

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République algérienne démocratique et populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
جامعة عين تموشنت بلحاج بوشعيب
Université-Ain Témouchent- Belhadj Bouchaib
Faculté des Sciences et de Technologie
Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Projet de Fin d'Etudes
Pour l'obtention du diplôme de Master en : Sciences Biologiques
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Microbiologie appliquée

Thème

Contribution à l'étude des germes responsables des infections nosocomiales au niveau de trois services (médecine interne, chirurgie, maternité) à l'hôpital de Hammam Bouhadjar, wilaya Ain-Témouchent

Présenté Par :

Mme. BELKENADIL Asma.
Melle. CHENNANI Manel.
Melle. BOUTCHICHE Farah.

Devant le jury composé de :

Dr. Derrag Zineb	M C A	UAT.B.B (Ain Témouchent)	Président.
Dr. Saidi Yasmine	M C B	UAT.B.B (Ain Témouchent)	Examineur.
Dr. Belahcene Miloud	(Professeur)	UAT.B.B (Ain Témouchent)	Encadrant.

Année universitaire 2022/2023

Remerciement

Avant tout nous remercions Dieu le tout puissant pour le courage la volonté qu'il nous a accordée pour mener à bien ce modeste travail.

Avant de commencer la présentation de ce travail, nous profitons de l'occasion pour remercier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loï à la réalisation de ce projet de fin d'études.

*Nous tenons d'abord à remercier très chaleureusement, et exprimer nos sincères considérations et nos profonds respects à **Mr. BELLAHCENE Miloud** enseignant à l'Université **BELHADJ Bouchaïb, d'Aïn- Témouchent**, qui nous a permis de bénéficier de son encadrement, et nous a encouragé au cours de ce travail. Nous le remercions aussi pour son précieux conseil, son aide, sa disponibilité tout au long de notre travail.*

*Nos sincères remerciements s'adressent à **Mr. le Directeur de l'hôpital BERREBI Abdelkader** de Hammam Bouhadjar, **Mr. ABED Mohamed** pour son accueil et pour son autorisation pour pouvoir réaliser la partie pratique de ce mémoire.*

*Nos vils remerciements vont aux membres du jury, **Madame Derrag Z. et Madame Saïdi Y.** enseignants à l'Université **BELHADJ Bouchaïb**, pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail en acceptant d'examiner ce mémoire et de l'enrichir par leurs suggestions. Veuillez trouver ici le témoignage de notre reconnaissance et notre respect le plus profond*

*Nos remerciements les plus sincères vont également à Monsieur le chef de service du laboratoire, **Mr. GATAY Bouhadjar** et à l'équipe du service de bactériologie au niveau du laboratoire de l'hôpital **BERREBI Abdelkader** - Hammam Bouhadjar, surtout **M. CHAREF AFROUL Sid Ahmed** et **Mademoiselle BELABBES Amina** « Merci beaucoup pour à tout ce que vous avez fait pour nous et merci pour vos conseils ».*

Dédicace

On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

Je me dois d'avouer ma reconnaissance à toutes les personnes qui m'ont soutenue durant mon parcours, qui ont su me hisser vers le haut Pour atteindre mon objectif.

C'est avec amour, respect et gratitude que je dédie ce mémoire

A mes parents

Pour l'éducation et les valeurs que vous m'avez données, Pour m'avoir encouragée et accompagnée dans mes études, Pour votre soutien tout au long de l'élaboration de ce mémoire, Je vous remercie du fond du Cœur.

Mes frères Yassin et Khadidja

A mon cher mari

Pour la patience et le soutien dont il a fait preuve Pendant

La durée de ce travail merci infiniment

ET pour toi petite princesse, chams Aya

A tous mes professeurs dans tous les cycles de ma scolarité qui mon éclaté la voie du savoir.

A mes binôme Farah et manel

Asma

Dédicace

Avant toute chose, je liens. À remercier Dieu le tout puissant. Pour nous avoir donnés la force et la patience.

A Mes Très Chers Parents, Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous Porte la profonde gratitude que je vous témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien-être. Vous êtes les meilleurs, vous avez su m'entourer d'attention, m'inculquer les valeurs nobles de la vie, m'apprendre le sens du travail, de l'honnêteté et de la responsabilité.

J'espère avoir répondu aux espoirs que vous avez fondés en moi et réalisé aujourd'hui l'un de vos rêves Qu'Allah vous garde et vous procure santé, bonheur et longue vie afin que vous demeuriez le flambeau illuminant mon chemin merci infiniment.

A ma tendre, gentille et chère sœur Hanane et mes adorables Frères Walid et Rayane Je les remercie pour son soutien, encouragement et le sourire qu'elles ont su toujours dessiner sur mon visage.

A mon cher beau-frère Youcef que je remercie pour son soutien et mes adorables Nièces Djinane, Abd -El -Modjib et Abd - El - Moghit.

A mon fiancé Mohamed et sa famille que je remercie pour son soutien et encouragement.

À mes merveilleux amies Manel et Asmaa. Je les remercie pour le sourire qu'elles ont su toujours dessiner sur mon visage, qui je souhaite le succès et le bonheur durant leur vie...

Enfin, Je le dédie fortement à tous ceux qui ont Contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Farah

Dédicace

Chaque jour qui passe je remercie Allah, et je le pris tout le temps de me donner la force de suivre le chemin qu'il m'a tracé afin de mener à bien le destin qu'il m'a prévu.

Je dédie ce travail :

A mes très chers parents que j'aime et qui m'ont soutenu tout au long de ma vie et de mes années d'études. Je les remercie vraiment pour leurs dévouements, leurs amours, leurs sacrifices et leurs encouragements et qui m'ont donné toutes les chances pour réussir jusqu'au bout, J'espère avoir répondu aux espoirs que vous avez fondés en moi et réalisé aujourd'hui l'un de vos rêves Qu'Allah vous garde et vous procure santé, bonheur et longue vie afin que vous demeuriez le flambeau illuminant mon chemin merci infiniment.

A mes chers beaux-frères Imed, Fouad, Djawed et Djalel. Je les remercie pour son soutien, encouragement et le sourire qu'elles ont su toujours dessiner sur mon visage.

Sans oublier mes trinômes Farah et Asmaa pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.

Enfin, à tous ceux qui de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail. Et Tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer

A vous tous, un grand Merci

Manel

Table des matières

Liste d'abréviation

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

Chapitre I : synthèse bibliographique

1.	Généralité sur les infections nosocomiales	3
1.1.	Définition	3
1.1.1.	Infection	3
1.1.2.	Infection nosocomiale	3
1.2.	Épidémiologie	3
1.3.	La chaîne de transmission	5
1.3.1.	Le réservoir	5
1.3.2.	La flore saprophyte du malade lui-même.....	5
1.3.3.	Le personnel soignant (médical et paramédical).....	5
1.3.4.	L'environnement.....	5
1.4.	Modes de transmission	6
1.4.1.	Transmission endogène (auto-infections)	6
1.4.2.	Transmission exogène (hétéro-infection).....	6
1.4.3.	Xéno-infection	7
1.4.4.	Exo-infection.....	7
1.4.5.	Les portes d'entrée	8
1.5.	Les facteurs de risques des IN.....	8
1.5.1.	L'Âge	8
1.5.2.	Le Sexe	9
1.5.3.	L'état immunitaire	9
1.5.4.	Les autres actes.....	9
1.6.	Les différents types des infections nosocomiales	9
1.6.1.	Les infections urinaires nosocomiales	10
1.6.2.	Les infections respiratoires	10
1.6.3.	Les infections du site opératoire.....	11

1.6.4.	Bactériémie – septicémie.....	11
1.6.5.	Les autres infections	12
1.7.	Les symptômes des infections nosocomiales.....	12
1.8.	Les traitements d'une infection.....	12
2.	Les agents responsables des infections nosocomiales.....	13
2.1.	Les bactéries.....	13
2.1.1.	Bactéries commensales.....	13
2.1.2.	Les bactéries pathogènes.....	13
2.1.3.	Les bacilles anaérobies à Gram positif.....	13
2.1.4.	Les bactéries à Gram positif.....	13
2.1.5.	Les bactéries à Gram négatif.....	13
2.1.6.	Les micro-organismes à Gram négatif	14
2.1.7.	Les bactéries multi résistantes.....	14
2.1.7.1.	Définition	14
2.1.7.2.	Les types de BMR.....	14
2.1.7.2.1.	Structures hospitalières	14
2.1.7.2.2.	Les bactéries qui vivent en communauté	15
2.2.	Les virus.....	16
2.3.	Les parasites et les champignons	16
3.	Les préventions contre les infections nosocomiales	19
3.1.	Responsabilité de lutte contre les infections nosocomiales	19
3.2.	Personnels des hôpitaux	20
3.2.1.	Rôle de l'administration de l'hôpital.....	20
3.2.2.	Rôle du médecin	21
3.2.3.	Rôle de microbiologistes.....	21
3.2.4.	Rôles du personnel infirmier.....	22
3.2.5.	Rôle de service de nettoyage.....	22
3.3.	Les patients	23
3.4.	Les visiteurs	24

Chapitre II : matériel et méthodes

1.	Lieu de l'étude	25
2.	Objectif de l'étude	25
3.	Déroulement de travail.....	26
3.1.	Echantillonnage.....	26

3.2.	Conditions et méthodes de prélèvement	26
3.2.1.	Prélèvement à partir de l'environnement	26
3.2.2.	Prélèvement à partir de l'air	26
3.2.3.	Prélèvement à partir d'une surface solide.....	27
3.2.4.	Prélèvement à partir des malades	27
3.2.4.1.	Prélèvement des urines.....	27
3.2.4.2.	Prélèvement à partir de plaie.....	28
3.2.4.3.	Prélèvement à partir du cathéter.....	28
3.3.	Enrichissement.....	28
3.4.	Isolement sur les milieux de cultures.....	28
3.4.1.	Isolement à partir de l'air.....	29
3.4.2.	Isolement à partir des surfaces solides.....	29
3.4.3.	Isolement à partir des urines	31
3.4.4.	Isolement à partir de plaie et de cathéter	32
3.5.	Identification des bactéries.....	32
3.5.1.	Examen macroscopique	33
3.5.2.	Examen microscopique	33
3.5.2.1.	Examen direct à l'état frais	34
3.5.2.2.	Examen microscopique après coloration	35
3.5.2.2.1.	Préparation d'un frottis à partir d'une culture sur milieu solide	35
3.5.2.3.	Plusieurs types de colorations existent.....	36
3.5.2.3.1.	Coloration au bleu de méthylène.....	36
3.5.2.3.2.	Coloration différentielle (coloration de Gram)	36
3.5.2.3.2.1.	Protocole de la coloration de Gram.....	37
3.5.3.	Identification biochimique	37
3.5.3.1.	Test TSI (milieu de tri sucres).....	38
3.5.3.2.	Test urée-indole.....	38
	-Lecture des résultats	38
3.5.3.3.	Test Citrate de Simmons	39
	-Protocole expérimentale	39
	-Lecture des résultats	39
3.5.3.4.	Test Mannitol mobilité.....	39
	-Protocole expérimental	39
	-Lecture des résultats	40

3.5.3.5.	Test ONPG	40
	-Lecture des résultats	40
3.5.3.6.	Recherche de la catalase -Test catalase.....	40
	-Mode opératoire.....	40
	-Lecture.....	41
3.5.3.7.	Recherche de l'oxydase- Test oxydase (cytochrome oxydase)	41
	-Mode opératoire.....	41
	-Lecture des résultats	41
4.	Etude de la sensibilité aux antibiotiques en milieu solide.....	42
4.1.	But de l'antibiogramme	42
4.2.	Principe	42
4.3.	Mode opératoire	43
4.3.1.	Lecture des résultats.....	43

Chapitre III : résultats et discussion

1.	Résultats de l'étude bactériologique.....	45
1.2.	Isolement et identification des souches bactériennes.....	46
1.2.1.3.	Résultat des isollements au niveau du service de maternité	54
1.4.	Résultat des isollements et de l'identification.....	58
1.5.	Résultats des tests biochimiques	59
1.6.	Identification des Staphylocoque pathogènes	60
1.7.	Résultat de l'Etude Cytobactériologique des Urines (ECBU)	62
1.7.1.	Analyse macroscopique de l'échantillon	62
1.7.2.	Examen directe de l'urine	63
1.8.	Résultats de l'antibiogramme	64
	Conclusion	68

Références Bibliographiques

Annexes

Résumé

Abstract

Liste des abréviations

AZM : Azithromycin.

AML : Amoxicilline.

AMC : Amoxyclav

ATB : Antibiotique.

BMR : Les bactéries multi résistantes.

BN : Bouillon nutritif.

BCP : Gélose bromocrésol Pourpre.

CTS : Centre de transfusion sanguine.

CHAP : Gélose Chapman.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

CFM : Cefixime.

EBLSE : Entérobactéries productrices de Béta – lactamase à spectre étendu.

ERV : Entérocoque résistante à la vancomycine.

ECBU : Examen cytobactériologiques des urines.

E : Érythromycine.

Ex : Exemple.

GN : Gélose nutritive.

GEN : Gentamicine.

G : Grossissement.

Gram + : Gram Positif.

Gram - : Gram négatif.

HK : Gélose Hecktoen.

H₂S : Sulfure d'hydrogène.

IAS : Infections associées aux soins.

IN : Infections nosocomiales.

IUN : Infections nosocomiales urinaires.

IU : Infections Urinaires.

ISO : Infection du site opératoire.

I : Intermédiaire.

MR : Multi résistante.

MC: Gélose Mac Conkey.

MH: Gélose Muller – Hinton.

ORL : Oto – rhino – laryngologiste.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

ONPG: Ortho- nitro phenyl – B - D – galactopyranoside.

PLP : Protéines de liaison aux pénicillines.

SPP : Plusieurs espèces.

SIDA : Syndrome d'immunodéficience acquise.

SARM : Staphylococcus aureus résistants à la méticilline.

TSI : Triple Suger Iron.

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine.

Liste des figures

N° de figures	Titres	N° de la page
1	La chaîne de transmission infectieuse	5
2	Schéma de transmission endogène	6
3	Schéma de transmission exogène	7
4	Schéma de transmission de l'infection hospitalière	8
5	Les différents types d'infections nosocomiales	10
6	Sonde de Foley	10
7	Cathétérisme Sus Pubien	10
8	La prothèse de hanse	11
9	Photo original de l'hôpital de Hammam Bouhadjar	25
10	Ensemencement dans un milieu d'enrichissement	28
11	Ensemencement de l'urine	30
12	Méthode d'ensemencement en quadrants	31
13	Méthode d'ensemencement en stries	31
14	Morphologie des colonies bactériennes	33
15	Morphologie microscopique des bactéries	33
16	Méthode de préparation d'un frottis à l'état frais	34
17	Différentes étapes de préparation d'un frottis bactérien	35
18	La méthode de coloration de bleu de méthylène	36
19	La méthode de coloration de Gram	37
20	Résultat Test d'oxydase	41
21	Schéma représentant les résultats d'un antibiogramme	43
22	Méthode classique de diffusion utilisée d'antibiotiques sur milieu gélosé	43
23	Disques d'antibiotiques	43
24	Résultat d'enrichissement dans le service médecine interne	45
25	Résultat d'enrichissement dans le service chirurgie	45

26	Résultat d'enrichissement dans le service maternité	45
27	Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°1	47
28	Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°2	48
29	Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°3	48
30	Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°4	48
31	Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°5	49
32	Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°6	49
33	Résultat de repiquage sur gélose HK à partir de prélèvement N°6	50
34	Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°7	51
35	Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°8	52
36	Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°9	52
37	Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°10	53
38	Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°11	53
39	Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°12	54
40	Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°13	55
41	Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°14	56
42	Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°15	56
43	Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°16	57
44	Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°17	57
45	Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°18	58
46	Résultats des caractères biochimiques des germes identifiés	60
47	Test coagulase positif et négatif	61
48	Test catalase positif et négatif	61
49	Aspect macroscopique d'urine	62
50	Résultat microscopique d'urine	63

51	Résultat de l'antibiogramme des souches isolées	64
-----------	---	-----------

Liste des tableaux

N° de tableaux	Titres	N° de pages
1	Principaux germes bactériens responsables d'IN	16
2	présentation des sites de prélèvement	26
3	Les milieux gélosés utilisés	29
4	Disques antibiotiques utilisés	43
5	Résultat des isolements au niveau du service de chirurgie	46
6	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°1	47
7	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°2	48
8	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°3	48
9	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°5	49
10	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°6	49
11	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°6 après repiquage sur H.K	50
12	Résultat des isolements au niveau du service de médecine interne	50
13	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°7	51
14	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°8	52
15	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°9	52
16	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°10	53
17	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°11	53
18	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°12	54
19	Résultat des isolements au niveau du service maternité	54
20	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°13	55
21	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°14	56
22	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°15	56
23	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°16	57
24	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°17	57
25	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°18	58

26	Résultats des tests biochimiques classiques	59
27	Synthèse des résultats de l'identification	60
28	Résultats des tests enzymatiques de <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Staphylococcus epidermidis</i>	61
29	Résultats de l'antibiogramme des souches isolées	64

Introduction

Introduction

L'infection hospitalière ou nosocomiale (IN) constitue un problème important de santé publique par sa fréquence et son retentissement humain et économique. Elle se définit comme une infection acquise dans un établissement de santé dont les manifestations cliniques apparaissent habituellement après les 48 heures d'hospitalisation (Zeroual., 2012).

L'hygiène hospitalière est une politique visant à prévenir, lutter et contrôler les infections hospitalières. Elle met en rapport les acteurs (malades, personnel médical et paramédical, personnel administratif et technique, visiteurs et accompagnants) et leur environnement (Maiga, 2003).

L'hygiène hospitalière et la lutte contre les infections nosocomiales demeurent une préoccupation constante en pratique médicale dans le monde entier. Elles constituent des éléments essentiels de promotion de la santé par une contribution à la qualité des soins et à la sécurité des patients (Kamelan et *al.*, 2009).

Plusieurs causes d'ordres divers peuvent être retenues comme étant à l'origine des infections nosocomiales et des difficultés d'une bonne hygiène hospitalière. Parmi ceux-ci on peut citer :

- la sensibilité des malades.
- l'insuffisance de formation du personnel dans le domaine de la prévention.
- l'habitude des acteurs.
- le manque d'isolement.

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), plus de 1.4 millions de personnes dans le monde souffrent de complications infectieuses induites par les soins. Les infections nosocomiales sont parmi les principales causes de mortalité des patients, tout âge confondu, notamment pour les plus vulnérables d'entre eux L'impact des infections nosocomiales sur la population d'un hôpital est énorme, selon les statistiques de l'OMS. 3 à 15% des malades (soit une moyenne de 7%) contractent une infection nosocomiale (Maiga, 2003).

En Algérie, ces infections ne cessent de gagner du terrain, entraînant chaque jour une morbidité et une mortalité exponentielle. Générant un surcoût considérable. Elles sont le résultat de plusieurs facteurs, telle la pression de sélection exercée par les antibiotiques, un dysfonctionnement des procédures thérapeutiques et un déséquilibre de l'hygiène hospitalière.

La surveillance et surtout l'hygiène deviennent plus que jamais indispensable. D'ailleurs, des épidémiologistes dans certains services ont depuis longtemps alerté de la prévalence très élevée des infections nosocomiales dans les établissements de soins algériens.

Cependant, il est indispensable de mettre en place des programmes de lutte efficace contre les infections nosocomiales, comme la formation du personnel spécialisé, la surveillance active, la sensibilisation de la population, la modernisation et l'évolution des méthodes thérapeutiques. S'ajoute à ces mesures des analyses et des contrôles bactériologiques systématiques. C'est dans ce contexte que nous avons entrepris cette étude afin d'identifier les germes responsables de ces infections et de pouvoir comparer entre certains services.

L'objectif de notre travail est de contribuer à l'isolement et à l'identification des bactéries dans trois services de milieu hospitalier (Hôpital de Hammam Bouhadjar) de la wilaya d'Ain Témouchent puis évaluer leurs résistances vis-à-vis des antibiotiques.

Le manuscrit est structuré en trois chapitres :

-Le premier chapitre rassemble les généralités sur les infections nosocomiales, définition, agents microbiens responsables et modalités de prévention et de lutte vis-à-vis de ces infections.

-Le deuxième chapitre décrit le matériel utilisé et la méthodologie mise en œuvre pour réaliser ce travail.

-Le troisième chapitre, expose les résultats et leurs discussions. Enfin, le mémoire est achevé par une conclusion et quelques perspectives.

Chapitre I
Synthèses bibliographiques

1. Généralité sur les infections nosocomiales

1.1. Définition

1.1.1. Infection

L'infection se définit par l'envahissement de l'organisme par un agent étranger, comme une bactérie ou un virus, provoquant un état pathologique par une lésion des cellules locales, une libération de substances toxiques ou par une réaction intracellulaire germe-anticorps (Descenlos et Raisin, 2009).

1.1.2. Infection nosocomiale

Une infection (les maladies d'origine bactérienne, virale ou fongique) est dite nosocomiale lorsqu'elle est contractée lors d'un séjour dans un établissement de soins. Il faut tenir compte que les infections qui n'étaient ni présentes ni en incubation lors de l'admission du malade et qu'elle apparaît après au moins 48 heures de cette admission (ou plus, selon la période d'incubation du microorganisme responsable de l'infection) (Fabiani, 1985).

On considère aussi comme nosocomiales les infections survenues dans les 30 jours qui suivent une intervention chirurgicale ou un an dans le cas de mise en place d'une prothèse ou d'un implant (Leflout, 2007).

Ainsi on parle aujourd'hui volontiers d'infections associées aux soins (IAS) qui englobent tout événement infectieux en rapport plus ou moins proche avec un processus, une structure, une démarche de soins, dans un sens très large. Elle comprend d'une part, les IN (contractées dans un établissement de santé) et d'autre part les infections contractées lors de soins hors établissement de santé (Leflout, 2007).

1.2. Épidémiologie

L'épidémiologie étudie la fréquence et la répartition dans le temps et dans l'espace des problèmes de santé dans des populations humaines et le rôle des facteurs qui les déterminent. L'épidémiologie clinique est l'application de ces méthodes à l'activité clinique (Vergnenegre, 2011).

Une population souvent visée en épidémiologie est celle d'une région ou d'un pays déterminé à un moment donné : A partir de cette base, on peut définir des sous-groupes en fonction du sexe, de la classe d'âge, etc. La structure des populations étant variable selon les

régions géographiques et les époques, l'analyse épidémiologique doit en tenir compte. Par exemple, on étudiera un groupe bien défini de malades hospitalisés (Bonita et *al.*, 2010).

Les infections nosocomiales sont un problème de santé publique préoccupant. Leur prévalence est de 4.5% AUX USA, 10.5% au Canada, 6.7% en France et 6% en Belgique (Vrijens et *al.*, 2008). En Algérie, des épidémiologistes ont depuis longtemps alerté de la prévalence très élevée des infections nosocomiales. Selon l'enquête réalisée par la tutelle (Ministère de la sante) en 2005, le taux de prévalence des IN varie entre 7 et 14% en Algérie.

A cette occasion, le Dr. TARFANI Y., sous-directeur de la prévention hospitalière au ministère de la Santé a signalé que ce taux est deux fois plus important que celui enregistré en France (Kernane et Khanouche, 2013).

Les cinq principaux sites des infections nosocomiales représentent 70% de l'ensemble des infections nosocomiales avec par ordre d'importance : les infections urinaires (35%), les infections respiratoires basses (12%), les infections du site opératoire (11%), les bactériémies (6%) et les infections par cathéter (4%). Les principaux micro-organismes responsables sont les bacilles à coloration Gram négatif (53%) et les Cocci à coloration Gram positif (33%) : *Esherichiacoli* (21%), *Staphylococcus aureus* (16%), *Pseudomonas aeruginosa* (11%), *Entérocoques spp* (8%). Ces quatre espèces représentent environ 56% des micro-organismes retrouvés dans les infections nosocomiales (Alfandari, 1997).

Les conséquences des infections nosocomiales sont nombreuses :

-la mortalité et la morbidité : On estime que 20.000 décès sont dus chaque année aux infections nosocomiales aux USA et entre 7000 à 8000 décès en France.

-Augmentation de la durée de séjour hospitalier : On estime que les infections nosocomiales sont responsables en France d'une prolongation du séjour hospitalier de 3 à 7 jours.

-le surcoût.

-la désaffection des populations pour les hôpitaux où surviennent de nombreuses infections nosocomiale

-la sélection des germes multi résistants.

Les conséquences médico-légales : la responsabilité médico-légale en ce qui concerne les infections nosocomiales n'est engagée que lorsqu'il peut être démontré que le médecin ou

le personnel soignant a été négligent dans l'adhésion aux soins appropriés standards et que l'infection est le résultat d'une défaillance des procédures de référence.

1.3. La chaîne de transmission

La chaîne de transmission est représentée par la figure 1 et comprend plusieurs maillons :

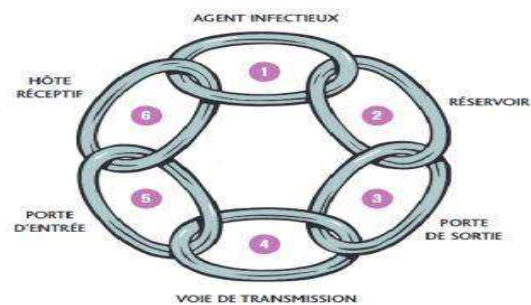


Figure1 : La chaîne de transmission infectieuse (Moraleji, 2008)

La chaîne de transmission peut comprendre plusieurs maillons :

1.3.1. Le réservoir

Le réservoir d'un agent infectieux est un organisme vivant ou un objet inanimé qui fournit à sa propagation. Les différents réservoirs de germes sont :

1.3.2. La flore saprophyte du malade lui-même

Elle subit au cours des premiers jours de l'hospitalisation des modifications qualitatives les bacilles à coloration Gram négatif et plus accessoirement les levures (*Candida spp*) remplacent les coques à coloration Gram positif ou les anaérobies (Bouvet et Crimont, 1989).

1.3.3. Le personnel soignant (médical et paramédical)

La contamination peut se faire par le biais du personnel soignant qui transmet les germes d'un patient à l'autre avec ses instruments ou ses mains souillées (Fagon, 1998).

1.3.4. L'environnement

Il est moins déterminant dans le cadre de programme de prophylaxie que les deux précédentes origines. Il peut être contaminé par le personnel ou par le patient (Tasseau et Baron, 1989).

1.4. Modes de transmission

La transmission des infections nosocomiales peut se faire par voie endogène (auto-infection) ou exogène.

1.4.1. Transmission endogène (auto-infections)

C'est lorsque le malade s'infecte soit par ses propres germes *in situ* soit à partir de l'environnement immédiat (surface de la peau, vêtement, lit) (figure 02). Ces infections sont dues généralement aux germes saprophytes qui deviennent pathogènes à la suite d'une antibiothérapie itérative ou d'un traitement immunosuppresseur.

Les complications infectieuses respiratoires liées au décubitus et ses conséquences sur le drainage des voies aériennes peuvent être des auto-infections. Enfin certains malades immunodéprimés (aplasie médullaire, SIDA) peuvent avoir des bactériémies dues aux Germes intestinaux qu'ils hébergent. Ces infections rigoureusement endogènes sont aussi des auto-infections (Berche et *al.*, 1991). Les différentes voies de cette transmission figurent dans la figure ci-dessous.

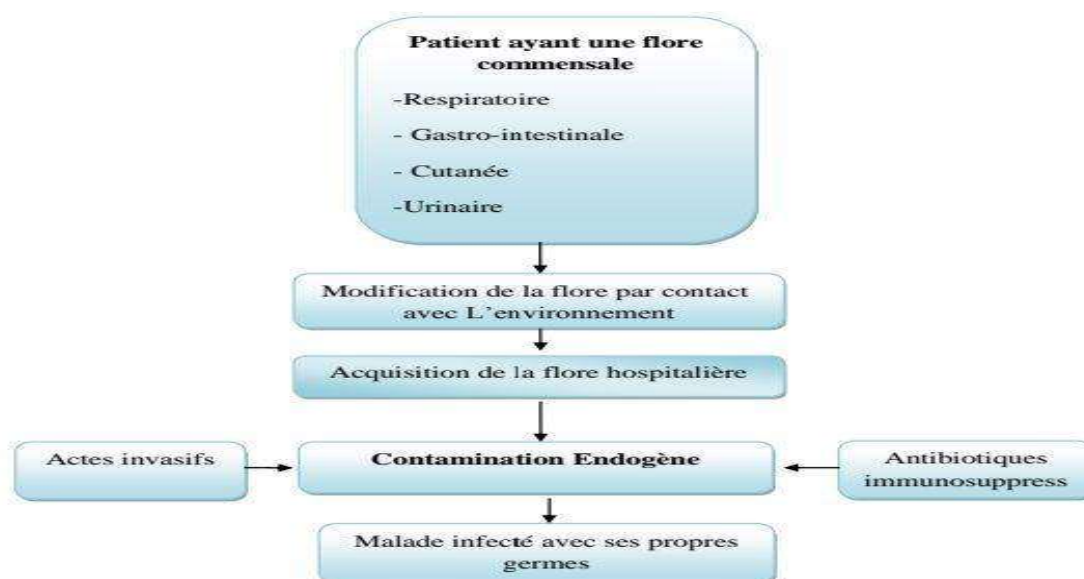


Figure 2 : Transmission endogène (Popi, 1999)

1.4.2. Transmission exogène (hétéro-infection)

C'est une transmission croisée par les mains, les instruments ou par l'environnement hospitalier. Le germe responsable de l'infection nosocomiale provient d'un autre malade, la transmission étant de plus souvent manu portée, par le personnel soignant intervenant au près de plusieurs patients. C'est le mode de contamination majeure lors de nombreuses épidémies et

probablement le plus sensible aux mesures prophylactiques (Tasseu et Baron, 1989). Les différentes voies de cette transmission figurent dans la figure ci-dessous.

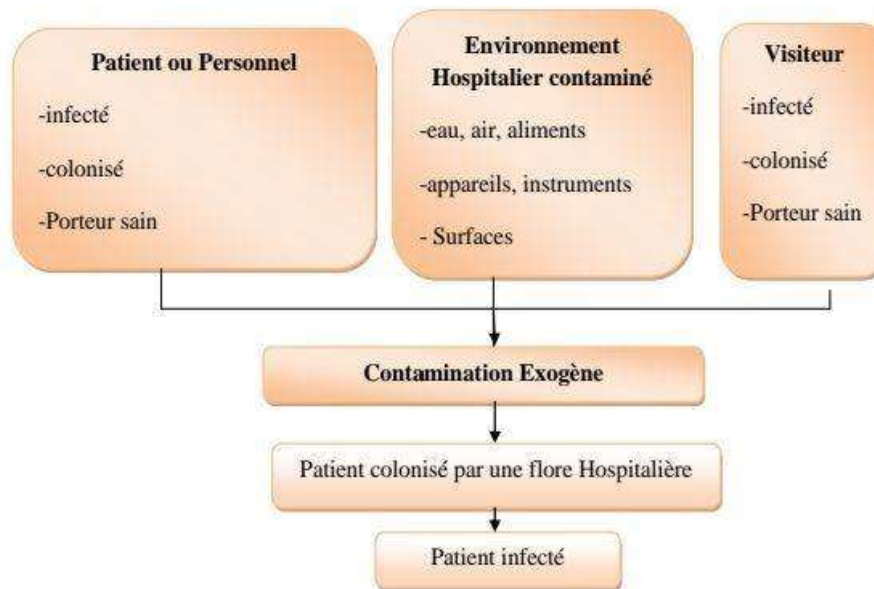


Figure 3 : Transmission exogène (Popi, 1999)

1.4.3. Xéno-infection

Ce sont des infections qui sévissent sous forme endémique ou épidémique dans la population extrahospitalière. Les agents infectieux sont importés à l'hôpital par les malades, le personnel soignant, ou les visiteurs qui en sont atteints ou qui sont en phase d'incubation. Ils se transmettent par voie aérienne, par contact direct ou indirect et trouvent à l'hôpital des victimes particulièrement réceptives et des conditions de transmission facilitées. Lorsque la maladie infectieuse est le seul motif d'hospitalisation, les mesures immédiates d'isolement peuvent être prises. Mais dans certains cas l'infection est indépendante du motif d'hospitalisation (Tasseu et Baron, 1989).

1.4.4. Exo-infection

Cette infection est liée à des avaries techniques (stérilisation inefficace, filtre à air non stérile, eau polluée). Les matériaux à usage paramédical ou domestique sont utilisés auprès des malades ; ils sont susceptibles d'être contaminés et peuvent ainsi provoquer des infections nosocomiales souvent épidémiques (Tasseu et Baron, 1989). La figure 04, représente cette transmission.

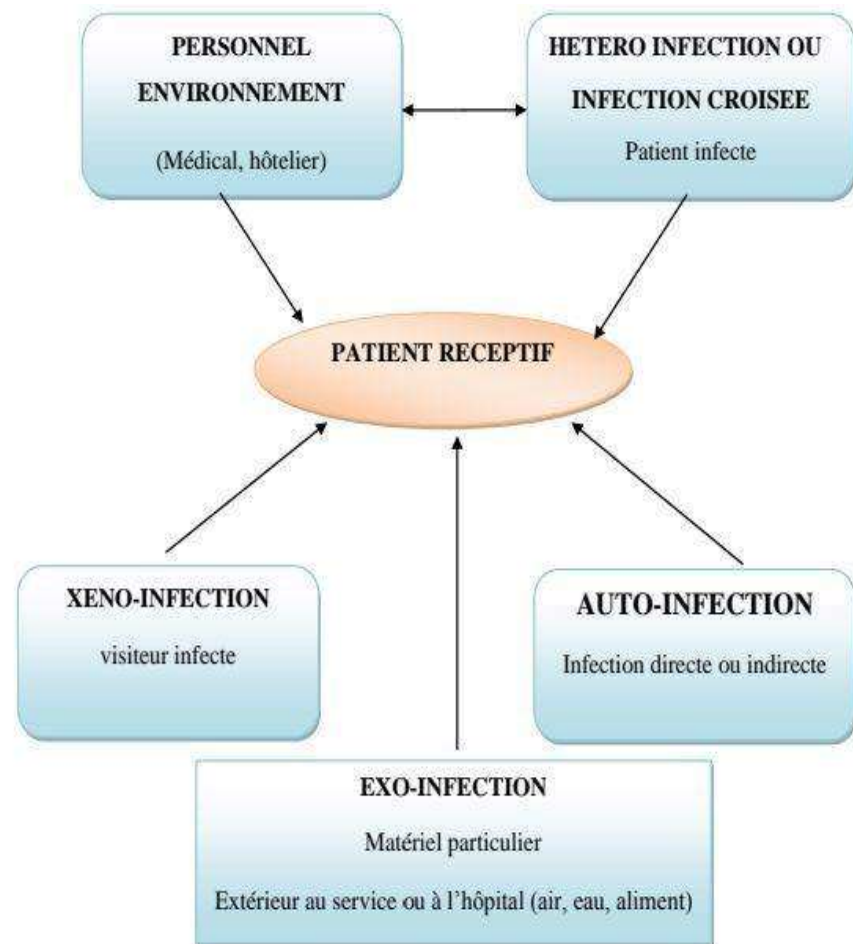


Figure 4 : Transmission de l'infection hospitalière (Popi, 1999)

1.4.5. Les portes d'entrée

Peu importe l'agent responsable, le processus infectieux nécessite toujours une étape au cours de laquelle les micro-organismes pénètrent chez l'hôte. La porte d'entrée est la région de l'hôte par laquelle des micro-organismes s'introduisent dans les tissus. On distingue les portes d'entrée cutanéomuqueuse, respiratoire, digestive, génito-urinaire, placentaire et parentérale (Durand-Zaleski et *al.*, 2002).

1.5. Les facteurs de risques des IN

1.5.1. L'Âge

L'âge est un facteur de risque d'IUN fréquemment retrouvé. L'augmentation est lente avant 50 ans puis devient de plus en plus importante au fil des ans. Dans les cas dit d'IUN

précoce sur sonde, c'est-à-dire survenant dans les 3 premiers jours de sondage, l'âge avancé est un facteur de risque (Tenke et *al.*, 2008).

Un âge supérieur à 60 ans augmente le risque d'IUN chez les patients hospitalisés en réanimation (Laupland et *al.*, 2005 ; Talaat et *al.*, 2010).

1.5.2. Le Sexe

Le risque des infections nosocomiales urinaires est deux fois plus élevé chez la femme, alors que le risque de bactériémie est plus élevé chez l'homme (Mchich, 2002).

1.5.3. L'état immunitaire

En plus des maladies évolutives : hémopathie, cancer métastatique, VIH+ avec $CD4 < 500/mm^3$, beaucoup de traitement diminue la résistance à l'infection : immunosuppresseur, chimiothérapie, radiothérapie, corticothérapie ≥ 30 jours, corticothérapie récente à hautes doses (5 mg/kg de Prednisone pendant >5 jours).

1.5.4. Les autres actes

Les facteurs de risque communs aux maladies chroniques prévalences sont le tabac, l'alcool, la malnutrition, l'inactivité physique, l'obésité, l'hypertension artérielle, l'hyperglycémie et les dyslipidémies.

Des actes invasifs liés au traitement du patient (sondage urinaire, pose d'un cathéter, ventilation artificielle ou intervention chirurgicale...) peuvent aussi constituer des facteurs de risque.

1.6. Les différents types des infections nosocomiales

L'infection nosocomiale est très variable, selon la région étudiée, le type de service hospitalier et les patients concernés, les sites les plus fréquemment infectés sont les sites urinaires, opératoires et pulmonaires. La figure 5 représente ces types d'infections nosocomiales.

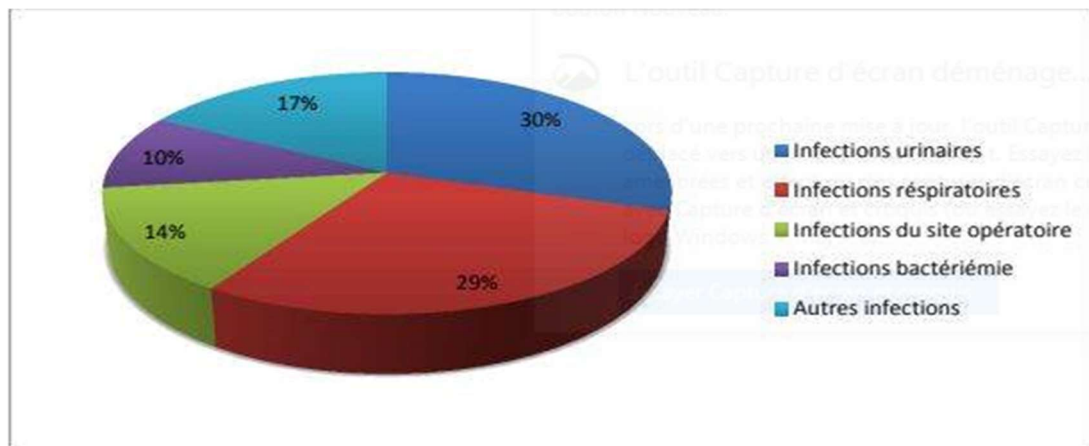


Figure 5 : Les différents types d'infections nosocomiales

1.6.1. Les infections urinaires nosocomiales

L'infection urinaire est la plus fréquente des infections nosocomiales, elle occupe le premier rang avec 30 à 40% des infections acquises à l'hôpital, cela s'explique par l'utilisation courante des bandelettes urinaires (Dia et *al.*, 2008). 80% de ces infections sont associées à la mise en place d'une sonde vésicale, comme environ 15% des patients hospitalisés seront sondés au cours de leur hospitalisation (Butau-Lemaire et *al.*, 1997). Les figures 6 et 7 montrent les différentes sondes urinaires qui peuvent provoquer des infections urinaires.



Figure 6 : Sonde de Foley **Figure 7 :** Cathétérisme Sus Pubien

1.6.2. Les infections respiratoires

Elles représentent la première place des infections dans les unités de réanimation et de soins intensifs (Drancourt et *al.*, 2004). Fréquemment, les facteurs de risque sont les dispositifs invasifs suivant : ventilation mécanique, intubation trachéale ainsi les sondes naso-gastrique (42,1%) qui peuvent causer 29% des infections nosocomiales pulmonaires (Dia et *al.*, 2008).

1.6.3. Les infections du site opératoire

Toute intervention chirurgicale peut se compliquer en une infection du site opératoire (ISO), qui résulte de la multiplication d'un agent infectieux. Cette infection représente la troisième cause des maladies nosocomiales (13,5%) (Drancourt et *al.*, 2004). L'arthroplastie de la hanche est un moyen fiable dans le traitement des affections de la hanche. En lui rendant sa mobilité sa stabilité et son indolence. Cependant cette chirurgie prothétique expose au risque de la survenue des complications qui peuvent engager le pronostic. La figure 8 montre la prothèse de hanche utilisée dans les opérations.

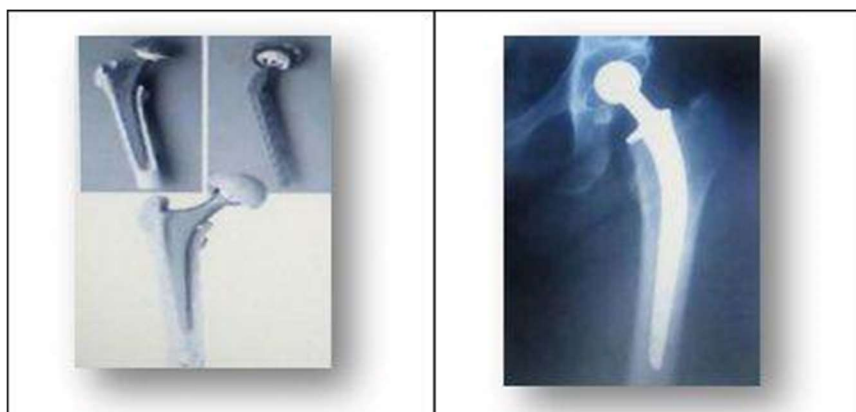


Figure 8 : La prothèse de hanche

1.6.4. Bactériémie – septicémie

Ce sont des infections graves, en particulier chez les patients atteints de pathologies sévères, Elles représentent la quatrième cause de l'infection nosocomiale (10,1%). Les principales causes favorisant ce type d'infection sont les défaillances cardiocirculatoires, l'hypertension artérielle, les cathéters veineux centraux, les sondes urinaires, et les sondes nasogastriques.

Une bactériémie est considérée comme primitive lorsqu'aucun foyer n'est retrouvé. Cette définition inclut les infections secondaires dont le point d'appel est un cathéter (Gayvallet-Montredon et *al.*, 2002). Elle peut se prolonger en entraînant une septicémie qui est le plus souvent due à des bacilles à Gram négatif (Drancourt et *al.*, 2004).

1.6.5. Les autres infections

Il existe de nombreux autres sites potentiels d'infections comme les infections de la peau (ulcères, brûlures, escarres), les infections de l'oeil et de la sphère ORL, les infections des voies génitales, ainsi que les infections gastro-intestinales (Samou, 2005 ; Johnson, 2007) (OMS, 2010).

1.7. Les symptômes des infections nosocomiales

Il s'agit des symptômes d'une infection classique, qui diffèrent selon la localisation de l'infection.

- a. Pour une infection urinaire qu'ils surviennent après la pose d'une sonde ou une chirurgie des voies urinaires, les signes à surveiller sont : des douleurs ou brûlures au moment de la miction, besoin d'uriner plus fréquent et/ou difficultés à uriner, lourdeur dans le bas ventre, urines plus troubles que d'habitude, avec parfois présence de sang.
- b. Les infections qui se manifestent au niveau d'un site opératoire vont varier selon la partie du corps concerné. On peut retrouver des signes d'inflammation (chaleur, rougeur, douleur), des écoulements (lymphe ou pus); un abcès et de la fièvre.
- c. Pour les infections des voies respiratoires, les symptômes sont ceux d'une pneumonie : toux et essoufflement, fièvre importante (supérieure à 39°C), douleurs thoraciques.
- d. Les infections du sang présentent des symptômes peu spécifiques : alternance de fièvre importante (supérieure à 39°C) et d'hypothermie, alternance de frissons et de sueurs : tachycardie et fréquence cardiaque élevée.

1.8. Les traitements d'une infection

Lorsque l'organisme n'a plus les capacités de se défendre, le médecin prescrit à son patient, après avoir fait son diagnostic d'infection, un traitement adapté. Parmi ce traitement, l'usage des antibiotiques s'il s'agit d'une infection bactérienne (ex. une Pneumopathie à pneumocoque), des antiviraux s'il s'agit d'une infection virale (ex. une grippe), des antimycosiques s'il s'agit d'un champignon (ex. une candidose) et des antibiotiques antiparasitaires (ex. une infection génitale à Trichomonas).

2. Les agents responsables des infections nosocomiales

2.1. Les bactéries

Ce sont les plus courants des agents pathogènes responsables des infections nosocomiales. On peut distinguer :

2.1.1. Bactéries commensales

Présentes dans la flore normale des sujets en bonne santé. Elles jouent un rôle protecteur significatif en empêchant la colonisation par des micro-organismes pathogènes. Certaines bactéries commensales peuvent provoquer une infection si les défenses immunitaires de l'hôte sont affaiblies. Par exemple, les *staphylocoques* cutanés coagulase-négatifs provoquent des infections sur cathéter vasculaire et *Escherichia coli* présente dans l'intestin sont la cause la plus courante d'infections urinaires (Emmanuelle, 2013)

2.1.2. Les bactéries pathogènes

Les bactéries pathogènes n'existent que chez les malades, elles ont une pathogénicité intrinsèque qu'on appelle virulence. Le plus souvent elles se transmettent par contagion, au contraire des bactéries commensales par exemple qui sont peu pathogènes et non contagieuses (Emmanuelle, 2013). Elles ont une virulence plus élevée et provoquent des infections (sporadiques ou épidémiques) quel que soit l'état immunitaire de l'hôte.

2.1.3. Les bacilles anaérobies à Gram positif

Parmi les bacilles anaérobies à coloration Gram positif, nous retrouvons le genre *Clostridium spp*, qui est l'agent causal de la gangrène.

2.1.4. Les bactéries à Gram positif

Parmi les bactéries à coloration Gram positif, nous pouvons citer : *Staphylococcus aureus* (bactérie cutanée qui colonise la peau et le nez du personnel hospitalier et des patients) provoque une grande variété d'infections pulmonaires, osseuses, cardiaques et sanguines et résiste fréquemment aux antibiotiques. Les *streptocoques β -hémolytiques* sont également des agents pathogènes importants [1].

2.1.5. Les bactéries à Gram négatif

Parmi les bactéries à coloration Gram négatif, nous pouvons citer :
Les Entérobactéries (par exemple *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Enterobacter* et *Serratia marcescens*) peuvent coloniser certains sites lorsque les défenses immunitaires de l'hôte sont affaiblies (site d'insertion d'un cathéter, d'une canule, sonde urinaire) et provoquer des infections graves (infection du site opératoire, infection pulmonaire, bactériémie, infection du péritoine). Elles peuvent également être hautement résistantes (JAN, 2017).

2.1.6. Les micro-organismes à Gram négatif

Parmi les micro-organismes à coloration Gram négatif :
Pseudomonas spp : Sont souvent isolés dans l'eau et les milieux humides. Ils peuvent coloniser les voies digestives des patients hospitalisés.

Plusieurs autres bactéries représentent un risque spécifiquement hospitalier. Tels, les diverses espèces de *Legionella* qui peuvent provoquer des pneumopathies (sporadiques ou endémiques) par inhalation d'aérosols impliquant de l'eau contaminée (climatisation, douches, aérosols à visée thérapeutique) (Ducel, 2002).

2.1.7. Les bactéries multi résistantes

2.1.7.1. Définition

Les bactéries sont dites multi résistantes (BMR) aux antibiotiques lorsque, du fait de l'accumulation des résistances naturelles et acquises, elles ne sont plus sensibles qu'à un nombre restreint d'antibiotiques utilisables en thérapeutique (Meskine et *al.*, 2015).

La multi résistante concerne les bactéries responsables d'infections communautaires à l'exemple des pneumocoques ou les bacilles de la tuberculose et les bactéries responsables d'infections nosocomiales ou associées aux soins. Certaines résistances sont particulièrement importantes à prendre en compte, car elles concernent des espèces bactériennes qui sont à la fois commensales susceptibles de disséminer dans la population générale et à fort potentiel pathogène. C'est le cas des *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM) et des Entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (EBLSE) (Vincent,2000).

2.1.7.2. Les types de BMR

2.1.7.2.1. Structures hospitalières

-SARM (*Staphylococcus aureus* résistante à la méthéciline) : *Staphylococcus aureus* est une des deux principales espèces responsables d'infection nosocomiale. Le développement

incontrôlé des épidémies de SARM et les preuves répétées de leur diffusion clonale justifient à eux seuls la mise en place d'un programme de lutte contre les BMR. Les SARM représentent 5 à 10% des bactéries isolées des infections nosocomiales. Elles sont résistantes à toutes les β -lactamines et très souvent résistantes aux aminosides, aux macrolides et aux fluoroquinolones (Vincent,2000).

- ESBL : Les Entérobactéries dans leur ensemble représentent 35 à 40% des bactéries responsables d'infections nosocomiales. Les EBLSE représentent environ 1% des bactéries isolées des infections nosocomiales. La tendance à la diffusion clonale des EBLSE est bien démontrée. Les souches d'EBLSE principalement *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes* et à un moindre degré *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter spp* sont résistantes à de nombreuses β -lactamines (sauf imipénème), et souvent aux céphamycines pour les espèces qui y sont naturellement sensibles, et très souvent résistantes aussi aux aminosides et aux fluoroquinolones (Vincent, 2000).

- Entérocoque résistante à la vancomycine (ERV) : représentent environ 1% des souches d'entérocoques isolées à l'hôpital. On retrouve principalement :

- *Acinetobacter baumannii*: représentent 2 à 4% des bactéries responsables d'infection nosocomiale, jouent un rôle non négligeable dans certains secteurs hospitaliers (soins intensifs) et sont parfois à l'origine de bouffées épidémiques dans lesquelles la contamination de l'environnement des patients porteurs joue un rôle. Certaines souches épidémiques résistantes à l'imipénème conduisent à des impasses thérapeutiques (Vincent,2000)

-*Pseudomonas aeruginosa* multi résistant: les souches de *Pseudomonas aeruginosa* résistantes aux β - lactamines (ticarcilline, ceftazidime ou imipénème) ont tendance à être résistantes aussi aux aminosides et aux fluoroquinolones. Dans les hôpitaux concernés, ces souches doivent faire l'objet d'une stratégie spécifique, notamment d'une politique de prescription des antibiotiques, et des mesures de contrôle de l'environnement (Vincent,2000).

2.1.7.2.2. Les bactéries qui vivent en communauté

Les BMR communautaire sont des bactéries impliquées dans les infections survenant en dehors d'un établissement de santé, par opposition des BMR hospitaliers. Ces germes sont caractérisés par une probabilité de résistance relativement faible, les plus fréquentes de ce type de BMR sont les pneumocoques et les bacilles de la tuberculose (Znazen et al., 2010).

Streptococcus pneumoniae : est un pathogène majeur, responsable d'infections communautaires à type de pneumonies, de bactériémies, de méningites, d'otites et de sinusites, la pneumocoque a acquis au cours des cinq dernières décennies de nombreuses résistances aux : sulfamides, tétracyclines, érythromycine, pénicilline et chloramphénicol .

La résistance du pneumocoque aux β -lactamines est liée à une modification des protéines de liaison aux pénicillines (PLP). La surveillance de la sensibilité du pneumocoque aux antibiotiques est nécessaire afin d'adapter les recommandations thérapeutiques des infections pneumococciques (Znazen et al., 2010).

Bacille de la tuberculose : Le bacille de la tuberculose peut devenir résistant aux antimicrobiens utilisés pour guérir la maladie. La tuberculose multi résistante (MR) est une tuberculose contre laquelle l'isoniazide et la rifampicine, les 2 antituberculeux les plus puissants, ne sont pas efficace. La mauvaise gestion du traitement antituberculeux et la transmission interhumaine expliquent la propagation de la tuberculose multi résistante (Znazen et al., 2010)

2.2. Les virus

Il existe une possibilité de transmission nosocomiale pour de nombreux virus, notamment ceux des hépatites B et C (transfusions, dialyse, injections, endoscopie), le virus respiratoire syncytial, les Rotavirus et les entérovirus (transmis par contact main bouche). D'autres virus comme le cytomégalovirus, le VIH, le virus Ebola, les virus de la grippe, les virus de l'herpès et le virus de la varicelle et Zona, sont également transmissibles (Ducel, 2002).

2.3. Les parasites et les champignons

Certains parasites (par exemple *Giardia lamblia*) se transmettent facilement chez l'adulte et l'enfant. De nombreux champignons et autres parasites sont des agents opportunistes et provoquent des infections (Ducel, 2002). Le tableau 1 illustre les principaux germes bactériens responsables des infections nosocomiales.

Tableau 1 : Principaux germes bactériens responsables d'IN

Les souches bactériennes	Porte(s) d'entrée à l'hôpital	Caractères bactériologique et biochimiques	Pouvoir pathogène
BACILLES A GRAM POSITIF			
<i>Clostridium difficile</i>	-Digestive. -Endogène.	Caractères bactériologique : -Bacille à Gram positif, anaérobie strict, mobile. Caractères biochimique -Nitrate réductase (-) -Uréase (-) - Métabolisme glucidique : fermentation du glucose, du fructose, du mannitol, et du mannose.	-Diarrhée post-antibiothérapie. -Colite pseudo-membraneuse..
<i>Listeria monocytogenes</i>	-Digestive. -Respiratoire.	Caractères bactériologique : -Bacille à Gram positif, en chaînes courtes ou petits amas. - Mobile 22°C (péritriche) immobile 37°C. -Non capsulé, non sporulé. -Aéro-anaérobie facultative. Caractères biochimique : -Catalase (+), oxydase (-), citrate (-), uréase (-), H ₂ S (-). -Fermente le glucose sans production de gaz.	-Listériose chez l'immunodéprimé (méningite, méningo-encéphalite, septicémie....).
BACILLES A GRAM NEGATIF (ENTEROBACTERIES)			
<i>E. coli</i>	-Digestive. -Endogène.	Caractères bactériologique : - Bacilles à Gram négative, aérobie, soit mobiles par ciliature péri triche, soit immobiles, parfois capsulé. Caractères biochimique : -Indoles (+) -ONPG (+) -Mannitol (+)	-Suppuration -Infections urinaire et génitale. -Bactériémie. -Méningite néonatales. -Toxi-infection alimentaire. -Infection intestinales : les entérites (diarrhée aiguë).
<i>Enterobacter Spp</i>	-Cutanéomuqueuse. -Digestive. -Respiratoire. -Endogène.	Caractères bactériologique : -bacilles Gram négatif. -anaérobies. -Mobile (flagelle péritriche). Caractères biochimiques : -la fermentation du glucose, donnent une réaction négative à l'épreuve au rouge de méthyle et	-Pneumopathie -Suppuration -Bactériémie - infection urinaire

		une réaction au test de Voges-Proskauer.	
<i>Proteus Spp</i>	-Digestive -Endogène	<u>Caractères bactériologique :</u> -Bacilles à Gram négatif polymorphes. -Très généralement mobiles. <u>Caractères biochimiques :</u> -Glucose (+), indole (-), lactose (-), (ONPG (-), Mobilité (+), H ₂ S (+), TDA (+), VP- donc RM (+), saccharose (-).	-Infection cutané, surinfection des plaies chirurgicales des brûlures. -Septicémie grave chez le nouveau-né. -Infection des voies respiratoires chronique supporté sinusites, et infection broncho pulmonaire.
<i>Klebsiella Spp</i>	-Cutanéomuqueuse. -Digestive -Respiratoire -Endogène	<u>Caractères bactériologique :</u> -Bactéries Gram négatif. -Forme bâtonnet. -Non mobile. -Généralement encapsulées. <u>Caractères biochimiques :</u> Ces bactéries produisent de la lysine -décarboxylase, mais pas d'ornithine -décarboxylase.	-Suppuration -Bactériémie -Pneumopathie -Infection urinaire
<i>Salmonella enterica (typhi, paratyphi)</i>	-Digestive	<u>Caractères bactériologique :</u> - Bacille à Gram négatif. - Mobile. <u>Caractères biochimiques :</u> catalase (+) ; Oxydase (-) lactose (-) ; H ₂ S (+) ;uréase(-).	-Fières typhoïde et paratyphoïdes. -Toxi-infections alimentaires.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-Cutanéomuqueuse. -Digestive. -Respiratoire -Endogène	<u>Caractères bactériologique :</u> - Bacilles à gram négatif. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> doit son nom à sa pigmentation liée à la production des pigments hydrosolubles. - Mobile par flagelle polaire. <u>Caractères biochimiques :</u> <i>P. aeruginosa</i> possède une catalase, un cytochrome oxydase et une arginine dihydrose.	-Pneumopathie -Infection urinaire -Infection de la peau et des parties molles (plaie, brûlure) -Bactériémie -Suppuration
<i>Acinetobacter Spp</i>	-Cutanéomuqueuse -Digestive	<u>Caractères bactériologique :</u> -bacilles courts à gram négatif souvent en diplocobacilles. - Aérobie stricts. - Immobiles, souvent encapsulés. <u>Caractères biochimiques :</u>	-Pneumopathie -Bactériémie

		- catalase (+). - Oxydase (-). - ne réduisent pas les nitrates.	
COCCI A GRAM POSTIF			
<i>Staphylococcus aureus</i>	-Cutanéomuqueuse -Percutanée -Digestive	<u>Caractères bactériologique :</u> -les staphylocoques sont des Cocci à Gram positif en amas, en diplocoques en courtes chaînettes, voir en grappe typique. - Sont des bactéries aérobies anaérobies facultatives. -Ils sont immobiles, a sporulés parfois capsulés. <u>Caractères biochimiques :</u> - Catalase (+). -Coagulase (+). - Mannitol (+).	-Staphylococcie -Infection de la peau et des parties molles (plaie, brûlure) -Pneumopathie -Bactériémie, septicémie -Infection urinaire -Infection osteo-articulaire -Infection sur cathéter et sur prothèse -Toxi- infection alimentaire
Staphylococcus à coagulase négative (<i>S. epidermidis</i>)	-Cutanéomuqueuse -Percutanée -Endogène	<u>Caractères bactériologique :</u> - Cocci à Gram positif -Anaérobie facultative. - Petites colonies blanches ou beiges. <u>Caractères biochimiques :</u> - Catalase (+). - Coagulase (-). - Mannitol (-)	-staphylococcie -Bactériémie -Infection sur cathéter et sur prothèse
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (<i>pneumocoque</i>)	-Respiratoire -Endogène	<u>Caractères bactériologique :</u> - Cocci à Gram positif - Diplocoque, courtes chaînettes. Non sporulé ; immobile ; capsulé. <u>Caractères biochimiques :</u> - Catalase (-). - Oxydase (-)	-Pneumonie -Bronchite -Infection ORL -Bactériémie -Méningite -Arthrite

3. Les préventions contre les infections nosocomiales

3.1. Responsabilité de lutte contre les infections nosocomiales

Aujourd'hui les infections nosocomiales font l'objet d'importantes mesures de prévention dans les structures hospitalières qui passent par l'ensemble des personnes et des services impliqués dans les soins de santé. Chacun doit contribuer à réduire le risque d'infection à la fois pour les patients et pour le personnel. Le concept de prévention englobe les programmes de lutte contre les infections nosocomiales qui doivent être appliqués à la fois par les patients les visiteurs et le personnel y compris les médecins, les microbiologistes, le

pharmacien de l'hôpital, le personnel infirmier, le service de stérilisation, le service de restauration, le service de nettoyage et le service de maintenance par le respect des règlements :

-Etablir et tenir à jour des directives et des recommandations concernant la surveillance, la Prévention et les pratiques en matière de santé.

-Elaborer un système national de surveillance de certaines infections et évaluation de l'efficacité des interventions

-Harmoniser les programmes de formation initiale et continue destinée aux professionnels de santé.

- Faciliter l'accès aux matériels et aux produits indispensables pour l'hygiène et la sécurité.

- Encourager l'établissement de santé à surveiller les infections nosocomiales et à restituer l'information aux professionnels concernés.

L'autorité sanitaire doit désigner un organe chargé de superviser le programme (ministère, institution) et de planifier les activités nationales avec l'aide d'un comité national d'experts et d'organisations professionnelles. Les instituts universitaires devront aussi être impliqué dans ce programme (Ducel, 2002).

3.2. Personnels des hôpitaux

Le principal effort de prévention devra être axé sur les hôpitaux et les autres établissements de santé car la prévention des risques pour les patients et le personnel de l'établissement est l'affaire de tous (Ducel, 2002).

3.2.1. Rôle de l'administration de l'hôpital

- Constituer un comité multidisciplinaire de lutte contre les infections nosocomiales.

- Identifier les ressources nécessaires pour que le programme soit en mesure de Surveiller les infections nosocomiales et d'appliquer les méthodes de prévention les plus appropriées.

- Assurer l'accompagnement et la formation de tout le personnel par le soutien au programmes Sur la prévention de l'infection dans les techniques de désinfection et de stérilisation.

- Participer aux investigations sur l'épidémie (Ducel, 2002).

3.2.2. Rôle du médecin

Les médecins jouent un rôle très important dans la prévention et la maîtrise des infections nosocomiales par :

- Leur participation directe aux soins en observant et insistant sur des pratiques qui réduisent le risque d'infections.

- Le respect des pratiques d'hygiène appropriées.

- Par leur participation au comité de lutte contre les infections nosocomiales.

- Donc les médecins en général sont chargés de protéger leur propre Patient vis-à-vis des autres patients infectés et du personnel hospitalier susceptible d'être infectés.

- Se conformer aux pratiques approuvées par le comité de lutte contre les infections nosocomiales.

- Se procurer les échantillons microbiologiques appropriés en cas d'infection suspecte.

- Signaler les cas d'infections nosocomiales à l'équipe responsable de la lutte ainsi qu'à l'admission.

- Se conformer aux recommandations du comité sur l'utilisation des anti-infectieux en ce qui concerne l'utilisation des antibiotiques.

- Suivre un traitement approprié pour toute infection dont ils seraient eux-mêmes atteints et prendre les mesures nécessaires pour empêcher la transmission de cette infection (Ducel, 2002).

3.2.3. Rôle de microbiologistes

Parmi les rôles que doit jouer les microbiologistes :

- Manipuler les échantillons provenant du patient et du personnel de façon à avoir le maximum de chance de pouvoir effectuer un diagnostic microbiologique fiable et précis.

- Préparer les directives et conditions pour le recueil, le transport et la manipulation des échantillons.

-Assurer les bonnes conditions des pratiques effectuées et observées au laboratoire afin d'éviter la transmission d'infection aux personnels.

-Effectuer les tests de sensibilité aux anti-infectieux suivant des méthodes reconnues sur le plan international, et produire des rapports de synthèse sur la prévalence de la résistance.

-Surveiller la stérilisation et la désinfection et si nécessaire l'environnement hospitalier.

-Communiquer en temps réel les résultats au comité de lutte contre les infections Nosocomiales ou au responsable de l'hygiène hospitalière.

-Si nécessaire procéder un typage épidémiologique des microorganismes présents à L'hôpital (Ducel,2002).

3.2.4. Rôles du personnel infirmier

Le personnel infirmier est chargé de mettre en œuvre les pratiques de soins assurant la lutte contre l'infection. Il doit être familiarisé avec les pratiques empêchant la survenue et la propagation des infections et observer des pratiques appropriées pour tous les patients pendant toute la durée de leur séjour à l'hôpital. Par la suite, viellez à promouvoir le développement et l'amélioration des techniques de soins et procéder à l'examen en continu des politiques en matière d'asepsie, avec l'approbation du comité de lutte contre les infections nosocomiales. Les structures hospitalières doivent veiller à :

-Préparer les programmes de formation pour les membres du personnel infirmier.

-Superviser la mise en œuvre des techniques de prévention des infections dans les secteurs spécialisés tel que les blocs opératoires et les unités de soins intensifs et le service de maternité (Ducel,2002).

3.2.5. Rôle de service de nettoyage

Ce service est responsable de nettoyage régulier de toutes les surfaces et de maintien d'un niveau élevé d'hygiène dans l'établissement et donc il est chargé de :

-Classer les différents secteurs de l'hôpital en fonction de leur exigence de propreté.

-Elaborer des politiques pour des techniques de nettoyage appropriées.

- Elaborer des politiques pour la collecte, le transport et l'élimination de différents types de déchets.

- Assurer que les distributeurs de savon liquide et de serviette en papier sont régulièrement regarnis.

- Informer de tout problème tel que, défaut dans les installations électriques, sanitaires ou autres.

- Lutter contre les insectes et les rongeurs.

- Déterminer la fréquence de lavage des rideaux et examiner les plans de renouvellement et de rénovation des mobiliers (Ducel, 2002).

3.3. Les patients

En cas d'intervention, le patient doit respecter les consignes de préparation chirurgicale. Parmi ces consignes :

- La dépilation de la zone opératoire ne doit pas être faite par le rasoir mais à l'aide d'une tondeuse ou d'une crème.

- La douche antiseptique doit être réalisée de façon minutieuse et selon les directives de l'infirmière.

- Le patient ne doit pas manipuler personnellement les dispositifs invasifs tels que les cathéters, sondes, drains [2].

En complément de ces préventions, certaines infections (ou suspicions d'infection) nécessitent la mise en œuvre de l'agent infectieux, de la localisation et la gravité de l'infection [3].

- Isolement en chambre individuelle.

- Renforcement du lavage des mains.

- Le port des vêtements de protection.

- Précaution accrues lors de l'élimination des instruments et des linges contaminés, des déchets [4].

3.4. Les visiteurs

- Les visiteurs peuvent constituer une source ou un vecteur d'infection pour cette raison, il est nécessaire de respecter quelques règles :

- Les visiteurs présentant une maladie des voies respiratoires ou toute autres maladies transmissibles ne devraient pas entrer dans les secteurs de soins.

- Les visiteurs doivent accepter qu'un malade soit placé en isolement, particulièrement adapté à la prévention de maladies transmissibles et de la transmission de bactéries résistantes aux antibiotiques [3].

Chapitre II

Matériel et méthodes

1. Lieu de l'étude

Notre stage est réalisé au niveau de l'établissement hospitalier de Hammam Bouhadjar, créée en 1995. Il est situé à 2 Km au Sud de la Daïra de Hammam Bouhadjar, avec une superficie d'environ 4 hectares. La capacité de l'établissement est de 144 lits. L'établissement regroupe une cinquantaine (50) de médecins entre généraliste et spécialiste et une centaine (100) de soignants (infirmiers et aide soignants) et 11 chefs de service. Le personnel médical et paramédical est dirigé par Monsieur ABED Mohamed, Directeur de l'établissement. L'hôpital dispose de 11 services, il s'agit du service de la chirurgie, la réanimation, le bloc opératoire, la médecine interne, la maternité, la pédiatrie, l'hémodialyse, la radiologie, le CTS (centre de transfusion sanguine), la pharmacie et de 02 laboratoires (laboratoire d'analyse bactériologique et laboratoire d'hématologie). La figure 9 présente la structure hospitalière.



Figure 9 : L'hôpital de Hammam Bouhadjar (Photo original)

2. Objectif de l'étude

L'objectif principal de cette étude est d'isoler, purifier et identifier les germes bactériens responsables d'infections nosocomiales, ensuite évaluer leur niveau de sensibilité aux antibiotiques.

3. Déroulement de travail

3.1. Echantillonnage

Les échantillons ont été prélevés à partir de trois services de l'hôpital (service de médecine interne, chirurgie et maternité) et sur plusieurs endroits. Le tableau ci-dessous présente les numéros et les sites de prélèvement.

Tableau02 : Présentation des sites de prélèvement

Numéro de prélèvement	Site de prélèvement
Service de médecine interne	
01	Poignée de porte
02	Plaie diabétique
03	Chariot de soins
04	Cathéter veineux
05	Compresse médicale utilisé
06	Bistouri utilisé
Service de chirurgie	
01	Chariot de soins
02	Le mur de la salle
03	Le lit de patient
04	Boite d'instrument (pince stérile)
05	Table de patient
06	Potence à sérum
Service de maternité	
01	Table d'accouchement
02	Matelas d'un patient
03	Plaque chauffante
04	Berceau bébé
05	La payasse
06	Chariot de soins

3.2. Conditions et méthodes de prélèvement

Les échantillons doivent impérativement être identifiés en mentionnant le nom, prénom, la date de naissance du patient, le service concerné, la date et l'heure de prélèvement. Les prélèvements ont été effectués dans des conditions d'aseptise. Ils ont été réalisés soit :

3.2.1. Prélèvement à partir de l'environnement

3.2.2. Prélèvement à partir de l'air

La technique utilisée est celle de la sédimentation sur boîte de Pétri. Elle peut être réalisée à l'aide de boîte de Pétri de gélose nutritive (GN). Les boîtes sont ouvertes dans la pièce et

exposées à une hauteur supérieure à un mètre pendant 24 heures, les bactéries contenues dans l'air se déposent. Après fermeture des boîtes, ces dernières sont mises à incuber. Cette méthode est simple mais présente l'inconvénient de ne pouvoir exprimer les résultats par quantité d'air analysé, elle est donc très imprécise.

3.2.3. Prélèvement à partir d'une surface solide

Les prélèvements sont effectués à l'aide d'un écouvillon stérile. Ce dernier est tout d'abord humidifié avec l'eau physiologique, ensuite frotté sur la surface délimitée en imprimant un mouvement de l'écouvillon sur toute la surface analysée. L'écouvillon est replacé dans un tube à vis contenant de l'eau physiologique stérile. Les prélèvements doivent être impérativement identifiés en mentionnant l'endroit de prélèvement, le service concerné et la date et l'heure de prélèvement.

3.2.4. Prélèvement à partir des malades

3.2.4.1. Prélèvement des urines

Il se fait par voie naturelle selon la technique dite « milieu de jet » et selon des règles strictes qui conditionnent la qualité de l'étude cyto bactériologique des urines (ECBU) (Wilson, 2001). Généralement, les urines sont recueillies à la volée ; il s'agit des urines du 2^{me} jet ou du milieu de jet. Tout d'abord, se laver soigneusement les mains au savon, ensuite effectuer une toilette au savon de la région vulvaire chez la femme et du méat chez l'homme puis rincer à l'eau ou bien faire une toilette à l'aide de la lingette désinfectante.

Ouvrir le flacon stérile et uriner le 1^{er} jet (un volume d'urine de 20 ml environ et pas uniquement les premières gouttes). Uriner le 2^{me} jet dans le flacon. Le flacon est soigneusement fermé ensuite, glisser dans une pochette hermétiquement fermée. Le flacon est ramené au laboratoire dans les plus brefs délais, pour être analysé. Dans le cas d'un nourrisson, le recueil d'urines se fait à l'aide d'un collecteur (une poche) ; il s'agit, tout d'abord de se laver les mains au savon, réalisé ensuite une toilette minutieuse de la vulve ou du prépuce et du gland de l'enfant au savon suivie d'un rinçage à l'eau et d'un séchage ou nettoyage à l'aide de la lingette désinfectante. La découpe centrale de la poche est ensuite détachée puis jetée en retirant le revêtement qui protège l'adhésif. Si le nourrisson n'a pas uriné au bout d'une heure, la poche est retirée impérativement (risque de contamination des urines) puis refaire une toilette locale et mettre en place une poche neuve. Une fois, la miction terminée on retient la poche en soulevant un coin et en détachant doucement.

3.2.4.2. Prélèvement à partir de plaie

Il s'agit d'un prélèvement superficiel à l'aide d'un écouvillon stérile avec un mouvement de rotation sur une zone de 1 à 2 cm de la plaie en appliquant une pression suffisante à provoquer un léger saignement.

3.2.4.3. Prélèvement à partir du cathéter

Le prélèvement à partir d'un cathéter est effectué à l'aide d'un écouvillon stérile. Ce dernier est introduit dans des tubes à essai contenant de l'eau physiologique stérile.

-Tout en respectant les conditions de prélèvement et en mentionnant toutes les informations nécessaires du patient (Nom, Prénom, sexe, l'âge...).

3.3. Enrichissement

Les milieux d'enrichissement permettent de favoriser une croissance bactérienne à partir des prélèvements. Il s'agit en général de milieux liquides riches permettant le développement d'un maximum de bactéries. Parmi les plus utilisés, on trouve le bouillon nutritif (BN) (Figure10).

L'enrichissement est une étape qui se réalise quand on veut favoriser la croissance du germe recherché, donc c'est une étape qui favorise sa multiplication. Elle est réalisée sur milieu liquide, bouillon nutritif et incubation dans une étuve à 37°C pendant 24h.



Figure 10 : Ensemencement dans un milieu d'enrichissement

3.4. Isolement sur les milieux de cultures

Cette étape constitue un chapitre capital, sur le plan pratique, renfermant l'essentiel de la technique bactériologique. Elle doit être l'objet d'exercices incessants. L'étude précise de microorganismes tels que les bactéries exigent d'une façon générale : L'isolement du

microorganisme envisagé, sa culture aseptique (sur des milieux permettant sa culture ou son identification), c'est-à-dire sa croissance ou sa prolifération en l'absence de tout être vivant de type différent (culture pure).

3.4.1. Isolement à partir de l'air

Les boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive (GN) ont été exposées à l'air ambiante pendant 24h. Elles sont ensuite fermées puis est incubées directement dans une étuve à 37°C pendant 48h. Après incubation, on fait un des repiquages des colonies bactériennes obtenues ont été repiqués par la méthode des quadrants dans les milieux suivants : MC, BCP et CHAP. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h.

3.4.2. Isolement à partir des surfaces solides

Après avoir effectué les différents prélèvements, l'isolement est réalisé sur les milieux précédemment cités, ces milieux sont fabriqués et commercialisés par l'Institut Pasteur d'Alger . Généralement ces milieux gélosés contiennent de facteurs de croissance et sont également additionnés par des antibiotiques en les rendant sélectifs. L'incubation est effectuée dans une étuve à 37°C pendant 24h. Le tableau 03 illustre les milieux gélosés utilisés.

Tableau 03 : Les milieux gélosés utilisés

	Caractéristiques	Usage	Lecture
Gélose nutritif	<ul style="list-style-type: none"> - Est un milieu d'isolement non-sélectif. - L'isolement Est réalisé dans le but de contrôler la pureté d'une souche ou de purifier la souche bactérienne si elle est contaminée -Sur cette gélose nutritive on observe des colonies différentes -Ensemencement en stries 	-Milieu d'isolement utilisé pour la recherche de FMAR (flore mésophile aérobie revivifiable).	Un nombre très important en colonies est apparu après incubation sur gélose, ce qui permet de dire qu'il existe une importante diversité microbienne (présence un tapis microbien).
Gélose BCP	<p>La gélose BCP (BromoCrésol Pourpre) est un milieu non sélectif, lactose, utilisé principalement pour la culture des bacilles à Gram négatif non exigeants.</p> <ul style="list-style-type: none"> -Ensemencement en quadrants 	utilisé pour la détection et l'isolement des entérobactéries	La présence de lactose et de bromocrésol pourpre permet de connaître le caractère lactose des bactéries. Le milieu vire au jaune ou coloration jaune des colonies : acidification du milieu par fermentation du lactose = lactose + Le milieu reste violet : pas d'acidification du milieu = lactose -
Gélose CHAPMAN	<ul style="list-style-type: none"> - Permet la croissance des bactéries halophiles. -Très forte concentration en NaCl permettant l'inhibition des Gram- -Permet l'étude de l'attaque du mannitol (si baisse du pH, on obtient une teinte jaune) -Ensemencement en stries - Incubation : 24-48h 	<ul style="list-style-type: none"> - Isolement de <i>Staphylococcus aureus</i>. -Numération des staphylocoques. 	S'il s'agit de <i>Staphylococcus aureus</i> : colonie jaunes avec halo clair. Mannitol + .Les autres colonies sont Mannitol

3.4.3. Isolement à partir des urines

L'isolement des germes à partir des urines est opéré dans des boîtes de Pétri contenant milieu : GN, MC, HK, CHAP. L'ensemencement est effectué grâce à la méthode de stries. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h. Elles sont placées en position renversée (couvercle en bas) pour éviter l'eau de condensation sur le couvercle et distinguer les boîtes ensemencées des boîtes stériles. Cette figure représente l'étape d'ensemencement de l'urine.



Figure 11 : l'ensemencement de l'urine

Généralement, après incubation on observe que la densité des colonies décroît du premier quadrant vers le dernier. La culture est en général conflente dans le premier secteur alors que le dernier présente, si l'isolement est bien exécuté, des colonies bien copacées. Les figures 12 et 13 représentent les méthodes d'ensemencement en quadrant et en stries.

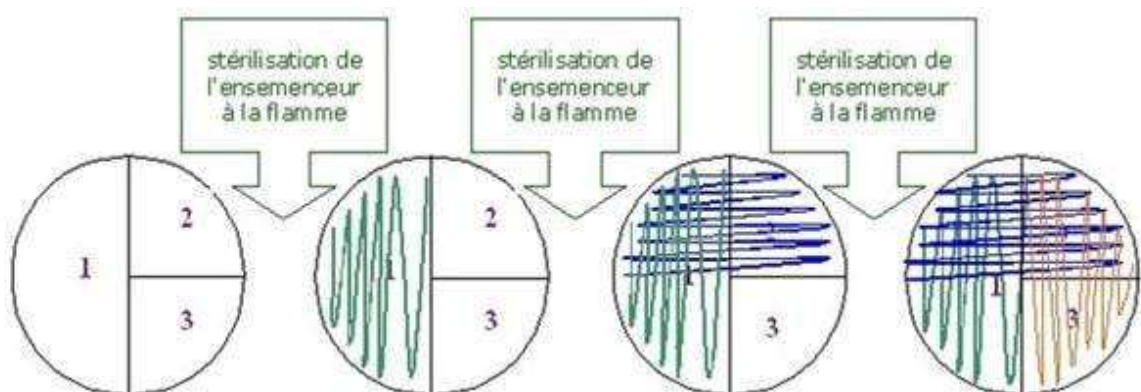


Figure 12 : Méthode d'ensemencement en quadrants

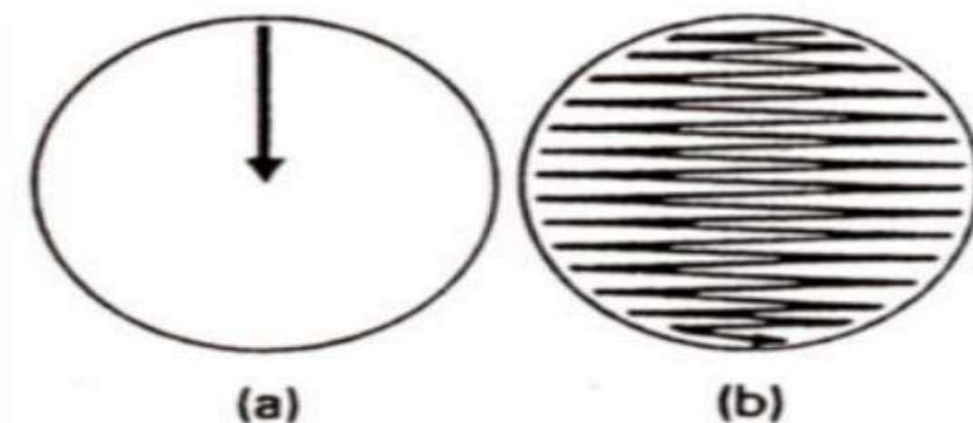


Figure 13 : Méthode d'ensemencement en stries.

3.4.4. Isolement à partir de plaie et de cathéter

L'isolement des bactéries à partir de plaie et cathéter a été réalisé sur le milieu nutritif (GN) par la méthode des stries multiples serrées ensuite sur les milieux BCP, Chapman et milieu Heckteon par la méthode des cadrans. Les boîtes sont ensuite placées dans une étuve, à 37°C pendant 24h. Généralement, après incubation on constate que la densité des colonies décroît du premier quadrant vers le dernier. La culture est en général confluite dans le premier secteur alors que le dernier présente, si l'isolement est bien exécuté, des colonies bien isolées.

3.5. Identification des bactéries

Une bactérie ne peut être identifiée qu'une fois isolée et obtenue à l'état pur. Les méthodes d'étude des bactéries sont multiples et se perfectionnent sans arrêt. Ces techniques sont nombreuses car chaque groupe de bactérie exige ses propres milieux de culture. Pour parvenir à identifier le germe, on est en général amené à réaliser :

- L'étude macroscopique et microscopique de la culture bactérienne.
- L'étude des caractères biochimiques : seul un ensemble de caractères biochimiques permettra l'identification. Les différents constituants de cet ensemble (test classiques et/ou galerie API) sont choisis en fonction de l'examen morphologique, macroscopique et microscopique. Cette étude est applicable à toutes les bactéries.
- L'étude antigénique (recherche d'antigènes bactériens par réaction d'agglutination avec les anticorps correspondants). Cette méthode est largement utilisée Pour l'identification des Entérobactéries.

- L'étude du pouvoir pathogène, moins utilisée en microbiologie médicale, mais fréquente en pathologie animale.

- Et enfin, l'étude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques (antibiogramme).

3.5.1. Examen macroscopique

L'observation de l'aspect macroscopique des colonies permet d'effectuer une première caractérisation, avec une orientation des résultats au cours de l'identification. D'après Joffin et Leyral, (2006), les éléments clés d'identifications macroscopiques sont :

- l'aspect morphologique : la forme des colonies : rondes, irrégulières, etc...
- la taille des colonies par la mesure du diamètre,
- la couleur de la colonie,
- l'élévation : convexe, concave, plate, l'opacité : opaque, translucide ou transparente,
- la surface : lisse, rugueuse, sèche, dentelée, etc... La figure ci-dessus représente l'aspect morphologique des colonies bactériennes.

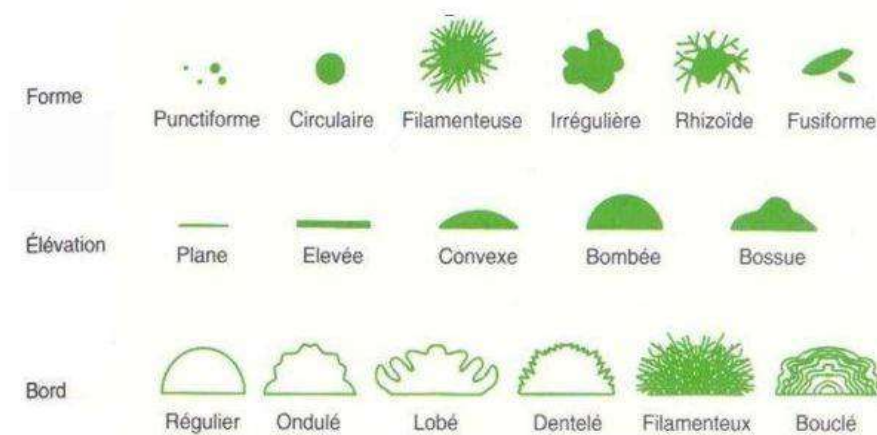


Figure 14 : Morphologie des colonies bactériennes (Prescott et *al.*, 2003).

3.5.2. Examen microscopique

L'examen microscopique permet d'effectuer une étude microscopique des cellules d'une espèce microbienne. En bactériologie, on utilise des lames et lamelles propres et bien dégraissées. Cette étape comprend :

- l'examen direct de l'espèce bactérienne à l'état frais
- l'examen après coloration,

- a- Coloration simple (coloration au bleu de méthylène),
- b- Coloration différentielle (coloration de Gram).

La figure ci-dessus (15), représente l'aspect microscopique des colonies bactériennes.



Figure15 : Morphologie microscopique des bactéries (Heart et Shears, 2006)

3.5.2.1.Examen direct à l'état frais

Principe de la méthode

L'examen à l'état frais permet d'apprécier la mobilité du germe étudié (Camille, 2008).

Protocole opératoire

-On dépose à l'aide d'une pipette Pasteur stérile ou avec une anse de platine au centre d'une lame propre une goutte de suspension bactérienne. Le volume de la goutte doit être proportionné aux dimensions de la lamelle de façon à ce que la goutte de suspension ne déborde pas. Dans le cas d'une culture sur milieu solide ou semi-solide en tube ou sur boîte de Pétri, on dépose tout d'abord sur la lame une goutte d'eau distillée stérile ou une goutte d'eau physiologique stérile dans laquelle on dissociera à l'aide d'une anse de platine une très faible quantité d'inoculum bactérien.

-Recouvrir d'une lamelle. La lame est ensuite observée au microscope optique, à l'objectif (x 40). On dit d'une bactérie est mobile lorsqu'on observe au moins un élément bactérien traversant le champ du microscope. Il est conseillé de régler convenablement la

lumière et ne pas prolonger le temps d'observation au-delà de 3 minutes, sinon la préparation se dessèche (Camille, 2008).

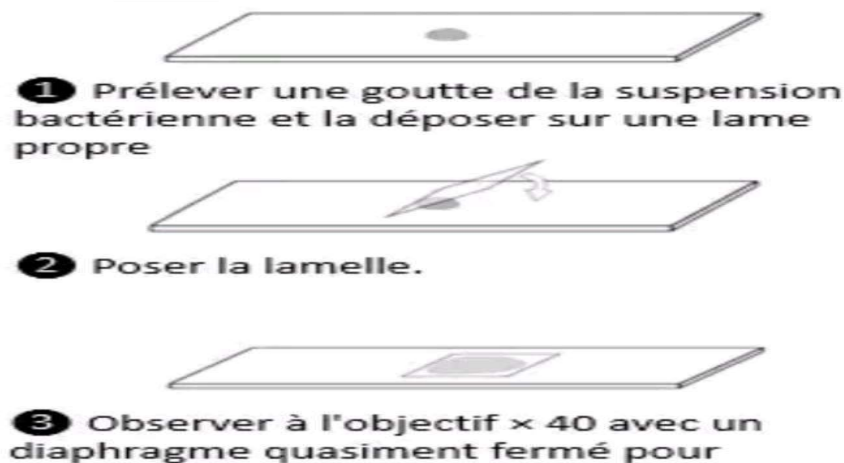


Figure16 : Préparation d'un frottis à l'état frais

3.5.2.2. Examen microscopique après coloration

Les techniques les plus communément utilisées en bactériologie médicale font appel à des colorants. L'examen microscopique d'un frottis bactérien permet d'estimer la morphologie du germe. La préparation est tout d'abord fixée sur une lame puis colorée. Tous les frottis colorés s'examinent en immersion (x 100).

3.5.2.2.1. Préparation d'un frottis à partir d'une culture sur milieu solide

On dépose sur une lame propre une gouttelette d'eau distillée stérile et on y dissocie une faible quantité de culture bactérienne. La culture est étalée avec une anse de platine ou une pipette pasteur stérile de façon à réaliser un frottis mince et homogène. Le frottis est laissé sécher sur la paillasse, mais on peut accélérer la dessiccation en chauffant légèrement au-dessus de la flamme bleue du bec bunsen. Lorsque l'étalement est complètement sec, on procède à sa fixation par un passage très bref au-dessus d'une flamme bleue de bec bunsen. La figure ci-dessous représente les différentes étapes de préparation d'un frottis bactérien

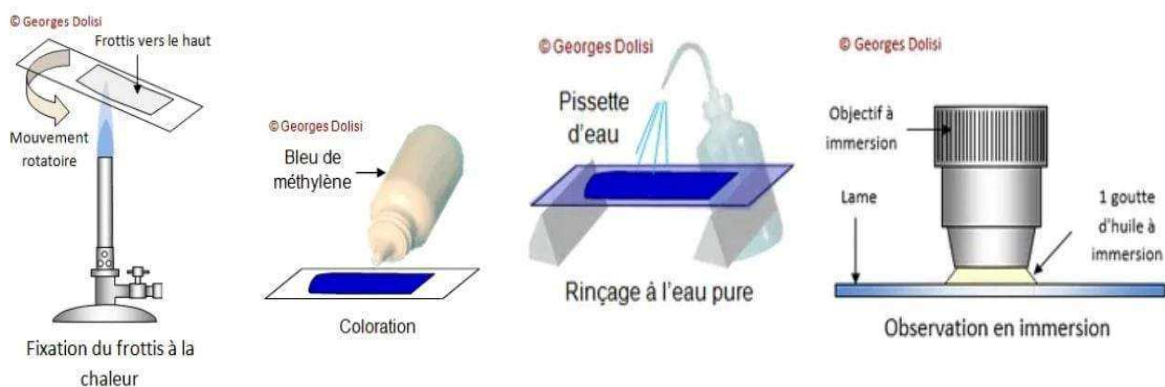


Figure 17 : Différentes étapes de préparation d'un frottis bactérien

3.5.2.3. Plusieurs types de colorations existent

3.5.2.3.1. Coloration au bleu de méthylène

En bactériologie, plusieurs types de colorations existent. Parmi ces colorations, la coloration au bleu de méthylène. Cette coloration est réalisée en faisant recouvrir le frottis fixé d'une solution de bleu de méthylène, on laisse agir pendant 2 minutes. La lame est ensuite rincée à l'eau du robinet, séchée entre deux feuilles de papier buvard, puis observée à l'immersion. Les structures colorables apparaissent bleues. Cette méthode n'est que peu informative. La figure 18 représente la méthode de coloration au bleu de méthylène.



Figures 18 : La méthode de coloration au bleu de méthylène

3.5.2.3.2. Coloration différentielle (coloration de Gram)

Cette coloration double constitue un des premiers stades de l'étude microscopique d'une bactérie, en ce sens qu'elle permet un premier classement en bactérie dites Gram+ et Gram-.

3.5.2.3.2.1. Protocole de la coloration de Gram

On prépare tout d'abord le frottis bactérien, on le fixe et ensuite on verse sur ce dernier 4 à 5 gouttes d'une solution aqueuse de violet de gentiane. On le laisse agir pendant une minute au maximum. Le colorant est rejeté en inclinant la lame, sans la laver. On recouvre la lame, avec du Lugol, ensuite on le jette au bout de 30 à 45 secondes. La lame est rincée à l'eau distillée. On laisse couler goutte à goutte sur la préparation tenue inclinée de l'alcool 95° jusqu'à ce que cet alcool s'écoule incolore, mais sans trop insister. On arrête la décoloration en lavant la lame à l'eau distillée. On verse sur la lame 4 à 5 gouttes de fuchsine de Ziehl diluée, on le laisse agir pendant une minute et on lave à l'eau distillée. Après séchage de la lame, on procède à l'observation microscopique ($\times 100$). Cette coloration permet d'apprécier la pureté des souches bactériennes avant toute identification. La figure 19 présente la méthode de coloration de Gram.

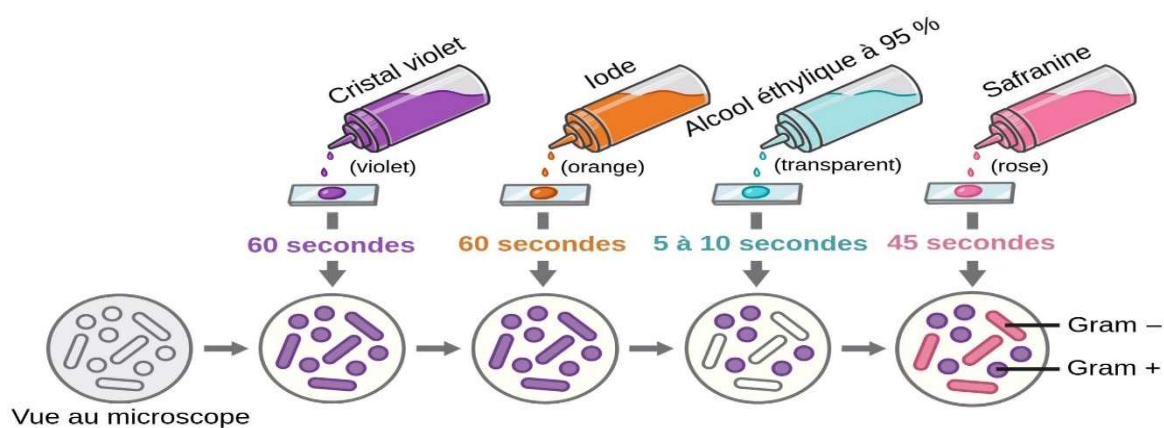


Figure 19 : Méthode de coloration de Gram et ces réactifs utilisés

Lecture : bactérie Gram positive : coloration violette.

Bactérie Gram négative : coloration rouge-rose.

3.5.3. Identification biochimique

Les tests biochimiques sont indispensables pour l'identification d'une bactérie. Les méthodes biochimiques reposent sur la recherche d'enzymes responsables de certaines réactions biochimiques, sur l'utilisation d'un substrat particulier ou la présence de produits spécifiques issus du métabolisme intermédiaire. Pour l'identification biochimique, on a utilisé quelques tests classiques disponibles. Ces tests sont très insuffisants pour arriver à une identification précise et fiable. Or, la galerie API, est un moyen efficace pour ce genre d'étude.

3.5.3.1. Test TSI (milieu de tri sucres)

L'étude de l'assimilation des hydrates de carbone et de leurs voies d'utilisation par la bactérie est fondamentale dans l'identification des bactéries. Le milieu TSI, Triple Sugar Irae est généralement utilisé pour ce type de métabolisme. Le test TSI est aussi connu comme milieu lactose-glucose- saccharose-H₂S et il a le même principe que le milieu Kligler. Le centre de la colonie bactérienne suspecte est légèrement touché avec l'extrémité du fil droit d'une anse de platine bien stérilisée. Dans des conditions stériles, les tubes contenant le milieu sont ensemencés en strie centrale sur la surface inclinée puis, par piqure profonde jusqu'au fond du culot. Les tubes ainsi ensemencés, sont incubés à 37°C, pendant 24 heures.

Remarque : les tubes ensemencés ne doivent pas être complètement visés pendant l'incubation.

Lecture des résultats :

- 1- Fermentation de glucose :
 - Culot rouge : glucose non fermenté
 - Culot jaune : glucose fermenté
- 2- Fermentation du lactose et/ou du saccharose Pente inclinée rouge : lactose et saccharose non fermentés.

3.5.3.2. Test urée-indole

Le principe consiste à mettre en évidence l'enzyme, uréase, seules les bactéries à uréase suffisamment active donne une réaction positive, ceci est réalisé à partir d'une suspension bactérienne aussi dense que possible de la gélose nutritive dans 1 ml du milieu urée-indole. Les tubes ensemencés sont incubés à 37°C pendant 24 h ou de préférence au bain marie à 37°C.

-Lecture des résultats

Uréase positive : virage de l'indicateur du jaune au rouge violacé ou au rose rouge.

Uréase négative : pas de changement de coloration ou virage au rouge citrin.

Production d'indole : On ensemence à partir de la gélose nutritive des tubes d'eau peptonée exempt d'indole. Les tubes sont ensuite incubés à 37°C. Pendant 24 h. on recherche l'indole en ajoutant quelques gouttes de réactif de Kovacs à la culture précédente. On agite et on laisse le réactif remonter en surface.

Lecture immédiate : la réaction est indole positive = présence d'un anneau en surface rouge vermillon.

La réaction est indole négative = anneau brunâtre (teinte originelle du réactif).

3.5.3.3. Test Citrate de Simmons

Le test du citrate détermine la capacité d'une bactérie à utiliser le citrate comme seule source de carbone. Le milieu le plus utilisé est la gélose citrates de Simmons. La pente du milieu Citrate de Simmons estensemencée avec une strie longitudinale sur toute la surface. L'incubation est réalisée à 37°C/24h.

Un résultat positif se traduit par le virage de la couleur du milieu vers le bleu (Hart et Shears, 2002).

-Protocole expérimentale

Le milieu utilisé est la gélose citrate de Simmons. Ce milieu estensemencé en stries serrées longitudinales sur toute la surface au moyen d'une anse stérile de suspension bactérienne (la pente du milieu estensemencée). Les tubes sont incubés dans une étuve à 37°C pendant 24h.

-Lecture des résultats

Citrate de Simmons positif, se traduit par le virage de l'indicateur au bleu (alcalinisation du milieu de culture) (Hart et Shears, 2002).

Citrate de Simmons négatif : coloration verte du milieu inchangée.

3.5.3.4. Test Mannitol mobilité

Le milieu mannitol mobilité est une gélose molle contenant du mannitol (polyol dérivé du mannose) et un indicateur coloré (rouge de phénol). Le milieu mannitol mobilité est utilisé pour l'identification des entérobactéries et d'autres espèces bactériennes. Le principe de ce test est tout d'abord la dégradation/fermentation du mannitol par la bactérie et aussi, de voir la mobilité de ces bactéries. L'ensemencement se fait à l'aide d'une anse de platine par une pique centrale. L'incubation est effectuée à 37°C pendant 24h.

-caractère mannitol : Apparition de couleur jaune.

-La mobilité : Les bactéries très mobiles peuvent se déplacer dans la gélose molle (formation d'un voile autour de la pique) (Delouat et Zoughileche, 1983).

-Protocole expérimental

L'ensemencement de la bactérie se fait par pique centrale à l'aide d'une anse de platine stérile bien droit ou une pipette de Pasteur fermée chargée de culture bactérienne. Les tubesensemencés sont incubés à 37°C pendant 24h.

-Lecture des résultats

La fermentation du mannitol entraîne le virage au jaune du milieu. Les bactéries très mobiles diffusent à partir de la ligne d'ensemencement en créant un trouble du milieu. (Formation d'un voile autour de la pique) (Delouat et Zoughileche, 1983).

3.5.3.5. Test ONPG

Ce test permet de rechercher directement l'enzyme β - galactosidase et par la suite de distinguer les bactéries potentiellement lactose positif et des bactéries lactose négatif. L'orthonitrophenyl- β -D-galactopyranoside, composé incolore est scindé par l'enzyme en libérant de l'orthonitrophenol, composé soluble jaune.

Pour la mise en évidence de cette enzyme, un disque ONPG est imprégné d'une suspension dense de bactéries. Le disque est ensuite déposé dans une étuve à 37°C.

-Lecture des résultats

ONPG positif : la suspension se colore en jaune citron.

ONPG négatif : pas de coloration.

Les réactions positives sont observées entre 15 et 30 min. La réaction est d'autant plus rapide qu'il y a plus de bactéries en suspension, donc plus d'enzymes.

3.5.3.6. Recherche de la catalase -Test catalase

Parmi les propriétés métaboliques générales- types respiratoires, la recherche de l'oxydase et de la catalase.

Cette enzyme empêche en effet l'accumulation d' H_2O_2 et le dégrade selon la Réaction suivante : $2H_2O_2 \rightarrow 2 H_2O + O_2$ (l'oxygène libéré se dégage sous forme gazeuse). Ce test est à la base de l'identification des bactéries Gram + (Rodier, 1996).

-Mode opératoire

Le test est réalisé selon les étapes suivantes :

-Sur une lame propre et sèche, on dépose une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes et à l'aide d'une pipette Pasteur on ajoute l'inoculum bactérien, ensuite on Surveille immédiatement

l'apparition d'un dégagement d'oxygène sous forme de bulles gazeuses (témoignant la présence d'enzyme).

-Lecture

- Dégagement immédiat de bulles gazeuses : test catalase positif.
- Pas de dégagement de bulles gazeuses, test catalase négatif (Rodier, 1996).

3.5.3.7. Recherche de l'oxydase- Test oxydase (cytochrome oxydase)

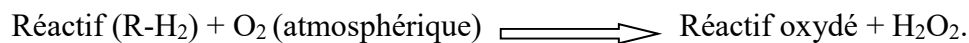
L'oxydase ou Cytochrome oxydase est une enzyme présente dans certaines chaînes respiratoires cytochromiques bactériennes.

La recherche de cette enzyme est utile dans le repérage des colonies de Neisseriaceae ainsi que d'autres bactéries. Ce test est aussi utilisé dans le diagnostic des bacilles à Gram négatif (Camille, 2008).

-Mode opératoire

On dépose un disque imprégné d'oxydase de diméthyle paraphénylène sur une lame propre. On imbibe le disque avec une goutte d'eau distillée stérile. On prélève au fil de platine ou à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, une faible quantité de la culture bactérienne et on l'a déposé sur le disque (Light et Nigel, 2002)

Oxydase



-Lecture des résultats

-Si la suspension prend une coloration rose après 45 secondes. Le germe possède une oxydase : le test est positif.

-Si la suspension reste incolore, le germe ne possède pas d'oxydase, le test est négatif (Light et Nigel, 2002). La figure 20 illustre les résultats de la recherche de l'enzyme oxydase.



Figure 20 : Résultat du Test d'oxydase.

Conseil pratique : Il ne faut pas utiliser l'anse de platine qui peut oxyder le réactif contenu dans le disque et donner de faux positifs.

4. Etude de la sensibilité aux antibiotiques en milieu solide

L'antibiogramme est une étape très importante en bactériologie médicale. Elle suit l'étape d'identification du germe responsable d'infection. Des géloses adaptées et recommandées pour l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries ont été développées. Parmi ces géloses, la gélose de Mueller-Hinton (MH) est la plus utilisée. L'utilisation de cette gélose est recommandée par le comité de l'antibiogramme de la Société Française de microbiologie. Ainsi, l'examen microscopique et l'antibiogramme constituent un élément majeur pour une prise en charge thérapeutique adaptée.

4.1. But de l'antibiogramme

Un antibiogramme est défini comme étant un examen bactériologique ayant pour but d'apprécier la sensibilité d'un germe à un ou à plusieurs antibiotiques *in vitro*. Il détermine le caractère sensible, intermédiaire ou résistant de la souche, en fonction de la concentration minimale inhibitrice (CMI) déterminée par l'examen.

On peut réaliser cette détermination de deux manières :

- les méthodes de dilution : antibiogramme en milieu liquide.
- les méthodes de diffusion : antibiogramme en milieu solide.

4.2. Principe

Pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques, nous avons utilisé la méthode de diffusion classique de disque sur gélose (Delaras, 1998) (Figure 22). Cette technique consiste à mettre en contact un antibiotique (disque pré imprégné d'une dose connue d'antibiotique) avec des colonies de bactéries pures précédemment obtenues par la mise en culture du prélèvement. L'antibiotique diffuse à partir du disque en formant un gradient de concentration (les bactéries situées à proximité du disque reçoivent une dose d'antibiotique plus importante que celles qui sont plus éloignées) Lorsque la bactérie est sensible à l'antibiotique, un halo dépourvu de colonies se forme autour de l'antibiotique testé. Ce dernier peut être plus ou moins étendu selon l'efficacité de l'antibiotique sur la bactérie. La mesure du diamètre de ce halo permet d'estimer la concentration minimale inhibitrice (CMI) d'un antibiotique vis-à-vis d'une souche bactérienne, et donc le caractère sensible ou résistant de la bactérie vis à vis de

l'antibiotique testé Il est à noter que la CMI est définie comme la plus petite concentration permettant d'inhiber 50% de la population bactérienne.

4.3.Mode opératoire

A partir d'une culture de 24 ou 48 heures sur gélose en boîte, on prélève une colonie bactérienne bien isolée, et on prépare une suspension bien homogène dans 10 ml d'eau physiologique stérile. La suspension est ensuiteensemencée à l'aide d'une anse stérile dans des boîtes de Pétri contenant le milieu Mueller-Hinton (MH). Les disques imprégnés d'antibiotique sont ensuite déposés à la surface de la gélose de (MH) à l'aide d'une pince stérile en appuyant légèrement (les disques sont disposés aseptiquement à environ 10 mm du périphérique de la boîte). Les boîtes sont laissées pendant 20 à 30 minutes à la température ambiante afin de permettre une bonne diffusion de l'antibiotique, elles sont ensuite mises dans une étuve à 37°C pendant 24 h. Le tableau 5 et la figure 23, présentent les antibiotiques testés

4.3.1. Lecture des résultats

Après 24 à 48 heures d'incubation, on note les résultats (par la mesure de diamètre d'inhibition) et selon les résultats obtenus, l'interprétation est la suivante

-Une bactérie est dite sensible (si le diamètre est supérieur à 13 mm): l'antibiotique est efficace. Il suffit d'une faible concentration de l'antibiotique en question pour inhiber les bactéries.

-Intermédiaire (si le diamètre est compris entre 12mm et 13mm): l'antibiotique est efficace que dans certaines conditions.

- Une bactérie est dite résistante (si le diamètre est inférieur à 10mm): l'antibiotique est inefficace. En effet, la dose nécessaire pour inhiber les bactéries est beaucoup trop élevée pour être supportée chez l'homme sans effets secondaires. La figure 21, illustre les résultats d'un antibiogramme.

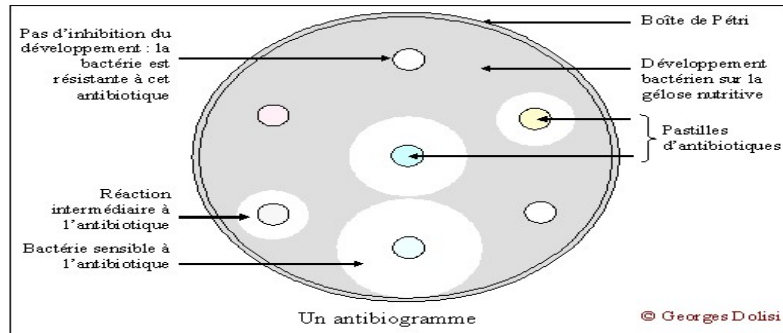


Figure21 : Schéma représentant un antibiogramme

Tableau 04 : Disques d'antibiotiques utilisés

ANTIBIOTIQUES	SIGNES
GENTAMICINE	GEN
AMOXYCLAV	AMC
CEFIXIME	CFM
AZITHROMYCIN	AZM
AMOXICILLINE	AML
ERYTHROMYCINE	E



Figure22 : Méthode classique de diffusion d'antibiotique sur milieu gélosé.



Figure23 : Disque d'antibiotiques utilisés

Chapitre III

Résultat et Discussion

2. Résultats de l'étude bactériologique

Pour identifier les bactéries, il faut tout d'abord les isoler et les obtenir à l'état pur. Les résultats présentés dans cette étude sont issus d'une recherche sur les bactéries responsables des infections nosocomiales, menées dans trois services de l'hôpital de Hammam Bouhadjar : le service de chirurgie, de médecine interne et de maternité. L'isolement et l'identification des bactéries responsables des infections nosocomiales sont indispensables car ils permettent d'orienter et de confirmer le diagnostic et par la suite de proposer un traitement efficace.

2.1. Résultat de l'enrichissement

Après incubation pendant 24h, les résultats de l'enrichissement montrent un trouble dans tous les tubes inoculés des trois services. Ces résultats témoignent d'une croissance bactérienne. Les figures 24, 25 et 26 présentent les résultats de l'enrichissement.



Figure 24 : Résultat de l'enrichissement
Dans le service de médecine interne



Figures 25 : Résultat de l'enrichissement dans
dans le service de chirurgie



Figure 26 : Résultat de l'enrichissement dans le service de maternité

2.2. Isolement et identification des souches bactériennes

Pour l'identification des souches bactériennes, nous avons effectué:

- Des examens macroscopiques et microscopiques des bactéries en culture sur milieu gélosé après isolement et purification.
- Etudier les caractères biochimiques à l'aide des tests classiques.
- Etudier le profil de sensibilité et de résistances des bactéries aux antibiotiques.

Ces analyses et ces examens microbiologiques et macroscopiques sont indispensables car ils permettent d'orienter et de confirmer le diagnostic, de suivre l'évolution d'une infection et/ou de vérifier l'efficacité d'un traitement.

2.2.1. Résultats de l'étude macroscopique et microscopique des bactéries

Les résultats des isolements des germes bactériens ont été obtenus sur trois milieux de culture gélosés. Ces milieux ont été utilisés pour satisfaire les besoins nutritifs et énergétiques des bactéries recherchées et ont l'avantage de réaliser une pré-identification. Les colonies ont été d'abord purifiées par des méthodes bactériologiques classiques (méthode de strie), ensuite elles ont subi un premier screening basé des observations macroscopiques et microscopiques. Cette étude consiste à décrire l'aspect des colonies (couleur, taille, contour...), elle est ensuite complétée par des observations microscopiques (observation à l'état frais, coloration simple et coloration de Gram). L'observation macroscopique des colonies bactériennes sur les milieux gélosés a révélé la présence de plusieurs aspects morphologiques. Les tableaux à partir de tableau 5 jusqu'à le tableau 25 et les figures à partir du 27 jusqu'à présentent ces résultats.

2.2.1.1. Résultat des isolements au niveau du service de chirurgie

Tableau 5: Résultat des isollements au niveau du service de chirurgie

N° et site de prélèvement	Caractères culturaux			Coloration	
	GN	CHAP	BCP	Etat frais	Gram
1 : Chariot de soins	Tapis microbien	Petites colonies blanchâtre, dispersés, sans virage de la couleur du milieu	Aucune croissance	Cocci immobile sur CHAP	Cocci Gram positif sur CHAP
2 : Le mur de la salle	Tapis microbien	Petites colonies blanchâtre, dispersés, sans virage de la couleur	Aucune croissance	Cocci immobile sur CHAP	Cocci Gram positif sur CHAP
3 : Le lit de patient	Tapis microbien, présence de champignon	Petites colonies jaunâtres, dispersés, sans virage de la couleur du milieu.	Aucune croissance	Cocci immobile sur CHAP	Cocci Gram positif sur CHAP
4 : Boite d'instrument	Tapis microbien	Absence de culture	Absence		
5 : Table de patient	Tapis Microbien	Petites colonies blanchâtres, dispersés, sans virage de la couleur du milieu.	Petites colonies transparentes	Cocci immobile sur CHAP	Cocci Gram positif sur CHAP
6 : Potence à sérum	Tapis microbien	Aucune de culture	Petites colonies jaunâtres, lisses, sans virage de la couleur du milieu Repiquage sur gélose HK	Bacilles mobile sur BCP	Bacilles Gram négatif sur BCP

GN : Gélose Nutritive, CHAP : Gélose Chapman, BCP : Gélose Bromocrésol Pourpre, HK : Hecktoen

D'après les résultats, nous avons constaté, une croissance bactérienne sur l'ensemble des milieux, à l'exception des quatre premiers sites de prélèvement où, on a remarqué une absence de croissance seulement sur milieu BCP. On a constaté également que sur une même boite de Pétri plusieurs colonies de couleur et de taille différentes se sont développées. Les figures ci-dessous montrent les résultats des caractères culturaux (aspect phénotypique).



Figure 27 : Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°1 et aspect microscopique après coloration de Gram (Cocci G+) ($G \times 100$)

Tableau 6: Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°1

Examen	Examen à l'état frais	Coloration de Gram
Milieu		
Milieu CHAP	Cocci immobile	Cocci Gram positif

La coloration de Gram a permis de différencier les germes bactériens. Certains germes se sont montrés des Cocci Gram négatives ou Gram positives, isolés ou associés en paire, parfois en chaînettes plus ou moins courtes ou en amas, d'autres se sont révélés des Bacilles Gram négatives.



Figure 28 : Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°2 et aspect microscopique après coloration de Gram (Cocci G+) ($G \times 100$)

Tableau 7 : Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du prélèvement N°2

Examen	Examen à l'état frais	Coloration de Gram
Milieu		
Milieu CHAP	Cocci immobile	Cocci Gram positif



Figure 29 : Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°3 et aspect microscopique après coloration de Gram (Cocci G+) (G ×100)

Tableau 8 : Résultats de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°3

Examen Milieu	Examen à l'état frais	Coloration de Gram
Milieu CHAP	Cocci immobile	Cocci Gram positif



Figure 30 : Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°4



Figure 31 : Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°5 et aspect microscopique après coloration de Gram (Cocci G+) et (Bacilles G-) (G ×100)

Tableau 9: Résultats de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°5

Examen Milieu	Examen à l'état frais	Coloration de Gram
Milieu BCP	Bacilles mobiles	Bacilles Gram négatif
Milieu CHAP	Cocci immobile	Cocci Gram positif



Figure 32 : Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°6 et aspect microscopique après coloration de Gram (Cocci G+) (G ×100)

Tableau10 : Résultats de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°6

Examen	Examen à l'état frais	Coloration de Gram
Milieu CHAP	Cocci immobile	Cocci Gram positif



Figures 33: Résultat de repiquage sur gélose HK à partir de prélèvement N°6

Pour identifier la souche bactérienne, nous avons purifié cette dernière sur milieu sélectif Hecktoen. A l'ide d'une anse de platine ou de pipette Pasteur stérile, nous avons prélevé de la périphérie de la colonie bactérienne sur milieu BCP une faible quantité ensuite on l'aensemencé sur milieu Hecktoen.

Tableau 11 : Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°6 après repiquage sur HK

Examen	Examen à l'état frais	Coloration de Gram
Gélose HK	Bacilles mobile	Bacilles Gram négatif

2.2.1.2.Résultat des isolements au niveau du service de médecine interne

Tableau 12 : Résultat des isollements au niveau du service de médecine interne

N° et site de prélèvement	Caractères cultureux			Coloration	
	GN	CHAP	BCP	Etat frais	Gram
7-Poignée de porte	Tapis bactérien, présence de champignon	Petites colonies blanchâtres, dispersés, sans virage de la couleur du milieu.	Aucune croissance	Cocci immobile sur CHAP	Cocci Gram positif sur CHAP
8-Plaie diabétique	Tapis microbien	Petites colonies jaunâtres, dispersés, visqueuses, volumineuses, pigmentés	Aucune croissance	Cocci immobile sur CHAP	Cocci Gram positif sur CHAP
9-Chariot de soins	Tapis bactérien, présence de champignon	-Petites colonies blanchâtres, dispersés, sans virage de la couleur du milieu. - Petites colonies jaune dispersées, rondes sans virage de couleur	Aucune croissance	Cocci immobile sur CHAP Bacille mobile sur CHAP	Cocci Gram positif sur CHAP Bacille Gram positif sur CHAP
10-Cathéter veineux	Tapis bactérien, présence de champignon	Petites colonies jaunâtres, visqueuses, volumineuses, pigmentés avec virage de la couleur du milieu	Aucune croissance	Cocci immobile sur CHAP	Cocci Gram positif sur CHAP
11-Ccompresse médicale utilisé	Tapis bactérien, présence de champignon	colonies jaunâtres, visqueuses, dispersés, pigmentés avec virage de la couleur du milieu	Petites colonies blanchâtres, brillantes, sans virage de couleur du milieu	Cocci immobile sur CHAP Bacille mobile sur BCP	Cocci Gram positif sur CHAP Bacille Gram négatif sur BCP
12-Bistouri utilisé	Colonies blanchâtres, présence de champignon	colonies jaunâtres, visqueuses, dispersés, pigmentés avec virage de la couleur du milieu	Aucune croissance	Cocci immobile sur CHAP	Cocci Gram positif sur CHAP



Figure 34 : Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°7 et aspect microscopique après coloration de Gram (Cocci G+) (G ×100)

Tableau 13: Résultats de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°7

Examen	Examen à l'état frais	Coloration de Gram
Milieu		
Gélose CHAP	Cocci immobile	Cocci Gram positif



Figure 35 : Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°8 et aspect microscopique après coloration de Gram (Cocci G+) (G ×100)

Tableau 14 : Résultats de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°8

Examen	Examen à l'état frais	Coloration de gram
Milieu		
Gélose CHAP	Cocci immobile	Cocci Gram positif



Figure 36 : Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°9 et aspect microscopique après coloration de Gram (Cocci G+ et Bacille G-) (G ×100)

Tableau15 : Résultats de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°9

Examen Milieu	Examen à l'état frais	Coloration de Gram
Gélose CHAP	Cocci immobile	Cocci Gram positive
Gélose CHAP	Bacille mobile	Bacille Gram positive



Figure 37: Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°10 et aspect microscopique après coloration de Gram (Cocci G+) (G ×100)

Tableau15 : Résultats de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°10

Examen Milieu	Examen à l'état frais	Coloration de Gram
Gélose CHAP	Cocci immobile	Cocci Gram positive



Figure 38 : Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°11 et aspect microscopique après coloration de Gram (Cocci G+) et (bacille G-) (G ×100)

Tableau 16 : Résultats de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°11

Examen Milieu	Examen à l'état frais	Coloration de Gram
Gélose CHAP	Cocci immobile	Cocci Gram positif
Gélose BCP	Bacille mobile	Bacille Gram négatif



Figure 39 : Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°12 et aspect microscopique après coloration de Gram (Cocci G+) (G ×100)

Tableau 17 : Résultats de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°12

Examen Milieu	Examen à l'état frais	Coloration de Gram
Gélose CHAP	Cocci immobile	Cocci Gram positif

2.2.1.3. Résultat des isolements au niveau du service de maternité

Les résultats des prélèvements au niveau des différents sites ont montré la présence de nombreuses colonies, de taille et de couleur différentes sur milieu Chapman. Sur les deux autres milieux, on a constaté, soit une absence de croissance, soit un tapis microbien. L'examen

microscopique a montré la présence des Coques et des bacilles. Le tableau 19 présente les résultats de ces prélèvements.

Tableau 19 : Résultat des isolements au niveau du service de maternité

N° et site de prélèvement	Caractères culturaux			Coloration	
	GN	CHAP	BCP	L'état frais	Coloration de Gram
1-Table d'accouchement	Tapis microbien et virage de couleur de milieu	Petites colonies jaunâtres et virage de couleur du milieu	Petites colonies transparentes	Cocci immobile sur CHAP Bacille mobile sur BCP	Cocci Gram positif sur CHAP Bacille Gram négatif sur BCP
2-matelas d'un patient	Tapis bactérien	Petites colonies jaunâtres et virage de couleur du milieu	Présence des champignons	Cocci immobile sur CHAP	Cocci Gram positif sur CHAP
3-plaque chauffante	Tapis bactérien	Petites colonies jaunâtres et virage de couleur du milieu	Absence de croissance	Cocci immobile sur CHAP	Cocci Gram positif sur CHAP
4-berceau bébé	Tapis bactérien	Petites colonies jaunâtres et virage de couleur du milieu	Absence de croissance	Cocci immobile sur CHAP	Cocci Gram positif sur CHAP
5-la payasse	Tapis bactérien	colonies jaunâtres et virage de couleur du milieu	Petites colonies transparentes	Cocci immobile sur CHAP Bacille mobile sur BCP	Cocci Gram positif sur CHAP Bacille Gram négatif sur BCP
6-chariot de soins	Tapis bactéries	colonies jaunâtres et virage de couleur du milieu	Petites colonies transparentes	Cocci immobile sur CHAP Bacille mobile sur BCP	Cocci Gram positif sur CHAP Bacille Gram négatif sur BCP



Figure 40 : Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°13 et aspect microscopique après coloration de Gram (Cocci G+) et (bacille G-) (G ×100)

Tableau 20 : Résultats de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°13

Examen	Examen à l'état frais	Coloration de Gram
Milieu Milieu CHAP	Cocci immobile	Cocci Gram positif
Milieu BCP	Bacille mobile	Bacille Gram négatif



Figure 41 : Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°14 et aspect microscopique après coloration de Gram (Cocci G+) et (bacille G-) (G ×100)

Tableau 21 : Résultats de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°14

Examen	Examen à l'état frais	Coloration de Gram
Milieu Gélose CHAP	Cocci immobile	Cocci Gram positif
Gélose BCP	Bacille mobile	Bacille Gram négatif

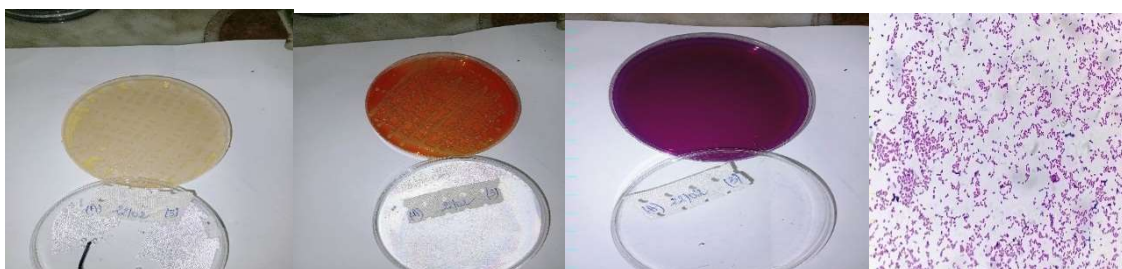


Figure 42 : Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°15 et aspect microscopique après coloration de Gram (Cocci G+) (G ×100)

Tableau 22 : Résultats de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°15

Milieu \ Examen	Examen à l'état frais	Coloration de Gram
Gélose CHAP	Cocci immobile	Cocci Gram positif



Figure 43 : Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°16 et aspect microscopique après coloration de Gram (Cocci G+) (G ×100)

Tableau 23 : Résultats de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°16

Milieu \ Examen	Examen à l'état frais	Coloration de Gram
Gélose CHAP	Cocci immobile	Cocci Gram positif



Figure 44 : Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°17 et aspect microscopique après coloration de Gram (Cocci G+) et (Bacille G-) (G ×100)

Tableau 24 : Résultats de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°17

Examen \ Milieu	Examen à l'état frais	Coloration de Gram
Gélose CHAP	Cocci immobile	Cocci Gram positif
Gélose BCP	Bacille mobile	Bacille Gram négatif



Figure 45: Caractères culturels des bactéries isolées à partir du prélèvement N°18 et aspect microscopique après coloration de Gram (Cocci G+) et (Bacille G-) (G ×100)

Tableau25 : Résultats de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°18

Examen \ Milieu	Examen à l'état frais	Coloration de Gram
Gélose CHAP	Cocci immobile	Cocci Gram positif
Gélose BCP	Bacille mobile	Bacille Gram négatif

2.3. Pré-identification des isolats bactériens

L'étude bactériologique a été effectuée dans trois services hospitaliers, dont vingt un (18) sites ont été analysés. Les résultats bactériologiques ont montré une diversité d'espèces bactérienne. Au total, six (06) isolats bactériens ont été isolés, purifiés ensuite identifiés. L'identification des bactéries a été basée tout d'abord, sur les caractères phénotypiques et microscopiques. Cette première étape est essentielle et permet dans certains cas d'arriver à identifier au moins le genre de la bactérie. L'examen microscopique a permis de mettre en évidence la forme et le groupe des bactéries, Gram+ ou Gram-. Cette identification préliminaire a montré des aspects morphologiques différents. Cette identification a été complétée par des tests biochimiques.

2.4. Résultat des isolements et de l'identification

Cette étude a été menée dans trois services hospitaliers, il s'agit du service chirurgie, médecine interne et maternité. Dix-huit (18) lieux de prélèvement ont été choisis parmi ces

services, pour être analysé. Les résultats bactériologiques nous a permis de rattacher les isolats bactériens à 06 espèces bactériennes différentes. Les résultats ont montré une diversité bactérienne non négligeable. Les espèces obtenues présentent des aspects morphologiques différents.

L'identification des germes bactériens a été basée tout d'abord, sur l'aspect phénotypique et microscopique. Cette première étape du diagnostic est essentielle et permet dans certains cas de connaître facilement le genre de la bactérie. Parmi les examens réalisés, l'examen à l'état frais, qui permet d'apprécier la mobilité de la bactérie ainsi que la coloration de Gram, qui permet de distinguer les deux groupes de bactérie (Bacilles à coloration Gram négative et les Cocci à coloration Gram positive).

2.5. Résultats des tests biochimiques

Nous avons réalisé huit tests biochimiques classiques selon la disponibilité des milieux de culture et de moyens. Les résultats obtenus ont montré que la majorité des espèces bactériennes ont un profil glucidique positif. En revanche, ces espèces sont dans la plupart des cas, H₂S négatif, ONPG négatif, Uréase négatif et ne dégradent pas les trois acides aminés. Le reste des tests ont montré que chez certaines espèces, les résultats sont positifs, alors que chez d'autres bactéries, ses tests se sont révélés négatifs. Par ailleurs, l'identification des germes bactériens n'est pas toujours facile à résoudre, car elle repose sur un choix judicieux des tests, sur le type d'infection, les symptômes observés et le microorganisme en question. Selon les premiers résultats des tests biochimiques, nous pouvons supposer que les souches bactériennes appartiennent à : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus* et *St. epidermidis*. Cette identification est approximative et demande une confirmation au moins par la galerie API.

Les résultats de ces différents tests sont représentés par le tableau 26 et la figure 46

Tableau 26 : Résultats des tests biochimiques classiques.

Tests bactérie	Sucres	H ₂ S	Gaz	Mannitol mobilité	Citrate de Simmons	uréase	INDOL	ONPG
<i>E-coli</i>	+	-	+	+	-	-	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	+	+/-	-	+/-
<i>Proteus mirabilis</i>	+	+	+	-	+/-	+	-	-

*Escherichia coli**Pseudomonas aeruginosa**Proteus mirabilis***Figure 46** : Résultats des tests biochimiques classiques**Tableau 27** : Synthèse des résultats de l'identification

Site de prélèvement	Germes
Service chirurgie	
Chariot de soins	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Le mur de la salle	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Le lit de patient	<i>Staphylococcus aureus</i>
Boîte d'instrument (pince utilisé)	/
Table de patient	<i>Staphylococcus epidermidis, Proteus mirabilis</i>
Potence à sérum	<i>Staphylococcus epidermidis, E-coli</i>
Service médecine interne	
Poignée de porte	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Plaie diabétique	<i>Staphylococcus aureus</i>
Chariot de soins	<i>Staphylocoque epidermidis, Bacillus spp</i>
Cathéter veineux	<i>Staphylococcus aureus</i>
Compresse médicale utilisé	<i>Staphylococcus aureus, Proteus mirabilis</i>
Bistouri utilisé	<i>Staphylococcus aureus</i>
Service maternité	
Table d'accouchement	<i>Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus</i>
Matelas d'un patient	<i>Staphylococcus aureus</i>
Plaque chauffante	<i>Staphylococcus aureus</i>
Berceau bébé	<i>Staphylococcus aureus</i>
La payasse	<i>Staphylococcus aureus, Proteus spp</i>
Chariot de soins	<i>Staphylococcus aureus, Proteus spp</i>

2.6. Identification des Staphylocoque pathogènes

Les *Staphylocoques* sont des bactéries impliquées dans des pathologies variées à des degrés de gravité divers. En Algérie, elles sont considérées comme les premiers agents responsables d'infections nosocomiales, ce sont des bactéries à coloration Gram positive avec

une morphologie en Cocci regroupant une trentaine d'espèces. Les espèces les plus couramment isolées sont *Staphylococcus aureus*, *St. epidermidis* et *St. saprophyticus*. L'espèce *Staphylococcus aureus* produit une coagulase (enzyme capable de coaguler le plasma de lapin), tandis que *St. epidermidis* est coagulase négative. *St. Aureus* est le germe le plus pathogène et le plus virulent. Selon l'aspect phénotypique et les tests enzymatiques et biochimiques, deux espèces de *Staphylococcus* ont été identifiées, il s'agit de *S. aureus* et *S. epidermidis*.

La présence d'une coagulase témoigne l'appartenance de la bactérie à l'espèce *St. aureus*. En revanche, les souches testées pour la production d'une catalase ont décomposé l'eau oxygénée en eau et oxygène, donc sont catalase+. Les résultats des tests enzymatiques sont représentés par le tableau 27 et les figures 47 et 48.

Tableau 28: Résultats des tests enzymatiques de *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*

Les tests	Teste catalase	Teste coagulase
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	+	-



Figure 47 : Test coagulase positif et négatif



Figure 48 : Test catalase positif et négatif

Les isollements et les tests d'identification ont révélé par la présence de 6 espèces bactériennes dont la majorité sont des Cocci à Gram positives et se sont généralement des germes incriminés parmi les agents responsables d'infections nosocomiales. Ce Groupe représente environ 72% des germes isolés, avec une prédominance de *Staphylococcus aureus* suivi de *Staphylococcus epidermidis*. Ces deux espèces représentent un pourcentage de 44.4% et 27.7% respectivement. En revanche, les bacilles à Gram négatives représentent environ 22.2% des microorganismes isolés et appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* telles que, *E. coli*, *Proteus spp.*, et *Pseudomonas spp.*, mais aussi des bacilles à Gram positives, représentant un faible pourcentage, avoisinant 5%, et représentait par *Bacilles spp.*

Des résultats très proches sont signalés dans les travaux de Lakikza et Slimani, (2018). Ces auteurs ont obtenu 67 % de Cocci Gram positives et 33 % de Bacilles Gram négatives, avec une prédominance de l'espèce *Staphylococcus aureus*. Une autre étude réalisée par Chebbah, (2014) montre que *S. aureus* occupe la première position des germes isolés, avec un pourcentage de 68%, suivie par *E. coli* (31%). D'autre part, les résultats des travaux menés par Boukridimi et Bouyahia (2020) au niveau de la même structure hospitalière (BERREBI Abdelkader - Hammam Bouhadjar) ont révélé une présence importante de Bacilles Gram négatives (56 %), et 34 % d'Entérobactéries: Les mêmes auteurs ont signalé la présence des Cocci Gram positifs atteignant un pourcentage de 35%, avec de 30% de *St. aureus* et 10% de *St. epidermidis*.

Une autre étude réalisée par Bounab a révélé une prédominance des Gram négatifs, avec un pourcentage de 70,6 % d'Enterobactéries, 30 % d'*E. coli*, 15 % de *Proteus spp*, 10% de *Providencia spp*, 9 % de *Citrobacter spp.*, 6,6 % de *Shigella spp*, et 29,4 % de Staphylocoques, dont 16% de *St. epidermidis*, 7,4 % de *St. aureus* et 5,6 % de *S. saprophyticus*.

Selon les résultats, nous pouvons conclure que le service de maternité s'avère être le plus contaminé et présente un mauvais état hygiénique, car à lui seul, 3 germes bactériens ont été isolés, il s'agit de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Proteus mirabilis*. Ceci peut être expliqué par la présence de bactéries pathogènes. En revanche, le service de chirurgie s'avère le moins affecté par les contaminations bactériennes responsables des infections nosocomiales, en raison de l'absence des germes recherchés.

2.7. Résultat de l'Etude Cytobactériologique des Urines (ECBU)

L'urine vésicale est normalement stérile, mais au cours de la miction, elle peut se contaminer par des bactéries qui viennent de la flore physiologique de l'urètre ou des organes génitaux externes. Le diagnostic d'une infection urinaire repose sur l'examen cytotbactériologique des urines (ECBU), qui doit être pratiqué à la moindre suspicion d'infection urinaire.

2.7.1. Analyse macroscopique de l'échantillon

L'aspect macroscopique permet de donner une idée préliminaire sur l'existence d'une infection urinaire. Sur l'échantillon analysé l'aspect macroscopique a été trouble (figure 49).

Une urine trouble, est un symptôme à évaluer avec attention. Il peut s'agir d'un signe bénin et réversible provoqué par une consommation excessive de phosphate. Les aliments les plus riches en phosphate sont les aliments d'origine animale (fromage, viande rouge notamment). Une urine trouble peut aussi, et c'est le cas le plus fréquent être dû à une infection urinaire touchant la vessie ou les reins. Cette figure représente l'aspect d'urine qui nous avons analysé.



Figure 49 : Aspect macroscopique de d'urine

2.7.2. Examen directe de l'urine

L'examen au microscope optique des échantillons d'urines a révélé la présence significative de leucocytes et quelques hématies et cellules épithéliales. La présence des cristaux peut être liée à une prise des aliments trop riche en protéines, en calories et en sel. Par ailleurs la consommation excessive des produits laitiers et des poissons provoque une précipitation des cristaux d'oxalate de calcium. Les analyses microbiologiques de l'échantillon d'urine ont révélé une absence des germes microbiens. Ce résultat témoigne de l'absence d'une infection urinaire. La figure 49 présente les résultats de l'étude microscopique de l'urine.

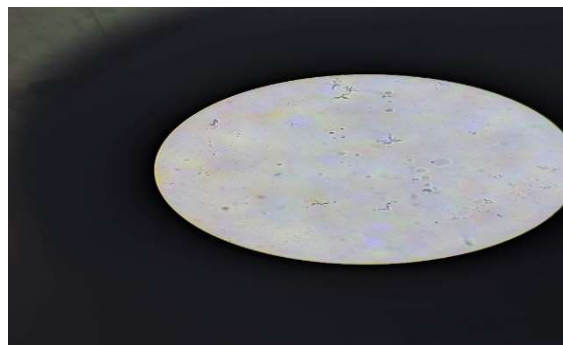


Figure 50 : Résultat de l'étude microscopique de l'urine

2.8. Résultats de l'antibiogramme

L'antibiogramme est une méthode visant à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou de plusieurs antibiotiques. Le principe consiste à cultiver une espèce bactérienne en présence d'un ou des antibiotiques et observer l'action de l'antibiotique sur la croissance et la survie de la bactérie. L'antibiogramme permet de bien choisir l'antibiotique efficace contre le germe bactérien responsable d'une infection. Les résultats de l'antibiogramme effectués sur les 3 espèces bactériennes identifiées sont présentés dans le tableau 29.

Au cours de cette étude, nous avons réalisé un antibiogramme sur 3 germes isolés dans les 3 services (chirurgie, médecine interne et maternité). La sensibilité et la résistance des isolats ont été évaluées selon les critères suivants :

- Une bactérie est dite sensible l'antibiotique est efficace. Il suffit d'une faible concentration de l'antibiotique en question pour inhiber les bactéries.

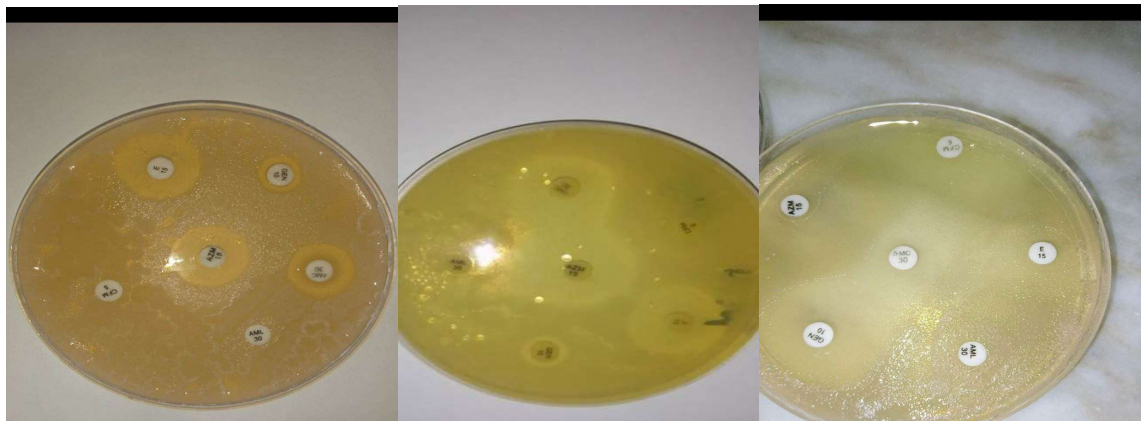
- Intermédiaire : l'antibiotique est efficace que dans certaines conditions, est imprévisible.

- Une bactérie est dite résistante l'antibiotique est inefficace. En effet, la dose nécessaire pour au moins inhiber les bactéries est beaucoup trop élevée. Après 24 à 48 heures d'incubation, des zones d'inhibitions de croissance vont apparaître dans la boîte contenant le milieu M.H. On note les résultats par la mesure du diamètre d'inhibition. Les résultats de cette étude sont présentés dans le tableau 29 et illustrés par la figure 51.

Tableau 29 : Résultats de l'antibiogramme des souches isolées

ATB Les germes identifiés	AML	AMC	E	GEN	AZM	CFM
<i>S. epidermidis</i>	R	S	S	I	S	R
<i>Bacillus spp</i>	R	S	S	I	S	R
<i>Proteus mirabilis</i>	R	R	R	R	I	R

R : résistant ; S : sensible ; I : intermédiaire

*Bacillus spp.**Staphylococcus epidermidies**Proteus spp***Figure 51** : Résultat de l'antibiogramme des souches isolées

Les résultats de l'antibiogramme sur les germes bactériens révèle une sensibilité des Coques Gram positives, il s'agit de *Staphylococcus epidermidies* qui s'est montrée sensible aux trois antibiotiques (E, AZM, AMC). L'espèce *Bacillus spp* s'est également montrée sensible aux antibiotiques (E, AZM, AMC). Il est à signalé que la perte de la sensibilité chez les bactéries est liée probablement à la présence, dans le cytoplasme des bactéries d'un facteur génétique extra chromosomique entrainant l'apparition de résistance (Petter et Russel, 1981).

En revanche, les trois germes bactériens testés se sont révélés résistants aux antibiotiques (AML et CFM). Cette résistance est un facteur majeur compliquant le traitement des infections bactériennes et facilitant la dissémination des souches multi résistantes. La résistance bactérienne aux antibiotiques se caractérise par son caractère naturel ou acquis, son mécanisme et son support génétique. La résistance naturelle se manifeste soit par une tolérance à certains antibiotiques, soit par destruction de la molécule d'antibiotique par des enzymes comme les bêta-lactamases. Ces deux formes de résistances sont fréquentes chez de nombreuses bactéries telles que les Entérobactéries (Philippon, 2008).

La résistance acquise, soit elle est d'origine chromosomique, les antibiotiques les plus affectés par ce type de résistance sont d'une même famille. Soit, elle est d'origine plasmidique, où elle se manifeste par une multi-résistance à des antibiotiques d'une même famille ou de familles différentes. Plusieurs mécanismes peuvent être utilisés par une bactérie pour résister à un antibiotique.

- Modification de la pénétration de l'antibiotique,
- Modification de la molécule qui constitue la cible de l'antibiotique,

- Production d'une enzyme capable d'inactiver l'antibiotique

Conclusion

Conclusion

Il est certain que les infections nosocomiales représentent un défi majeur pour la santé publique, tant pour les patients que pour le personnel hospitalier et les visiteurs à cause du manque de respect des modalités préliminaires d'hygiène.

Cette contribution est une première expérience à la fois très intéressante et très enrichissante dans notre spécialité de microbiologie appliquée. Au cours de cette étude, les résultats révèlent la présence d'un nombre non négligeable d'espèces de *Staphylococcus spp*, de *Bacillus*, de *Pseudomonas* et d'Entérobactéries. Dans la plupart des cas, ces espèces étaient localisées au niveau des instruments, des patients et des surfaces. Ces résultats semblent bien liés à une négligence des patients de l'effet de ces germes mais aussi, au manque d'une culture de suivi et de contrôle sanitaire. L'humain étant le barycentre dans cette problématique, il est plus qu'urgent de miser sur une politique d'information entreprenante et créative.

Il est préoccupant de constater que la plupart des souches bactériennes identifiées présentent une résistance importante aux différents antibiotiques couramment utilisés et commercialisés en Algérie. Cette résistance aux antibiotiques est un problème mondial croissant qui rend le traitement des infections nosocomiales plus difficiles et complexes. D'après la littérature, certaines espèces bactériennes ont la capacité de résister à des antibiotiques de dernière génération. La lutte contre les infections nosocomiales est difficile car elle se doit d'agir sur plusieurs facteurs : qualité des soins, sécurité de l'environnement hospitalier, hygiène des mains.... Sont autant de domaines qui doivent faire l'objet d'une vigilance renforcée et d'actions de prévention. De ce fait, la prévention reste le principal moyen de lutter contre les infections nosocomiales. Il est essentiel de mettre en place une stratégie efficace de lutte et de prévention de ces infections, en veillant à respecter rigoureusement toutes les règles d'hygiène. Cela comprend la formation continue de l'équipe soignante et la sensibilisation des patients et des visiteurs aux bonnes pratiques d'hygiène.

En Algérie, les infections nosocomiales pourraient s'envelopper ou se plier si une réglementation stricte en matière sanitaire est imposée par les établissements hospitaliers. Parmi ces règles :

- Respect des règles d'hygiène dans les différents services.
- Suivi d'une stratégie de surveillance et de lutte contre les infections nosocomiales.

- Contrôle permanent et rigoureux des personnels soignants, des lieux de soins et des instruments médicaux par les différents laboratoires d'analyse.

Le respect de ces règles de base par les différents services concernés permettrait l'épanouissement des établissements hospitaliers.

Références bibliographiques

Références bibliographique

- **Alfandari. S. (1997).** Infections nosocomiales, Épidémiologie, critères du diagnostic, Prévention et principe du traitement. Impact internat : Maladies infectieuses. Déc. N°9 :161-168.
- **Astragneau. P. (1998).** Épidémiologie des infections nosocomiales. Rev Prat. 48 :1524-9.
- **Berche. P., Gaillard J., Simonet. M. (1991).** Les infections nosocomiales d'origine bactérienne et leur prévention bactériologie des infections humaines de la biologie a la clinique. Volume 2 Paris : Flammarion.PP.64-71.
- **Bovet. P.J., Crimont. P. (1989).** Acinetobacter. In : Médicale. Paris : Flammarion.PP.599-604
- **Butrau-lemaire. M., Botto. H. (1997).** Nosocomial urinary infections. Progrès en Urologie. 7(4) :82-674.
- **Camille. Delarras. (2008).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Lavoisier. Éditions TEC and DOC. 11, rue Lavoisier F- 75008 Paris, P 463. ISBN : 978 -2 -714 – 30 – 0945 – 8.
- **Dellaras. C. (1998).** Microbiologie de l'environnement avec législation : Travaux pratique. Gaëtanmmoriuéditeur. PP .117 – 136.
- **Dia. N.M., Ka R., Dieng. C., Diagne. R., Dia. M.L., Fortes. L. (2008).** Résultats de l'enquête de prévalence des infections nosocomiales au CHNU de Fann (Dakar, Sénégal). Médecine et Maladies infectieuses. 38 :270-274.
- **Djelouat. S., zoughileche. T. (1983).** Le diagnostic biochimique bactérien édition science et technique. PP .122-123.
- **Drocourt. M., Adekambit. (2004).** L'eau en établissement de soins : Les infections nosocomiales d'origine bactérienne et leur prévention. Commission Européenne pp.4-38.
- **Ducel. G. (2002).** Prévention des infections nosocomiales qui de pratique (en ligne) in J. Fabry. France. Organisation mondiale de santé. WHO/CDS/CSR/EPH/2002.12 P71. Disponible sur <<[http : apps. WHO. Int /iris/bistream /10665/69751/WHO CDS CSR EPH 2002.12 fre.pdf](http://apps.who.int/iris/bistream/10665/69751/WHO_CDS_CSR_EPH_2002.12_fre.pdf)>>.
- **Durand -Zaleski. I., Chaix. C., Brun -Buisson. C. (2002).** Le coût des infections liées aux soins, P.29.
- **Emmanuelle.C. (2011).** Les bactéries pathogènes (en ligne). Bio 303.P12 disponible sur <<[HTTPS:// chringel. Files. Word press .com /2011/12/bio 303 – les milieux -de -culture .pdf](https://chringel.files.wordpress.com/2011/12/bio_303_-_les_milieux_-de_-culture_.pdf)>>.
- **Eric. P. (2002).** Manuels de maladie infectieuse pour l'Afrique. Paris : John libbey Euro Text. 332 P.

- FAGON. J.Y. (1998).** Pneumopathies nosocomiales à *Pseudomonas aeruginosa*. Médecine Maladies infectieuses. PP.66-159.
- Gayvallet-montredon. N., Sauvestre. C., Bergeret. M., Gendrel. D., Raymond. J. (2002).** Bactériémies nosocomiales en pédiatrie. Archives de pédiatrie. PP.84-679.
- Hart. T., Shears. P. (2002).** Atlas de poche de microbiologie, 3 tirage, Paris. PP. 32-34.
- JAN. Verhaegen. (2011).** Bacteriologie (en ligne). P54 disponible sur <<<https://www.kuleuven.be/vesaliusonline/UNIKEN%20KONGO.doc>>>
- Joffinj. N., Leyral. G. (2001).** Microbiologie technique, Centre régional de documentation pédagogique d'Aquitaine.
- Johnson. E.N., Burns. T.C., Hayda. R.A., Hospenthal .D.R., Murray. C.K. (2007).** Infectious complications of open type III tibial fractures among combat casualties. Clin Infect Dis. 45: 409-15.
- Kamelan. C.O.P., Samba. M., Brou. K., Quattara. A (2009).** Evaluation des Connaissances, Attitudes et Pratiques. Vol. 8, n°2.
- Laupland. KB., Bragshaw. SM., Gregson. DB., Kirkpatrick. AW., Ross. T. (2005),** Intensive care unit-acquired urinary tract infections in a regional critical care system Critical Care: PP: 60-65.
- Light. F., Nigel. F. (2002).** Analyses microbiologiques des aliments et de l'eau directives pour l'assurance qualité. PP. 387-398.
- Maiga. B. (2003).** Pratiques d'hygiène hospitalière dans les structures sanitaires : Hôpital Gabriel Touré, Hôpital Régional de Sikasso, CNOS. Centre de Santé Référence de la Commune IV de Bamako. Pharmacie Faculté de Médecine de Pharmacie et D'Odonto-Stomatologie.67p.
- Mchich. A. (2002).** Les infections nosocomiales à propos de 55 cas colligent au Maroc université Cheikh Anto Diop de Dakar faculté de médecine, de pharmacie et d'odontologie département de pharmacie- thèse présentée et soutenue publiquement pour obtenir le grade de docteur en pharmacie (diplôme d'état) -Sous la direction d'Issa Lô, Professeur le 05 juillet 2002-N° 40.
- Meskin. A., Benabdelkader. L. (2015).** Etude de la résistance et la multi résistante aux antibiotiques de souches isolées du milieu hospitalier. Mémoire de master. Université des Frères Mentouri Constantine. P 33
- Moralejo. D. (2008).** Les infections mesures pour les éviter. ASSTSAS : 2008. P :4.
- OMS (Organisation Mondiale de la Sante). (2010).** Prévention des infections nosocomiales. Guide Pratique.
- POPI. (1999).** Maladies infectieuses. Paris : Association des professeurs de pathologie infectieuse et tropicale, pp.159-169.

•**Radier. J. (1996).** L'analyse de l'eau. Eaux naturelles, Résiduaires, eau de mer. 8^{ème} édition. Dunod. Paris, PP. 138-145.

•**Talaat. M., Hafez. S., Saied. T., Elfeky. R., el-shoubary. W., Pimentel. G. (2010).** Surveillance of catheter-associated urinary tract infection in 4 intensive care units at Alexandria university hospitals in Egypt Am J Infect Control. 38 : 222-424

•**Tasseau. F., Baron. De. (1989).** Infections nosocomiales. In : Bruker G et Fassin D. eds santé publique. Paris: Ellipses .PP .478-79.

•**Tenke. P., Kovacs .B., Bjerklund. TE., Matsumoto. T., Tambyah. PA. (2008).** European and Asian guidelines on management and prevention of catheter-associated urinary tract infections Int J Antimicrob Agents: 31:68-78.

•**Vincent. J. (2000).** Bactéries multi résistantes dans les hôpitaux français : bilan en 2000 et perspectives de surveillance nationale dans le cadre du réseau d'alerte d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales (RAISIN).

•**Wilson. M. (2001).** Laboratory diagnostic of urinary tract infections in adult patient, clinical. Infectious diseases, 38 (8), 1150-1158.

•**Znazen. A., MezghaniMaalej. S., Ghazzi. R., Smaoui. H., Mnif. B., Mahjoub. F., Kechrid. A., Boutiba. I., Ben Redjeb. S., Hammami. A. (2010).** Résistance de streptococcus pneumoniae aux antibiotiques en Tunis : étude multicentrique, laboratoire de microbiologie, CHU Habib Bourguiba, sfax. Laboratoire de microbiologie, hôpital d'enfant, Tunis. Laboratoire de microbiologie, CHU Charles Nicolle, Tunis.

Samou F. H. S. (2005). Les infections nosocomiales dans le service de chirurgie B de l'hôpital du point G. Thèse de doctorat, Université du Mali. pp. 33-57.

[1]. [Infection nosocomiale : définition, causes et conséquences \(medisafe.fr\)](http://medisafe.fr).

[2]. [Infection : définition, les différents types, traitements \(journaldesfemmes.fr\)](http://journaldesfemmes.fr).

[3]<http://www.microbes-edu.org/etudiant/staph.html>

[4]<http://www.celinparisnord.org/Usagers/prev/PrevDream.htm>

[5]<http://ch-ham.pagesperso-orange.fr/pageLibre000102e4.html>

Annexes

Annexe01 : Composition des milieux de cultures

Milieux de culture	Composition
composition de gélose Nutritive	Extrait de viande.....1.0g Extrait de levure.....2.0g Peptone.....5.0g Chlorure de sodium..... 5.0g Agar.....15.0g pH=7,4
Composition de la gélose Hecktoen	Peptone.....12,0 g Extrait de levure.....3,0 g Désoxycholatedesodium..... 9.0g Lactose.....12.0g Saccharose.....12.0g Salicine..... 2.08 Blue de bromothymol..... 65 mg Fuchsine acide.....100mg Thiosulfate de sodium.....5,0 g Citrate ferriqueammoniacal..... 1.5 g Chlorure de sodium..... 5.0 g Agar.....15.0g Eau distillée.....1L pH=7.5
Composition de la gélose BCP	Peptone.....5.0g Extrait de viande.....3.0g Lactose.....10.0g Bromocrésol pourpre.....0.25g Agar.....11.0g Eau distillée.....1L pH=6
composition de la gélose Mueller-Hinton	Hydrolat acide de caséine (peptone) 17.5g Extrait de viande.....2,0 g Amidon1,5 g Calcium20 à 25 mg Magnésium10 à 12,5mg Agar..... 15,0g Eau distillée1L pH=7,4+/-0,2
composition de la Gélose Chapman	Peptone.....10,0 g Extrait de viande de bœuf1,0g Chlorure de sodium.....75.0 g Mannitol 10,0g Rouge de phénol.....0,025 g Agar.....15,0 g Eau distillée.....1 L pH=7,5
composition du Bouillon Nutritif :	Extrait de viande.....3,0 g/L Peptone5,0 g/L pH=6,8

Annexe 02 : Les réactifs de la coloration de Gram



Les réactifs	Composition
Lugol	Iode1g Iodure de potassium2g Eau distillée3g Violet de gentiane violet de gentiane1g Ethanol a90%.....10 ml Acide phénique neigeux.....2g Eau distillée100ml
Fushine	Fushine basique10g Alcool éthylique.....10ml Eau distillé100ml
Violet de gentiane	Violet gentiane01g Ethanol à 90%.....10ml Phénol..... 02g Eau distillée100 ml

Annexe 03 : Les milieux pour les tests biochimiques classiques

Les milieux	La composition
Milieu TSI	Agar12g/L Extrait de l'œuf3g/L Extrait de levure3g/L Peptone.....20g/L Lactose.....10g/L L-Saccharose.....10g/L NaCl.....5g/L Glucose.....1g/L Citrate ferrique 3g/L Thiosulfate de sodium 3g/L Rouge de phénol.....0,025 g/L Eau distillée.....1000ml Ajuster le pH à 7,4
Milieu citrate de Simmons	Chlorure de sodium.....5g Sulfate de magnésium.....0.2g Phosphate d'ammonium POH.....1g Phosphate di potassique POHK.....2g Citrate trisodique.....2g Solution de bleu bromothymol1%.....8ml Agar.....15g Eau distillée.....1000ml Ajuster pH 7.2.
Milieu mannitol- mobilité	Peptone pancréatique de viande.....20g/L agar-agar.....4g/L Mannitol.....2g/L Nitrate de potassium.....1g/l Rouge de phénol solution à 1%.....4ml Eau distillée.....1000ml Ajuster à pH 7,2
Milieu urée indole	L-tryptophane3g Phosphate monopotassique.....1g Phosphate di potassique1g Chlorure de sodium.....5g Urée.....20g Solution rouge de phénol à 1%.....2,5ml Alcool à95° Eau distillée.1000 ml

Annexe 04 : La lecture des résultats des tests biochimiques.

Les tests biochimiques	lecture	Figures
TSI	Lactose + Saccharose+ Glucose+ : virage de culot au jaune Production de Gaz+ : apparition des bulles ou des poches gazeuses qui décalent la gélose de fond de tube. Production d'H ₂ S: noircissement du milieu.	
Urée-indole	Uréase+ : Virage du milieu au rouge/rose. Indole+ : Apparition d'un anneau rouge en surface après l'ajout de kovacs quelques gouttes de réactif de kovacs	
Citrate de Simmons	Citrate virage de milieu au bleu et une culture de colonie sur la pente.	
Mannitol mobilité	Mannitol+ : Coloration jaune du milieu Mobilité+ : apparition de la diffusion des bactéries dans la gélose de part est d'autre de la piqûre centrale	
OMPG	ONPG+ : apparition de couleur jaune qui signifie que la bactérie a hydrolysé l'ONPG en ONP.	
Oxydase	Oxydase+ : l'apparition d'une coloration violette	

Catalase	Catalase+ : dégagement gazeux abondant sous forme de mousse	
Coagulase	Coagulase+:la formation d'un coagulum	

Annexe 05 : Disques d'antibiotiques

AMC: Amoxyclav

AZM: Azithromycin

AML: Amoxicilline

CFM: Cefixime

E: Erythromycine

GEN: Gentamicine

Résumé

Les infections nosocomiales constituent un fléau de santé publique. Elles peuvent être liées directement aux soins hospitalier ou survenir hors de tout acte médical ; leur origine peut être endogène ou exogène. L'objectif principal de cette étude est d'identifier les bactéries responsables des infections nosocomiales en les isolant à partir de diverses sources telles que les instruments, les patients, l'air dans le bloc opératoire et les services de médecine interne, chirurgie et maternité. Différentes méthodes ont été utilisées pour isoler, purifier et pré-identifier les germes. L'étude a porté sur les caractéristiques phénotypiques et microscopiques, des tests biochimiques classiques et l'antibiogramme. Les résultats bactériologiques ont révélé une diversité non négligeable d'espèces, parmi ces espèces, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus spp*, *Pseudomonas spp*, *Escherichia coli*, *proteus mirabilis*. L'espèce *Staphylococcus aureus* s'avère, l'isolat le plus répandu. Les résultats de l'antibiogramme ont révélé une variabilité de la réponse des germes bactériens vis-à-vis des antibiotiques testés, en particulier aux antibiotiques AMC, AZM, AML, CFM, E, GEN dont, certains isolats se sont révélés sensibles alors que d'autres se sont montrés résistants.

. **Mots-clés** : Infections nosocomiales, *Staphylococcus Spp*, *Pseudomonas Spp*, *Bacillus Spp*, *Proteus Spp*, Antibiogramme.

Abstract

Nosocomial infections constitute a scourge of public health. They can be directly related to hospital care or occur outside of any medical act; their origin can be endogenous or exogenous. The main objective of this study was to identify the bacteria responsible for nosocomial infections by isolating them from various sources such as instruments, patients, air in the operating room and internal medicine, surgery and maternity departments. Different methods have been used to isolate, purify and pre-identify germs. The study focused on phenotypic and microscopic characteristics, standard biochemical tests and antibiogram. The bacteriological results revealed a significant diversity of species, among these species, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus spp*, *Pseudomonas spp*, *Escherichia coli*, *proteus mirabilis*. The *Staphylococcus aureus* species is found to be the most common isolate. The results of the antibiogram revealed a variability in the response of the bacterial germs to the antibiotics tested, in particular to the antibiotics AMC, AZM, AML, CFM, E, GEN certain isolates proved to be sensitive while others were shown to be resistant.

ملخص

يمكن أن تكون مرتبطة بشكل مباشر بالرعاية في المستشفى أو تحدث. التهابات المستشفيات هي آفة للصحة العامة الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو التعرف على. خارج أي عمل طبي، ويمكن أن يكون أصلها داخليًا أو خارجيًا البكتيريا المسؤولة عن التهابات المستشفيات من خلال عزلها من مصادر مختلفة مثل الأدوات والمرضى والهواء في. تم استخدام طرق مختلفة لعزل وتنقية وتحديد الجراثيم. غرفة العمليات وأقسام الطب الباطني والجراحة والأمومة ركزت الدراسة على الخصائص المظهرية والميكروسكوبية والاختبارات البيوكيميائية القياسية والمضادات الحيوية

، *Staphylococcus aureus* كشفت النتائج البكتريولوجية عن تنوع كبير في الأنواع ، من بين هذه الأنواع ،
، *Staphylococcus epidermidis* ، *Bacillus spp* ، *Pseudomonas spp* ، *Escherichia coli* ،
Proteus mirabilis. لتكون العزلة الأكثر شيوعاً *Staphylococcus aureus* تم العثور على أنواع
نتائج المضاد الحيوي تبايناً في استجابة الجراثيم البكتيرية للمضادات الحيوية التي تم اختبارها ، لا سيما المضادات
، والتي أثبتت بعض العزلات أنها حساسة بينما أثبتت GEN و E و CFM و AML و AZM و AMC الحيوية
. البعض الآخر مقاومتها .