajoute deux du réactif le α naphtol et une goutte du NaOH pour la révélation du
- VP, et on laisse 15 minutes avant la lecture.
- On ajoute le chlorure de fer III pour la révélation du TDA.
- Le test de recherche de production d'indole doit être réalisé en dernier, car cette réaction libère des gaz qui risquent d'altérer l'interprétation d'autres tests de la galerie.
- Ne pas remettre le couvercle d'incubation après l'ajout des réactifs.
- La lecture de la galerie doit se faire en se référant au Tableau de Lecture.



Figure 2 : la galerie Api 20 E en lecture après incubation 18h à 37°C.

Identification:

Comparer les réactions notées sur la fiche de résultats avec le catalogue analytique (catalogue Api 20 E).

Les tests sont regroupés en groupe de 3, et une valeur (1,2 ou4) est indiquée pour chacun.

Additionner à l'intérieur de chaque groupe les nombres correspondants aux tests positifs. On obtient un nombre 7 chiffres qui sert de code d'identification. (Api 20 E, 2007)

b.Coloration de Gram:

Matériel:

Lames, colorants.

Principe:

Elle consiste à réaliser un frottis bactérien qui va être ensuite coloré par quatre solutions différentes.

Technique:

On prépare un frottis bactérien à partir de la culture, puis en colore au cristal violet pendant 30 secondes. On lave doucement sous un filet d'eau, puis on couvre le frottis de lugol pendant 30 secondes. On lave sous un filet d'eau, puis on décolore à l'alcool 95% pendant 10 secondes, puis on lave. Puis on colore à la fuschine ou à la salfarine pendant 30 secondes puis on lave à l'eau et on sèche la lame entre deux papiers absorbants. On fait l'observation au microscope en examinant avec l'objectif à immersion. (Travaux pratique de microbiologie médicale 2009-2010)

c.Antibiogramme:

L'antibiogramme est l'une des principales finalités de l'examen bactériologique. Il permet de mesurer la capacité d'un antibiotique à inhiber la croissance bactérienne in vitro.

Principe:

Utilisation de la méthode de Kibry Bauer, recommandée par l'OMS, qui consiste la diffusion des disques imprégnés d'antibiotiques et la mesure des diamètres qui permet de classer les souches de bactéries en trois catégories : sensible (S), intermédiaires (I) et résistantes ®.

Matériels et réactifs :

- Milieu de culture en fonction des germes :
 - Milieu de Mueller Hinton (annexe1) pour les entérobactéries, *pseudomonas* et staphylocoque.
 - Milieu de Mueller Hinton additionné de 5% de sang de mouton pour les streptocoques.
- Disques en papier imprégnés d'ATB.
- Pipettes.

Technique utilisé:

Il existe deux méthodes d'ensemencement de l'antibiogramme :

Ensemencement par diffusion.

Ensemencement par écouvillonnage.

La méthode réalisée par le laboratoire de l'hôpital Al Farabi est la méthode d'ensemencement par diffusion.

On réalise dans un premier temps une dilution.

On dépose la dilution dans une boite carrée de gélose de Mueller Hinton, on incube la boite en position normale à 37°C pendant 20 minutes.

On aspire ensuit le surplus du liquide à l'aide d'une pipette pasteur et on le jet dans l'eau de javel.

On laisse sécher 15 minutes dans l'étuve à 37°C. Puis on dépose les disques d'antibiotiques.

- On dépose les disques d'ATB à l'aide dune paire de pinces stériles ou d'un distributeur de disques.
- On respecte 25 à 30 mm entre les disques.
- On appui doucement sur chaque disque pour assurer un contact uniforme avec le milieu.
- On incube les boites pendant 16 à 18 heures. (Procédure opératoire standardisées de biologie médicale, 2001)

Troisième jour :

On fait la lecture de la galerie api 20 E et l'antibiogramme, en mesurant le diamètre de chaque zone d'inhibition en mètre.

Les résultats seront interprètes en fonction des diamètres critiques figurant des tableaux d'interprétation fournis par les fabricants des disques.

<u>Résultats</u>

VI. Résultats:

VI.1.Fréquence de l'infection urinaire en milieu hospitalier et externe.

Tableau 2 : fréquence de l'infection urinaire en milieu hospitalier et externe:

Nombre d'ECBU total	Nombre de malades externes	Nombre de malades hospitalisés	Pourcentage de malades externes	Pourcentage de malades hospitalisés
295	207	88	70%	30%

- ❖ Durant ces 45 jours du stage, nous avons collecté 295 examens cytobactériologique avec :
 - 88 malades hospitalisés.
 - 207 malades externes.

Donc le groupe de malades externes représente 70% de cette étude contre 30% pour les malades hospitalisés.

VI.2.Fréquence de l'infection urinaire selon le sexe :

Tableau 3 : Fréquence de l'infection urinaire selon le sexe :

Nombre total d'ECBU	Nombre de femmes	Pourcentage de femmes	Nombre des hommes	Pourcentage des hommes
295	188	64%	107	36%

- Sur 295 malades nous avons :
 - 188 femmes ce qui représentes 64% de l'ensemble.
 - 107 hommes ce qui représentes 36% de l'ensemble.

Le nombre des femmes est plus nombreux que le nombre des hommes.

VI.3.Fréquence des infections urinaires selon le sexe et le groupe :

Tableau 4 : Fréquence des infections urinaires selon le sexe et le groupe :

Sexe	Malades hospitalisés	pourcentage	Malades externes	Pourcentage
Femmes	47	53%	146	68%
Hommes	41	47%	66	32%

- Pour les malades hospitalisés nous avons 47 femmes (53%) et 41 hommes (47%).
- Pour les malades externes nous avons 146 femmes (68%) et 66 hommes (32%).

Pour les deux groupes le nombre des femmes sont plus nombreuses que le nombre des hommes.

VI.4.Fréquence des cas positifs :

Tableau 5 : Fréquence des cas positifs :

ECBU total	Cas positif	Pourcentage	Cas négatif	Pourcentage
295	61	21%	234	79%

- ❖ Sur les 295 ECBU analysés nous avons :
 - 61 ECBU à culture positif ce qui représente 21%.
 - 234 ECBU à culture négatif ce qui représente 79%.

Le nombre des cas positifs est faible par rapport au nombre des cas négatifs.

VI.5.Le nombre des cas positifs selon le sexe :

Tableau 6 : Nombre de positivité selon les groupes :

	Cas positif	Pourcentage
Malades hospitalisés	26	30%
Malades externes	35	17%

Et en comparant les deux groupes nous avons :

- 26 ECBU positifs pour les malades hospitalisés ce qui permet 30% de ce groupe.
- 35 ECBU positif pour les malades externes ce qui représente 17% de ce groupe.

Le pourcentage des cas positifs chez les malades hospitalisés est plus élevé que chez les malades externes, vu l'hospitalisation des malades, les patients trainent plusieurs jours dans le milieu hospitalier qui est un milieu riche en dermes nosocomiales.

VI.6.Le nombre des cas positifs selon le sexe et le groupe :

Tableau 7 : Nombre de positivité selon le sexe et le groupe

	ECBU positif	Femme	Pourcentage	Hommes	Pourcentage
Malades hospitalisés	26	16	62%	10	38%
Malades externes	35	28	80%	7	20%

- ❖ Sur 26 ECBU positif chez les malades hospitalisés nous avons :
 - 16 femmes ce qui représentes 62% de ce groupe.
 - 10 hommes ce qui représente 38% de ce groupe.
- Sur 35 ECBU positif chez les malades externes nous avons :
 - 28 femmes ce qui représente 80% de ce groupe.
 - 7 hommes ce qui représente 20% de ce groupe.

Le nombre de femmes chez les malades externes est plus élevé que le nombre des femmes hospitalisées.

VI.7.Le nombre de sexe selon les cas positifs :

Tableau 8 : Nombre de cas positif selon le sexe et la positivité :

	Cas positif	Pourcentage
Nombre de femmes	44	23%
Nombre d'hommes	17	15%

En comparaison selon le sexe et la positivité nous avons :

- 44 femmes ce qui représente 23% de l'ensemble.
- 17 hommes ce qui représente 15% de l'ensemble.

Le nombre des cas positifs chez les femmes est très élevé que chez les hommes.

VI.8.Les germes hospitaliers et germes externes :

En comparant entre les germes chez les malades hospitalisés et les malades externes.

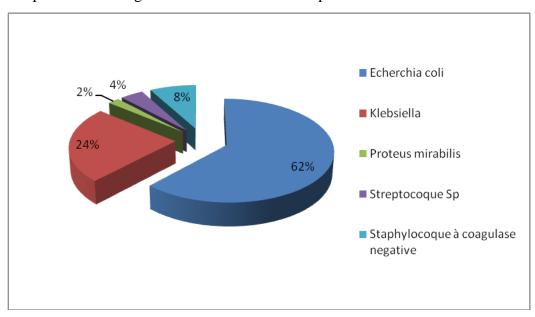


Figure 3 : Pourcentage des germes isolés chez les deux groupes de malades.

- Les germes rencontrés chez les malades hospitalisés sont :

Germes	pourcentage
Escherichia coli	42%
Klebsiella pneumoniae	31%
Pseudomonas aeruginosa	15%
Streptocoque Sp	8 %
Staphylocoque non aureus	4%

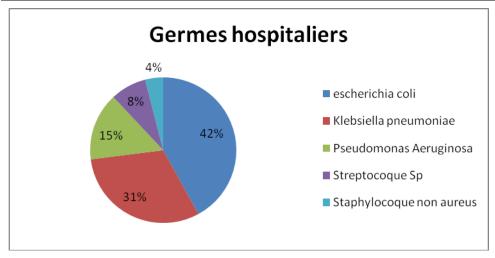


Figure 4 : Le pourcentage des germes hospitaliers.

- Les germes rencontrés chez les malades externes sont :

Germes	Pourcentages
Escherichia coli	66%
Klebsiella pneumoniae	14%
Pseudomonas aeruginosa	3%
Proteus Mirabilis	6%
Streptocoque Sp	8%
Staphylocoque non aureus	3%

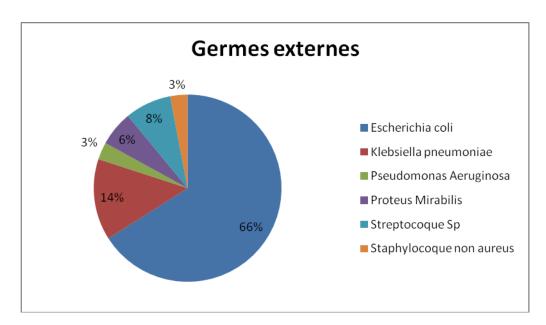


Figure 5 : Le pourcentage des germes externes.

VI.9. Sensibilité des différents germes isolés aux antibiotiques testés :

❖ Pour la sensibilité aux antibiotiques : plusieurs antibiotiques étaient testés et qui sont préconisé pour chaque type de germe isolé (selon les recommandations du Comité Française de l'antibiogramme).

VI.9.1.Antibiogramme d'Escherichia coli:

	AMX	AMC	CF	CXM	CRO	CAZ	GM	NN	AN	CL	NOR	CIP	NA	TIC	TIM
Sh	0%	25%	10%	45%	90%	90%	90%	90%	100%	50%	75%	71%	50%	18%	18%
Sex	10%	32%	8%	47%	100%	100%	90%	90%	100%	100%	62%	71%	50%	45%	50%
Rh	100%	75%	90%	55%	10%	10%	10%	10%	0%	50%	25%	29%	50%	82%	82%
Rex	90%	68%	92%	43%	0%	0%	10%	10%	0%	0%	38%	29%	50%	55%	50%

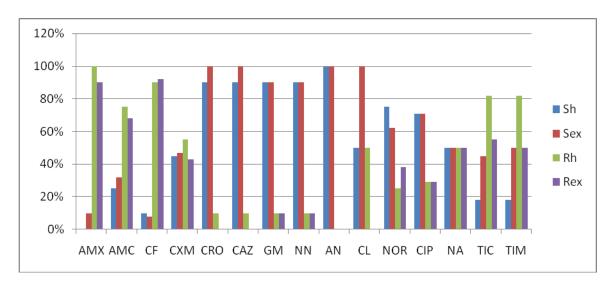


Figure 6 : Profil de sensibilité et résistance d'Escherichia coli

Une résistance élevée aux betalactamines (AMX: 100%) pour les deux groupes étudiés sauf pour les céphalosporines de 3^{éme} génération une sensibilité (souches externes :CAZ, CRO: 100%, souches hospitaliers : CAZ, CRO: 90%) et une sensibilité importante pour les aminosides (GM, NN: 90%) pour les deux groupes, et une sensibilité importante également pour les quinolones (NA:50%) pour les deux groupes.

VI.9.2. Antibiogramme de Klebsiella pneumoniae :

	AMX	AMC	CF	CXM	CRO	CAZ	GM	NN	AN	CL	NOR	CIP	TIC	TIM
Sh	0%	29%	14%	9%	75%	75%	62.5%	62.5%	78.5%	100%	80%	67%	20%	40%
Sex	0%	80%	90%	60%	100%	100%	90%	90%	90%	100%	90%	90%	50%	34%
Rh	100%	71%	86%	91%	25%	25%	37.5%	37.5%	12.5%	0%	20%	33%	80%	60%
Rex	100%	20%	10%	40%	0%	0%	10%	10%	10%	0%	10%	10%	50%	66%

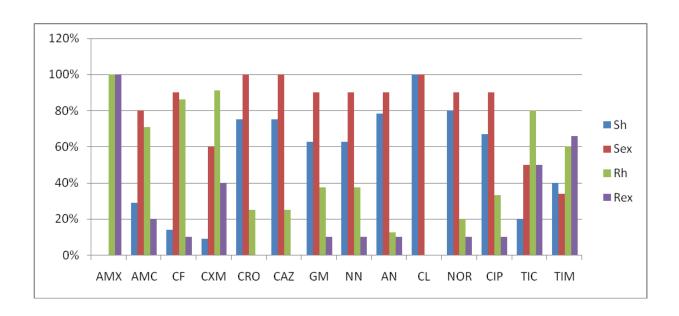


Figure 7: Profil de sensibilité et résistance de Klebsiella pneumoniae

Klebsiella pneumoniae est naturellement resistante à l'Amoxicilline (AMX), elle a une sensibilité importante aux antibiotiques pour le groupe externe (CAZ, CRO : 100%) contre une résistance plus élevé pour les souches hospitalisés (CAZ, CRO : 75%).

VI.9.3.	Antibiogramme of	de	Proteus	mirabilis	:
, 1,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,	1 11101010 51001111110				•

	AMX	AMC	CF	CXM	CRO	CAZ	ATM	GM	NN	AN	NOR	CIP	CL	TIC	TIM	FFL
S	100%	50%	50%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	0%	50%	50%	100%
R	0%	50%	50%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	100%	50%	50%	0%

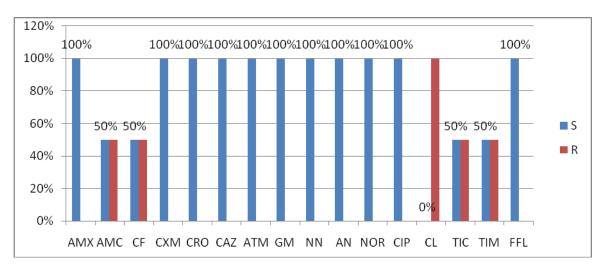


Figure 8 : Profil de sensibilité et résistance de Proteus mirabilis.

Proteus mirabilis a une resistance naturelle au Colestine (CL), et il est un germe très sensible aux différents antibiotiques utilisé.

VI.9.4. Antibiogramme de Streptocoque Sp:

	P	AM	AMX	CF	GM	E	CIP	PR	L	VA	TEC	RA
Sh	50%	100%	100%	100%	0%	50%	50%	50%	50%	50%	50%	50%
Sex	100%	100%	100%	100%	0%	100%	100%	100%	50%	100%	50%	50%
Rh	50%	0%	0%	0%	100%	50%	50%	50%	50%	50%	50%	50%
Rex	0%	0%	0%	0%	100%	0%	0%	0%	50%	0%	50%	50%

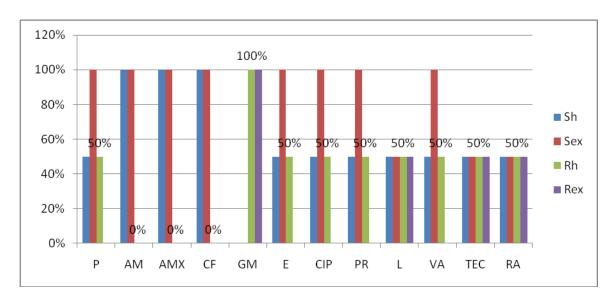


Figure 9 : Profil de résistance et sensibilité de Streptocoque Sp.

Le Streptocoque Sp a une sensibilité plus importante aux antibiotiques chez les germes externes (CIP, E, P, PR : 100%) que chez les germes hospitaliers (CIP, E, P, PR : 50%).

VI.9.5.Antibiogramme de Staphylocoque à coagulase négative :

	FOX	GM	TE	E	PR	VA	CIP	RA	FA	L
Sh	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Sex	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Rh	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Rex	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

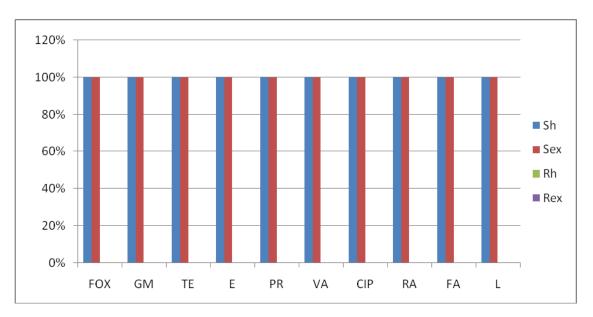


Figure 10 : Profil de sensibilité et résistance de Staphylocoque à coagulase négative.

Le Streptocoque à coagulase négative est reconnu par leur sensibilité aux antibiotiques.

T / T / C / A / ' 1 '	1 D 1	•
VI.9.6.Antibiogramme	de Proudomonas	apriiginasa '
v 1.7.0./\dittologianinic	ac i senaomonas	ueruginosa.

	TIC	TIM	CAZ	NN	AN	CL	NOR	PIP	FFL
Sh	50%	60%	0%	0%	50%	100%	100%	100%	100%
Sex	100%	100%	80%	80%	70%	100%	100%	100%	100%
Rh	50%	40%	100%	100%	50%	0%	0%	0%	0%
Rex	0%	0%	20%	20%	30%	0%	0%	0%	0%

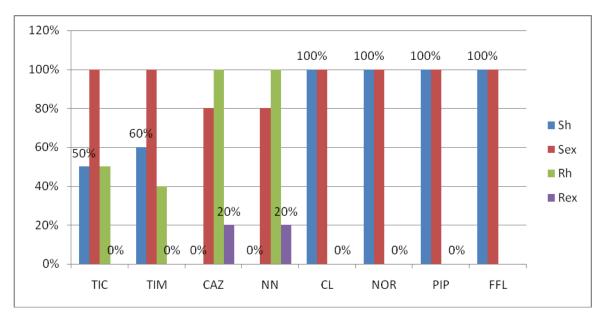


Figure 11 : Profil de sensibilité et résistance de Pseudomonas aeruginosa.

Les souches hospitalières ont un profil de résistance aux antibiotiques testés plus important (CAZ : 100%, NN : 100%) que les souches externes (CAZ 20%, NN : 20%)

DISCUSSIONS

VII.Discussion:

En analysant les différents résultats collectés nous avons remarqué les points suivants :

- Durant la période étudié (45 jours), le nombre d'ECBU analysé chez les malades externes est plus important que chez les malades hospitalisés, ce qui peut s'expliquer par le fait que l'IU constitue le deuxième motif de consultation et le plus fréquent juste derrière l'infection respiratoire.
- Cet examen est plus demandé chez les femmes que chez les hommes et cela concerne les deux groupes, et peut s'expliquer par le fait que l'IU est plus fréquente chez la femme que chez l'homme.
- Le taux des cas positifs représente 21% (tableau 5) de l'ensemble de la série ce qui nous parait un peu faible et cela peut s'expliquer par :
 - Un l'ECBU demandé d'une façon abusive.
 - Les malades, surtout externes font mal leur prélèvement, car certains malades ne ramènent pas la première urine du matin, mais leur 2^{éme} ou 3^{éme} miction de la journée, ou ils ont des mictions impérieuses et répétés empêchant la multiplication massive des bactéries dans la vessie (d'où il faut des urines de plus de 4 heures au niveau de la vessie), ce qui se traduit par une culture négatif.
 - Soit la présence dans les urines de substances antibactériennes (antibiotique), ce qui est dû à l'automédication des patients surtout externes qui utilisent les antibiotiques à tort et sans précaution d'utilisation et sans avis médicale, d'où la nécessité de fournir des renseignements cliniques au biologiste pour l'aider à mieux interpréter les résultats obtenus.
 - En comparaison, le taux des cas positifs en fonction du groupe entier nous constatons que ce taux est plus élevé chez les malades hospitalisés que chez les malades externes et cela peut s'expliquer par le fait que les malades hospitalisés ont une prise en charge plus approfondie et sont plus exploré que les malades externes, par contre chez les malades externes, l'ECBU peut être demandé d'une façon excessive et sans but.
 - Les ECBU positifs des malades hospitalisés proviennent dans la plus part des cas des services de médecine (17 malades) avec une prédominance du service de néphrologie (5 malades), qui est un service spécialisé des maladies des reins, le reste (9 malades) proviennent des services de chirurgie. Pour les malades externes ils proviennent à peu prés à part égale entre les centres de santé de la ville et des médecins privés de la ville.
- Pour les germes isolés, nous remarquons pour l'ensemble des résultats que les entérobactéries (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus*) représentent 80% des germes isolés, ce qui confirme l'origine de la contamination des urines par la flore fécale et périnéale par voie ascendante, avec une prédominance d'Escherichia coli à 56% ce qui rejoint à peu prés les donnés de la littérature comme la faible longueur de l'urètre chez la femme et au cours de la grossesse le bébé exérce une pression sur le système urinaire.

- En comparant les deux groupes étudiés nous remarquons que :
 - Pour les malades hospitalisés, les entérobactéries représentent 73% des germes isolés contre 27% pour les autres germes.
 - Pour les malades externes, les entérobactéries représentes 86% contre 14% pour les autres germes.

Donc pour les deux groupes, la part des entérobactéries est importante, mais il faut signaler le pourcentage élevé de *Klebsiella pneumoniae* hospitalières qui est de 30% contre 14% externes et de *Pseudomonas aeruginosa* hospitalier qui est de 15% contre 3% externe, cela peut s'expliquer par le fait que ces deux germes sont qualifiés de germes d'infection nosocomiale, vu l'hospitalisation des malades, les patients trainent plusieurs jours dans le milieu hospitalier qui est un milieu riche en germes nosocomiale.

- Pour la sensibilité aux antibiotiques nous avons remarqué que pour :
 - Escherichia coli nous avons :
 - ♣ Une résistance élevée aux betalactamines pour les deux groupes étudiés sauf pour les céphalosporines de 3^{éme} génération.
 - **↓** Une sensibilité importante pour les aminosides pour les deux groupes.
 - ♣ Une sensibilité importante également pour les quinolones pour les deux groupes.
 - Pour *Klebsiella pneumoniae*: nous avons une sensibilité importante aux antibiotiques pour le groupe externe contre une résistance plus élevé pour les souches hospitalisés, ce qui confirme l'origine nosocomiale des *Klebsiella pneumoniae*.
 - Pour le *Proteus mirabilis*, nous constatons que c'est un germe très sensible aux différents antibiotiques utilisé et cette sensibilité peut s'expliquer par le fait qu'il est isolé uniquement chez les malades externes, donc il s'agit d'un germe communautaire.
 - Pour le *Streptocoque Sp*, nous constatons qu'il y a une sensibilité plus importante aux antibiotiques chez les germes externes que chez les germes hospitaliers qui peut s'expliquer par leur origine communautaire.
 - Pour le *Streptocoque à coagulase négative* : ces germes sont reconnu par leur sensibilité aux antibiotiques, à l'inverse des Staphylocoques aureus qui sont des germes redoutables.
 - Pour le Pseudomonas aeruginosa, nous constatons que les souches hospitalières ont un profil de résistance aux antibiotiques testés plus important que les souches externes, cela peut s'expliquer par le fait que le Pseudomonas aeruginosa est parmi les germes importants des infections nosocomiales qui sont des infections plus redoutables que le malade peut rattraper au moment de son hospitalisation et qui sont difficile à traiter.

Conclusion

Cette étude nous a permis de confirmer la fréquence élevée des IU chez la femme que l'homme, ainsi que la prédominance des entérobactéries par rapport aux autres germes, ce qui démontre l'origine fécogenital de ces infections.

• Le pourcentage faible de positivité du groupe de malades externes par rapport à ceux hospitalisés ainsi que la résistance globale aux antibiotiques nous incite à bien éduquer les malades sur les conditions de prélèvement, l'automédication et une utilisation rationnelle et bien encadrée du traitement antibiotiques.

Référence bibliographie:

- Api 20 E, BioMerieux, 2007.
- Bernard., D : Abrégé en urologie édition Masson 1992, p188.
- Bernard Lobel et Claude-James Soussy., les infections urinaires, édition Springer 2007, p 236.
- B.Carbonnelle : bactériologie médicale : technique usuelle, édition Masson, 1990, p 573.
- Chartier E: Urologie, édition Estem 2003, p 35-42-90-91.
- H., Darbas : diagnostic et suivi des infections urinaires, le bon usage de l'examen cytobactériologique, 2007.
- J Young: Vaincre l'infection urinaire, édition Modus Vivendi, 2009, p 172.
- Nathalie DUMARCET, responsable de projet Assaps : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé, 2008.
- Procédure opératoire standardisées de biologie médicale, réalisé par le bureau des laboratoires avec l'appui de l'organisation mondiale de la santé : édition 2001.
- Cours de bactériologie, virologie, immunologie-Anne Decoster www.anne.decoster.free.fr
- Milieux de culture en microbiologie www2.ac-lyon.fr/enseigne/biotech/microbio/milieux.html
- L'infection urinaire, encyclopédie médicale Doctissimo www.Doctissimo.fr

<u>ANNEXES</u>

Annexe 1:

Composition des milieux de culture :

Milieu CLED:

Principe:

Le milieu **CLED** (Cystine Lactose Electrolyte Déficient) est un **milieu non sélectif**, très utilisé dans l'étude des bactéries contenues dans l'urine. Etant un milieu non sélectif de nombreuses bactéries, tant Gram+ que Gram-, pourront se développer.

L'absence d'électrolytes (pas de NaCl) limite le phénomène d'envahissement par les proteus.

Composition:

Peptones	4g
Extrait de viande	3 g
Hydrolysât trypsique de caséine	4 g
L-cystine (la L-cystine est un acide aminé soufré)	0,128g
Lactose	10g
Bleu de Bromothymol (indicateur de pH)	0,002g
Agar	15g
Eau distillée (qsp)	1L

La lecture s'effectue après 18 à 24 heures d'incubation à 37°C

Lecture:

Les bactéries :

- Lactose+ apparaissent jaunes.
- Lactose- apparaissent bleus vertes.

•

Milieu de Mueller Hinton:

Principe:

Sa formule, son pH, sa concentration en magnésium et en calcium, et l'épaisseur de sa gélose une fois coulée en boite de Pétri sont adaptés à la pratique de l'antibiogramme ainsi qu'aux tests de sensibilité à diverses substances.

Composition:

Infusion de viande de bœuf	300,0
Hydrolysat de caséine	17,5
Amidon	1,5
Agar	17,0
Eau distillée (qsp	1L

La lecture s'effectue après 18 à 24 heures d'incubation à 37°C.

Utilisation:

• Antibiogramme.