

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université Constantine 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie

Option:

Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes

Les infections nosocomiales : cas de l'infection urinaire

Présenté par :

ZERARI Zakaria

DJE KOUADIO Kouakou

Soutenu le 22 Juin 2014,

Jury de soutenance:

Présidente: Mme SEKHRI-ARAFANA N Maitre de conférences, Université Constantine 1

Rapporteur: Mr HENNICHE S Maitre-Assistant classe « A », Université Constantine 1

Examinatrice : Mlle BOUCHLOUKH W Maitre Assistante classe « B », Université Constantine 1

Année Universitaire: 2013-2014*

Résumé

Les infections urinaires associées aux soins sont d'une extrême fréquence, elles sont un véritable problème de santé publique en raison du réservoir de bactéries multi-résistantes (BMR) qu'elles représentent.

Au cours de notre étude, nous nous sommes familiarisés à la procédure opératoire de l'examen cyto bactériologique des urines (ECBU). Nous y avons observés et énumérés les leucocytes et les hématies ; en plus d'avoir isolé, identifié les microorganismes en cause et étudié leur sensibilité aux antibiotiques afin de proposer une antibiothérapie adéquate. Principalement les germes isolés sont *E coli* (22,72%), *Klebsiella pneumoniae* (20,45%) et *Enterobacter sp* (13,64%). Nous avons également constaté que la prédominance des IUAS, en raison de la brièveté de leur urètre, est féminine (61,36%) et qu'une révision régulière du traitement empirique des infections urinaires s'imposait face à l'augmentation de la résistance aux antibiotiques chez les microorganismes isolés.

En conclusion, même si la phagothérapie semble être une alternative aux antibiotiques dont les effets sont de jours en jours maîtrisés par les microorganismes, la meilleure lutte contre les IN reste la prévention. Cette prévention indispensable et profitable également du point de vue économique repose sur l'application rigoureuse de mesures d'hygiène.

Abstract

Urinary tract infections associated with care are extremely frequent; they are a real public health problem because of the reservoir of multi-resistant bacteria (MRB) they represent.

In our study, we are familiar with the operating procedure of urine cytology test (urinalysis).

We have observed and listed leukocytes and erythrocytes; in addition to isolated, identified the causative organisms and their susceptibility to antibiotics studied to propose an appropriate antibiotic.

Mainly isolated germs were *E. coli* (22.72%), *Klebsiella pneumoniae* (20.45%) and *Enterobacter sp* (13.64%). We also found that the prevalence of IUAS, because of their short urethra is female (61.36%) and a regular review of the empirical treatment of urinary tract infections was necessary to face the increasing resistance antibiotics in microorganisms isolated.

In conclusion, even if phage therapy seems to be an alternative to antibiotics whose effects are from day to day mastered by microorganisms, the best fight against the IN is prevention. This indispensable and also benefit from the perspective of prevention cost also depends on the rigorous application of hygiene measures.

المخلص

ان التهابات المسالك البولية المرتبطة بالعلاج في مختلف المراكز الاستشفائية مشكلة حقيقية للصحة العامة وهذا بسبب خزان البكتيريا متعددة المقاومة BMR .

في دراستنا ارتأينا الى اختبارات البول حيث لاحظنا و قمنا بتعداد الكريات البيضاء والكريات الحمراء؛ بالإضافة إلى عزل و تحديد الكائنات الدقيقة المتسببة في ذلك ودراسة قابليتها للمضادات الحيوية و هذا من أجل توفير العلاج بالمضادات الحيوية المناسبة.

أساسا كانت الجراثيم المعزولة :كولاي *Escherichia coli* (22.72%)، الكلبسيلا الرئوية *Klebsiella pneumoniae* (20.45%) والأمعائية *Enterobacter sp* (13.64%). وجدنا أيضا أن انتشار IUAS، يكون بصفة كبيرة عند الإناث (61.36%)، و العلاج المنتظم لالتهابات المسالك البولية تزيد من مقاومة الكائنات الدقيقة المعزولة للمضادات الحيوية.

في الختام، حتى لو كان يبدو العلاج ب phagothérapie بديلا للمضادات الحيوية فان أفضل مكافحة لهذه الالتهابات IN هي الوقاية التي لا غنى عنها من المنظور الاقتصادي الذي يعتمد على التطبيق الصارم لتدابير النظافة.

Introduction

Le milieu hospitalier est un véritable « pot-pourri » de microorganismes qui met en présence des individus sains ou porteurs sains, des patients présentant des pathologies variées. Ces dernières années, l'hygiène hospitalière a été remise en cause dans de nombreux cas d'infections souvent mortelles dues à des microorganismes persistants dans l'environnement hospitalier malgré les techniques antiseptiques utilisées et les éventuelles procédures d'hygiène observées dans le cadre des soins.

D'origine endogène ou exogène, les infections nosocomiales (IN) sont favorisées par des techniques de soins de plus en plus invasifs, chez des patients de plus en plus fragiles (immunodépressifs) et par l'émergence grandissante de bactéries multi-résistantes aux antibiotiques. Elles peuvent affecter non seulement les patients mais également le personnel soignant, les visiteurs, les gardiens et quiconque a des contacts avec l'hôpital. Leur morbidité, leur mortalité, et leur coût en font une priorité de Santé publique (**Godreuil., 2007**).

Chaque année en France, les IN touchent 200 milles personnes, 4 à 5 milles en perdent la vie et un budget de 50 millions y est accordée (**Samou, 2005**).

L'infection urinaire représente selon les définitions actuelles environ 40% des IN; Son facteur de risque principal est l'instrumentation sur les voies urinaires (pose de sonde urinaire dans 80% des cas, et manœuvre diagnostique ou chirurgicale dans 5 à 10 % des cas (**Alfandari., 2003**).

Le présent travail est une étude de 3 mois (23 Février au 22 Mai 2014) menée au sein des laboratoires de Bactériologie du Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) Militaire de la Nouvelle Ville et du CHU Ben Badis de Constantine. Nos objectifs furent de :

- Identifier les microorganismes responsables d'infections urinaires nosocomiales(IUN).
- Étudier le profil de résistance aux antibiotiques des microorganismes isolés.

Dans la foulée nous avons pu constater et discuter quelques facteurs de risques favorisant la survenue des infections urinaires nosocomiales.

Chapitre I- Les infections nosocomiales

1- Définition

Le terme nosocomial vient du grec *nosous* qui signifie maladie et de *komein* soigner. L'infection est habituellement considérée comme nosocomiale si elle survient après un délai au moins de 48 heures d'hospitalisation ; elle doit être absente et non en incubation lors de l'admission du patient à l'hôpital. (**Barbut, 2005 ; Godreuil, 2007 ; Qayyum et al, 2010 ; Wagner, 2012**).

L'infection nosocomiale, ou Infection associée aux Soins (IAS) selon la nouvelle appellation proposée par le Centre de Lutte contre les Infections nosocomiales (CLIN), est une infection:

- ❖ acquise au cours des soins délivrés à l'hôpital ou dans tout autre établissement de soins
- ❖ acquise au cours des soins, mais qui ne se manifeste qu'après la décharge du patient.
- ❖ contractée par le professionnel dans le cadre de ses fonctions.
- ❖ Qui n'est ni présente, ni en incubation à l'admission du malade ou au moment de délivrer les soins. (**Amoussou, 2009**)

Pour les infections de site opératoire, on considère habituellement comme associées aux soins les infections survenant dans les 30 jours suivant l'intervention ou s'il y a mise en place d'une prothèse ou d'un implant, ou d'un matériel prothétique dans l'année qui suit l'intervention. (**Barbut, 2005 ; Godreuil, 2007 ; Qayyum et al, 2010 ; Vincent et al, 2008 ; Wagner, 2012**)

Définir une infection comme nosocomiale ne préjuge en rien de l'origine endogène (flore du patient) ou exogène (environnement) du micro-organisme, de son association à un dispositif invasif, de son caractère plus ou moins évitable, de l'existence d'une faute professionnelle ou d'un dysfonctionnement, de la responsabilité du service ou du soignant dans l'acquisition de cette infection. La fréquence des transferts entre services et hôpitaux

incite à distinguer les infections nosocomiales qui sont importées de celles acquises dans l'unité de soins. Ainsi, le terme nosocomial regroupe une multitude de situations possibles. Dans tous les cas, il signifie l'existence d'une réelle menace pour la personne atteinte et pour son entourage, compte tenu du risque de transmission souvent élevé de ces infections (QUENON *et al*, 1999).

2- Principales infections nosocomiales

2.1- Infections urinaires nosocomiales

Ce type représente selon les définitions actuelles environ 40% des infections liées aux soins. Le plus souvent bénignes, elles sont un véritable problème de Santé Publique en raison du réservoir de bactéries multi-résistantes (BMR) qu'elles représentent.

Les infections urinaires occupent environ 25% de l'ensemble des infections nosocomiales observées en réanimation. Environ 50% des malades sondés plus de 7 jours ont une infection urinaire basse (Pilly 2008).

L'infection urinaire est définie par la présence d'une leucocyturie et d'une bactériurie élevée ($>10^5$ ufc/ml) ; chez le malade sondé, on admet qu'un taux plus faible (10^4 voire 10^3 ufc/ml) est significatif d'infection du fait du drainage permanent des urines (Pilly 2008).

Leurs principales étiologies sont, par ordre de fréquence sont *Escherichia coli*, *Enterococcus spp*, puis *P.aeruginosa*, *Enterobacter spp*, *Serratia spp*. Il n'est pas rare de trouver des levures (*Candida*) dans les urines des malades hospitalisés et sondés, mais leur signification clinique reste peu claire (Réanimation et urgences, 2005).

2.2. Pneumonies nosocomiales

Les pneumonies associées aux soins (PAS) – anciennement pneumonies nosocomiales – recouvrent différentes situations cliniques récemment définies. Les pneumonies présentes ou en incubation lors du contact avec le système de santé, les pneumonies d'inhalation favorisées par les troubles de conscience ou de déglutition antérieurs à l'admission et non liés aux soins initiaux et les colonisations bronchiques asymptomatiques chez un malade ventilé sans fièvre et sans image radiologique ne font pas partie du cadre nosocologique des PAS (Chastre, 2002).

Pour que l'infection se produise, l'agent pathogène doit atteindre les voies respiratoires inférieures et les coloniser. Les patients ventilés mécaniquement sont exposés à la transmission des microorganismes virulents à travers la sonde endotrachéale (**Poduch et Lakshmi, 2007**)

2.3. Infection des sites opératoires

L'infection du site opératoire (ISO) fait suite à un geste opératoire, elle est l'une des infections associées aux soins les plus fréquentes. Les ISO sont classées en deux groupes, selon la profondeur de l'infection (**Pilly, 2008**)

- ❖ **L'infection superficielle** : qui affecte la peau ou les muqueuses, les tissus sous-cutanés ou situés en dessous de l'aponévrose de revêtement.
- ❖ **L'infection profonde** : qui affecte les tissus ou les espaces situés au niveau ou en dessous de l'aponévrose de revêtement (**Pebret, 2003**)

2.4. Bactériémies nosocomiales

Une bactériémie est définie comme la présence d'au moins une hémoculture positive (justifiée par des signes cliniques), sauf pour les micro-organismes suivants :

- staphylocoques à coagulase négative
- *Bacillus spp.* (sauf *B. anthracis*)
- *Corynebacterium spp.*
- *Propionibacterium spp.*
- *Micrococcus spp.*

Les bactériémies associées aux soins (BAS) sont des infections graves, dont le taux de mortalité attribuable est estimé entre 10 et 50% selon la gravité de la pathologie sous-jacente **(Keita, 2010)**

La surveillance des bactériémies nosocomiales est un objectif prioritaire de la surveillance des IN, en particulier dans les services de réanimation, de néonatalogie, et les services accueillant des patients immunodéprimés **(Manuel de résident, 2009)**.

La figure1 indique les fréquences des différents types d'infections nosocomiales selon les réalités socioéconomiques.

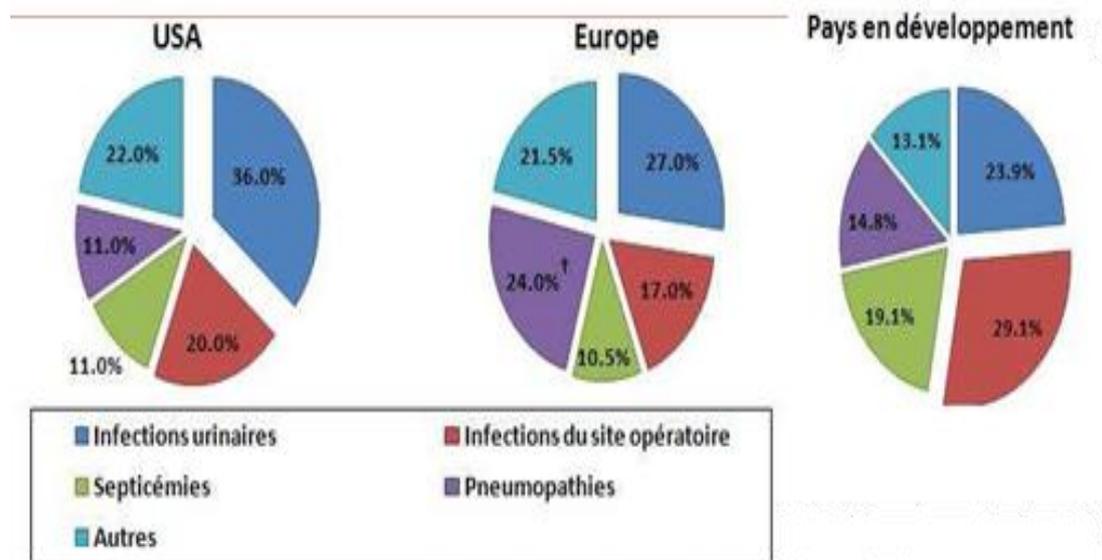


Figure 1 : Fréquences des différents types d'infections nosocomiales **(Monnet ,2011)**

3. Les agents en cause

3.1. Bactéries

3.1.1. Bactéries à Gram négatif

Les bacilles a Gram négatif sont les microorganismes les plus fréquemment à l'origine d'IN (60 à 80% des infections identifiées), on trouve :

- *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens* et *Proteus spp.*
- Les Pseudomonas ; surtout *Pseudomonas aeruginosa*.
- D'autres bacilles à Gram négatif comme *Acinetobacter spp* et *Stenotrophomonas maltophilia*. **(Berche et al, 2003)**.

3.1.2. Bactéries à Gram positif

L'ensemble de ces microorganismes présente différents mécanismes de virulence avec une résistance multiple aux antibiotiques.

On cite les espèces de *Staphylococcus aureus* (dont 20 à 40 % de phénotypes résistant à la Mériciline), et *Staphylococcus epidermidis*. (**Berche et al, 2003**)

3.2. Champignons

Les agents couramment responsables des IN d'origine fongique sont *Candida sp*, responsable de candidoses et *Aspergillus* responsable d'aspergilloses. (**Kamel et al, 1996**)

3.3. Les virus

Leur rôle, sûrement important, est cependant mal évalué. On peut citer les virus suivants comme agents fréquents d'IN : Rotavirus, Adénovirus, les virus de l'hépatite C, B et A, et le virus de l'immunodéficience humaine (HIV).

Ce type d'infection est particulièrement sévère chez les greffés et les autres patients immunodéprimés. (**Monnet, 2011**).

3.4. Les parasites

Les parasites sont associés aux infections acquises dans la communauté, mais très exceptionnellement responsables d'infections acquises en milieu hospitalier (**Duel et al, 2008**)

3.5. Les prions

Le prion, qui s'accumule dans les cellules du cerveau et les détruit, est un agent infectieux qui présente des propriétés originales. Il résiste remarquablement aux agents physico-chimiques (chaleur, radiations ionisantes) et aux procédés habituels de dénaturation des acides nucléiques. (**Bland et al, 2006**)

Le tableau 01 résume la majorité des microorganismes intervenants dans les pathologies nosocomiales.

Tableau 1: Les microorganismes responsables dans la majorité des infections nosocomiales
(**Tortorat et al, 2003 ; Pozzetto, 2009**)

microorganismes	Espèces	Principales Pathologies Nosocomiales

Bactéries	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylocoques</i> à coagulase négative, <i>Entérocoques</i>	Infections de plaies chirurgicales, pneumonie, septicémie et infections des voies urinaires
	<i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Enterobacter spp</i> <i>Klebseilla pneumoniae</i>	Pneumonie et infections de plaies chirurgicales
	<i>Clostridium difficile</i>	Presque la moitié des diarrhées nosocomiales
	Autres bactéries à Gram négatif <i>Acinetobacter</i> , <i>Citrobacter</i> , <i>Haemophilus</i>	Infections des voies urinaires et de plaies chirurgicales
Levures	<i>Candida spp</i> , <i>Aspergillus spp</i>	Candidoses, Aspergilloses
Parasites	Les espèces de <i>Pediculus</i>	Pédiculoses
Virus	<i>Adénovirus</i> , <i>Rotavirus</i> , Virus de l'immunodéficience humaine (HIV) Virus respiratoire syncytial (<i>RSV</i>)	Infections respiratoires Gastro-entérites Immunodéficience, SIDA Infection respiratoire haute et basse (en particulier bronchiolite)
Prions	Pr^{Pres} et Pr^{Pres} forme variante	Encéphalopathie spongiforme de pronostic constamment mortel

4. Origines des germes nosocomiaux

Pour qu'une infection nosocomiale survienne, il est nécessaire qu'il existe un réservoir et/ou une source de microorganismes, un mode de transmission et des conditions favorables au développement de l'infection chez un patient récepteur. (Gilles, 1998)

4.1. Le patient et le personnel

Les premiers réservoirs de bactéries multi-résistantes (BMR) en milieu hospitalier sont les patients hospitalisés. Ces patients représentent une source de dissémination potentielle des BMR dans l'environnement qui devient alors un réservoir secondaire.

La responsabilité de tout soignant est de protéger le patient vis-à-vis de microorganismes si fréquemment présents en milieu de soins, véhiculés par les mains du personnel et présents aussi bien chez les patients que dans l'environnement. **(Guilloua, 2013)**

4.2. L'environnement

Le rôle de l'environnement hospitalier en tant que réservoir ou source potentielle d'infections nosocomiales est aujourd'hui largement reconnu. Même si son rôle est secondaire par rapport aux réservoirs humains et à la transmission manuportée, il est présent dans notre quotidien : un patient peut acquérir une infection nosocomiale à partir de l'eau, de l'air (notamment en période de travaux réalisés dans un établissement de soins) **(Guilloua, 2013)**.

Les microorganismes poussent sur les surfaces dans des communautés complexes et interactives, et peuvent constituer un réservoir d'infection. Le développement du biofilm offre une protection contre de nombreux antimicrobiens. **(Bousseboua, 2005)**

5. Modes de transmission

Les différents modes de transmission des IN sont représentés dans la figure 2.

5.1. Les auto-infections

Les microorganismes infectants dans ce type proviennent du patient lui même, et se trouvent principalement sur la peau, les muqueuses et le tractus digestif et respiratoire.

Ce mécanisme est favorisé par différents facteurs, la dissémination des germes du patient dans son environnement (comme par exemple le lit), par l'utilisation de traitement pouvant altérer l'immunocompétence (corticostéroïdes, immunosuppresseurs...), par l'administration de traitements sélectionnant certaines bactéries (antibiothérapie à spectre large...), soit suite à un acte médical. Les personnes les plus à risque sont les patients immunodéprimés (sida, aplasiques...) du fait du défaut de vigilance immunitaire de leur organisme **(Ducel et al, 2002)**.

Les malades atteints d'une auto-infection constituent une source importante de germes et sont à l'origine d'hétéro-infections. **(Benslimani, 2008)**

5.2. Les hétéro-infections

C'est le mode de contamination le plus fréquemment retrouvé lors d'épidémies. Dans ce cas, le microorganisme responsable de l'infection nosocomiale provient d'un autre malade, la transmission étant le plus souvent manu-portée, par le personnel soignant intervenant auprès de plusieurs patients, disséminant ainsi les microorganismes d'une personne à l'autre. Cependant certains microorganismes, comme celui de la tuberculose, sont transmis par voie aérienne. Il peut en outre arriver plus rarement que les germes soient transmis par contact direct entre deux patients (**Ducel et al, 2002**).

5.3. Les xéno-infections

Ce sont les infections consécutives à l'entrée d'individus nouveaux dans le biotope hospitalier : nouveaux patients, les personnels et visiteurs.

Dans ce cas les agents pathogènes sont transmis par des personnes venant de l'extérieur (personnel soignant, visiteurs, sous-traitants), et présentant eux-mêmes une pathologie infectieuse, déclarée ou en cours d'incubation. Ce mode de transmission n'est pas à négliger, car il peut être dévastateur pour les patients particulièrement fragiles (**Ducel et al, 2002**).

Exemple : gastro-entérites à *E.coli*, *Salmonella* ou Rotavirus dans les services pédiatriques (**Benslimani, 2008**)

5.4. Les exo-infections

Très fréquentes dans le bloc opératoire, ce mode de transmission est dû à :

- soit à un dysfonctionnement technique d'un matériel (filtre à air, autoclave...) destiné à la protection des patients qui, ne remplissant plus son office, les laisse en contact avec des germes qui ne devraient, en principe, pas faire l'objet d'une infection, au vu des mesures prises pour les prévenir (aspergillose, légionelle...),
- soit à une erreur commise dans l'exécution des procédures de traitement du matériel médico-chirurgical (**Ducel et al, 2002**).



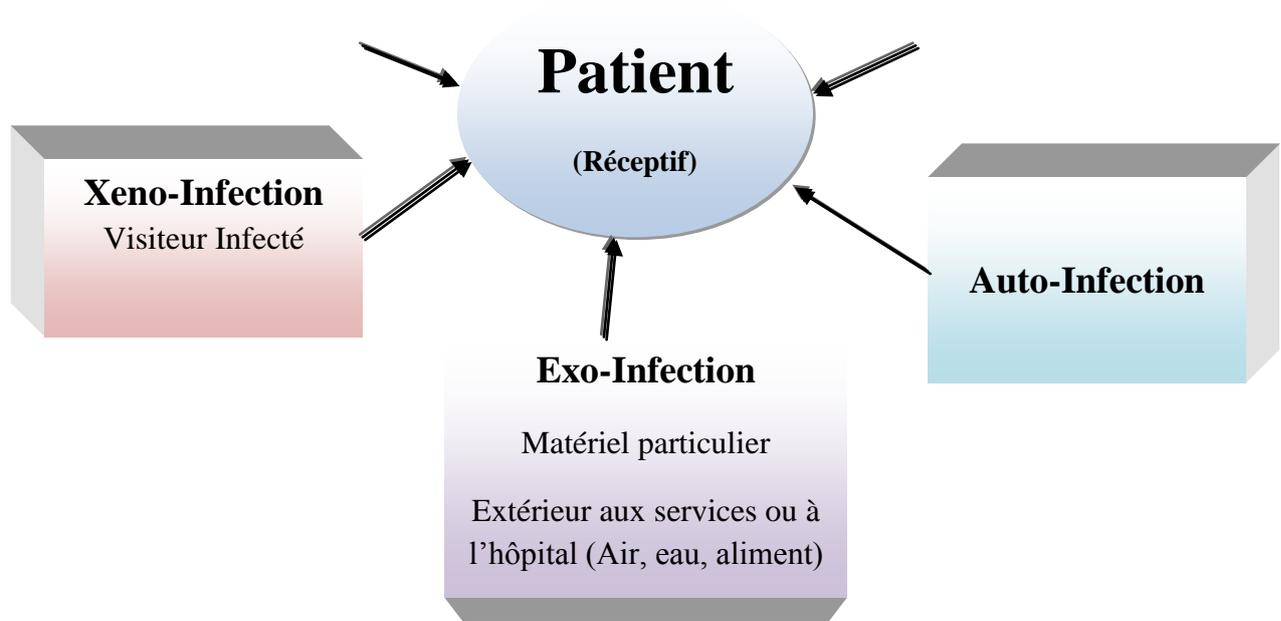


Figure 2: Transmission de l'infection hospitalière. (Popi,2003)

6. Facteurs de risque

L'augmentation des infections nosocomiales est en partie liée à :

- ❖ Les progrès diagnostiques et thérapeutiques de la médecine
- ❖ la prise en charge de patients de plus en plus fragiles, notamment atteints de déficit congénital de l'immunité ou, le plus souvent, d'un déficit acquis par l'administration de médicaments immunosuppresseurs.
- ❖ L'âge, l'état et la pathologie du patient : la personne âgée et le nouveau-né sont particulièrement sensibles (le premier par baisse des défenses de l'organisme, le seconde par immaturité de son système immunitaire).
- ❖ La Préexistence d'une pathologie chronique (insuffisance respiratoire, diabète, incontinence urinaire).
- ❖ La dépression immunitaire (séropositive pour VIH, traitements immunosuppresseurs).
- ❖ L'exposition à un acte invasif tel le sondage vésical, le cathétérisme périphérique ou central, la ventilation artificielle et les interventions chirurgicales, ainsi que la durée du maintien des dispositifs invasifs augmentent le risque d'IN.

❖ L'administration prolongée d'antibiotiques ou antibiotique à large spectres (qui déséquilibrent les flores commensales de barrière des patients et favorisent la sélection des bactéries multi-résistantes) augmente également le risque d'IN (**Barbut, 2005 ; Brel et al, 2006**)

❖ Bactéries Multi-Résistantes (BMR)

Face aux produits d'hygiène et aux *antibiotiques* prescrits dans les établissements de soins, les microorganismes subissent une forte pression de sélection : seuls les plus résistants survivent. Les germes hospitaliers sont de ce fait souvent capables de survivre dans un milieu hostile et de développer de multiples résistances aux antibiotiques les plus utilisés. Par conséquent, les microorganismes résistants de l'environnement vont se développer aux dépens de ceux à priori moins résistants de la flore d'origine d'un patient nouvellement hospitalisé. Les bactéries pouvant échanger également entre elles des gènes de résistance, notamment quand elles sont stressées, une souche bactérienne non pathogène mais résistante peut aussi rendre une souche pathogène résistante (**Ducel et al, 2002**).

Remarque : Dans les pays en voie de développement (PED), le lavage des mains est de plus en plus négligé, et environ 39% des interventions sont faites avec du matériel réutilisé, faute de moyens, ce qui contribue grandement à l'émergence et à la propagation d'IN. (**Monnet, 2011**).

Chapitre II. Infections urinaires associées aux soins

1. Généralités

1.1 Définition de l'urine

L'urine est un liquide biologique composé de déchets de l'organisme, elle est secrétée par les reins par filtration du sang, puis par récupération des molécules de l'urine « primitive » pour former l'« urine définitive », qui sera expulsée hors du corps par le système urinaire.

1.1.1. Caractères physicochimiques de l'urine

Pour un sujet normal, il est estimé à :

- ❖ **Volume** : 1000-1600 ml en 24h. Ce volume peut être réduit de moitié environ à la suite de grandes chaleurs ou de divers exercices corporels.
- ❖ **Couleur** : jaune ambrée liée aux pigments qu'elle contient tels l'urochrome, et l'uroerythrine.
- ❖ **Limpidité** : l'urine normale fraîchement émise renferme toujours des cellules épithéliales du mucus de sédiment et constitue le dépôt floconneux. Les leucocytes qu'elle contient peuvent également de façon légère diminuer sa clarté.
- ❖ **Odeur** : légère. Cependant des bactéries peuvent transformer l'urée en carbonate d'ammonium (cas de cystites) et donner cette odeur ammoniacale à l'urine.
- ❖ **Poids** : déterminé à l'aide d'un pycnomètre l'urine recueillie 24h pèse environ 1,020 Kg (Djaballah et Talbi, 2013)

1.1.2. Constitution physiologique de l'urine

L'urine est composée à 95 % d'eau, dans laquelle les déchets du métabolisme sont dissous.

La quantité d'urée dans l'urine dépend de l'alimentation : un repas carné fournira plus d'urée qu'un repas mixte ou exclusivement végétal ; le poids, l'âge et l'activité physique jouent un rôle prépondérant. Les principaux constituants sont mentionnés dans le tableau 2.

Tableau 2: Les principaux constituants de l'urine. (Chouba M *et al*, 2006)

Principaux constituants d'urine	Valeurs habituelles
Eau	950g/l
Urée	20 à 30 g/l
Chlorure	6à 10 g/l
Sodium	5à 6.5 g/l
Phosphatases	1.5 à 3 g/l
Sulfate	2 g/l
Créatine	1à 1.5 g/l
Ammoniaque	0.5 à 1g/l
Acide hippurique	0.5 g/l
Acide urique	0.4 à 0.8 g/l
Calcium	0.008 à 0.3 g/l

1.1.3. Miction et anatomie

Les reins ont pour rôle d'éliminer les déchets issus du fonctionnement des cellules et des organes du corps, en particulier l'urée. Cette production d'urine est appelée la diurèse : Le sang arrive aux reins par l'artère rénale, Il est filtré dans la zone médullaire (qui comprend de nombreuses petites unités de fonctionnement appelées néphrons) puis il en ressort par la veine rénale. Les substances éliminées du sang serviront à élaborer l'urine qui sera évacuée par l'uretère, un « tuyau » qui va à la vessie (fig 3). Elle y restera stockée, et sera évacuée hors de l'organisme lors de la miction. C'est ce processus qui permet à l'organisme de se débarrasser des déchets du métabolisme. (Microsoft Encarta, 2009)

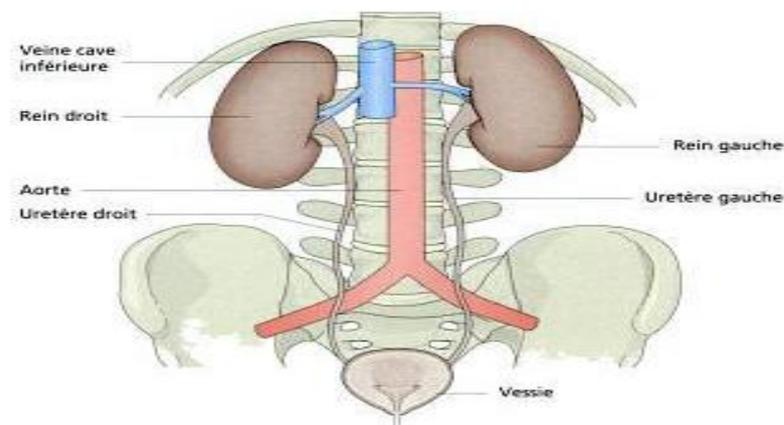


Figure 03: l'appareil urinaire. (Perlemuter *et al.*, 2007)

1.2. Infection urinaire

L'infection urinaire est l'infection bactérienne la plus commune et la cause d'un fardeau important pour les ressources du système de santé (Alain., 2003).

Traditionnellement elle fait référence à la présence d'un nombre significatif de microorganismes dans l'urine (une bactériurie supérieure à 10^5 micro-organismes par millilitre) sans présager du site précis de l'infection.

Les microorganismes qui infectent les cavités excrétrices et le parenchyme rénal ou prostatique provoquent dans la majorité des cas une réaction inflammatoire locale. Ces

microorganismes et les cellules de l'inflammation retrouvés dans l'urine sont les témoins de l'infection urinaire (**Tiouit, 2009**).

Il existe quatre types d'infections urinaires (fig 4) selon l'organe de l'appareil urinaire qu'elles touchent :

- La cystite ou l'infection de la paroi vésicale.
- La pyélonéphrite ou infection du parenchyme rénal.
- La prostatite ou infection de la prostate.
- Urétrite (atteinte de l'urètre)

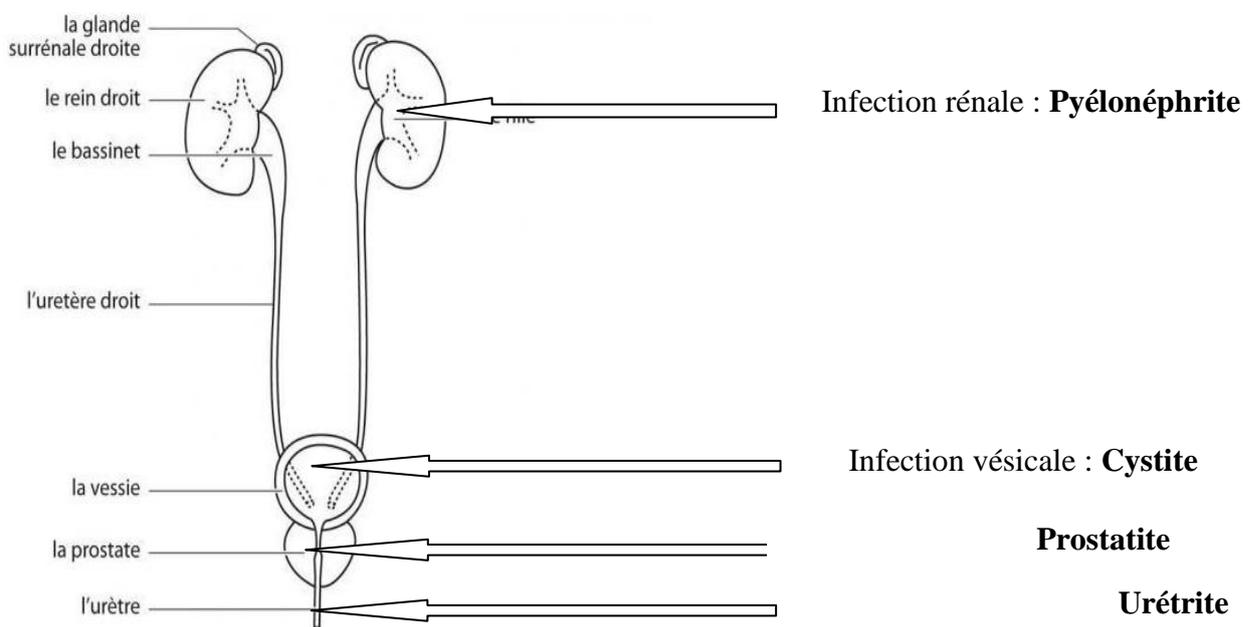


Figure 4: Forme topographique de types d'infection urinaire (**Djaballah et Talbi, 2013**)

NB : La présence de signes cliniques évocateurs d'une infection urinaire définit l'infection symptomatique.

Une autre situation infectieuse urinaire est constituée par la bactériurie asymptomatique ou la colonisation, ainsi dénommée en l'absence de signes cliniques urinaires d'orientation.

2-Facteurs de risque des IUAS

On distingue les facteurs intrinsèques (liés au patient) et extrinsèques. Plusieurs études prospectives ont identifié des facteurs de risque indépendants d'IUN, Les deux facteurs Ressortant de manière quasi-constante sont la durée de cathétérisme et le sexe féminin (**Alain, 2003**).

2.1. Facteurs intrinsèques

- Sexe féminin : brièveté de l'urètre.
- Âge : facteur de risque infectieux aux deux extrémités de la vie.
- Immunodépression.
- Stase (grossesse)
- Diabète
- Malformation des voies urinaires
- Tumeur
- Anomalies génito-urinaires fonctionnelles et anatomiques (**Lobel et Soussy, 2007**)
- Un défaut, mais aussi à un excès d'hygiène locale entraîne colonisation vulvaire par les microorganismes uropathogènes (**Alain, 2003**).

2.2. Facteurs extrinsèques

Ils sont principalement représentés par le sondage urinaire. En effet ; après 7 jours de sondage le risque d'acquisition d'une bactériurie est de 7 à 8% chez les patients portant une sonde à demeure, la bactériurie devient quasi permanente et concerne pratiquement tous les patients. A côté, pour échapper aux défenses de l'hôte (flux urinaire, effecteurs de la réponse immunitaire,...) et persister, les bactéries uropathogènes ont développé de nombreux mécanismes pour adhérer et envahir les tissus de l'hôte. Il s'agit de toxines, de systèmes de capture du fer, des lipopolysaccharides, de capsule et de nombreuses adhésines (**Alfandari., 2003**)

3. Physiopathologie

La compréhension de la physiopathologie des infections aide certainement beaucoup à leur prise en charge pratique, tant préventive que curative. (**Dhaouadi., 2009**)

La sonde remplace le cycle normal de fonctionnement de la vessie (fig 5) par un flux d'urine continu et entraîne :

- ❖ Des troubles de la vascularisation : Le ballonnet de la sonde irrite la muqueuse vésicale et favorise la multiplication bactérienne (**Cartier et Lobel, 2003**)
- ❖ Une ascension des germes par voie:
 - endoluminale : à l'intérieur de la sonde, en cas d'effraction du système clos (majorité des cas).
 - exoluminale : autour de la sonde, par contamination endogène à partir de la flore urétrale(**Stahl et al, 2002**)

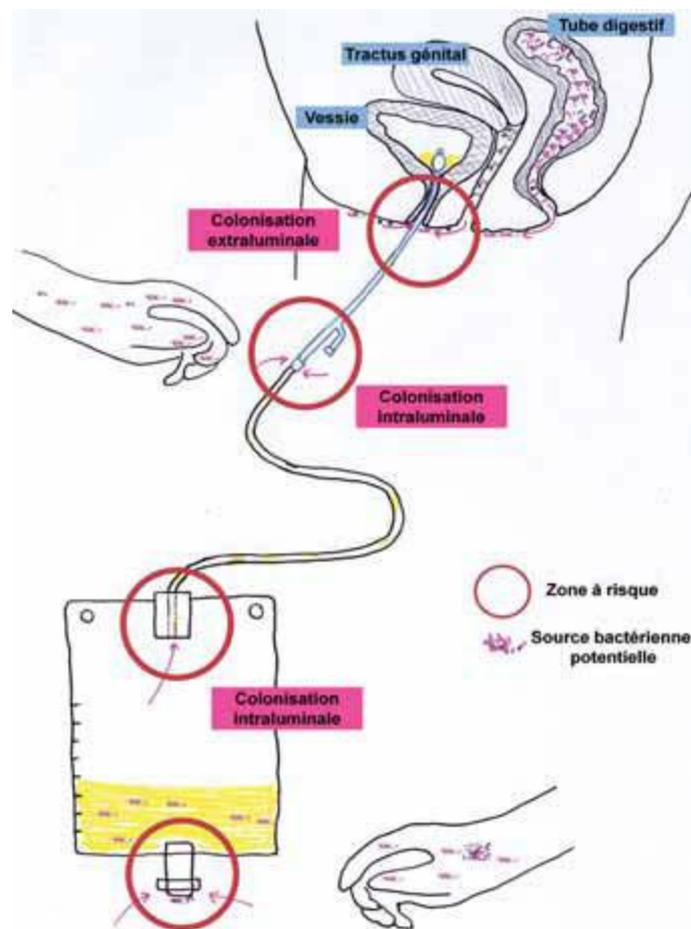


Figure 5: Sondage urinaire : principales voies d'acquisition des microorganismes (**Espinasse et al, 2010**)

4. Epidémiologie des IUN

Les infections nosocomiales (IN) constituent un problème majeur de santé publique par leur coût ainsi que par la morbidité et la mortalité qu'elles engendrent (**Andrianarivelo et al, 2010**).

Selon l'enquête : «Hôpital propre I» réalisée en France sur 39 hôpitaux français tirés au sort, le taux était de 48,9 % par rapport aux infections nosocomiales globales (**Quenon et al, 1999**).

En 1996, il était de 34 % dans une autre étude réalisée dans le même pays, sur 190 hôpitaux. (**Nauciel et al, 2005**). En Algérie, le taux était de 33,3 % selon une étude réalisée par l'institut national de santé publique au cours du dernier semestre de l'année 2003(**Abdelmoumene et al, 2007 ; Benkaddour et al, 2007**).

4.1. Morbidité

Vingt à 30 % des infections urinaires asymptomatiques évoluent vers une infection parenchymateuse : pyélonéphrite, prostatite aiguë, épididymite. Un à 4,5 % des infections urinaires vont se compliquer d'une bactériémie. Une morbidité indirecte peut également leur être attribuée, puisqu'elles représentent un réservoir important des BMR avec un fort potentiel de dissémination.

4.2. Mortalité

Le taux de mortalité directement attribuable à l'infection urinaire est estimé à 12-13% en cas de bactériémie (**Manuel de résident, 2009**).

4.3. Coût

Il augmente en moyenne la durée d'hospitalisation de **1 à 4 jours**, à laquelle s'ajoutent : Les coûts des examens complémentaires, du suivi et des traitements

Tableau 3: Surcoût lié aux infections urinaires nosocomiales (**Alfandari, 2003**)

Année	Pays	Type d'étude	Nombre d'IUN	Coût (étude)	Coût 2002 et inflation ajustée sur le change (€)
-------	------	--------------	--------------	--------------	--

1980	Etats Unis	Cohorte	65	146 \$	421
1981	Etats Unis	Cas témoin	177	173 \$	614
1993	Grande Bretagne	Cas témoin	36	476 £	1207
2001	Grande Bretagne	Cohorte	107	1327 £	2022
2002	France	Cohorte	235	589 \$	647

5. Etiologie des IUN

La connaissance de l'étiologie bactérienne est un élément décisif dans la stratégie de prescription d'antibiotiques. Pour cela il est indispensable d'identifier les espèces bactériennes isolées des infections urinaires à l'hôpital, de déterminer leur fréquence (selon l'âge, le sexe, et certaines particularités liées au terrain) ainsi que leurs profils de résistances aux antibiotiques.

De nombreux micro-organismes peuvent infecter les voies urinaires mais les agents les plus fréquents sont :

5.1. Les bacilles à Gram négatifs

5.1.1. Les entérobactéries

Les entérobactéries sont des bacilles ou coccobacilles à Gram négatif formant une famille très hétérogène pour ce qui de leur pathogénicité. Les espèces qui composent cette famille sont en effet soit parasites (*Shigella*, *Yersinia pestis*), soit commensales (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella SP*), soit encore saprophyte (*Serratia sp*, *Enterobacter sp*). (Chouba *et al.* 2006)

❖ *Escherichia coli*

E.coli est un hôte normal de la microflore bactérienne du tractus digestif de l'homme ainsi que de celle de nombreux animaux à sang chaud (mammifères et oiseaux). Elle représente près de 80% de la microflore aérobie (Vimont., 2007).

A ce titre, *Escherichia coli*, et plus largement les coliformes thermo-tolérants, sont considérés comme indicateurs de contamination fécale (Vimont., 2007).

Son rôle

Escherichia coli est tenue pour responsable de 60 à 80 % des infections des voies urinaires, le plus souvent, il s'agit de cystites se traduisant par une dysurie, une pollakiurie et une fièvre peu élevée.

De nombreuses souches appartenant à des sérotypes particuliers ont été répertoriées, chez l'homme comme chez l'animal, comme étant des souches pathogènes (**Chouba et al, 2006**). Elles sont capables de se multiplier, de persister dans le tractus digestif et urinaire en contournant les défenses immunitaires de l'hôte, et d'induire des dommages cellulaires grâce à leur pouvoir pathogène dues aux facteurs de virulence qu'ils produisent (**Loukiadis, 2007**).

❖ *Proteus mirabilis*

C'est une bactérie très mobile, qui se distingue facilement des autres entérobactéries par ses caractères biochimiques (uréase +, TDA +). C'est un commensal du tube digestif, classé au second rang après *E. coli* dans l'étiologie des infections urinaires. *Proteus mirabilis* est une espèce bactérienne ubiquiste c'est à dire largement répandue aussi bien dans le sol que les eaux d'un milieu naturel et donc chez la plupart des animaux. (**Chouba et al, 2006**)

Son rôle

Il n'est pas rare de la trouver, comme *Escherichia coli*, dans les reins et plus largement dans les voies urinaires. Il lui arrive de coloniser parfois aussi l'épiderme et la muqueuse buccale. Il peut engendrer une infection urinaire après la pose d'une sonde par exemple : quand *Proteus mirabilis* investit les reins, son métabolisme est tel qu'il peut alors apparaître des calculs rénaux et vésicaux. Très mobile et opportuniste, il lui arrive de profiter de la présence des pierres (calculs rénaux) pour s'y « cacher » et infecter alors les tissus de la vessie (cystites) et ce même après une antibiothérapie (**Chouba et al, 2006**).

❖ *Klebsiella, Enterobacter, Serattia* (groupe KES)

Klebsiella

C'est une bactérie Gram négatif, membre de la famille des entérobactériaceae avec un métabolisme fermentaire particulier (production d'acétoïne donc VP+) (**Chouba et al. 2006**).

Elle comporte cinq espèces dont l'espèce type *Klebsiella pneumoniae* (Bergey's manuel, 1994).

Klebsiella pneumonia fait partie des espèces commensales. Aujourd'hui elle est responsable de plus de 10% des infections nosocomiales (Podschun et al. 2000 ; Dong, 2003). **(Chouba et al, 2006)**

Enterobacter

Les *Enterobacter* sont des *Enterobacteriaceae*, VP (+), voisines des *Klebsiella* dont elles se distinguent par leur mobilité, par la présence d'une ODC, parfois d'une ADH et par l'absence d'uréase. La TDA, la DNase, la production d'indole et d'H₂S sont négatives **(Chouba et al, 2006)**

L'espèce type est *E.cloacae*, c'est aussi la plus souvent rencontré.

Serratia sp

Ce sont des bâtonnets Gram négatif, généralement mobiles, Les espèces de *Serratia* sont des agents pathogènes opportunistes. Elles sont à l'origine d'une multitude d'infections, dont la bactériémie, la pneumonie les infections liées aux cathéters intraveineux **(Chouba et al, 2006)**.

Serratia peut être transmis directement d'une personne à l'autre. Le sol et les animaux (y compris les humains) sont considérés comme des réservoirs **(Chouba et al, 2006)**.

Le rôle du groupe KES

Les bactéries du groupe KES sont responsables de près de 20% des infections urinaires nosocomiales. Rarement isolées au cours du premier stade d'infection urinaire lors duquel *E.coli* est l'espèce de loin la plus fréquente, les bactéries KES peuvent être retrouvées chez près de 50% des malades opérés ou sondés, avec une nette prédominance de *K. pneumoniae*.

Ces infections tenaces, souvent localisées à la vessie (cystite), sont en général assez bien tolérées. Cependant, il existe un important risque de pyélonéphrite et surtout de dissémination septicémique. **(Chouba et al., 2006)**

5.1.2. Les Bacilles Gram négatif non fermentaires

❖ *Pseudomonas*

Très répandu dans la nature, c'est un bacille à Gram négatif rarement immobile. Il se caractérise par la pluralité des substrats hydrocarbonés utilisés comme source de carbone et

d'énergie, et par sa grande résistance aux antibiotiques et aux antiseptiques. (**Chouba et al, 2006**)

Le rôle

Ils surviennent à la suite d'intervention chirurgicale, de cathétérisme ou de manœuvres instrumentales. Avec une fréquence de près de 11% des infections urinaires nosocomiales, *P.aeruginosa* représente la troisième cause de telles infections après *E.coli* et les streptocoques D, les malades très souvent sont atteints de lithiases, obstructions, malformations ou cancers et ont subi des antibiothérapies multiples. (**Chouba et al, 2006**)

❖ *Acinetobacter*

Les *Acinetobacter* font partie de la flore bactérienne résidente de la peau chez l'adulte sain. Ce sont des germes très résistants à la dessiccation (plus de deux semaines). Leur habitat classique est l'environnement plus précisément l'eau et le sol (**Chouba et al, 2006**)

Le rôle

Les *Acinetobacter spp* sont des pathogènes opportunistes isolés essentiellement dans les unités de soins intensifs chez des patients présentant une immunodéficience (**Chouba et al, 2006**).

5.2. Les cocci Gram positif

❖ Les Staphylocoques

Les bactéries du genre *Staphylococcus* sont des coques (cocci) à Gram positif, groupés en amas ayant de grappe de raisin, immobiles. Parmi les 27 espèces du genre actuellement répertoriées, les principales sont *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* et *S. saprophyticus*. L'espèce *S. aureus* sera prise comme type de description. (**Chouba et al., 2006**)

Le rôle

Les staphylocoques dorés (*S.aureus*) ne sont pratiquement jamais rencontrés lors d'infections urinaires en dehors d'une atteinte rénale d'origine septicémique. Les staphylocoques à coagulase occupent désormais une place de premier plan en tant qu'agent étiologique des

infections urinaires. Chez la jeune femme, les staphylocoques seraient la deuxième cause d'infections urinaires juste après *E.coli*. (Chouba *et al.*, 2006)

La plupart du temps, il s'agit d'une infection urinaire banale de la jeune femme. La malade présente des signes de cystite (brulures mictionnelles, dysurie, pollakiurie), avec pyurie. Une atteinte pyélonéphritique est associée à cette infection vésicale. L'évolution sous traitement d'antibiotique est en règle favorable, dans des cas très rares des récurrences soient possibles avec une faible fréquence (10%). La bactérie en cause appartient pratiquement toujours à l'espèce *S.saprophyticus*. (Chouba *et al.*, 2006)

Ces infections s'observent aussi chez des malades hospitalisés et ayant des antécédents urinaires : personnes porteuses d'une sonde à demeure ou ayant subi récemment une intervention chirurgicale, transplantés rénaux, malades lithiasiques ou présentant une uropathie obstructive, ou encore sujets paraplégiques. Dans ces cas, pratiquement seule l'espèce *S. epidermidis* est rencontrée (90%). (Chouba *et al.*, 2006)

De nombreuses autres bactéries peuvent être isolées comme nous l'indique la figure 6.

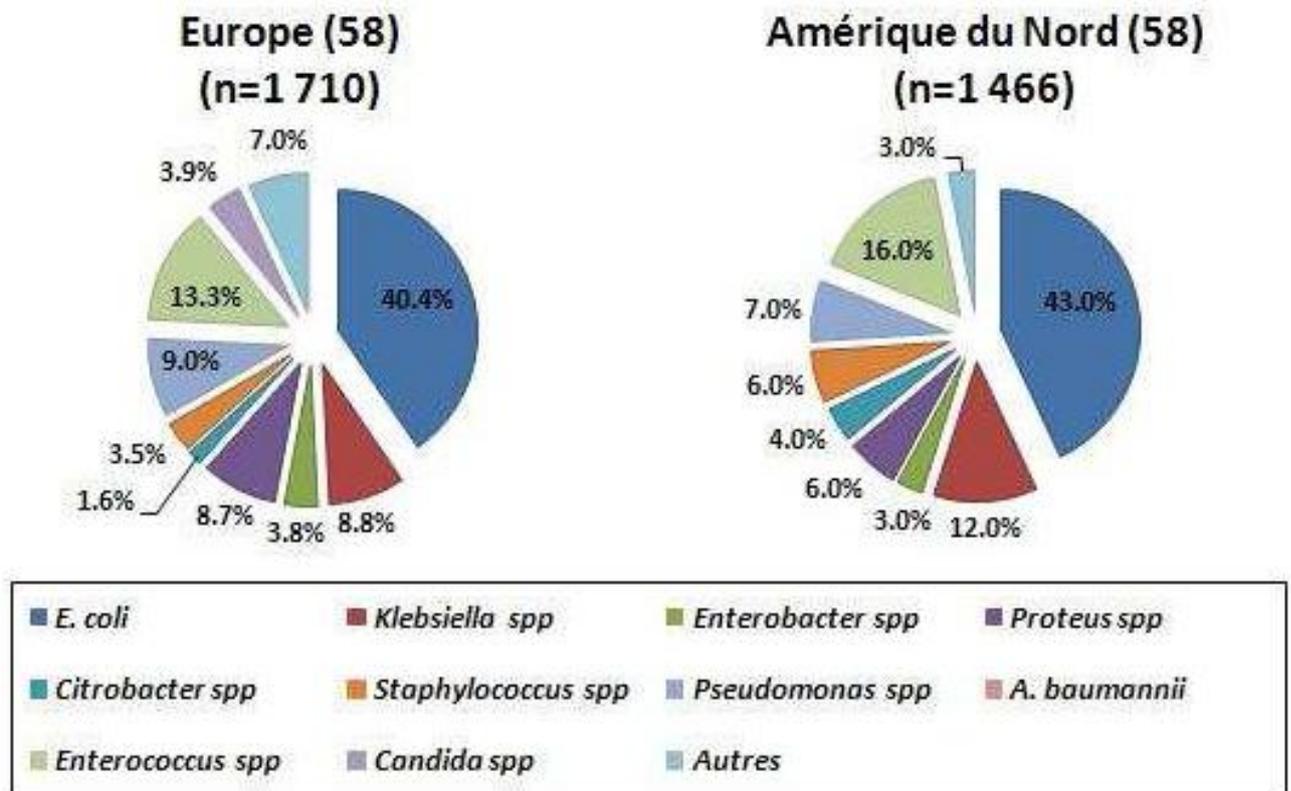


Figure 06: Prévalences des pathogènes responsables d'infections urinaires nosocomiales (Monnet, 2011)

Chapitre III. Prévention et Traitement

1. Prévention

Elément fondamental de la politique d'amélioration de la sécurité et de la qualité des soins de tout établissement de santé, la lutte contre les infections nosocomiales est une priorité de santé et constitue le thème d'une partie des référentiels d'accréditation. (**Mahmoud et al, 2013**)

1.1. Mesure générale de prévention

En tout temps la prévention des infections est la meilleure lutte contre les agresseurs microbiens. (**Tortora, 2003**)

Les principes généraux de prévention pour les hôpitaux :

- ❖ **Les bâtiments** : Ils doivent être dans les normes par leurs surfaces, leur aération ; ils doivent être nettoyés matin et soir avec des désinfectants à la, serpillière sans balayage préalable. Le sol de la salle d'opération est nettoyé après chaque opération avec de l'eau de Javel diluée, l'ensemble du bloc lavé à grande eau à la fin de chaque semaine.
- ❖ **Le personnel** : Il faut insister sur la formation et l'éducation du personnel socio-sanitaire dans le respect strict des règles d'hygiène et de fonctionnement des services.
- ❖ **Le déchet** : A l'hôpital, les circuits propres et sales doivent être clairement individualisés et distincts. Tous les objets piquants et tranchants doivent être jetés dans des conteneurs spéciaux. Les déchets d'activité de soins à risque infectieux sont éliminés dans des récipients spéciaux et suivent une filière spécifique de ramassage et de transport visant à une incinération ou à un enfouissement. L'emballage, le ramassage, le transport et les modalités d'incinération font l'objet d'une réglementation très précise. (**Popi, 2003**)

1.2. Mesure spécifique de prévention des IUAS

Elle repose sur le respect des règles d'hygiène lors de la pose des sondes urinaires (asepsie rigoureuse), l'utilisation préférentielle d'étuis péniers et de système clos de drainage, et l'interdiction de clamber avant ablation de la sonde.

Quand la sonde urinaire d'un patient est installée, il faut respecter les règles suivantes :

- ❖ Toilette génitale et péri anale avec un savon doux médical (journalière et après chaque selle) ;
- ❖ Lavage les mains avant et après les soins ;
- ❖ Respect du drainage clos ;
- ❖ Ne pas laisser trainer le sac à terre ;
- ❖ Hydratation abondante du patient ;
- ❖ Changement de la sonde et du système de drainage quand il y'a écoulement défectueux ou s'il existe une infection urinaire confirmée lorsque des patients sondés sont infectés ou colonisés,
- ❖ Isolation des patients infectés ou colonisés par rapport aux autres patients de la chambre (**Pebret, 2003**)

Chaque Hôpital agréé devrait se doter d'un comité de prévention des infections. L'équipe devra déterminer les sources de problèmes, tels les souches de bactéries antibiotiques résistantes et les techniques inadéquates de stérilisation mais également examiner périodiquement le matériel hospitalier pour évaluer l'importance de la contamination microbienne.

2. Traitement

2.1. Antibiothérapie

Guidée par l'épidémiologie microbienne, l'antibiothérapie des infections urinaires (IU) s'envisage très différemment selon qu'il s'agit d'un schéma préventif ou curatif et selon que la situation clinique est « simple » ou « compliquée. Devant une colonisation urinaire – terme préféré par le consensus à la classique bactériurie asymptomatique – il est établi que l'abstention antibiotique est de mise, sauf dans de rares situations (grossesse, immunodépression, neutropénie, geste urologique, mise en place d'une prothèse...) ; cela signifie que la très grande majorité des colonisations urinaires nosocomiales ne doit pas être traitée : chez le patient sondé ou non, l'antibiothérapie ne permet pas en effet de diminuer l'incidence des épisodes fébriles, alors qu'elle favorise la sélection de bactéries résistantes. Devant une infection vraie et après réalisation d'un ECBU, l'antibiothérapie est indispensable.

L'antibioprophylaxie n'est qu'une des méthodes à côté de toutes les mesures d'hygiène – pour prévenir l'infection. Les actes doivent se pratiquer sur des urines dont la stérilité a été vérifiée par un examen cytobactériologique des urines (ECBU) récent. La chirurgie pratiquée « de nécessité » sur des urines infectées relève non pas d'une prophylaxie mais d'une antibiothérapie curative (**Lobel et Soussy, 2007**).

L'échec d'une antibiothérapie peut être **microbiologique** (un problème de cible, un défaut de bactéricidie, l'acquisition de résistance) ou **pharmacologique** (une posologie insuffisante, une interaction chimique ou médicamenteuse) (**Lobel et Soussy, 2007**).

2.2. Phagothérapie

La phagothérapie qui tire son nom du grec « phagos » signifiant « manger », faire intervenir le plus vieil ennemi des bactéries que sont les virus bactériophages. C'est un ancien traitement découvert à la fin des années 1910 et utilisée autrefois comme traitement contre les bactéries notamment en Pologne et en Georgie. Il fut abandonné lors de l'arrivée des antibiotiques. (**Bodin, 2012**)

En 2011, face à l'augmentation des infections nosocomiales et de la résistance des microorganismes aux antibiotiques habituelles, et la carence en nouvelles molécules thérapeutiques, des recherches encouragées par l'OMS ont été entreprises. Les premiers résultats ont montré que les bactériophages avaient de l'effet sur les infections en plus également d'améliorer l'action des antibiotiques lorsqu'ils sont utilisés conjointement. Aussi Les phages se multiplient qu'en présence de la bactérie cible, ils sont auto-répliquants et auto-limitants au niveau du foyer infectieux. (**Dublanchet et Patey, 2011**)

C'est ainsi que des personnes qui devraient être amputées à cause d'infections dévorantes ont pu voir leurs membres sauvés grâce aux interventions des médecins de l'hôpital de Villeneuve-Saint-Georges, Alain Dublanchet, microbiologiste, et son confrère Olivier Patey, infectiologue.

Un grand colloque au Parlement européen est envisagé sur la phagothérapie, afin de trouver des solutions, notamment financières, aux blocages qui persistent dans le développement de cette médecine prometteuse. (**Rivasi, 2013**)

1. Nature et période d'étude

Il s'agit d'une étude sur les infections urinaires associées aux soins réalisée pendant une durée de trois mois (23 Février au 22 Mai 2014), au sein de laboratoire de bactériologies du Centre Hospitalo-Universitaire Militaire de la Nouvelle Ville (E.H.U.M) et du Centre Hospitalo-Universitaire Ben Badis de Constantine (CHU).

2. Échantillonnage

Les échantillons d'urine analysés au cours du stage ont été prélevés de patients tous admis au service de réanimation médicale des 2 hôpitaux. Ils étaient au nombre de 97.

2.1. Prélèvement

L'objectif majeur de cette étape est de recueillir l'urine vésicale, d'une façon stérile en évitant sa contamination lors de la miction par la flore commensale qui colonise l'urètre et la région périnéale (**Cavallo et al, 2003**).

2.1.1. Sujet coopératif

Les urines sont recueillies de préférence le matin. Après lavage soigneux avec un savon doux, le méat est rincé à l'eau et la première partie de la miction est éliminée puis l'urine est recueillie dans un flacon stérile.

Et puisque le prélèvement est confié au patient, il convient de lui fournir des renseignements précis (**Djaballah et Talbi, 2013**)

2.1.2. Sujet non coopératif

Le sondage vésical, généralement est exclu chez les sujets coopératifs est réservé aux grabataires comateux oliguriques ou en rétention aigue. Il est pratiqué avec une sonde stérile, le manipulateur étant muni de canaux stériles. Le recueil par sondage urinaire (sonde à petite calibre) n'est acceptable que chez la femme lorsque le recueil de l'urine lors de la miction est impossible (**Djaballah et Talbi, 2013**)

2.1.3. Chez le petit enfant

Un nettoyage soigneux de la région périnéale est pratiqué, puis le sac plastique collecteur est fixé au moyen d'un adhésif. Ce sac ne doit pas être laissé plus de 30 mn. Pour le second prélèvement un nouveau sac stérile est placé (**Djaballah et Talbi, 2013**).

2.2. Transport et conservation

Des conditions adéquates de transport et de conservation sont encore plus importantes à respecter (rapidité : moins de 2 heures à température ambiante) si l'on veut éviter une contamination gênante pour l'interprétation de l'ECBU. La conservation des urines à 4°C pendant 24h est une alternative sans influence sur la bactériurie. (Bruyère *et al*, 2008)

3. Analyses préliminaires des échantillons

3.1. Aspect macroscopique de l'échantillon

Cette analyse fournit des renseignements sur la turbidité et la couleur de l'échantillon. L'urine peut être limpide, trouble, claire, jaune, acajou, sanglante, comme elle peut contenir des filaments ou dépôt.

L'urine à l'état normal est claire et trouble à l'état de l'infection (Figure 07 et 08), ce qui donne une idée préliminaire sur l'examen cyto bactériologique des urines (ECBU).



Figure 07: Urine maroon (trouble)



Figure 08: Urine Claire.

3.2. Utilisation des bandelettes réactives chimiques

Ces bandelettes donnent des indications sur divers composants de l'urine : présence de polynucléaires (détection des estérases), présence de nitrite (à condition que le sujet ait ingéré des nitrates et que la bactérie possède une nitrate réductase), valeur du pH de la glycosurie et la protéinurie, présence de corps cétoniques de sang et d'hémoglobine

Elles doivent être présentes obligatoirement au laboratoire de bactériologie à titre de contrôle. Elles ne remplacent cependant ni l'examen microscopique, ni les cultures.

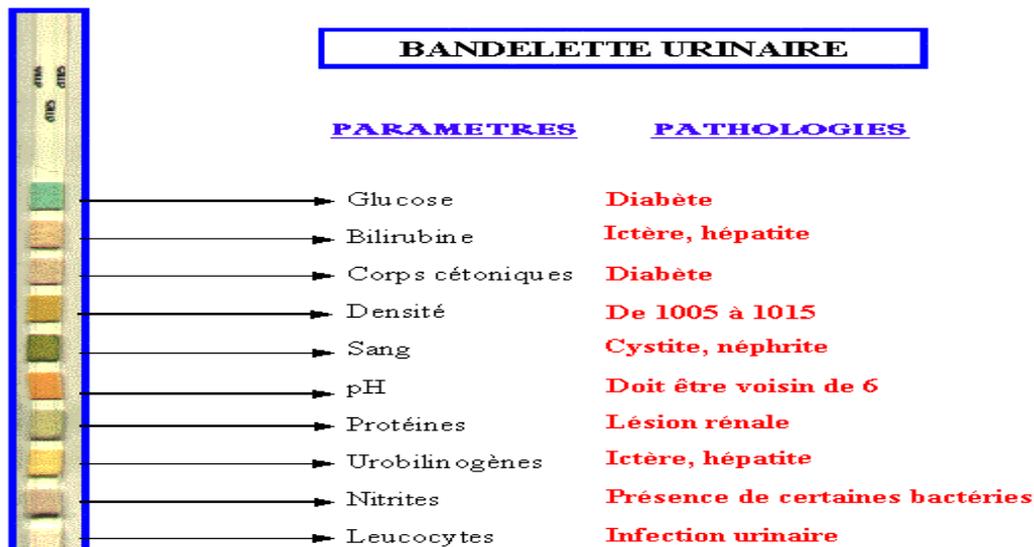


Figure 9: Les paramètres de la bandelette réactive (Djaballah et Talbi, 2013)

La procédure opératoire

Cette procédure doit être minutieusement suivie pour obtenir des résultats fiables (Figure 10) ;

1. Retirer la bandelette réactive du flacon puis refermer le bouchon immédiatement.
2. Inspecter la bandelette. Une décoloration ou assombrissement des plages réactives peut indiquer une détérioration.
 - Tremper la bandelette complètement pour un minimum d'une seconde dans l'urine fraîche, bien mélangé et non centrifugé.
 - Sortir la bandelette de l'urine en appuyant un bord sur le côté du contenant pour enlever l'excès d'urine.
 - Tamponner un côté complet de la bandelette pour retirer le restant d'urine et prévenir le mélange des produits chimiques. Un excès d'urine sur la bandelette peut entraîner un résultat inexact.
 - S'il y a une lecture visuelle des résultats, comparer attentivement les résultats à la charte de couleurs sur l'étiquette du flacon après la période de temps appropriée. Le respect du temps exact de lecture (60 à 120 secondes) est critique pour des résultats optimaux. Pour comparer, tenir la bandelette à l'horizontal au-dessus de l'étiquette du flacon et éviter l'interaction des produits chimiques entre les plages réactives lorsqu'un excès d'urine est présent.

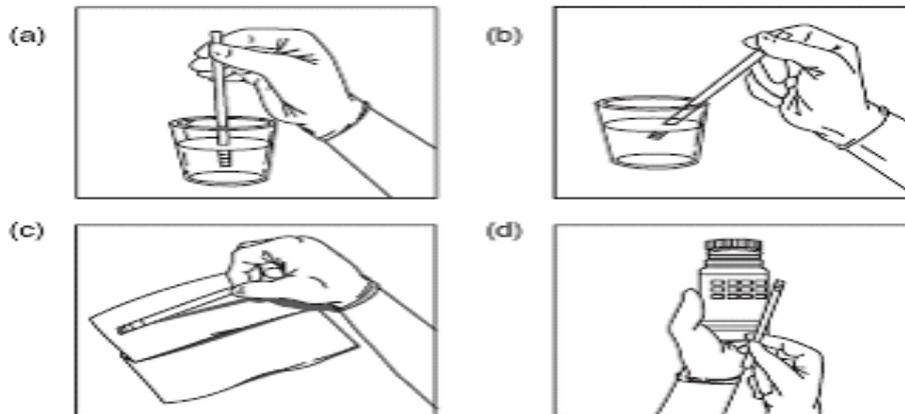


Figure 10: Le processus de la bandelette réactive.

La principale limite de ce test est qu'il ne peut détecter que les entérobactéries (toutes productrices de nitrate réductase) et non les bactéries à Gram positif telles que les entérocoques et les staphylocoques.

Le seuil de détection est de 10^5 UFC/ml, toutefois ce seuil n'est atteint que si les urines ont séjournées suffisamment longtemps dans la vessie (> à 4h) pour permettre aux bactéries de convertir suffisamment de nitrate en nitrites pour être détectés. En pratique il est recommandé de tester les urines du matin (**Bonacorsi, 2007**).

3.3.Examen directe de l'urine

3.3.1. Examen cytologique

❖ Examen qualitatif

L'examen qualitatif permet d'observer les cellules présentes dans l'échantillon (hématies, polynucléaires....).

- Examen à l'état frais

Deux gouttes d'urine étendue sur une lame, recouvert d'une lamelle et examiné, sans coloration, au microscope à l'objectif 40.

- La coloration au bleu de méthylène

Le frottis est traité par le bleu de méthylène pendant une minute à dix minutes, puis rincé à l'eau, séché par du papier joseph et observé au microscope l'objectif 100 a immersion.

Cette coloration est réalisée pour confirmer la cytologie et d'autres composants déjà observé à l'état frais, aussi pour rechercher la présence de polynucléaires ou de lymphocytes, et d'éventuelles bactéries pour en noter leur forme et leur disposition.

❖ Examen quantitatif

L'examen quantitatif permet de dénombrer les cellules présentes dans l'urine d'une façon précise, en particulier les leucocytes et les hématies.

Dans cet examen on va effectuer une numération cytologique sur une cellule soit de Mallassez soit de Nageotte .Une cellule de numération est une lame épaisse en verre porte objet dans laquelle est creusée une chambre de comptage de volume connu, comportant des rigoles et un quadrillage.

Le seuil significatif pour les leucocytes est : 10.000 cellules / ml ou 10 cellules/mm³

3.3.2. L'examen bactériologique

La mise en culture doit répondre à un double objectif, isolement et numération de l'espèce bactérienne, c'est la seule méthode qui permettra une identification exacte des microorganismes qui colonisent l'urine. Une très grande majorité de bactéries responsables d'infections urinaires ne sont pas exigeantes et sont cultivées sur géloses ordinaires (gélose nutritive) comme *E.coli* (Vaubourdolle, 2007).

3.4. la culture sur gélose nutritive (GN)

Plusieurs méthodes sont envisageables mais nous avons utilisé celle de KASS (1987):

Des dilutions décimales (1/10, 1/100, 1/1000) sont faites avec de l'eau distillée stérile en raison d'un volume de 0,9ml d'eau distillée stérile dans laquelle on rajoutera 0.1 ml de la solution mère. Les différentes dilutions sont étalées sur une boîte de pétri avec une pipette pasteur préalablement stérilisé.

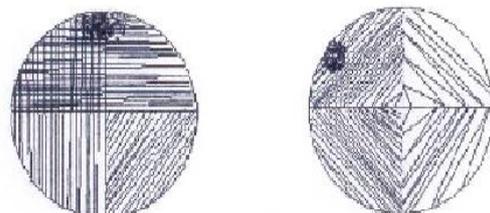
Après 24h d'incubation à 37°C, chaque bactérie ou amas de bactéries présents dans l'urine donnent naissance à une colonie spécifique visible à l'œil nue (UFC). Le nombre de bactéries par millilitre est apprécié en comptant le nombre d'UFC sur la gélose puis en le rapportant au volume d'urineensemencée et à la dilution correspondante.

- <10³ UFC / ml : absence de bactériurie significative.

-10⁵ UFC / ml : infection probable.

-Entre 10³ et 10⁵ UFC / ml : c'est la zone d'incertitude qui varie selon l'espèce bactérienne, l'expression des signes cliniques d'infection urinaire et selon le fait que le patient soit sondé ou non.

La technique d'ensemencement utilisée a été l'isolement orthogonal ou en cadrant qui permet



l'isolement de clones bactériennes sous forme de colonies (chaque colonie comprend l'équivalent de 10^6 bactéries).

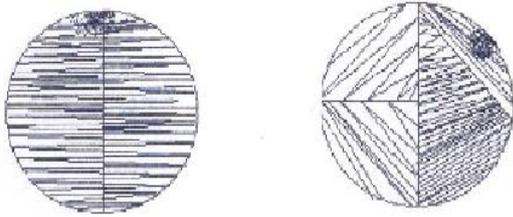


Figure 11 : Techniques d'ensemencements en cadrant.

Après la lecture des boîtes ensemencées et la sélection des boîtes présumées positives pour une infection urinaire, l'identification du microorganisme par des tests sera réalisée subséquemment.

4. Identification

4.1. Examen à l'état frais

Cet examen permet de préciser l'existence des microorganismes dans l'urine, leur mobilité (étant vivants), et estimer leur nombre. Mais ces préliminaires doivent être évidemment complétés par la coloration du frottis et la culture systématique sur milieux appropriés.

La préparation est obtenue avec le dépôt d'une goutte du bouillon préparé sur une lame recouverte ensuite avec une lamelle.

L'observation s'est faite au microscope à l'objectif ($\times 40$).

Le but est de noter la présence de bactéries et leur éventuelle mobilité.

4.2. Examen après coloration de Gram

Cet examen classique reste indispensable en apportant des informations immédiates au clinicien sur le type de bactéries impliquées permettant d'adapter le traitement. **(Bonacorsi, 2007)**

Conventuellement, c'est la technique de coloration la plus utilisée dans l'étude et la classification des bactéries. On distingue : les bactéries à Gram (+) et à Gram (-).

4.3. Test de la catalase

L'action directe de cette enzyme est mise en évidence par ce test et est caractérisée par un dégagement gazeux immédiat résultant de la décomposition l'eau oxygénée.

Technique

À l'aide d'une pipette Pasteur ; une goutte d'eau oxygénée (H_2O_2) et déposée au milieu d'une lame propre et dégraissée.

Avec pipette boutonnée, un peu de culture pure et fraîche était prélevé sur milieu gélose nutritif, puis mis en contact avec de l'eau oxygénée.

Lecture

- Un dégagement gazeux signifie la présence de l'enzyme « catalase ».
- L'absence du dégagement gazeux signifie l'absence de l'enzyme.

4.4. Test d'oxydase

La recherche de l'oxydase est un des critères les plus discriminatifs et les plus employés pour l'identification des bactéries, surtout celle des bacilles à GRAM négatif. Cette recherche consiste à mettre en évidence la capacité de la bactérie testée à oxyder la forme réduite incolore de dérivés méthylés du paraméthylène diamine, en leur forme oxydée semi-quinonique rose violacée

Technique

Une goutte d'eau distillée stérile est prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur puis mise sur une lame propre et dégraissée,

Un disque pour la recherche d'oxydase était saisi avec une pince stérile, hydraté avec l'eau distillée et mis au centre de lame.

Avec une pipette Pasteur boutonnée ; un peu de culture pure de 18h prélevé sur milieu gélose nutritif était déposé sur le disque.

Lecture

Après quelques secondes ; on dit que la bactérie est :

- Oxydase positive (+) : si le disque devient rose foncé puis violet au niveau de dépôt.
- Oxydase négative (-) : s'il n'y a pas changement de couleur.

4.5. Identification biochimique

4.5.1. Galerie classique

Préparation de la suspension bactérienne

A l'aide d'anse de platine ou une pipette Pasteur calibrée stérile une colonie de la boîte présumée positive est prélevée et déposée dans un bouillon nutritif ou l'eau distillé/physiologique (cœur cerveau). puis le tube est agité quand un trouble s'apparaisse.

Ensemencement de la galerie

❖ Milieu TSI

Le milieu **TSI** est un milieu différentiel par la capacité à mettre en évidence les fermentations du : glucose, lactose et/ou saccharose ainsi que la production d'hydrogène sulfuré (H₂S) et de gaz. Le rouge de phénol est l'indicateur colorant virant du rouge au jaune pour un résultat positif. Le noircissement du culot indique la présence de H₂S.

L'ensemencement se fait par stries puis une piqure centrale avec une à trois gouttes de suspension bactérienne.

❖ Milieu Mannitol-Mobilité

Le milieu **Mannitol-Mobilité**, ce milieu permet de rechercher simultanément la mobilité et l'utilisation du mannitol (Figure 12).

Certaines bactéries peuvent dégrader le mannitol qui est un produit de dégradation du mannose. La dégradation en anaérobiose de ce sucre conduit à la formation de fructose dont l'attaque conduit elle-même à la formation d'acides à chaînes courtes. Cette acidité entraîne un virage progressif au jaune d'un milieu d'origine rouge. L'ensemencement par piqure central d'une à trois gouttes de suspension bactérienne.

Si la bactérie est immobile, on observe des colonies au lieu de l'ensemencement, par contre si la bactérie est mobile on observe une répartition des colonies dans le milieu ou une voile autour de la piqure.

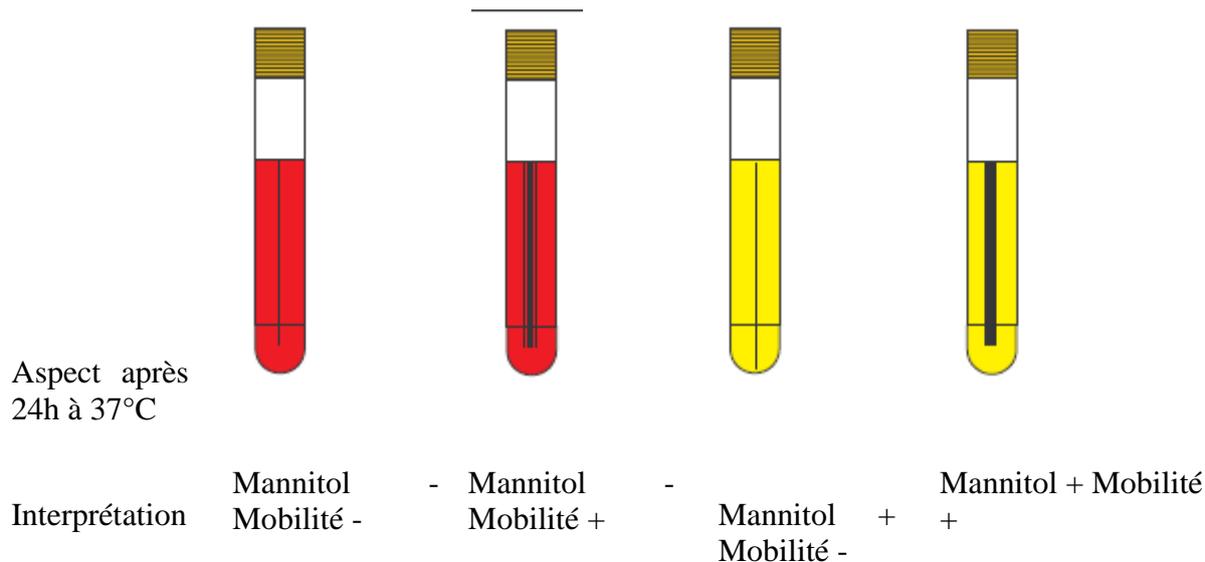


Figure 12: Aspect de milieu mannitol-mobilité après l'ensemencement.

❖ Milieu Citrate de Simmons

Certaines entérobactéries sont capables d'utiliser le citrate comme seule source de carbone les bactéries possédant l'enzyme citratase sont capables de se développer sur le milieu **citrate de simmons**. La bactérie qui utilise le citrate, elle alcalinise le milieu, ce qui fait virer le bleu de bromothymol du vert au bleu.

L'ensemencement est réalisé à partir d'une à trois gouttes de suspension bactérienne par stries.

❖ Milieu Clark et Lubs

Ce bouillon permet de rechercher les voies fermentaires des entérobactéries et de différencier la fermentation des acides mixtes et la fermentation butane-diolique chez les entérobactéries.

L'ensemencement s'effectue par quelques gouttes de suspension bactérienne dans le milieu de culture, On rajoute les réactifs dans la lecture.

• Test du rouge de méthyle (test RM)

C'est une réaction utilisée pour mettre en évidence la voie fermentative des acides mixtes lors de l'identification des entérobactéries. La fermentation du glucose par les entérobactéries produit de l'acide pyruvique, puis des acides organiques. Ces acides font virer le RM au rouge et dans le cas contraire, il vire au jaune.

- **Réaction de Voges-Proskauer (test VP)**

C'est une réaction utilisée pour mettre en évidence la voie fermentaire du butane 2,3 diol lors de l'identification biochimique des entérobactéries, grâce à l'acétoïne. En présence d'une basse forte, l'acétoïne donne une coloration rouge en milieu très oxygéné.

- ❖ **Milieu Urée-Indole**

Ce milieu de culture permet de réaliser deux tests biochimiques aidant à l'identification des entérobactéries. Ces tests sont celui de l'uréase et de l'indole.

L'ensemencement s'effectue par l'addition de quelques gouttes de suspension dans le milieu de culture.

Pendant la lecture on partage le contenu de tube qui contient le milieu de culture **urée indole** en deux parties et on met dans l'un d'eux le réactif de **kovacs**.

- **Recherche de l'uréase**

Les entérobactéries peuvent dégrader l'urée qui est un composé organique et qui peut servir de source d'azote unique aux bactéries possédant une uréase. En présence de cette enzyme, les bactéries uréolytiques peuvent décomposer l'urée en carbonate d'ammonium qui alcalinise le milieu, et qui fait virer l'indicateur coloré de pH (le rouge de phénol) du jaune au rouge en milieu basique.

- **Recherche de l'indole**

Certaines bactéries dégradent le tryptophane grâce à une tryptophanase en formant de l'indole, Cette réaction est confirmée lorsqu'après addition du réactif de Kovacs, Le diméthyl-amino-4-benzaldéhyde contenu dans le réactif de Kovacs réagit avec l'indole et forme un composé coloré en rouge.

Remarque : Tous les tubes seront incubés dans l'étuve à 37°C pendant 24heures On les gardera tous fermés à l'exception des tubes du TSI et du Mannitol-mobilité à cause de la production de gaz (H₂S).

4.5.2. Galerie API

- ❖ **Principe**

API 20 E est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres Bacilles à Gram négatif, comprenant 21 tests biochimiques miniaturisés, ces microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests, les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification.

❖ Préparation de la galerie

* Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée pour créer une atmosphère humide.

* Sortir la galerie de son emballage.

* Placer la galerie dans la boîte d'incubation.

❖ Inoculation de la galerie

Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide de la même pipette (pour éviter la formation des bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule, en incluant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant) :

-pour les tests CIT, VP, GEL, remplir tube et cupule.

-pour les autres tests remplir uniquement les tubes (et non cupules)

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

-Refermer la boîte d'incubation.

-Incubation 37°C pendant 18-24 heures.

-Lecture de la galerie API E.

5. L'Antibiogramme

Intérêt

Lorsqu'une bactérie est isolée à partir d'un prélèvement, sa sensibilité aux antibiotiques doit être recherchée. Ce test est capital, il permet de choisir un antibiotique adéquat pour le traitement. La détermination de l'activité des antibiotiques est réalisée par la méthode de diffusion sur gélose (Mueller Hinton). (**Benslimani et al, 2008**)

Le milieu

La gélose Muller-Henton (MH) est coulée en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm, les géloses sont séchées avant l'emploi.

Procédure opératoire

- A partir d'une culture de 24 heures, trois colonies identiques de la bactérie à étudier sont prélevées puis inoculées dans 5 ml d'eau physiologique (turbidité= 0.5 Mc Ferland).
- Ensemencement : les boîtes sont étalées avec 4 ml de l'inoculum à l'aide d'un écouvillon, puis séchées à l'étuve pendant 15 min à 37 C°.
- Application des disques d'antibiotiques grâce aux distributeurs ou à l'aide d'une pince flambée.

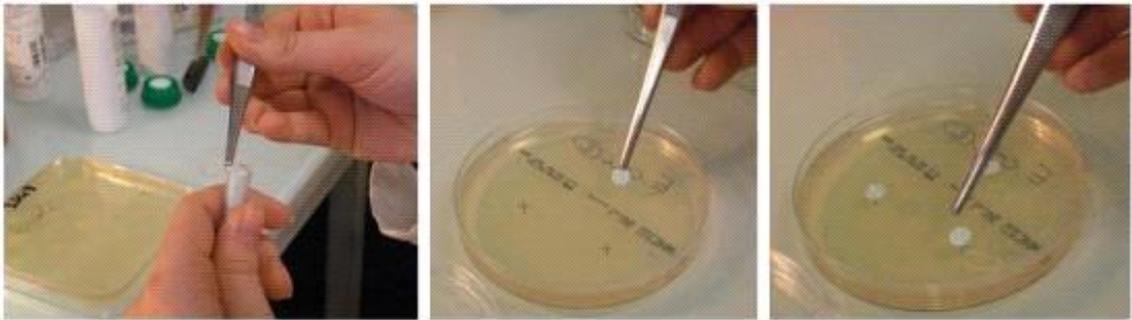


Figure 13:La technique de dépôt des disques d'antibiotiques.

- Les boîtes sont laissées pendant 3 minutes à température ambiante pour une meilleure diffusion de l'antibiotique à partir de son disque, puis incubées 24 heures à 37 C°
- Pour chaque antibiotique, le diamètre de la zone d'inhibition est mesuré avec un pied à coulisse ou une règle appliqué presque au contact de la surface de la boîte (les diamètres sont exprimés en mm).

L'antibiogramme va ainsi déterminer si la bactérie isolée est sensible ou résistante aux antibiotiques testés grâce aux diamètres de la zone d'inhibition, ce qui va également permettre le choix de l'antibiotique le plus efficace pour le traitement signalé sur le disque.

1. Résultats

1.1. Données sur les prélèvements

Durant notre stage effectué entre le 23 Février et le 22 Mai 2014, notre étude a porté sur **97** Examens Cyto-Bactériologiques des Urines (ECBU).

1.1.1. Examen macroscopique

Nous avons observé plusieurs aspects d'urine (couleur et turbidité). Certains présentaient un aspect normal (une couleur jaune citrin), d'autres présentent un aspect trouble avec une couleur marron, acajou, sanglante...

1.1.2. Les bandelettes réactives

Ces bandelettes ont donné plusieurs indications sur les composants de l'urine parmi lesquelles : la présence des nitrites, de leucocytes, de cristaux et une valeur de pH avoisinant 5,5.

1.1.2. Examens

❖ Examen cytologique

L'observation microscopique à l'état frais ou bien après coloration au bleu de méthylène a indiqué la présence de leucocytes, hématies, cristaux, des cylindres et des cellules épithéliales.

La présence de leucocytes dans les urines est signe de l'existence d'une réaction inflammatoire. On déclare que la leucocyturie est positive si le nombre dépasse 100 leucocytes / ml.

Quant aux cristaux et aux cylindres, dans la majorité des cas leur présence ne correspond pas à un état pathologique : ce sont des constituants normaux de l'urine. Certains cristaux sont retrouvés exclusivement dans une urine acide et d'autres dans une urine alcaline. Leur détection a été effectuée à l'aide de bandelettes réactives.

Les cellules épithéliales proviennent des troubles rénaux des voies excrétrices, leur signification reste toujours inconnue.

❖ Examen bactériologique

La description des colonies a été faite après un développement bactérien, les résultats sont mentionnés dans le tableau 4.

Tableau 4: Quelques caractères cultureux et morphologiques après l'analyse des boîtes bactériennes

Espèce	Caractères cultureux sur GN	Morphologie des bactéries
---------------	------------------------------------	----------------------------------

<i>E.coli</i>	Colonies lisses, à bord régulier, blanchâtres et opaques sur gélose nutritive	Bacille droit
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Colonies sont bombées et muqueuses.	Bacille court extrêmement arrondie
<i>Acinetobacter sp</i>	Colonies convexes, circulaires, lisses, translucides ou légèrement opaques, muqueuses.	Bacille
<i>Enterobacter sp</i>	Petites colonies translucides.	Bacille droit
<i>Staphylococcus Blanc</i>	Petites colonies, muqueuses, bombées à contour régulier.	Cocci
<i>Enterococcus sp</i>	Colonies rondes, lisse, à bord régulier.	Cocci
<i>P. aeruginosa</i>	Coloration du milieu en vert	Bacille

❖ Identification biochimique

L'identification des microorganismes préalablement isolés et caractérisés sur milieu GN a été poussée par des tests biochimiques (tableau 5). Le signe + signifie que la réaction positive du test a été positive.

Tableau 5: Les résultats obtenus après identification biochimique.

Milieux et réactifs	<i>Escherichia coli</i>	<i>Acinetobacter sp</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Enterococcus sp</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Staphylocoque à coagulase négative (SCN)</i>	<i>Enterobacter sp</i>
GRAM	-	-	-	+	-	+	-
ODC	-	-	/	/	-	/	-
LDC	-	-	/	/	-	/	-
ADH	-	-	/	/	-	/	-
Glucose	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	+	+	-		+	-	+
Saccharose	-	-	+	+	-	-	-
Gaz	+	+			+	+	+
H ₂ S	-	-	-	-	-	+	-
Citrate de simmons	-	+	+	+	+	+	+
Clarket Lubs	+	+	+	+	+	+	+
VP	-	-	+	+	+	-	+
RM	+	+	-	-	-	+	-
Urée	-	-	-	/	+	+	-
Indole	+	-	-	/	-	-	-
Mannitol	+	+	+	+	+	-	+

Mobilité	+	-	+	-	-	+	+
ONPG	+	+	-	+	+	-	-

1.2. Distribution des microorganismes selon la positivité de la culture

Sur 97 prélèvements analysés, 44 cas se sont révélés positifs, soit un taux de 45,36 % alors que 53 prélèvements sont négatifs, soit un taux de 54,64% (Tab 6, Fig 14)

Tableau 6: Distribution des microorganismes selon la positivité de la culture

Culture	Positive	Négative	Total
Nombre de cas	44	53	97
Pourcentage (%)	45,36	54,64	100

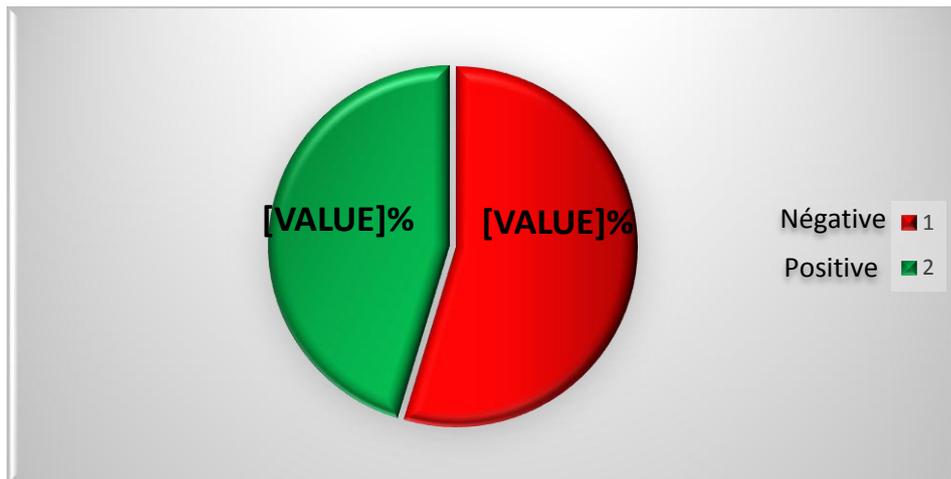


Figure 14: Distribution des microorganismes selon la positivité de la culture.

1.3. Répartition des microorganismes selon le Gram

Selon notre étude, les bacilles à Gram négatif présentent un taux important de 79,54 % ; alors que les cocci à Gram positif présentent un taux de 20,46% (Tab 7, Fig 15).

Tableau 7: Répartition des microorganismes selon le Gram

	GRAM+	GRAM-	Total
Nombre	09	35	44

Pourcentage (%) 20,46 79,54 100

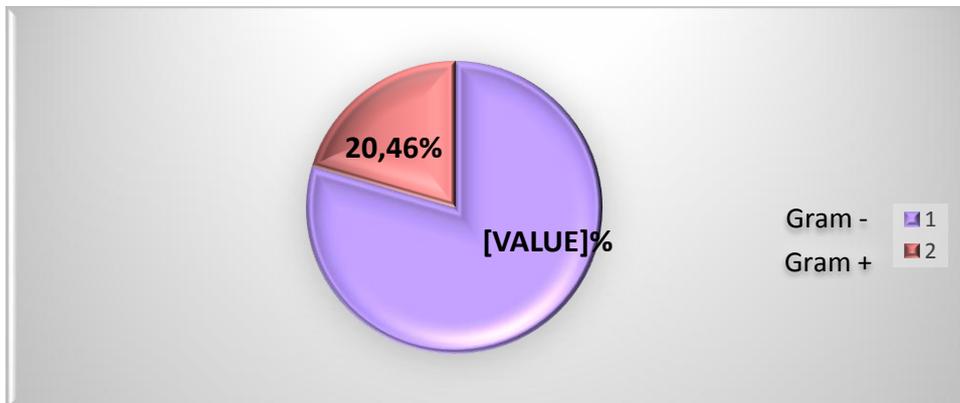


Figure 15: Répartition des microorganismes selon le Gram.

1.4. Répartition selon l'espèce isolée

D'après le tableau 08 et la figure 16, *E. coli* est le microorganisme le plus dominant et le plus fréquent dans les IUAS représenté avec un pourcentage de 22,72% suivi de *Klebsiella pneumoniae* à 20,45%, *Enterobacter sp* et *Enterococcus sp* avec le même pourcentage de 13,64 %, les levures à 09,09%, *Acinetobacter sp*, *Pseudomonas aeruginosa* et Staphylocoques à coagulase négative avec le plus faible pourcentage de 06,82%.

Tableau 8: Fréquence des microorganismes isolés

Les microorganismes	Nombre	Pourcentage (%)
<i>Escherichia coli</i>	10	22,72
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	09	20,45
<i>Enterobacte rsp</i>	06	13,64
<i>Acinetobacter sp</i>	03	06,82
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	03	06,82
<i>Enterococcus sp</i>	06	13,64
Levures	04	09,09
SCN	03	06,82

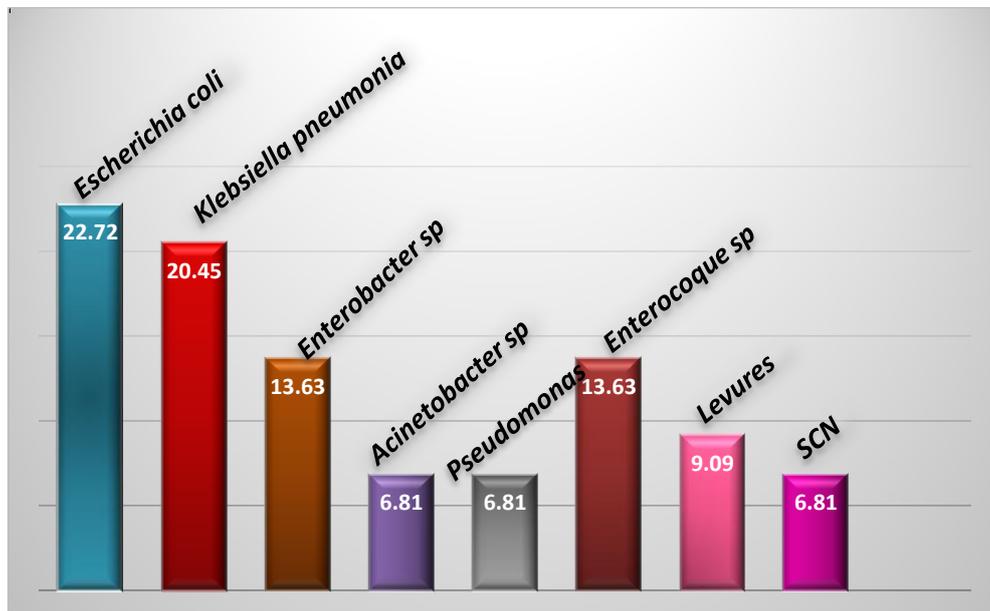
Total**44****100**

Figure 16: Fréquence des microorganismes isolés

1.5. Répartition des microorganismes selon le sexe.

La fréquence selon le sexe des microorganismes isolés est représentée dans le tableau 9 et la figure 17. Les résultats illustrés montrent que dans l'ensemble des 44 échantillons, la prédominance est du sexe féminin avec un pourcentage de 61,36% contre 38,64% pour le sexe masculin.

Tableau 9: Répartition des microorganismes selon le sexe, n= 44.

Bactéries isolées	Homme		Femme		Total	
	Nombre	Pourcentage (%)	Nombre	Pourcentage (%)	Nombre	Pourcentage (%)
<i>Escherichia coli</i>	04	23,52	06	22,22	10	22,72
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	04	23,52	05	18,51	09	20,45
<i>Enterobacter sp</i>	02	11,76	04	14,81	06	13,63
<i>Acinetobacter sp</i>	02	11,76	01	03,37	03	06,81
<i>P. aeruginosa</i>	00	00	03	11,11	03	06,81

<i>Enterococcus sp</i>	03	17,64	03	11,11	06	13,63
<i>Levures</i>	01	05,88	03	11,11	04	09,09
<i>SCN</i>	01	05,88	02	07,40	03	06,81
Total	17	100	27	100	44	100



Figure 17:Répartition des microorganismes selon le sexe, n=44

1.6.Répartition des microorganismes isolés en fonction de l'âge

La concentration des microorganismes isolés en fonction de l'âge est représentée dans le tableau 10 et la figure 18. La répartition selon l'âge montre que les patients les plus atteints d'infections urinaires nosocomiales sont ceux âgés de 40 ans et plus.

Tableau 10:Répartition des microorganismes selon l'âge, n=44.

Âge	Nombre	Pourcentage (%)
0-20	04	09,09
20-40	08	18 ,18
	15	34,09
40-60	17	38,63
60-80		
Nombre Total	44	100%

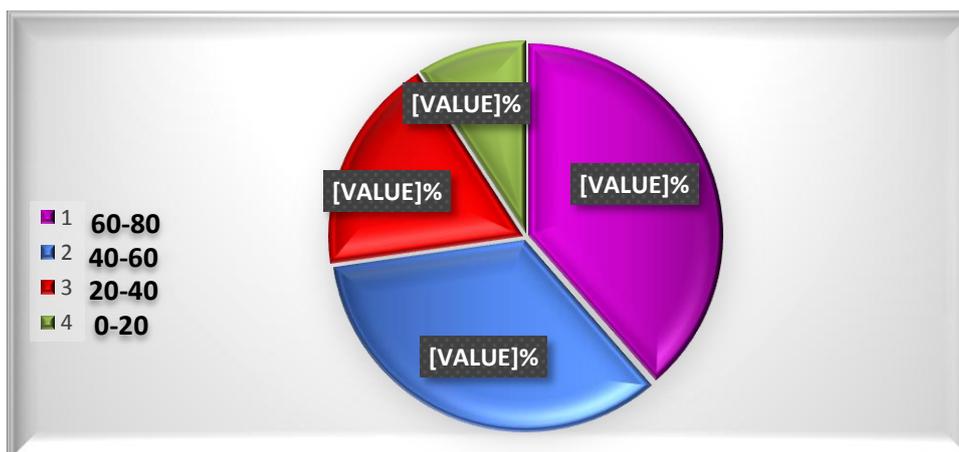


Figure 18: Répartition des microorganismes selon l'âge, n=44.

2. Étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches isolés

Pour les β -lactamines, les souches d'*Escherichia coli* sont résistantes à l'Amoxicilline avec une fréquence de 75%, et pour l'association Amoxicilline-ac.clavulanique à 50% ainsi qu'à la Pipéracilline avec un taux de 75%, 25% pour le Céfotaxime, 50% pour la Lacéfazoline et 100% de résistance au Céfixime et enfin Imipénème, Amikacine, Tobramycine et Gentamycine restent les molécules de choix avec 0% de résistance.

Concernant les Fluoroquinolones, l'Ofloxacin a une fréquence de résistance à 100%.

Pour l'acide nalidixique et la Colistine les souches d'*Escherichia coli* sont sensibles à 75% (Tab 11 ; fig 19)

Tableau 11: Profil de résistance des souches d'*Escherichia coli*, n=10.

Famille des antibiotiques	Antibiotiques testés	Pourcentage (%)		
		R	S	I
β -lactamines	Amoxicilline	75	25	0
	Amoxicilline-Ac.clavulanique	50	50	0
	Pipéracilline	75	25	0
	Céfazoline	50	50	0

Cephalosporines	Céfotaxime	25	75	0
	Céfixime	100	0	0
Carbapenemes	Imipénème	0	100	0
	Amikacine	0	100	0
Aminosides	Tobramycine	0	100	0
	Gentamycine	0	100	0
	Ofloxacine	100	0	0
Fluoroquinolones	Acide nalidixique	25	75	0
Autres	Colistine	25	75	0

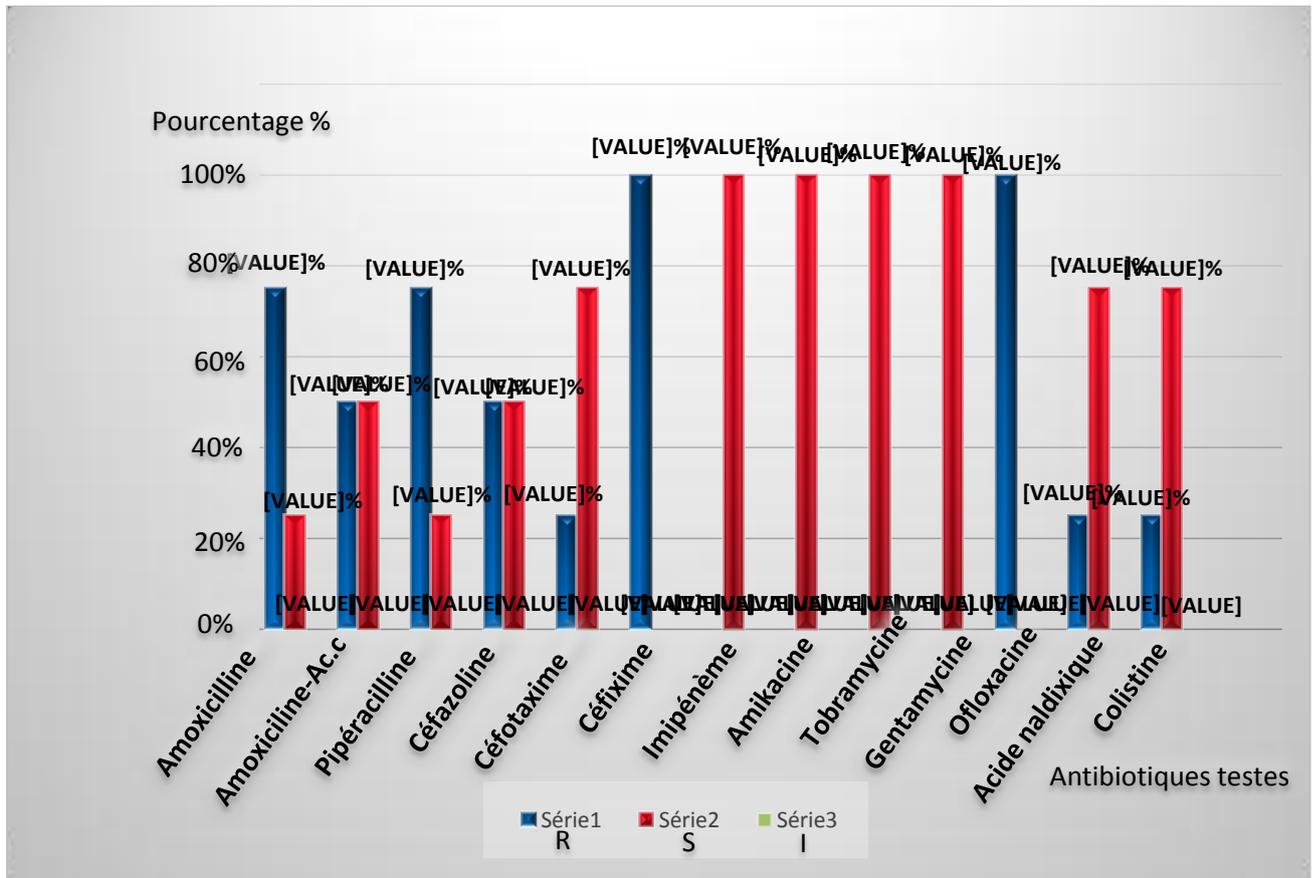


Figure 19: Profil de résistance des espèces d'*Escherichia coli*, n=10.

Pour les β -lactamines, les souches de *Klebsiella pneumoniae* sont à 100% de résistance à l'Amoxicilline, à la Pipéracilline, au Céfixime, un taux de 66,66% est enregistré pour l'association Amoxicilline-Ac.Clavulanique, la résistance à la Céfazoline et au Céfotaxime est considérable, elle est de respectivement 88,88% et 77,77%. Concernant l'Imipineme et la Tobramycine, ils enregistrent un taux de sensibilité à 100%.

Pour les aminosides, on assiste à une résistance assez marquée pour la gentamicine avec 88,88%, cependant un taux de résistance assez bas est noté pour l'ofloxacine et l'acide nalidixique avec 11,11% et 33,33% respectivement ce qui signifie l'existence d'un bas niveau de résistance aux fluoroquinolones (Tab 12 ; fig 20).

Tableau 12: Profil de résistance des souches *Klebsiella pneumoniae*, n=09.

Famille des **Pourcentage (%)**

antibiotiques	Antibiotiques testés	R	S	I
	Amoxicilline	100	0	0
β-lactamines	Amoxiciline-Ac.clavulanique	66,66	33,33	0
	Pipéracilline	100	0	0
	Céfazoline	88,88	0	11,11
Cephalosporines	Céfotaxime	77,77	22,22	0
	Céfixime	100	0	0
Carbapenemes	Imipénème	0	100	0
	Amikacine	0	100	0
Aminosides	Tobramycine	0	100	0
	Gentamycine	88,88	11,11	0
Fluoroquinolones	Ofloxacine	11,11	88,88	0
	Acide nalidixique	33,33	11,11	55,55
Autres	Colistine	22,22	77,77	0

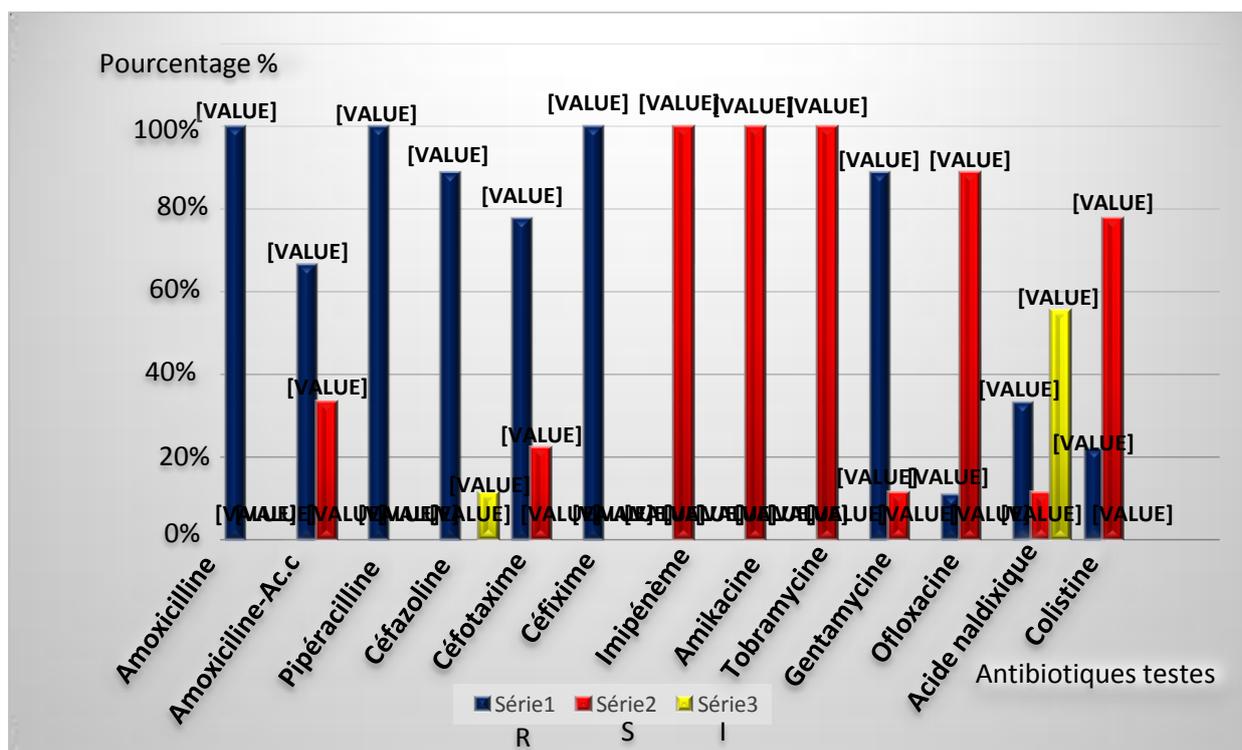


Figure 20: Profil de résistance des souches *Klebsiella pneumoniae*, n=9.

Pour les β -lactamines, les souches d'*Enterobacter sp* enregistrent une résistance totale de 100% à l'amoxicilline et l'association amoxicilline-ac.clavulanique, suivi d'un taux de 66,66% pour la piperacilline, céfotaxime, amikacine et la tobramycine, L'imipineme est très actif sur ces souches avec un taux de 100% de sensibilité. Concernant la gentamycine, les souches d'*Enterobacter sp* enregistrent un taux de 50% de résistance, et enfin l'acide nalidixique et la colistine sont très actifs avec un taux de résistance de 0% (Tab 13 ; fig 21).

Tableau 13: Profil de résistance des souches d'*Enterobacter sp*, n=06.

Famille des antibiotiques	Antibiotiques testés	Pourcentage (%)		
		R	S	I
β -lactamines	Amoxicilline	100	0	0
	Amoxicilline-Ac.clavulanique	100	0	0
	Pipéracilline	66,66	33,33	0
	Céfazoline	100	0	0
	Céfixime	100	0	0
Cephalosporines	Céfotaxime	66,66	33,33	0
	Céfixime	100	0	0
Carbapenemes	Imipénème	0	100	0
	Amikacine	66,66	33,33	0
Aminosides	Tobramycine	66,66	33,33	0
	Gentamycine	50	50	0
	Acide nalidixique	0	50	50
Autres	Ofloxacine	33,33	66,66	0
	Colistine	0	66,66	33,33

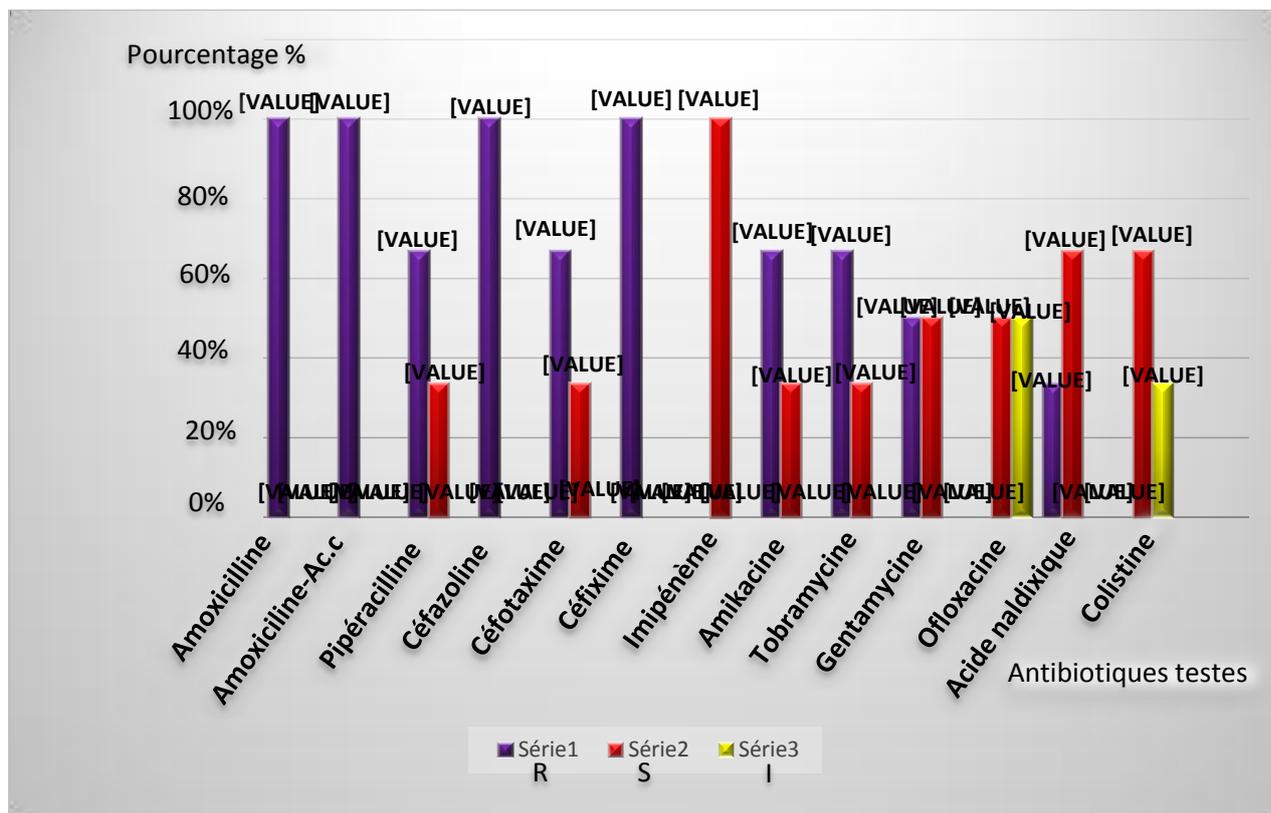


Figure 21: Profil de résistance des souches d'Enterobacter sp, n= 6

Pour les β -lactamines, les souches de *Pseudomonas aeruginosa* montrent plus de résistance vis-a-vis de l'Amoxicilline et de l'association Amoxicilline-Ac.Clavulanique que de la Pipéracilline ; 100% de résistance contre 33,33% respectivement. Tandis que pour la Céfazoline, la Gentamycyne, Ciprofloxacine, Rifampicine elles présentent une résistance de 66,66% alors que l'Imipineme montre une résistance 0% il représente la molécule de choix pour les souches de *Pseudomonas*, pour la colistine, elle présente une résistance de 33,33% et enfin la fosfomycine qui présente un taux de 100% de résistance (Tab 14 ; fig 22).

Tableau 14: Profil de résistance des souches de *Pseudomonas aeruginosa*, n=3.

Famille des antibiotiques	Antibiotiques testés	Pourcentage (%)		
		R	S	I
β -lactamines	Amoxilline	100	0	0
	Amoxicilline-acclavulunique	100	0	0

	Pipéracilline	33,33	66,66	0
Cephalosporines	Céfazoline	66,66	33,33	0
Carbapenemes	Imipénème	0	100	0
	Gentamycine	66,66	33,33	0
Fluoroquinolones	Ciprofloxacine	66,66	33,33	0
	Colistine	33,33	66,66	0
Autres	Rifampicine	66,66	33,33	0
	Fosfomycine	100	0	0

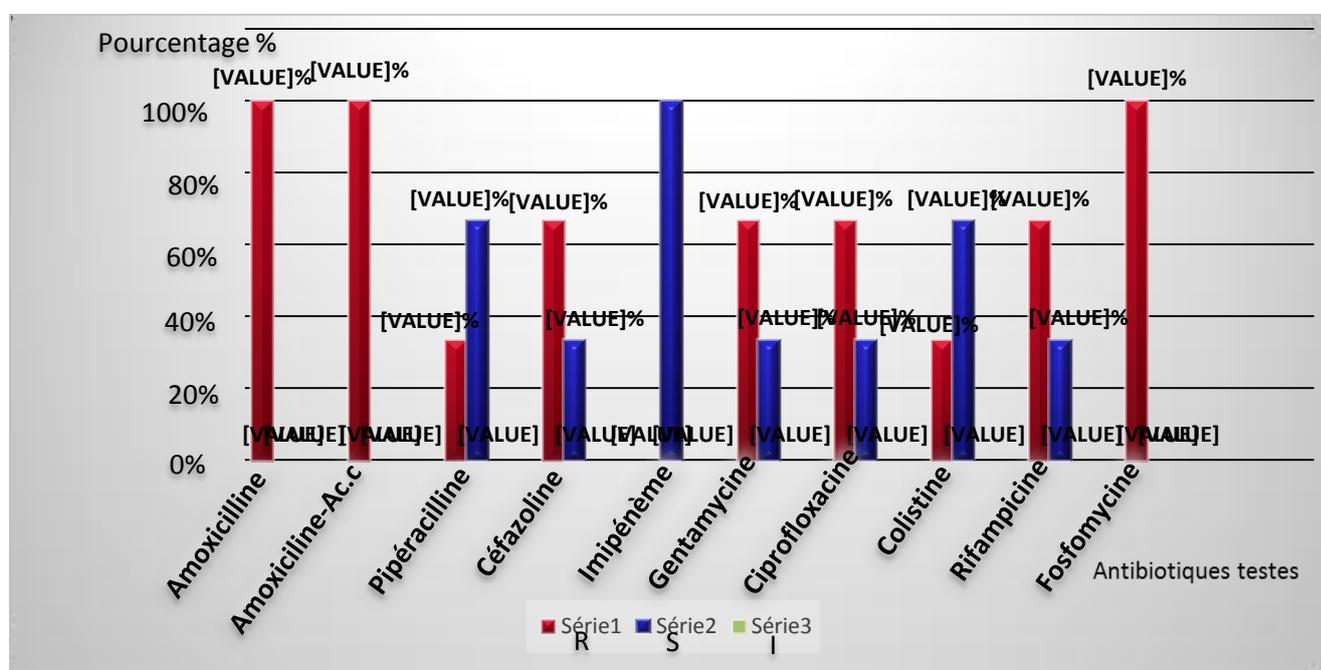


Figure 22: Profil de résistance des souches de *Pseudomonas aeruginosa*, n=3

Pour les β -lactamines, le profil de résistance des souches d'*Acinetobacter sp* montrent une fréquence totale de 100% à l'Amoxicilline, à l'Amoxicilline-Ac.Clavulanique, Pipéracilline, Céfazoline, Amikacine et Rifampicine, suivi d'une fréquence de 66,66% pour la Gentamycine et Ciprofloxacine, et enfin l'Imipineme, la Colistine et la Fosfomycine sont très actif sur les souches d'*Acinetobacter sp* avec un taux de sensibilité de 100% (Tab 15 ; fig 23).

Tableau 15: Profil de résistance des souches d'*Acinetobacter sp*, n=3.

Famille des antibiotiques	Antibiotiques testés	Pourcentage (%)		
		R	S	I
β-lactamines	Amoxicilline	100	0	0
	Amoxicilline-Ac.clavulanique	100	0	0
	Pipéracilline	100	0	0
Cephalosporines	Céfazoline	100	0	0
Carbapenemes	Imipénème	0	100	0
	Amikacine	100	0	0
Aminosides	Gentamycine	66,66	33,33	0
Fluoroquinolones	Ciprofloxacine	66,66	0	33,33
	Colistine	0	100	0
Autres	Rifampicine	100	0	0
	Fosfomycine	0	100	0

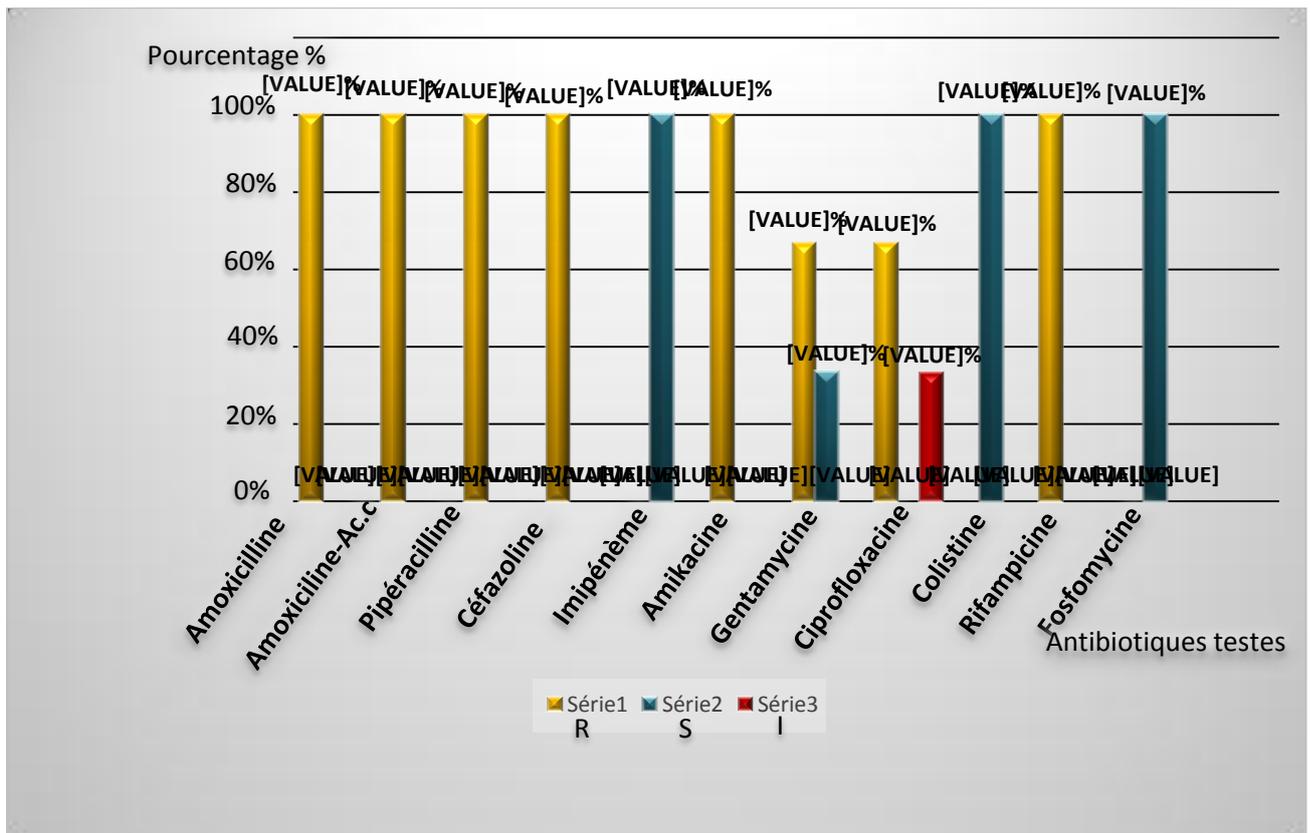


Figure 23: Profil de résistance des souches d'*Acinetobacter sp*, n=3.

Les staphylocoques à coagulase négative présentent des multiples résistances aux familles des antibiotiques testés.

Pour les β -lactamines, nos souches de staphylocoques à coagulase négative sont résistantes à 100% à la Pénicilline G et l'Oxacilline et 66,66% au Céfoxitine.

Pour les macrolides, les souches de SCN enregistrent un taux de résistance de 66,66% pour l'Erythromycine, de 33,33% pour la Spiramycine, la Lincomycine et de 66,66% à la Clindamycine.

On assiste à une résistance assez marquée de 66,66% pour les fluoroquinolones (Ofloxacine) et pour les cyclines (la tétracycline).

La résistance des souches aux aminosides était variable : de 66,66% pour l'Amikacine et la Tobramycine, et de 100% pour la gentamicine

Pour les glycopeptides, les souches de SCN sont à 100 % sensibles à la Vancomycine et la Teicoplanine, et elles sont sensibles aussi au Linézolide (Tab 16 ; fig 24).

Tableau 16 : Profil de résistance des souches de SCN, n=3.

Famille des antibiotiques	Antibiotiques testés	Pourcentage (%)		
		R	S	I
β-lactamines	Pénicilline G	100	0	0
	Oxacilline	100		0
	Céfoxitine	66,66	33,33	0
	Érythromycine	66,66	33,33	0
	Spiramycine	33,33	66,66	0
Macrolides	Lincomycine	33,33	66,66	0
	Clindamycine	66,66	33,33	0
	Vancomycine	0	100	0
Glycopeptides	Teicoplanine	0	100	0
Cyclines	Tétracycline	66,66	33,33	0
	Amikacine	33,33	66,66	0
Aminosides	Tobramycine	33,33	66,66	0
	Gentamycine	100	0	0
Fluoroquinolones	Ofloxacin	66,66	33,33	0
Autres	Linézolide	0	100	0

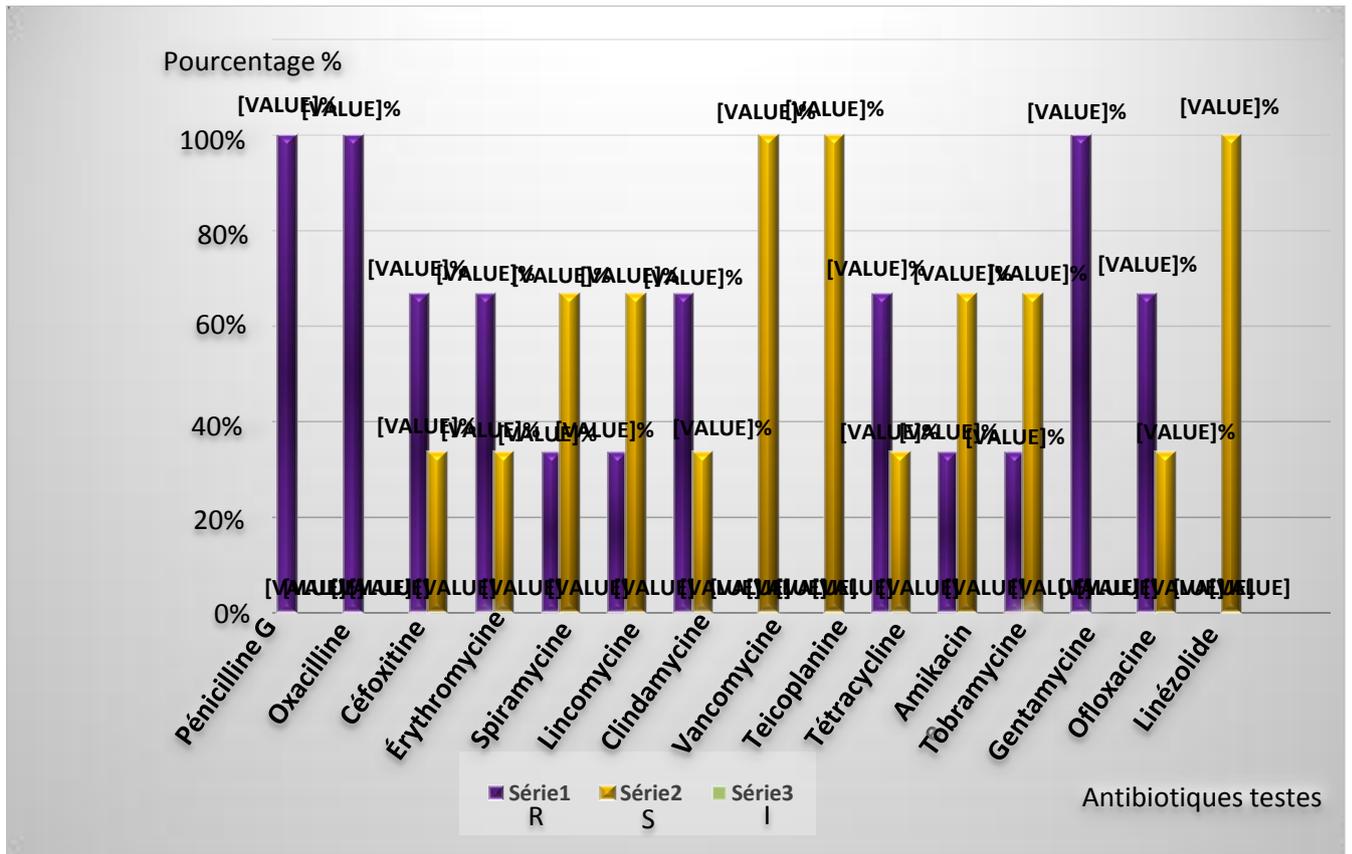


Figure 24: Profil de résistance des souches de SCN, n=3.

Pour les β -lactamines, les souches d'*Enterococcus sp* sont à 100% résistantes à l'amoxicilline et le céfotaxime.

Pour les macrolides, nos souches d'*Enterococcus sp* sont résistantes à l'Erythromycine et la lincomycine. Tandis qu'elles sont sensibles à 100% pour Vancomycine et Teicoplanine.

Pour les cyclines, les souches d'*Enterococcus sp* sont à 100% résistantes à la Tétracycline.

Concernant les Aminosides, toutes les souches d'*Enterococcus sp* est sensible à 100% vis-à-vis de la Gentamycine.

Les souches sont aussi résistantes à 100% à la Lévofoxacine et la Rifampicine.

Elles sont sensibles aussi à la Fosfomycine (Tab 17 ; fig 25).

Tableau 17: Profil de résistance des souches d'*Enterocoques sp*, n=06.

Pourcentage(%)

Famille des antibiotiques	Antibiotiques testés	R	S	I
β-lactamines	Amoxicilline	100	0	0
	Céfotaxime	100	0	0
	Erythromycine	100	0	0
	Lincomycine	100	0	0
Macrolides				
Glycopeptides	Vancomycine	0	100	0
	Teicoplanine	0	100	0
Cyclines	Tétracycline	100	0	0
Aminosides	Gentamycine	0	100	0
Fluoroquinolones	Lévofloxacine	100	0	0
	Rifampicine	100	0	0
	Fosfomycine	0	100	0
Autres	Triméthoprim- Sulfaméthoxazole	100	0	0

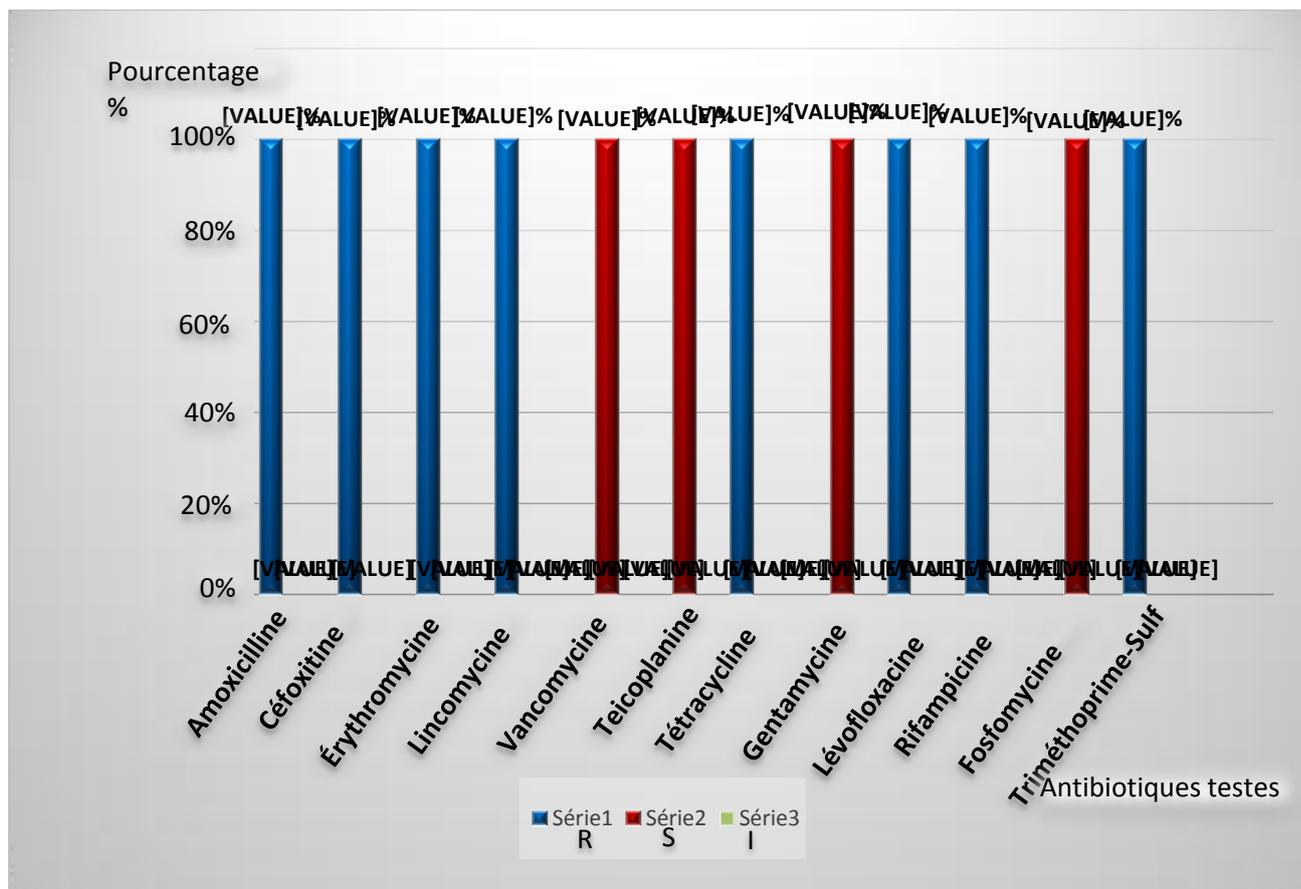


Figure 25: Profil de résistance des souches d'*Enterocoques sp*, n=6.

3. Discussion

Notre étude présente le double avantage d'évaluer les infections urinaires nosocomiales, et aussi d'identifier les facteurs de risque qui sont plus importants que les soins du patient.

Un dysfonctionnement dans l'organisation d'une unité de soins peut entraîner une situation à risque permanent (Carler, 2002)

Comparativement aux autres secteurs de soins, les patients de réanimation semblent plus exposés au risque d'acquisition d'une infection nosocomiale. Cette augmentation du risque pourrait être expliquée par plusieurs facteurs dont certains sont inhérents au patient (Sondage, immunodépression), d'autres inhérents à la réanimation (traitements invasifs).

Parmi les infections nosocomiales, la cause bactérienne prédomine. Elles représentent 80% au CHU Ben Badis de Constantine en 2012. A l'hôpital Albert Michallon de Grenoble en France, les bactéries sont les microorganismes prédominants représentant 87% (Bailliet al ; 2004).

Durant notre étude, nous avons obtenu un taux de 45,36% d'infections urinaires nosocomiales. Ce taux est supérieur à celui d'une étude réalisée en France (36,3%), sur 190 hôpitaux en 2002. (**Vildé, 2002**)

Les différences peuvent s'expliquer par :

- Une différence de méthodologie d'hygiène.
- Une différence de collecte d'échantillons car notre durée d'étude a été menée en 3 mois alors que ces études sont effectuées pendant des durées plus longues.

D'après nos résultats, 7 souches bactériennes ont été isolées dont 5 bacilles Gram négatif (79,54%) et 2 cocci Gram positif (20,46%).

Les résultats d'une autre étude au niveau de l'unité de réanimation de la maternité Befelatanana à Madagascar indiquent pareillement un taux élevé en bacilles à Gram négatif (65,14%) comme responsables des infections (**Andrianarivelo et al, 2010**)

Les agents pathogènes les plus fréquemment isolés de nos échantillons, cités par ordre décroissant sont : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter sp*, *Enterococcus sp*, *Acinetobacter sp*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus* à coagulase négative.

Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par la littérature qui indique que la prédominance revient à *Escherichia coli* avec 22,72% et *Klebsiella pneumoniae* avec 20,45%. (**Dhaouadi, 2009**) ; par contre à l'hôpital de Marrakech entre octobre 2006 et septembre 2009, *Acinetobacter spp* est le microorganisme le plus fréquemment isolé (**Arsalane et al, 2010**).

Dans notre étude, les cocci à Gram positif sont isolés dans 20,46% des infections urinaires nosocomiales, les Staphylocoques à coagulase négative sont les principales bactéries isolées suivies par les *Enterococcus sp*. Les cocci à Gram positif ont, de tout temps, occupé une place importante dans les infections aussi bien communautaires qu'hospitalières, elles sont toujours préoccupantes par l'augmentation considérable au cours de la dernière décennie de résistance aux antibiotiques (aussi bien anciens que récents) avec l'apparition de souches multirésistantes particulièrement en milieu hospitalier (**Lepape, 2003 ; He et al, 2005 ; Falcone et al, 2002**).

Nos résultats indiquent que la prédominance est de sexe féminin avec un taux de 61,36%.

Plusieurs auteurs lors de leurs études tels **Maiga en 1999 et Dembele en 2001** ont trouvé un résultat similaire. Cela s'explique par l'anatomie de l'appareil urinaire féminine qui est plus exposé aux infections que celui de l'homme.

Nous avons constaté aussi que les patients les plus exposés aux infections urinaires nosocomiales étaient âgés de 40 ans et plus.

Ceci a été confirmé par Beaucaire en 1997 qui estime que l'âge élevé du malade est un facteur favorisant les infections nosocomiales. (**Beaucaire, 1997**)

Concernant le profil de résistance aux antibiotiques, les entérobactéries isolées dans notre étude montrent une résistance importante aux β -lactamines. En effet, 75% des 10 souches d'*Escherichia coli* isolées enregistrent une résistance à l'Amoxicilline. Cette résistance est beaucoup plus élevée que celle trouvée par (**Golstein, 2000 ; Abalikumwe, 2004 ; Ben Hajkhalifa et khader, 2010**) rapportant des pourcentages entre 26% et 42%. La résistance à l'Association Amoxicilline-Ac.Clavulanique dans notre cas de 50% est plus élevée que celui trouvé en France (40%) par (**Lemorf et al, 2006**) et en Tunisie (17%) par (**Ben Hajkhalifa et Khader, 2010 ; Aissiet al, 2008**).

Concernant le Céfotaxime, il conserve une bonne activité avec 75% de sensibilité ; ce résultat reste éloigné de celui rapporté par (**Abalikumwe, 2004**) qui indique un pourcentage de 10% de sensibilité, Par ailleurs le céfotaxime représente un marqueur pour la détection des souches BLSE et reste l'un des antibiotiques les plus actifs sur les entérobactéries (**Larabi et al, 2003**). L'imipénème, reste la molécule de choix avec 0% de résistance. Ce résultat est conforme à celui rapporté par (**Khalfaoui et al, 2008 ; Ben abdallah et al, 2008 ; Bathily, 2002**) indiquant 0% de résistance. Par ailleurs il est bien établi dans la littérature que l'utilisation abusive des C3G dans les infections aux entérobactéries et à l'origine du développement de la résistance à ces molécules.

Concernant les souches de *Klebsiella pneumoniae* une résistance totale à la Pipéracilline, et à la Céfixime est observée. Un taux de 66,66% est enregistré pour la combinaison Amoxicilline-Ac.Clavulanique. Nos résultats diffèrent de ceux de (**Farrah et al, 2007**) qui rapportent un taux de résistance de 52,4% pour l'association Amoxicilline-Ac Clavulanique, 81% pour la Pipéracilline, et 76,1% pour la Céfixime.

Le Céfotaxime, marqueur des BLSE, qui est une molécule très active sur les entérobactéries représente un taux plus élevé 77,77% de résistance.

En revanche, l'imipinème reste la molécule la plus active puisque les carbapénèmes représentent la dernière ligne de défense dans l'armement antimicrobien contre les infections sérieuses ou invasives (**Friedland et al, 2003 ; Hussein et al, 2007**).

En plus d'*E.coli* et *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter sp* occupe une place assez importante dans l'étiologie des IUN qu'on ne peut négliger. Parmi nos six souches d'*Enterobacter sp* isolées, 100% de résistance ont été notées vis-à-vis de l'Amoxicilline et de l'association Amoxicilline-Ac.Clavulanique, et 66,66% pour le céfotaxime. Nos résultats sont un peu proches de ceux obtenus par (**Sooraet al, 2010**) au Maroc où le céfotaxime enregistre un taux de résistance de 77,77%.

Concernant les souches d'*Acinetobacter sp* le profil de résistance montre une fréquence totale de 100% à l'Amoxicilline, à l'association Amoxicilline-Ac.Clavulanique, la Pipéracilline, la Céfazoline, l'Amikacine et la Rifampicine. Pour l'Imipénème nos résultats montrent une sensibilité totale de 100%.

Selon une étude menée au laboratoire de Microbiologie de l'hôpital des spécialistes de Rabat en 2006 par (**Ait el Kadi et al, 2006**). 57% des souches d'*Acinetobacter sp* étaient résistantes à l'Imipénème. Ce taux de résistance varie beaucoup entre différents types de services d'hospitalisations (**Otéoet al, 2007**)

Concernant les souches de *Pseudomonas aeruginosa*, nous avons obtenu une résistance à la Ciprofloxacine de 66,66% contre 43,75% rapportés par Mchich Anas en 2002 (**Mchich, 2002**).

L'Imipénème reste toujours la molécule de choix avec un taux de résistance de 100%.

Les souches de SCN isolées lors de l'étude Marocaine réalisées dans le service de réanimation de l'hôpital militaire d'instruction Mohammed-V ont montré une sensibilité de 42.5% pour la Lincomycine, et de 28.59% pour l'Erythromycine contre 66,66% pour la Lincomycine, et de 33,33 % pour l'Erythromycine d'après nos résultats (**Elouennasset et al, 2007**).

Pour les cyclines, cette même étude au Maroc a mentionné une résistance des souches de 40% pour la Tétracycline, ce qui est très éloigné de notre résultat où on a enregistré un taux de résistance de 66,66 %.

Identiquement à nos résultats les glycopeptides (la Vancomycine et la Teicoplanine) avaient l'excellente activité (sensibilité de 100 %) sur les souches de SCN isolées selon la même étude (**Elouennasset et al, 2007**).

Conclusion

Les infections urinaires nosocomiales continueront encore longtemps par leur étiologie et ses caractéristiques de multiresistance croissante aux antibiotiques à faire parler d'elles, si ce n'est par la charge financière qu'elles constituent (explorations biologiques, prolongement de l'hospitalisation, traitement).

À la lumière des résultats obtenus au cours de notre étude sur les infections urinaires nosocomiales ; il en ressort que :

- ❖ Le taux de positivité des infections urinaires nosocomiales est de 45,36%.
- ❖ Les bacilles à Gram négatif sont les agents causaux les plus fréquents des IUAS
- ❖ Le sexe féminin est le sexe le plus exposé aux infections urinaires nosocomiales avec un taux de 61,36%.
- ❖ L'épidémiologie microbienne des IUAS est caractérisée par une grande stabilité en termes de microorganismes en cause, mais une évolution progressive de la résistance aux antibiotiques. *Escherichia coli* reste le germe dominant (22,72 %)
- ❖ L'âge avancée et l'immunodépression sont des facteurs de risque.

Dans l'attente de solutions aux blocages qui persistent dans le développement de cette médecine prometteuse qu'est la phagothérapie et de son adoption universelle, la recherche active de nouvelles molécules, fondée sur une connaissance approfondie des mécanismes génétiques et biochimiques de la résistance et la mise en évidence de nouveaux sites d'action intrabactériens, doit être développée. Cependant en premier lieu, il faudra diminuer la pression de sélection exercée par l'utilisation importante de l'antibiothérapie et, surtout améliorer ou contrôler les conditions de son usage.

Enfin face au risque réel et à son impact sur les données épidémiologiques médicales, il serait judicieux pour les acteurs de sante publique des Pays en Voie de Développement notamment en Algérie où nous avons mené cette étude de créer un programme ou un réseau local actif, voire panafricain/régionale à long terme, de surveillance et de prévention des IAS ; de contrôler la prescription et l'utilisation d'antibiotiques au sein des populations ; de veiller à

l'information et la formation de la population, en particulier le personnel soignant, sur le risque nosocomial, de ses facteurs et de ses conséquences.

Noms : ZERARI - DJE KOUADIO

Date de soutenance : 22 / 06 /2014

Prénoms : Zakaria- Kouakou

Titre : Les infections nosocomiales : cas de l'infection urinaire

Diplôme : Master 2 Option Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des
Microorganismes

Résumé

Les infections urinaires associées aux soins sont d'une extrême fréquence et constituent un véritable problème de santé publique en raison du réservoir de bactéries multi-résistantes (BMR) qu'elles représentent.

Au cours de notre investigation, nous nous sommes familiarisés à la procédure opératoire de l'examen cyto bactériologique des urines (ECBU) et nous avons également étudié le profil de résistance des microorganismes isolés afin de proposer une antibiothérapie adéquate. Principalement sont incriminés *E coli* (22,72%), *Klebsiella pneumoniae* (20,45%) et *Enterobacter sp* (13,64%). Nous avons également constaté que la prédominance des IUAS, en raison de la brièveté de leur urètre, est féminine (61,36%) et qu'une révision régulière du traitement empirique des infections urinaires s'imposait face à l'augmentation de la résistance aux antibiotiques chez les microorganismes isolés.

En conclusion, même si la phagothérapie semble être une alternative aux antibiotiques dont les effets sont de jours en jours maîtrisés par les microorganismes, la meilleure lutte contre les IN reste la prévention. Cette prévention indispensable et profitable également du point de vue économique repose sur l'application rigoureuse de mesures d'hygiène.

Mots clefs: Infections nosocomiales-ECBU-Antibiogramme-Urines-IUAS-Phagothérapie

Laboratoires de Bactériologie du CHU Militaire de la Nouvelle Ville et du CHU Ben

Badis de Constantine

Devant le jury :

- Président : M^{me} SEKHRI-ARAFAN Maître de conférences, Université Constantine 1
- Examineur : M^{lle} BOUCHLOUKH W Maître-assistante classe « A », Université Constantine 01
- Rapporteur : M^rHENNICHE Satouf Maître-assistant classe « A », Université Constantine 1