

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 Temouchent- Belhadj Bouchaib  
Faculté des Sciences et de Technologie  
Département de biologie



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 Bactériens Responsables des Infections Nosocomiales au Niveau de Trois Services (Bloc opératoire, cuisine, hémodialyse)- L'EPH de Hammam Bouhdjar- Ain Temouchent**

**Présenté Par :**

- 1) Melle. BOULEDJERAF Halima
- 2) Melle. SAHARAOUI Nihed
- 3) Mme. HALAILI Wafaa

**Devant le jury composé de :**

Dr. BOUGHALEM M.	Professeur	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Président
Dr. CHERIF N.	M C A	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Examinateur
Dr. BELLAHCENE M.	Professeur	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Encadrant

Année Universitaire 2022/2023

# Remerciements

*Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné le courage et la force pour mener ce modeste travail jusqu'au bout.*

*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 loin à la réalisation de ce projet de fin d'études.*

*Tout d'abord, nos remerciements les plus sincères s'adressent à M. le Directeur de l'hôpital **BERREBI Abdelkader** de Hammam Bouhdjar, **M. ABED Mohamed** pour son accueil et pour son autorisation pour pouvoir réaliser la partie pratique.*

*Nos sincères remerciements et notre respect vont à notre encadreur **M. BELLAHCENE Miloud** enseignant au Université d'Ain-Temouchent qui nous a donné l'opportunité de réaliser ce travail, nous le remercions de tout cœur pour la patience et la confiance qu'il nous a toujours accordé durant ces mois de travail. Nous le remercions également pour sa disponibilité sans Fail, ces précieux conseils scientifiques et ces encouragements qui nous ont indiscutablement permis d'évoluer.*

*Nos vifs remerciements vont aux membres du jury, **Mme. BOUGHALEM M.** et **M. CHERIF N.**, pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail en acceptant d'examiner ce modeste mémoire.*

*Nous ne pouvons pas oublier de remercier Monsieur le chef de service du laboratoire, **M. GATIA Bouhdjar**, ainsi que toute l'équipe du service de bactériologie du laboratoire de l'hôpital **BERREBI Abdelkader** à Hammam Bouhdjar. En particulier, nous exprimons notre gratitude à **M. CHAREF AFROUL Sid Ahmed** et à **Mme. BELABBES Amina** pour leur précieuse contribution, leurs conseils et leur soutien. Nous vous sommes très reconnaissants pour tout ce que vous avez fait pour nous.*

*En conclusion, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à toutes les personnes mentionnées ci-dessus pour leur contribution à notre projet de fin d'études. Votre soutien, vos conseils et votre confiance ont été d'une importance capitale dans la réalisation de ce travail. Merci infiniment.*



## *Dédicace*

D'un profond amour et d'une immense gratitude je dédie ce modeste travail :

Aux deux êtres les plus chers, mes parents **Mohamed** et **Rahmouna**, qui a été mon soutien inébranlable tout au long de mon parcours d'étude et de la rédaction de ce mémoire, je suis immensément reconnaissant pour leur amour inconditionnel, leur soutien indéfectible et leurs encouragements constants.

À mes chères frères **Oussama** et **Abd elkarim**, Votre présence dans ma vie est un cadeau inestimable.

À mon grand-père **Labed bakhada**, dont la sagesse et l'expérience m'ont inspiré à persévérer et à me dépasser.

À **Halima**, ma précieuse amie, qui a partagé avec moi le parcours de nos études depuis notre enfance jusqu'à la réalisation de notre rêve de présenter notre mémoire de fin d'études ensemble et de réussir, qui a été mon soutien inestimable à chaque étape de ma vie. Notre amitié précieuse a rendu ce parcours encore plus significatif.

À mes meilleurs amies **Samira**, **Hadil** et **Ikram**, qui ont toujours été là pour moi, me motivant et m'apportant une dose indispensable de joie et de positivité.

À ma collègue **Wafaa**.

À toutes les personnes qui m'ont aidée de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.

*Mlle. SAHARAOUI Nihed*





## *Dédicace*

Je dédie ce modeste travail :

A la mémoire de **mon Père** décédé, je vous dédie de tout cœur cet événement important de ma vie. Tu as toujours été ma source d'inspiration et de motivation.

À **ma chère maman**, aucune dédicace ne peut exprimer pleinement mon respect et mon amour pour toi. Tu as fait d'innombrables sacrifices, soutenu inconditionnellement mes études et prié pour mon instruction. Je te suis éternellement reconnaissant pour ton amour inébranlable.

A mes cher frères **Kamel** et **Salah**, ma fierté dans cette vie.

A ma tendre, adorable sœur **Samira** pour vos encouragements constants, votre soutien indéfectible et votre fierté à mon égard.

A ma chère tante **Nadjat** et son époux **Nordine**. Vous avez joué un rôle essentiel dans ma vie et je tiens à vous remercier sincèrement.

A mes chères amies, **Hadil**, **Ikram** je les remercie pour le sourire qu'elles ont su toujours dessiner sur mon visage.

A ma meilleure amie, **Nihed** Tout d'abord, je te remercie pour ta présence dans ma vie. Tu as été un pilier solide et une source d'inspiration pour moi. Dans les moments difficiles, tu as toujours été à mes côtés. Je suis reconnaissant pour tous les beaux moments que nous avons partagés.

A ma collègue **Wafaa** qui m'a accompagné durant ce projet.

*Mlle. BOULEDJERAF Halima*





## *Dédicace*

### **A ma mère :**

Les mots ne suffisent pas pour exprimer toutes l'affection que j'éprouve pour toi. Je te dois Ma réussite, mon éducation, ma fierté. Tu m'as aimé très profondément et tu as été toujours une mère idéale. Que dieu te protège

### **A mon père :**

Vous m'avez l'éducation et enseigné le sens de l'honneur, de la dignité, de la probité Moral et respect de soi

Votre affection, votre soutien moral et matériel ne m'ont jamais fait défaut  
Vos conseils m'ont beaucoup aidé et je crois avoir atteint en partie objectifs.  
Merci infiniment pour toute ce que vous avez fait pour moi jusqu' a cet instant  
Qu'ALLAH puise vous accorder encore santé, bonheur, et longévité

### **A mon marie :**

Qui ma toujours soutenu et qui a fait tout possible pour m'aider. Que dieu te garde

### **A mes sœur : IMEN et DJIHAN**

### **A mon frère : AYOUB**

Merci pour tous les efforts aux quels vous avez toujours consentis pour moi voir réussit. Merci pour tes encouragements et tes conseils

### **A mes binômes : HALIMA et NIHAD**

### **A mes copines : YOUSRA et GHZALA**

A toute ma famille, mes grand mère, oncles, tantes, cousines, cousin, ma belle mère, mes belles sœurs, mon beau frère et à ce qui ont rendu ma vie agréable

*Mme. HALAILI Wafaa*



## Table des matières

### LISTE DES ABREVIATIONS

### LISTE DES FIGURES

### LISTE DES TABLEAUX

<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
<b>CHAPITRE 1 : Synthèse Bibliographique</b>	
<b>GÉNÉRALITÉ SUR LES INFECTIONS NOSOCOMIALES.....</b>	<b>2</b>
<b>1. DÉFINITION : QU'EST-CE QU'UNE INFECTION NOSOCOMIALE ? .....</b>	<b>2</b>
<b>2. ÉPIDÉMIOLOGIE .....</b>	<b>2</b>
<b>3. LA CHAÎNE D'INFECTION .....</b>	<b>3</b>
3.1. L'HÔTE.....	3
3.2. LA SOURCE (RÉSERVOIR) .....	4
3.3. VECTEUR .....	4
<b>4. MODE DE TRANSMISSION.....</b>	<b>4</b>
4.1. L'AUTO-INFECTION .....	4
4.2. L'HÉTÉRO INFECTION .....	4
4.3. L'XÉNO-INFECTION .....	5
4.4. L'EXO-INFECTION .....	5
<b>5. LES ORIGINES DE L'INFECTION NOSOCOMIALE .....</b>	<b>5</b>
5.1. INFECTION D'ORIGINE ENDOGÈNE .....	5
5.1. INFECTION D'ORIGINE EXOGÈNE.....	6
<b>6. LES FACTEURS DE RISQUE D'INFECTIONS NOSOCOMIALES.....</b>	<b>7</b>
6.1. LES FACTEURS LIÉS AUX MALADES .....	7
6.2. LES FACTEURS DE RISQUE ASSOCIÉS AUX TRAITEMENTS ET ACTES MÉDICAUX .....	8
6.3. LES FACTEURS DE RISQUE LIÉS À L'ENVIRONNEMENT.....	8
6.4. LES FACTEURS DE RISQUE LIÉS À L'AGENT INFECTIEUX .....	8
<b>7. LES TYPES DES INFECTIONS NOSOCOMIALES.....</b>	<b>8</b>
7.1. LES INFECTIONS URINAIRES NOSOCOMIALES .....	8
7.2. LES INFECTIONS PNEUMOPATHIE .....	8
7.3. LES INFECTIONS DE SITE OPÉRATOIRE .....	9
7.4. LES INFECTIONS SUR CATHÉTER .....	9
7.5. LES INFECTIONS DE LA PEAU.....	9
7.6. LA BACTÉRIÉMIE .....	10
7.7. LA SEPTICÉMIE .....	10
7.8. DIGESTIVE .....	11
7.9. AUTRES INFECTIONS.....	11
<b>8. LES AGENTS RESPONSABLES .....</b>	<b>11</b>
8.1. LES PARASITES .....	11
8.2. LES CHAMPIGNONS.....	12

8.3. LES VIRUS.....	12
8.4. LES BACTÉRIES .....	12
8.5. LA RÉSISTANCE BACTÉRIENNE AUX ANTIBIOTIQUES .....	14
8.5.1. La résistance aux antibiotiques .....	14
8.5.2. La sensibilité aux antibiotiques.....	14
<b>9. LES SYMPTÔMES DES INFECTIONS NOSOCOMIALES.....</b>	<b>14</b>
<b>10. TRAITEMENT DES INFECTIONS NOSOCOMIALES.....</b>	<b>15</b>
<b>11. PRÉVENTION DES INFECTIONS NOSOCOMIALES .....</b>	<b>15</b>
11.1. MESURES GÉNÉRALES DE PRÉVENTION.....	15
11.2. PRINCIPES GÉNÉRAUX DE PRÉVENTION AU NIVEAU DES STRUCTURES HOSPITALIÈRES.....	16
11.3. MESURES SPÉCIFIQUES DE PRÉVENTION .....	17
11.3.1. Prévention des infections urinaires nosocomiales sur sonde .....	17
11.3.2. Prévention des pneumonies nosocomiales.....	17
11.3.4. Prévention des infections sur cathéter.....	18
11.3.5. Prévention des bactériémies nosocomiales.....	18
11.3.6. Prévention des infections gastro-intestinales .....	18
11.3.7. Prévention des infections néonatales .....	19
<b>12. LA LUTTE CONTRE LES INFECTIONS NOSOCOMIALES .....</b>	<b>19</b>

## CHAPITRE 2 : MATÉRIEL ET MÉTHODE

<b>1- PRÉSENTATION DE LIEU D'ÉTUDE.....</b>	<b>22</b>
<b>2- CADRE D'ÉTUDE .....</b>	<b>22</b>
<b>3- MATÉRIELS .....</b>	<b>22</b>
<b>4- MÉTHODE DE PRÉLÈVEMENT .....</b>	<b>22</b>
4.1. MÉTHODE DE PRÉLÈVEMENT.....	23
4.1.1. Prélèvement à partir de l'environnement.....	23
4.1.1.1- Prélèvement à partir surface sèches.....	23
4.1.1.2- Prélèvement à partir de l'air .....	23
4.1.2. Prélèvement à partir des patients .....	24
4.1.2.1- Prélèvement d'urine.....	24
4.2. ENRICHISSEMENT .....	24
4.3- ISOLEMENT DES BACTÉRIES.....	24
4.3.1. Isolement à partir de surface sèches.....	25
4.3.2. Isolement à partir de l'air.....	26
4.3.3. Isolement à partir des échantillons d'urines.....	27
4.3.4. Purification des bactéries .....	27
4.4- IDENTIFICATION DES BACTÉRIES .....	27
4.4.2.1- L'examen à l'état frais.....	28
4.4.2.2- Examen après coloration .....	28
4.4.2.2.1- Préparation d'un frottis bactérien.....	29
4.4.2.2.2- Coloration simple (coloration au bleu de méthylène).....	29
4.4.2.2.3- Coloration différentielle (coloration de Gram).....	29
4.4.3- Identification biochimiques .....	30

4.4.3.1- Les tests biochimiques classiques.....	30
4.4.3.1.1-TSI (Triple Sugar Iron) .....	30
4.4.3.1.2- Milieu Urée - Indole .....	31
4.4.3.1.3-Test Citrate de Simmons .....	31
4.4.3.1.4- Test de Mannitol mobilité .....	32
4.4.3.1.5- Recherche de l'ONPG .....	32
4.4.3.1.6- Test d'oxydase (recherche de l'oxydase) .....	33
4.4.3.2- Caractères biochimique des Staphylocoques pathogènes.....	33
4.4.3.2.1- Test de la catalase (recherche de la catalase) .....	33
4.4.4- Test de la sensibilité des souches aux antibiotiques (l'antibiogramme).....	34
4.4.4.1- L'antibiogramme .....	34
4.4.4.2- But de l'antibiogramme .....	34
4.4.4.3- Principe .....	34
4.4.4.4- Mode opératoire .....	35
4.4.4.5- Lecture des résultats .....	36

### **CHAPITRE38 : RÉSULTATS ET DISCUSSION**

<b>ERREUR ! SIGNET NON DÉFINI.1- RÉSULTATS DE L'ÉTUDE BACTÉRIOLOGIQUE.....</b>	<b>39</b>
1.1- RÉSULTATS DE L'ENRICHISSEMENT .....	39
1.2-RÉSULTATS DE L'ÉTUDE MACROSCOPIQUE ET MICROSCOPIQUE DES BACTÉRIES ISOLÉES.....	40
1.2.1. Résultats des isolements au niveau du service de cuisine.....	41
1.2.2. Résultats des isolements au niveau du service d'hémodialyse .....	44
1.2.3. Résultats des isolements au niveau du service de bloc opératoire .....	48
1.3. PRÉ-IDENTIFICATION DES BACTÉRIES .....	50
1.4- RÉSULTAT DE L'IDENTIFICATION BIOCHIMIQUE.....	50
1.4.1. Résultats des tests biochimiques classiques.....	50
1.5- RÉSULTATS DE TEST OXYDASE.....	52
1.6- IDENTIFICATION DES STAPHYLOCOQUES PATHOGÈNES .....	52
1.6.1. Résultat du test catalase .....	53
1.7- RÉSULTATS DE L'ANTIBIOGRAMME .....	55
<b>DISCUSSION GÉNÉRALE .....</b>	<b>58ERREUR ! SIGNET NON DÉFINI.</b>
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>59</b>
<b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	
<b>ANNEXE</b>	
<b>RÉSUMÉ ABSTRACT ملخص</b>	

## Liste des abréviations

**API 20E** : Analytical Profile Index 20E (E= Entérobactéries)  
**ATB** : Antibiotique  
**BCP** : Gélose Bromocrésol Pourpre  
**BGN** : Bacille Gram Négatif  
**BN** : Bouillon Nutritif  
**CCLIN** : Centre de Coordonateur de la Lutte contre les Infections Nosocomiales  
**CHAP** : Gélose Chapman  
**CHU** : Centre Hospitalo-universitaires.  
**CIT** : Citrate de Simmons  
**ENP** : Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales  
**GN** : Gélose Nutritive  
**HK** : Gélose Hektoen  
**H<sub>2</sub>S** : Le Sulfure d'Hydrogène, ou Hydrogène Sulfuré  
**I** : Intermédiaire  
**IAS** : Infection Associée aux Soins  
**IN** : Infection Nosocomiale  
**IND** : Indole  
**ISO** : Infection de Site Opérateur  
**IU** : Infection Urinaire  
**IUN** : Infection Urinaire Nosocomiale  
**MC** : Gélose Mac Conkey  
**MH** : Gélose Mueller Hinton  
**OMS** : l'Organisation Mondiale de la Santé  
**ONPG** : Ortho-Nitrophényl-  $\beta$  -D-galactopyranoside  
**R** : Résistant  
**RAISIN** : Réseau d'Alerte, d'Investigation et de Surveillance des Infections Nosocomiales  
**S** : Sensible  
**S.d** : Sans date  
**TSI** : Triple Sugar Iron  
**URE** : Uree indole

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Schéma représentant la prévalence.....	3
<b>Figure 2:</b> Schéma explicatif de la chaîne de l'infection.....	3
<b>Figure 3:</b> Schéma des infections d'origine endogène. ....	6
<b>Figure 4:</b> Schéma des infections d'origine exogène. ....	7
<b>Figure 5:</b> Répartition des infections nosocomiales selon le site infectieux .....	11
<b>Figure 6:</b> La méthode des stries. ....	26
<b>Figure 7:</b> La méthode des quadrants. ....	26
<b>Figure 8:</b> Méthode d'ensemencement.....	35
<b>Figure 9:</b> Méthode d'ensemencement.....	35
<b>Figure 10:</b> Dépôt des disques d'antibiotiques à la surface gélosée.....	36
<b>Figure 11:</b> Résultat de l'antibiogramme. ....	37
<b>Figure 12:</b> Milieux de cultures témoins (non ensemencés) A : GN, B : Chap., C : BCP et D : SB.....	42
<b>Figure13:</b> Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N° 01 et aspect microscopique après coloration de Gram (Bacille G+) (G. 100). ....	43
<b>Figure14:</b> Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°02 et aspect microscopique après coloration de Gram (Bacille Gram+) (G×100). ....	43
<b>Figure15:</b> Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°03 et aspect microscopique après coloration de Gram (Bacille Gram+) (G×100). ....	43
<b>Figure 16:</b> Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°04.....	43
<b>Figure17:</b> Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°05 et aspect microscopique après coloration de Gram (Bacille Gram+) et (Bacille Gram-) (G×100). ....	43
<b>Figure18:</b> Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°06 et aspect microscopique après coloration de Gram (Cocci Gram+)(G×100). ....	44
<b>Figure 19:</b> Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°07.....	44
<b>Figure 20:</b> Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°08.....	46
<b>Figure21:</b> Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°09 et aspect microscopique après coloration de Gram (Cocci Gram+) (G×100). ....	46
<b>Figure22:</b> Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°10 et aspect microscopique après coloration de gram (Cocci Gram+) (G×100). ....	46
<b>Figure 23:</b> Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°11.....	46
<b>Figure24:</b> Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°12 et aspect microscopique après coloration de Gram (Cocci Gram+) (G×100). ....	47
<b>Figure25:</b> Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°13 et aspect microscopique après coloration de Gram (Cocci Gram+) (G×100) .....	47
<b>Figure26:</b> Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°14 et aspect microscopique après coloration de Gram (Cocci Gram+) (G×100).....	47

<b>Figure 27:</b> Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°15.....	47
<b>Figure28 :</b> Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°16 et aspect microscopique après coloration de Gram (Cocci Gram+) (G×100).....	49
<b>Figure 29:</b> Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°17.....	49
<b>Figure30:</b> Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°18 et aspect microscopique après coloration de Gram (Bacille Gram+) (G. 100). .....	49
<b>Figure31:</b> Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°19 et aspect microscopique après coloration de Gram (Cocci Gram+) (G×100) .....	49
<b>Figure32:</b> Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°20 et aspect microscopique après coloration de Gram (Cocci Gram+) (G×100) .....	49
<b>Figure 33:</b> Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°21.....	50
<b>Figure 34:</b> L'observation microscopique à l'état frais.....	50
<b>Figure 35:</b> Résultats des caractères biochimiques des germes bactériens. ....	51
<b>Figure 36:</b> Test d'oxydase. ....	52
<b>Figure 37:</b> Test de Catalase.....	53
<b>Figure 38:</b> Résultats de l'antibiogramme.....	56

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Quelques bactéries responsables d'infection nosocomiales. ....	13
<b>Tableau 2:</b> Autres micro-organismes responsables d'infections nosocomiales.....	13
<b>Tableau 3:</b> Présentation des sites de prélèvement. ....	22
<b>Tableau 4:</b> Disques d'antibiotiques utilisés et leur charge. ....	36
<b>Tableau 5:</b> Résultats de l'enrichissement. ....	39
<b>Tableau 6:</b> Résultats de l'étude macroscopique au niveau du service de cuisine.....	41
<b>Tableau 7:</b> Résultats de l'étude macroscopique au niveau du service d'hémodialyse. ....	44
<b>Tableau 8:</b> Résultats de l'étude macroscopique au niveau du service de bloc opératoire. ....	48
<b>Tableau 9:</b> Résultats des tests biochimiques classiques. ....	51
<b>Tableau 10 :</b> Résultats des tests enzymatiques des genres de <i>Staphylocoques</i> .....	53
<b>Tableau 11:</b> Résultats de l'identification des espèces bactériennes pour chaque site de prélèvement.....	54
<b>Tableau 12:</b> Résultats de l'antibiogramme des souches bactériennes isolées. ....	56

# *Introduction*

### Introduction

Les infections nosocomiales sont un problème de santé publique majeur dans les établissements de soins de santé, tels que les hôpitaux, les cliniques et les centres de santé publique. Elles sont responsables d'un taux élevé de mortalité et de morbidité dans les hôpitaux, ainsi que d'importantes pertes financières. Les infections nosocomiales touchent des millions de patients dans le monde chaque année (Njall *et al.*, 2013).

La prévalence de ces infections varie selon les pays, les régions et les établissements de santé. Dans les pays développés, les infections nosocomiales touchent en moyenne 3,5 à 12,0 % des patients hospitalisés, tandis que dans certains pays en voie de développement, les taux d'incidence peuvent varier de 5,7 à 19,1 % (Su *et al.*, 2021).

En Algérie, la prévalence des infections nosocomiales est en augmentation, entraînant une morbidité et une croissance croissantes ainsi qu'un surcoût important pour le système de santé. La mise en place de programmes de lutte efficace contre les infections nosocomiales est donc essentielle pour réduire leur prévalence et améliorer la qualité des soins de santé.

Dans les hôpitaux, un grand nombre de micro-organismes tels que des champignons, des virus, des parasites et des bactéries colonisent l'environnement. Les bactéries sont souvent les premiers acteurs ainsi que les principales responsables de ces infections et peuvent être transmises par contact direct ou indirect avec des surfaces contaminées ou des personnes infectées. C'est dans ce contexte que s'inscrit notre présent travail qui s'articule autour de trois chapitres avec une introduction justifiant l'intérêt de cette étude, une synthèse bibliographique, une partie matériel et méthodes et un chapitre résultats et discussion. L'objectif de cette contribution est d'isoler, purifier et identifier des bactéries à partir de trois services, au niveau de l'hôpital de Hammam Bouhadjar – Wiliya Ain Témouchent.

Le premier chapitre comprend une synthèse bibliographique consacrée essentiellement aux infections nosocomiales. Le deuxième chapitre présente la partie expérimentale qui comprend, les tests mis en œuvre au cours de ce travail. Enfin, le dernier chapitre regroupe les résultats et leur discussion. Ce travail est clôturé par une conclusion générale et quelques perspectives.

# ***Chapitre 1***

## ***Synthèse Bibliographique***

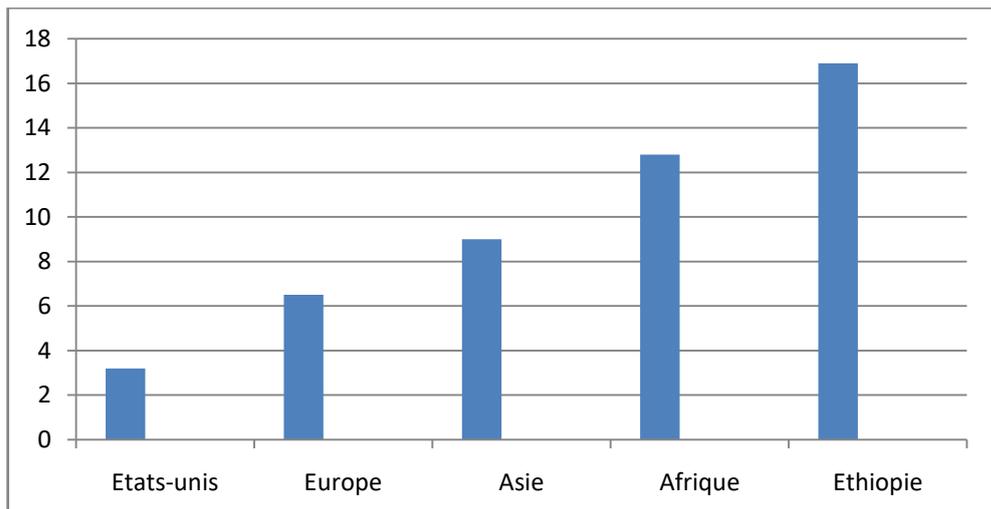
## Généralité sur les infections nosocomiales

### 1. Définition: Qu'est-ce qu'une infection nosocomiale ?

Le terme nosocomial vient du grec *nosous*, maladie et de *komein* soigner. Une infection nosocomiale (IN) (également connue sous le nom d'infection liée aux soins) est une infection qu'un patient contracte pendant après son admission dans une structure hospitalière, ce qui signifie qu'il n'était pas présent au moment de l'admission du patient, et qu'elle se développe au moins 48 heures après l'admission à l'intérieur de l'établissement (Aggoune *et al.*, 2020). Ce délai permet de faire la distinction entre les infections nosocomiales et acquises. Dans le cas d'infections du site opératoire (ISO), la période de 48 heures s'étend à 30 jours et jusqu'à une année si une prothèse ou un implant a été placé. De plus, même si le patient a quitté l'hôpital, toute infection qui se développe sur une cicatrice chirurgicale dans l'année après l'intervention peut être considérée comme nosocomiale (Amiar et Bendjama, 2011).

### 2. Epidémiologie

Il est largement reconnu que les infections nosocomiales sont un véritable problème de santé publique qui affecte les pays développés ainsi que le reste du monde. Son apparition est l'une des causes les plus fréquentes de mortalité et de morbidité dans les hôpitaux, ainsi que de pertes financières, l'augmentation des coûts hospitaliers grâce à l'utilisation de médicaments supplémentaires et à la prolongation des séjours hospitaliers des patients. Une partie importante des patients rencontrent des IN à l'échelle mondiale, avec des taux d'incidence dans les pays développés allant de 3,5 à 12,0 % et de 5,7 à 19,1 % dans les pays à revenu faible ou intermédiaire. 51 % des patients ont été signalés comme ayant des IN dans une enquête de prévalence ponctuelle d'une journée qui comprenait 1265 unités de soins intensifs (USA) de 76 pays différents (Su *et al.*, 2021). La prévalence combinée des INs en États-Unis (3.2%) de tous les patients hospitalisés, en Europe (6,5 %) (Sikora *et al.*, 2022), en Afrique était d'environ 12,8 %, ce qui est plus élevé que la prévalence rapportée en Asie (9,0 %), et aux 16,9 % rapportés en Ethiopie (Usman *et al.*, 2022). D'après l'étude menée par le Ministère de la santé en 2005, le taux de prévalence des infections nosocomiales en Algérie est estimé à être compris entre 7% et 14%.

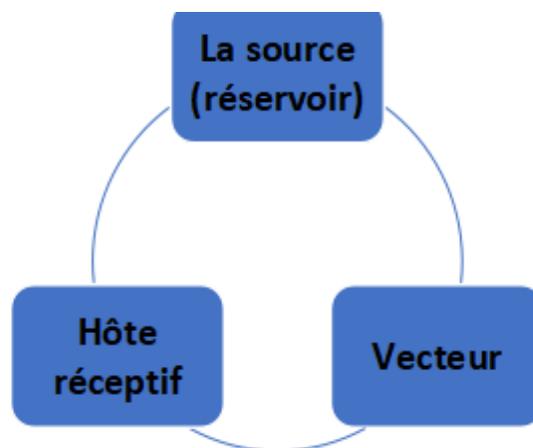


**Figure 1:** Schéma représentant la prévalence.

## 1. La chaîne d'infection

Le mot « chaîne » exprime efficacement la façon dont chaque composant est connecté les uns aux autres tout en restant indépendant les uns des autres (Figure 2). Trois éléments doivent être réunis pour qu'une infection se développe chez un patient hospitalisé :

- L'hôte est un patient qui est susceptible d'être infecté à la suite des traitements qu'il reçoit.
- Une source d'infection, souvent connue comme le milieu contaminé par des micro-organismes.
- Un vecteur des germes qui les transporte de la source à l'hôte (Aggoune *et al.*, 2020).



**Figure 2:** Schéma explicatif de la chaîne de l'infection.

### 1.1. L'hôte

Chaque patient hospitalisé est immunodéprimé ou non, ce qui le rend plus vulnérable à l'infection. En conséquence, le système immunitaire du patient doit être compromis temporairement ou définitivement (Amiar et Bendjama, 2011). L'agent infectieux ne peut pas se transmettre si l'hôte n'est pas réceptif à l'infection, par exemple si l'hôte est immunisé contre l'agent infectieux à la suite d'une vaccination ou, dans certains cas, après avoir fait la maladie. Donc, un hôte réceptif est une personne à

Vaccination ou, dans certains cas, après avoir fait la maladie. Donc, un hôte réceptif est une personne à risque de contracter une infection.

### **2.1. La source (réservoir)**

La source d'un micro-organisme, également connue sous le nom de réservoir est définie comme l'emplacement régulier et continu où il prospère et se multiplie. Il est également considéré comme le point de contact entre le microbe et l'hôte qui permet l'infection nosocomiale à propager. Les réservoirs les plus courants dans les établissements de santé sont les personnes (patients, travailleurs et visiteurs) et l'environnement, quel comprend l'équipement. Cependant, l'eau, les animaux et les aliments peuvent également fonctionner comme des réservoirs.

### **3-3- Vecteur**

La voie de transmission la plus courante est le contact, par lequel les organismes sont transmis par contact direct ou indirect (Sikora et Zahra, 2022). Par l'intermédiaire de vecteurs comme : les mains (des travailleurs, médical et infirmiers), des matériaux difficiles à stériliser (comme les appareils respiratoires et d'autres instruments), des équipements (aiguilles, sondes de vessie, literie, cathéters...). A cet égard, il est recommandé d'utiliser un équipement à usage unique pour minimiser les risques. D'autres vecteurs peuvent jouer ce rôle : l'eau, l'air et les aliments (Aggoune *et al.*, 2020).

## **4. Mode de transmission**

### **4.1. L'auto-infection**

Lorsque la personne malade contracte une infection soit à partir de ses propres germes appartenant à sa microflore originale, soit par l'intermédiaire de l'environnement immédiat (vêtements, lit et surfaces cutanées). Ces infections sont généralement causées par des bactéries saprophytes qui se transforment en pathogènes à la suite d'une antibiothérapie ou d'un traitement immunosuppresseur, ses germes sont considérés comme des opportunistes. Les infections respiratoires causées par le nouveau-né et ses conséquences sur la décharge des voies respiratoires peuvent inclure des auto-infections. Enfin, certains patients immunodéprimés (aplasie SIDA médullaire) peuvent avoir des infections bactériennes en raison des germes intestinaux qu'ils hébergent. Ces maladies authentiquement endogènes sont aussi des auto-infections (Samou, 2005).

### **4.2. L'hétéro infection**

Dans ce cas, une substance infectieuse qui a été transférée d'une personne malade à une autre est à l'origine de la maladie. Il est rarement transmis par contact direct ou par voie aérienne, comme la bactérie de la tuberculose. La personne qui administre les soins à l'aide de ses mains, d'outils du travail ou des deux est le plus souvent le vecteur. C'est le mode de contamination majeure lors de nombreuses épidémies et probablement le plus sensible aux mesures prophylactiques (Kone, 2010).

### 4.3. L'xéno-infection

Ce mode de transmission est un peu à part, dans ce cas les agents pathogènes sont transmis par des personnes venant de l'extérieur, soit par l'admission de nouveaux malades, ou par du personnel ou des visiteurs porteurs d'une maladie infectieuse ou en phase d'incubation. Ils se propagent par voie aérienne, par contact direct ou indirect, mais ils trouveront à l'hôpital des victimes particulièrement réceptives et des environnements propices à la transmission (Samou, 2005). Cependant, ce mode de transmission ne doit pas être négligé car il peut être dangereux pour les patients particulièrement vulnérables. Par conséquent, les professionnels de la santé sont incités à se faire davantage vacciner contre la grippe (Kone, 2010).

### 4.4. L'Exo-infection

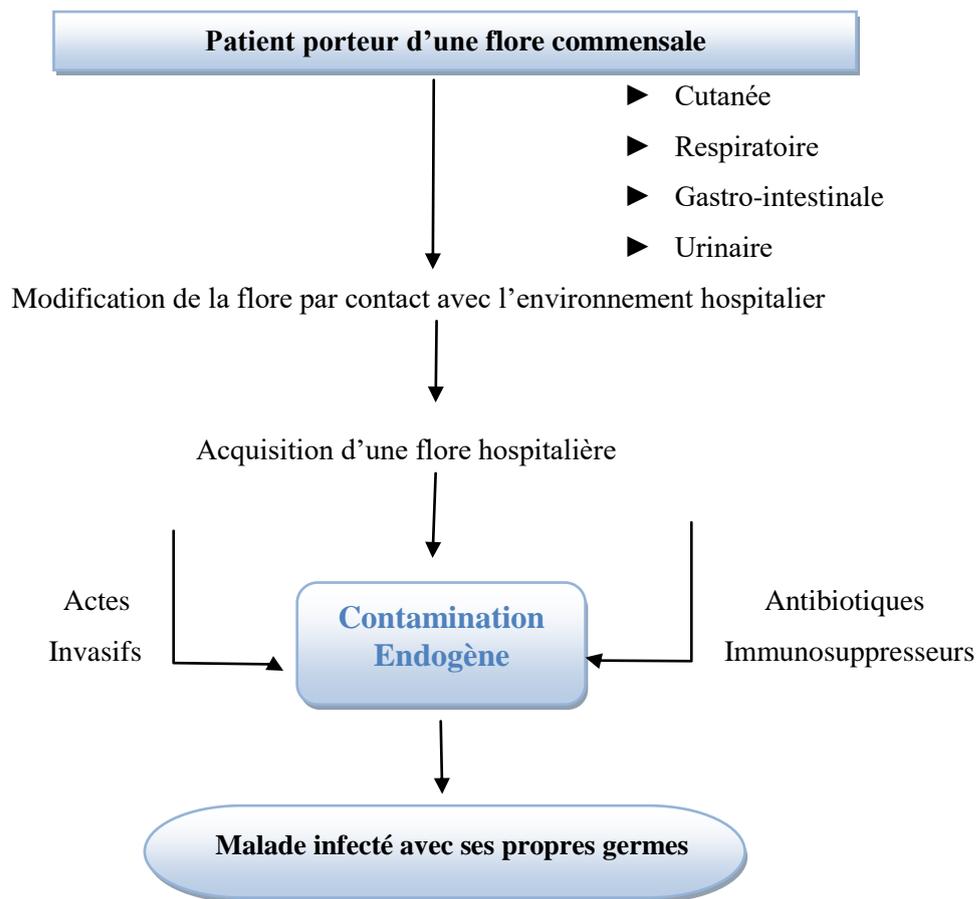
Ce mode de transmission est due soit à des problèmes techniques (stérilisation inefficace, filtres à air non stériles, eau contaminée...), soit à une erreur commise dans des procédures de traitement du matériel médico-chirurgical, et lorsque des équipements paramédicaux ou domestiques sont utilisés autour des patients, ils sont susceptibles d'être contaminés et peuvent entraîner des infections nosocomiales, souvent épidermiques (Samou, 2005).

## 5. Les origines de l'infection nosocomiale

Les infections nosocomiales peuvent être d'origine endogène ou exogène.

### 5.1. Infection d'origine endogène

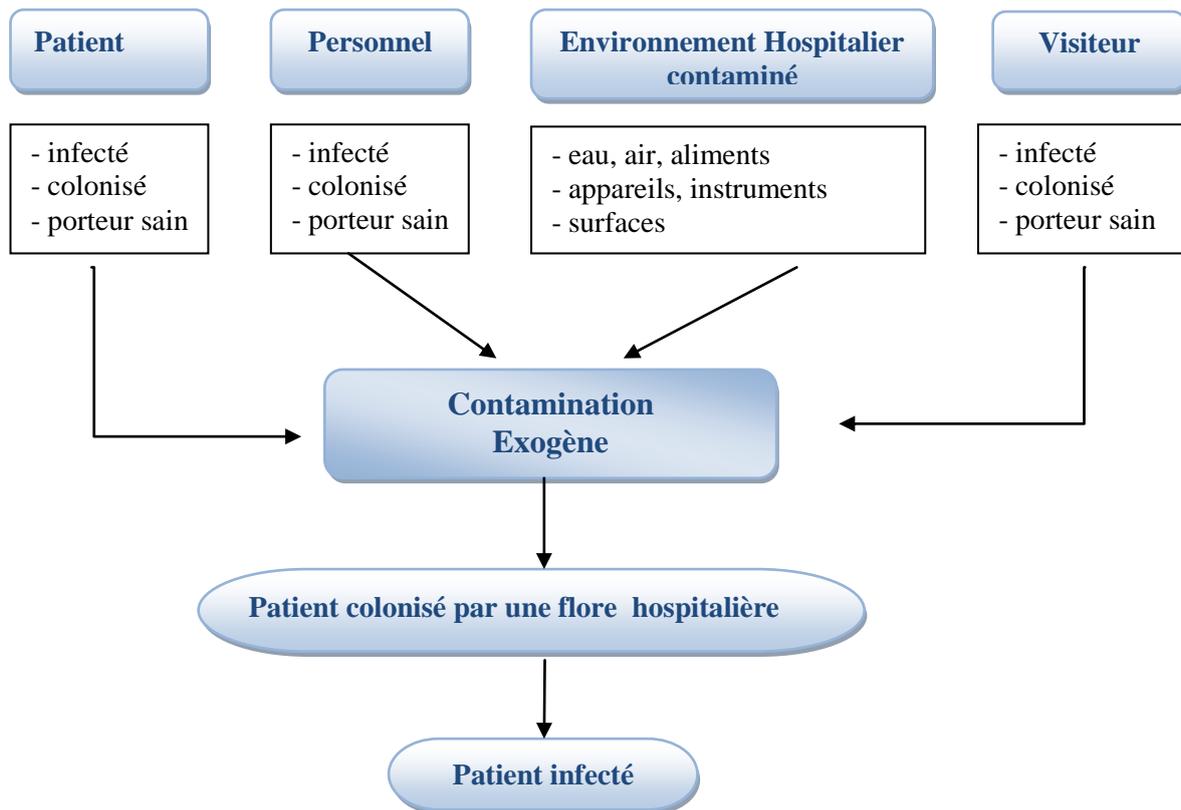
Ils sont la principale cause de la grande majorité des infections nosocomiales, la personne malade contracte l'infection par ses propres germes. Qu'il s'agisse de leur flore résidente normale (flore saprophyte), ou d'une flore modifiée acquise à l'hôpital (HAS, 2020), peuvent se trouver à la surface de la peau ou dans les muqueuses. La contamination a eu lieu lors de l'ouverture de la peau (pour un acte invasif comme l'insertion d'un cathéter, la pose d'un sonar ou l'installation d'un drainage) (Pasteur, 2011). *Staphylococcus* spp, coagulase négative et *Candida* spp, sont généralement considérés comme des infections endogènes (Munoz *et al.*, 1999). Les 50% des infections nosocomiales sont causées par des infections d'origine endogène (Faure, s.d.).



**Figure 3:** Schéma des infections d'origine endogène (Samou, 2005).

## 5.2. Infection d'origine exogène

Les infections exogènes ou externes sont causées par des micro-organismes présents dans l'environnement du patient et entrant en contact avec des microorganismes pathogènes lors de son hospitalisation (Lakziza et Slimani, 2018). Dans ce cas, la maladie provient d'un autre patient, ou infections provoquées par les germes du personnel hospitalier (par contact avec du matériel médical ou leurs mains), soit d'infections liées à la contamination de l'environnement hospitalier (air, eau, alimentation...) (Faure, s.d.). Il est cependant nécessaire de comprendre que la maladie elle-même n'est pas ce qui se propage; c'est plutôt le micro-organisme. En conséquence, les malades seront colonisés sans nécessairement développer une maladie cliniquement évidente nécessitant des soins médicaux (Gilles, 1998).



**Figure 4:** Schéma des infections d'origine exogène (Samou, 2005).

## 6. Les facteurs de risque d'infections nosocomiales

Par définition, un facteur de risque contribue à augmenter la fréquence de la maladie chez les personnes qui y sont exposées, mais un facteur de risque peut également entraîner une diminution de l'incidence de la maladie avec une exposition réduite. Cette idée est essentielle car le contrôle de l'exposition doit rendre possible de réduire la fréquence de la maladie. Les facteurs de risques peuvent être distingués en quatre catégories:

### 6.1. Les facteurs liés aux malades

**6.1.1. Les pathologies chroniques:** Parmi ces pathologies, on trouve le diabète, l'insuffisance rénale, l'insuffisance hépatique, l'incontinence urinaire et l'immunodépression (Aplasie, cancer, sida).

**6.1.2. Les pathologies à l'origine de l'hospitalisation:** Il s'agit : de polytraumatisme et des brûlures étendues.

**6.1.3. Un état nutritionnel perturbé:** La dénutrition est un facteur majeur qui favorise toutes les localisations d'infection, de même l'obésité favorise les abcès parathyroïdiens post-opératoires.

**6.1.4. L'Âge:** Le risque d'infection est encore plus grand avant 1 an (chez les nouveaux nés) et après 65 ans.

**6.1.5. Le sexe:** Le risque des infections nosocomiales urinaires est plus fréquent chez les femmes

que les hommes (Benhaddouche, 2016).

**6.1.6. La durée d'hospitalisation:** Les patients admis en long séjour, séjour de plus de sept jours d'hospitalisation avaient un risque plus élevé que ceux admis en séjour court (Kasongo *et al.*, 2016).

## **6.2. Les facteurs de risque associés aux traitements et actes médicaux:**

**6.2.1. Les actes médicaux invasifs:** Certains traitements agressifs, tels que les actes de chirurgie orthopédique qui entraînent la pose de prothèses, les échographies d'analyse d'urine, les perfusions, les drainages et les cathéters (Cheballah *et al.*, 2020).

**6.2.2. Les carences de la gestion des soins de santé:** Les facteurs liés à la façon dont les soins de santé sont organisés et gérés par le personnel comprennent une charge de patients élevée, un mépris des protocoles d'hygiène (lavage des mains, isolement et calendrier de traitement).

## **6.3. Les facteurs de risque liés à l'environnement:**

- Les réseaux d'eau contaminés par la légionnelle.
- La présence de peintures écaillées dans les chambres ou les couloirs.
- La mauvaise hygiène et le non-respect des normes d'hygiène hospitalière (Latreche, 2012).

## **6.4. Les facteurs de risque liés à l'agent infectieux :**

- Le type de l'agent infectieux et sa capacité de virulence.
- La gravité des maladies peut être exacerbée par l'utilisation d'antibiotiques qui ciblent les bactéries résistantes aux traitements (Behaddouche, 2016).

## **7. Les types des infections nosocomiales:**

### **7.1. Les infections urinaires nosocomiales**

La définition clinique des infections urinaires (IU) est la présence d'au moins un des signes suivants : Fièvre (température > 38°C), excès masticatoire, brûlures masticatoires, ou douleurs abdominales (Albrecht, 2015). Malgré les efforts de prévention, l'infection urinaire (IU) reste l'infection nosocomiale la plus fréquente, représentant 35 à 45 % des infections contractées à l'hôpital (Kama *et al.*, 2009). Même si les infections urinaires sont plus souvent asymptomatiques que les autres infections nosocomiales, notamment pour les sondages de courte durée, elles peuvent parfois se traduire par une infection bactérienne potentiellement mortelle. Des complications graves sont décrites tant au niveau individuel (urosepsie, infection urogénitale obstructive chronique) que sociétal (réservoir de bactéries) (Ducel *et al.*, 2012).

### **7.2. Les infections pneumopathie**

Les pneumopathies et autres infections des voies respiratoires, comme la bronchite et la bronchiolite sont incluses dans la catégorie des infections pulmonaires nosocomiales. Deuxième cause

d'IN dans l'ensemble, les pneumatiques représentaient 16,7 % des IN lors du ENP 2012 (Albrecht, 2015). L'un des symptômes cliniques énumérés ci-dessous : apparition récente d'expectorations purulentes ; toux/dyspnée/ tachypnée ; aggravation des gaz du sang ; associé à une hyperthermie, une leucopénie ou une hyperleucocytose (Cheballah *et al.*, 2020).

### 7.3. Les infections de site opératoire

Près de 20 % des infections nosocomiales sont des infections bactériennes causées par des interventions chirurgicales. On estime que 7 % des plaies chirurgicales s'infectent dans les jours qui suivent l'intervention. Les interventions chirurgicales telles que la chirurgie orthopédique, la chirurgie neurologique et les interventions pour hernies sont considérées comme présentant un faible risque d'infection en raison de l'absence d'exposition aux microbes endothéliaux et digestifs. Cependant, la durée de l'intervention a augmenté la probabilité d'infections postopératoires, probablement en raison d'une augmentation de la durée d'exposition aux risques infectieux liés aux manipulations et à l'environnement, ainsi qu'à la contamination. Enfin, la mise en place de corps étrangers (tels que des prothèses pour le cœur, les veines ou les articulations) est un facteur important d'infections postopératoires (introduire le site 1).

### 7.4. Les infections sur cathéter

Environ 20 % des infections nosocomiales sont liées aux cathéters, et leur utilisation croissante est liée à l'augmentation régulière des taux d'infections bactériennes et fongiques nosocomiales. Au moins 30 % de toutes les bactéries primitives nosocomiales pénètrent par les cathéters. La colonisation et l'adhésion bactériennes, la brutalité des matériaux utilisés, la qualité des soins prodigués lors de l'utilisation des voies veineuses ainsi que les facteurs de risque infectieux liés au patient (gravité de la maladie, interventions chirurgicales antérieures, trachéotomie) sont parmi les facteurs pathogéniques liés à ces infections (Bounab *et al.*, 2011).

Les principaux micro-organismes responsables des infections liées aux cathéters est *Staphylococcus épiderimidis* suivi des bacilles à coloration Gram-, dû à *Staphylococcus aureus*, des entérocoques et enfin candidat et autre infection fongique (Charbonneau et Wolff, 2013).

### 7.5. Les infections de la peau

La peau est une barrière efficace contre les infections bactériennes. Même si de nombreuses bactéries peuvent entrer en contact avec la surface de la peau ou y résider, elles ne peuvent généralement pas provoquer d'infection. L'étendue des infections bactériennes cutanées peut aller d'un simple bouton à la totalité de la surface corporelle. Sa gravité est également très diverse, allant d'une maladie bénigne à des maladies potentiellement mortelles. Les infections cutanées bactériennes se développent lorsque les bactéries pénètrent dans la peau par les follicules pileux ou par de petites

ouvertures cutanées provoquées par des blessures telles que des coupures, des brûlures, des interventions chirurgicales, des coups de soleil, des morsures d'animaux ou d'insectes, des lésions ou des affections cutanées préexistantes. Une personne peut souffrir d'infections cutanées bactériennes après avoir pratiqué diverses activités, comme le jardinage dans un sol contaminé ou la baignade dans des lacs, des étangs ou l'eau de l'océan contaminé.

Certaines personnes présentent un risque plus élevé de développer des infections cutanées tel que les personnes diabétiques, les personnes hospitalisées, les personnes plus âgées et les personnes faisant l'objet d'une chimiothérapie ou d'un traitement à base d'autres médicaments immunosuppresseurs. Lorsque la peau est enflammée ou lésée, elle est plus susceptible de s'infecter. En fait, toute rupture de la barrière cutanée peut aboutir à une infection (introduire le site<sup>1</sup>). Les bactéries à coloration Gram positif sont principalement responsables des infections bactériennes de la peau ; les deux espèces les plus répandues sont *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus pyogenes* (Balkan *et al.*, 2019).

### 7.6. La bactériémie

Les épidémies nosocomiales bactériennes sont fréquentes, représentant 10 % de toutes les infections nosocomiales. Elles peuvent être soit primaires (à partir de points d'entrée vasculaires), soit secondaires (à partir d'un foyer textile). La majorité des infections bactériennes primaires nosocomiales sont associées à des infections de cathéters ; néanmoins, les cathéters coupés sont moins susceptibles de s'infecter que ceux placés à la suite d'interventions chirurgicales. Les cathéters périphériques infectés sont moins fréquents que les cathéters centraux infectés (sous-claviers). Les épidémies bactériennes secondaires sont provoquées par des maladies pulmonaires et abdominales. Les germes les plus fréquents sont des bactéries à coloration négatif *S. epidermidis* avec *S. aureus* (Bounab *et al.*, 2011)

### 7.7. La septicémie

La septicémie est une infection générale due à des rejets microbiens fréquents et importants résultant d'un environnement septique. Parmi les signes cliniques de septicémie : fièvre élevée, et altération rapide de l'état général... (Hadji *et al.*, 2009). La septicémie est la présence des micro-organismes viables dans le sang. Une infection bénigne se produit fréquemment (par exemple un abcès dentaire, une gastro-entérite, le virus de la grippe) et le système immunitaire peut facilement la combattre et l'éliminer. Néanmoins, lors d'une infection plus sévère, le système immunitaire peut se trouver dans l'incapacité de gérer cette invasion de micro-organismes. Le système de réponse immunitaire réagit de façon excessive et incontrôlée à l'infection pour devenir totalement inopérant. Il apparaît aussi qu'au cours d'une septicémie des interactions inflammatoires, coagulatrices et

fibrinolyse débouchent sur la mort du patient. Le sepsis peut être défini comme la réponse inflammatoire systémique à l'infection (Makki, 2007).

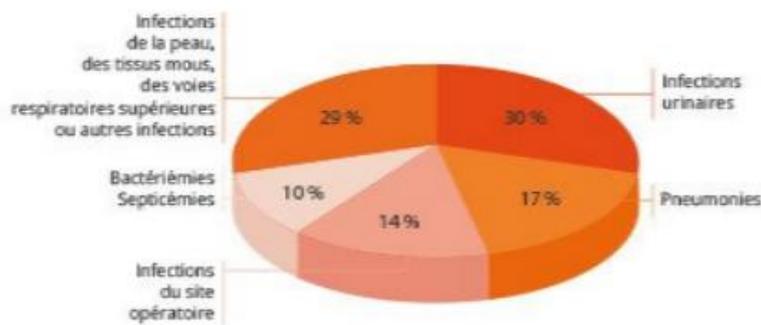
### 7.8. Digestive

Les inflammations du tube digestif qui touchent l'estomac, l'intestin grêle et le côlon sont causées par des maladies virales, bactériennes ou parasitaires appelées infections gastro-intestinales. Les trois symptômes les plus fréquents sont la diarrhée, les vomissements et les douleurs d'estomac. Lorsque les symptômes commencent à apparaître 48 à 72 heures après l'admission à l'hôpital, ils sont considérés comme nosocomiaux. Ce délai d'émergence peut être problématique pour certaines populations, comme les nourrissons et les jeunes enfants, les personnes immunodéprimées et les personnes âgées (RAISIN et CCLIN, 2012).

### 7.9. Autres infections

Il existe de nombreux sites potentiels d'infection, par exemple :

- 1) Infection néonatales.
- 2) Infection de l'œil et de la sphère ORL.
- 3) Infection des voies génitales (Samou, 2005 ; Johnson, 2007 ; OMS, 2010).



**Figure 5:** Répartition des infections nosocomiales selon le site infectieux (introduire le site 2).

## 8. Les agents responsables

Il existe un grand nombre d'agents infectieux qui peuvent être responsables d'IN. Mais certains d'entre eux sont plus fréquemment impliqués que d'autres, à savoir les bactéries, les parasites, les levures, les champignons et les virus. Ces germes responsables proviennent le plus souvent du patient lui-même, mais ils sont transportés sur le site infectieux par l'intermédiaire du personnel ou de dispositifs médicaux (Cheballah *et al.*, 2020).

### 8.1. Les parasites

Les parasites les plus fréquemment rencontrés lors d'infections nosocomiales sont le *Plasmodium* lors de transfusions sanguines, les sarcoptes scabiei (l'agent du coup de vent) et le *Pneumocystis carinii*, un agent opportuniste qui provoque des pneumopathies nosocomiales en

néonatalogie et chez les patients présentant des déficits immunitaires.

## 8.2. Les champignons

La fréquence des champignons microscopiques n'a cessé d'augmenter ces dernières années, car ils apparaissent comme des agents pathogènes importants. Deux types sont fréquemment rencontrés : l'aspergillose (*Aspergillus* spp.), qui a une origine exogène, et les candidoses (*Candida* spp.), dont les sources peuvent être le système digestif ou des fluides contaminés. Collyres, un liquide diététique (Oubihi, 2015).

## 8.3. Les virus

De nombreux virus peuvent se propager par voie nosocomiale, notamment les virus de l'hépatite B et C (transmis par les transfusions sanguines, les dialyses, les injections et les endoscopies), le virus respiratoire syncytial, le rotavirus et les entérovirus (transmis par le contact bouche à bouche et par voie oropharyngée). D'autres virus comme le cytomégalovirus, le VIH, le virus Ebola, le virus de la grippe, le virus de l'herpès et le virus de la varicelle et du zona sont également transmissibles (OMS, 2010).

## 8.4. Les Bactéries

Ce sont les plus courants des agents pathogènes responsables des infections nosocomiales. Trois bactéries représentent environ la moitié des germes isolés dans les infections nosocomiales:

**8.4.1. Escherichia coli:** Ce germe représente 26% que l'on trouve couramment dans le tube digestif de l'être humain et des organismes à sang chaud. Certaines souches d'*E. coli* peuvent être pathogènes et provoquer des gastro-entérites, des infections urinaires, des méningites ou des septicémies.

**8.4.2. Staphylococcus aureus (16%):** C'est une bactérie cutanée qui colonise la peau et le nez, qui développe fréquemment une résistance aux antibiotiques et provoque un large éventail d'infections pulmonaires, osseuses, cardiaque et sanguines chez les patients et le personnel hospitalier.

**8.4.3. Pseudomonas aeruginosa (8.4%):** C'est un germe présent dans les sols et en milieu humide (robinets, tuyauterie etc...), bactérie très résistante et fréquente en milieu hospitalier et expose les patients présentant un faible système immunitaire. Les germes isolés dans les autres cas sont des streptocoques, des entérobactéries autres que *E. coli*, *Clostridium difficile* ou encore *Acinetobacter baumannii* (introduire le site 2).

Les tableaux 1 et 2 présentent des exemples de certains germes responsables des infections Nosocomiales.

**Tableau 1:** Quelques bactéries responsables d'infection nosocomiales.

Bactérie	Réservoir principale	Mode de transmission principale	Porte d'entrée principale
<i>Staphylococcus Epidermidis</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	<b>Humain :</b> Peau et muqueuses	Contact dont manupor tage	Cutanée
<i>Streptocoques</i>	<b>Humain :</b> Nez, pharynx, peau	Contact dont manuportage	Cutanée Digestive respiratoire
<i>Clostridium Difficile</i>	<b>Humain :</b> Tube digestive <b>Environnement :</b> Surfaces	Contact dont manuportage	Digestive
<i>Micobacterium Tuberculosis</i>	<b>Humain :</b> Voies respiratoires	Air	Voie respiratoire
<i>Acinetobacter Baumanii</i>	<b>Humain :</b> Peau et muqueuses <b>Environnement :</b> Eau	Contact dont manuportage	cutanée
<i>Pseudomonas spp</i>	<b>Humain :</b> Pharynx, tube digestif <b>Environnement :</b> Eau	Contact dont manuportage	Cutanée Digestive respiratoire
<i>Leglonella pneumophilla</i>	<b>Environnement :</b> Eau	Aérosol	Voie respiratoire

**Tableau 2:** Autres micro-organismes responsables d'infections nosocomiales (introduire le site 3).

Micro-organismes	Espèce ou pathologie	Réservoir principal	Mode de transmission principal	Port d'entrée principal
<b>Virus</b>	Grippe	<b>Humain :</b> Voies respiratoire	Gouttelettes	respiratoire
	Hépatite B et C	<b>Humain :</b> Sang	Sanguine	percutanée
<b>Champignon</b>	<i>Candida albicans</i>	<b>Humain :</b> Tube digestif	Contact dont manuportage	Cutanée Digestive

## 8.5. La résistance bactérienne aux antibiotiques

### 8.5.1. La résistance aux antibiotiques

La résistance bactérienne est la capacité des bactéries à résister aux effets des antibiotiques ou d'autres produits chimiques destinés à les inhiber ou à les éradiquer. La résistance bactérienne aux antibiotiques peut être naturelle ou acquise :

- **Résistance naturelle:** C'est une insensibilité aux antibiotiques, existant naturellement chez les membres d'un genre ou d'une espèce bactérienne. Elle fait donc, partie du patrimoine génétique normal d'un germe microbien (Mebarki *et al.*, 2017).
- **Résistance acquise:** La résistance acquise fait référence au développement de la résistance à un ou plusieurs antibiotiques chez une bactérie précédemment sensible (Mainardi, 2018).

### 8.5.2. La sensibilité aux antibiotiques

Chaque antibiotique a un spectre d'action qui correspond aux différentes espèces bactériennes qui peuvent être sensibles à son action. Selon l'action des antibactériens, le champ d'action peut être soit étendue ou large, soit restreint ou limité. A titre d'exemple : La pénicilline de type G a un spectre limité aux bactéries à Gram positif et aux parasites à Gram négatif (Kamgainge *et al.*, 2017).

## 9. Les symptômes des infections nosocomiales

Les symptômes peuvent varier en fonction du type d'infection, de la partie du corps touchée et de la gravité de l'infection. Parmi les symptômes courants associés aux infections nosocomiales, on peut citer :

- **La fièvre:** La fièvre est un symptôme courant de nombreuses infections nosocomiales. Elle peut être accompagnée de frissons et de sueurs.
- **La douleur:** La douleur peut être présente dans la zone affectée, telle que la douleur abdominale dans le cas d'une infection des voies urinaires.
- **La rougeur et l'inflammation:** Les infections nosocomiales peuvent causer une rougeur et une inflammation autour de la zone touchée. Cela peut être particulièrement visible dans les infections de la peau ou tel qu'une rougeur et un gonflement autour d'une incision chirurgicale.
- **L'écoulement:** Un écoulement peut être présent dans les zones infectées, telles que les sécrétions purulentes autour d'un cathéter.
- **La fatigue:** La fatigue est un symptôme courant de nombreuses infections. Elle peut être particulièrement présente dans les infections graves.
- **Difficulté à respirer :** Les infections nosocomiales qui affectent les poumons peuvent causer des difficultés respiratoires.
- **La diarrhée:** Certains types d'infections nosocomiales peuvent causer des symptômes gastro-intestinaux tels que la diarrhée.
- **Nausées et vomissements :** cela peut être un symptôme d'une infection gastro-intestinale.

- **Les maux de tête:** Cela peut être un symptôme d'une méningite ou d'une autre infection du système nerveux central.

En revanche, il est important de noter que de nombreux patients peuvent ne présenter aucun symptôme lorsqu'ils contractent une infection nosocomiale. Par conséquent, il est important que les professionnels de la santé soient attentifs aux signes d'infection et qu'ils prennent les précautions appropriées pour prévenir la propagation des infections nosocomiales (introduire le site 4).

## 10. Traitement des infections nosocomiales

Après avoir effectué un diagnostic de maladie sur le patient, le médecin prescrit un traitement lorsque l'organisme perd la capacité de se défendre. Étant donné que les bactéries sont généralement responsables des maladies nosocomiales (Ex: une pneumopathie), l'antibiothérapie est considérée comme un traitement général. Les mêmes principes qui s'appliquent au traitement des infections communautaires s'appliquent également au traitement des infections nosocomiales, mais ces dernières sont plus difficiles à traiter car les bactéries impliquées dans ces maladies ont souvent développé une résistance aux antibiotiques (Cheballah et al, 2020).

Les antiviraux sont utilisés dans ce traitement lorsqu'il s'agit d'infections virales (comme la grippe), des antifongiques lorsqu'il s'agit de champignons (*Candida albicans*) et des antibiotiques antiparasitaires lorsqu'il s'agit d'infections génitales à *Trichomonas* (introduire le site 5).

## 11. Prévention des infections nosocomiales

### 11.1. Mesures générales de prévention

#### a. L'antisepsie

L'antisepsie est un ensemble de techniques qui visent à détruire ou à éliminer les micro-organismes présents sur la peau, les muqueuses ou les tissus afin de prévenir l'infection. L'objectif de l'antisepsie est de réduire le risque de contamination bactérienne ou virale avant une intervention chirurgicale ou un soin médical invasif (Cronin et Titjen, 1992). Le processus d'antisepsie peut être effectué en utilisant des liquides antiseptiques comme, l'alcool éthylique, les hypochlorites dilués, l'iode, l'eau oxygénée, les ammoniums quaternaires, les phénols, les acides organiques, la chlorhexidine et le trichlocarban (Zeroual, 2012). Ces soins s'appliquent directement sur la peau ou les muqueuses pour éliminer les micro-organismes. L'antisepsie est une étape cruciale dans la prévention des infections nosocomiales et doit être réalisée avec soin pour être efficace.

#### b. L'asepsie

L'asepsie est une méthode utilisée pour prévenir la contamination microbienne des objets et de l'environnement lors d'interventions chirurgicales invasives ou de traitements médicaux. Le but de l'asepsie est de réduire le risque de maladie en empêchant l'entrée de microbes dans le corps du patient.

L'asepsie nécessite des précautions strictes pour maintenir un environnement stérile, telles que l'utilisation de champs stériles pour isoler la salle d'opération, le port de gants, masques et chemises stériles par le personnel médical et la stérilisation du matériel chirurgical et médical (Cronin et Titjen, 1992).

### **c. La décontamination**

La décontamination est une opération qui vise à éliminer ou à réduire la présence de microorganismes tels que des bactéries, des virus, des champignons ou des parasites sur différentes surfaces ou objets (Cronin et Titjen, 1992).

### **d. La désinfection**

La désinfection est une méthode qui permet d'éliminer la plupart des micro-organismes pathogènes. Cette méthode utilise des produits chimiques (eau de Javel, alcool, peroxyde d'hydrogène, ammoniums quaternaires, acides) pour détruire les micro-organismes (Popi, 2003).

### **e. La stérilisation**

Le processus de stérilisation comprend toutes les procédures qui permettent la destruction des parasites, virus et micro-organismes portés par un objet. Cette méthode utilise des moyens physiques (chaleur, rayonnements) ou chimiques (gaz, produits chimiques) pour détruire les micro-organismes (Samou, 2005).

## **11.2. Principes généraux de prévention au niveau des structures hospitalières**

Les principes généraux de prévention pour les hôpitaux visent à garantir la sécurité et la santé des patients, des visiteurs et du personnel travaillant dans l'hôpital. Parmi les principes clés de prévention, on cite :

### **11.2.1. L'hygiène du personnel**

L'hygiène du personnel est un ensemble de pratiques qui visent à maintenir un environnement de travail propre et sûr. Cela comprend des mesures de prévention de la propagation de maladies infectieuses et d'autres problèmes de santé. Parmi les pratiques d'hygiène du personnel à respecter :

**a. L'hygiène des mains:** Le lavage des mains est essentiel pour prévenir la propagation des infections. Les professionnels de santé doivent se laver les mains régulièrement par l'utilisation des solutions hydro-alcooliques, avant et après avoir examiné un patient.

**b. Porter des vêtements de travail propres:** Le personnel hospitalier doit porter des vêtements de travail propres et bien entretenus pour éviter la propagation de germes.

**c. Utiliser des équipements de protection individuelle:** L'utilisation des équipements de protection individuelle, tels que des gants, des masques, des lunettes de sécurité et des vêtements de protection est obligatoire. Cette pratique permet de protéger et de prévenir le risque de contamination du patient par les germes (Cronin et Tietjen, 1992).

### 11.2.2. Les bâtiments

Les surfaces des bâtiments et leur aération doivent répondre aux normes. Ils doivent être nettoyés et désinfectés matin et soir. Par conséquent, le nettoyage et la désinfection vont de pair car sans un nettoyage efficace, la désinfection n'est pas possible.

### 11.2.3. Le déchet

Les déchets médicaux doivent être manipulés et éliminés de manière sûre et responsable selon certaines procédures pour éviter la contamination.

- Tous les objets piquants et tranchants doivent être jetés dans des conteneurs spéciaux.
- Les sacs noirs sont utilisés pour des déchets assimilables aux ordures ménagères.
- Les sacs jaunes sont utilisés pour les déchets d'activité de soins à risque infectieux.
- Les boîtes, les tubes à essai, les flacons en verre..., doivent être soit lavées et stérilisées avant leur emploi ou incinérer avant d'être jetées.
- Les micro-organismes pathogènes, une fois manipulés doivent faire l'objet d'une incinération.

### 11.2.4. La surveillance et la gestion des infections nosocomiales

Les établissements de santé doivent mettre en place un système de surveillance et de gestion des infections nosocomiales pour détecter rapidement les cas d'infection et prendre les mesures nécessaires pour les traiter et éviter leur propagation.

## 11.3. Mesures spécifiques de prévention

### 11.3.1. Prévention des infections urinaires nosocomiales (IUN) sur sonde

- Utiliser une technique aseptique pour la mise en place de la sonde urinaire.
- Éviter de maintenir la sonde urinaire en place plus longtemps que nécessaire.
- Utiliser un système de drainage fermé et stérile pour la sonde urinaire.
- Effectuer des soins de la sonde urinaire en utilisant une technique aseptique et en suivant les protocoles de l'établissement de santé.
- Assurez une bonne hygiène des mains pour le personnel de santé et les visiteurs (Katlama, 2003).

### 11.3.2. Prévention des pneumonies nosocomiales

Parmi les moyens de prévention de cette pathologie :

- Éviter la contamination croisée : éviter cette contamination en nettoyant et en désinfectant les surfaces, les équipements et les instruments médicaux entre chaque patient.
- Éviter l'intubation et de réduire sa durée et pratiquer une ventilation pulmonaire protectrice (non-invasive) pour minimiser le risque de complications pulmonaires.
- Utiliser des dispositifs de protection respiratoire tels que des masques pour prévenir l'inhalation de particules très fines et de micro-organismes.

### 11.3.3- Prévention des infections des sites opératoires (ISO)

Parmi les moyens de prévention :

- Il est nécessaire de maintenir la durée du séjour médical préopératoire la plus courte possible.
- Une préparation cutanée exécutée avant l'incision chirurgicale peut réduire considérablement le risque d'infection. Il est recommandé une douche la veille de l'intervention, un dépilage et d'utiliser des antiseptiques pour nettoyer la peau avant l'incision.
- Les membres de l'équipe chirurgicale doivent respecter les règles d'hygiène strictes pour minimiser les risques d'infection pendant l'intervention chirurgicale. Cela peut inclure le port de gants stériles, de masques, de chemisiers et/ou blouses et de bonnets.
- Garder l'environnement d'exploitation propre et stérile pour éviter toute contamination. Cela peut comprendre l'utilisation de salles d'opération stériles, d'équipement stérile et de surfaces désinfectantes.
- Contrôle de la température corporelle du patient pendant l'intervention chirurgicale peut réduire le risque d'infection en évitant les fluctuations de température.
- Surveillance postopératoire pour détecter rapidement toute infection potentielle et la traiter immédiatement (Alfandari, 1997).

### 11.3.4. Prévention des infections sur cathéter

Parmi les moyens de prévention des infections sur cathéter :

- Il doit y avoir des protocoles (fiches) écrits pour l'utilisation du cathéter.
- Le site d'insertion du cathéter doit être nettoyé avec une solution antiseptique avant et après chaque utilisation, il faut aussi nettoyer les cathéters avec de la chlorhexidine ou de la polyvidoneiode.
- Il est nécessaire de remplacer les accessoires (tubulures, valves) qui sont connectés avec le cathéter toutes les 48 à 72 heures (Popi, 2003).

### 11.3.5. Prévention des bactériémies nosocomiales

- La promotion de l'hygiène des mains par l'utilisation de distributeurs de savon liquide et de gants lavables jetables.
- Des formations doivent être assurées afin de rendre le personnel médical plus sensibilisés.
- Il faut que le comité de lutte contre les infections nosocomiales prenne des mesures pour surveiller les bactéries multirésistantes provenant des laboratoires d'analyse et veiller à la diffusion et à l'affichage des protocoles de soins (Hassoune, 2012).

### 11.3.6. Prévention des infections gastro-intestinales

Parmi les moyens de prévention des infections gastro-intestinales :

- Il est important de se laver les mains régulièrement et soigneusement avec de l'eau et du

savon, surtout avant de manger ou de préparer des aliments.

- Il est important de consommer des aliments qui ont été correctement préparés et cuits, et de les stocker correctement pour éviter toute contamination.
- un nettoyage et une désinfection régulier des surfaces avec de l'eau de javel, car certains virus y subsistent pendant longtemps (Biomérieux, s.d.).

### 11.3.7. Prévention des infections néonatales

- Les professionnels de la santé et les parents doivent se laver les mains avant de toucher le bébé ou de s'occuper de lui.
- L'environnement du bébé doit être maintenu propre et stérile pour minimiser le risque d'infection.
- L'asepsie de tous les gestes, même les plus anodins, pour tous les soins donnés au nouveau-né.
- Stériliser les biberons et les tétines.
- L'allaitement maternel peut aider à prévenir les infections néonatales en fournissant des anticorps naturels au bébé (Jacqueline et Lyonel, 2017).

## 12. La lutte contre les infections nosocomiales

La lutte contre les infections nosocomiales (IN) est un enjeu majeur dans les établissements de santé. Il existe plusieurs mesures qui peuvent être prises pour prévenir et contrôler les infections nosocomiales, notamment :

- **L'hygiène des mains:** il est essentiel que le personnel de santé se lave régulièrement les mains avec du savon et de l'eau ou un gel hydro alcoolique. Les patients doivent également être encouragés à se laver les mains régulièrement.

- **Le port de gants, de blouses et de masques:** le personnel de santé doit porter des gants, des blouses et des masques appropriés pour prévenir la transmission de maladies.

- **La stérilisation et la désinfection:** Tous les équipements médicaux doivent être stérilisés et désinfectés avant chaque utilisation pour prévenir la transmission d'infections (Kane et *al.*, 2007).

- **La surveillance des infections:** Les établissements de santé doivent surveiller les taux d'infection et identifier les épidémies pour prendre des mesures de prévention et de contrôle.

- **La formation du personnel:** le personnel de santé doit être formé sur les pratiques d'hygiène et les protocoles de prévention des infections.

- **Les formations et les programmes de sensibilisation :** Les professionnels de santé doivent être formés aux bonnes pratiques en matière de prévention des infections nosocomiales. Des programmes de sensibilisation peuvent également être mis en place pour informer les patients et leurs

familles sur les risques d'infections nosocomiales et sur les mesures préventives à prendre.

- **Les protocoles de surveillance et de signalement:** Les établissements de santé doivent mettre en place des protocoles de surveillance pour détecter les infections nosocomiales et les signaler aux autorités compétentes. Les données de surveillance permettent d'identifier les infections nosocomiales les plus fréquentes et d'adapter les mesures de prévention en conséquence.

- Mieux éduquer les patients et les avertir du risque infectieux lié au traitement.
- Rendre le dispositif de lutte contre les infections nosocomiales plus adaptable et dynamique (Villiot-Danger, 2010).

En résumé, la lutte contre les infections nosocomiales nécessite une approche globale et coordonnée impliquant des recommandations internationales, des référentiels de bonnes pratiques, des programmes de formation et de sensibilisation ainsi que des protocoles de surveillance et de signalement.

# ***Chapitre 2***

## ***Matériel et Méthodes***

**1- Présentation de Lieu d'étude**

Cette étude a été menée au niveau de l'hôpital de la daïra Hammam Bouhdjar, wilaya d'Ain Témouchent (BERREBI Abdelkader), durant une période allant du 05/02/2023 au 05/03/2023. Cette structure hospitalière a été créée en 1995. Elle est située à 2 Km au Sud de la Daïra de Hammam Bouhdjar, avec une superficie d'environ 4 hectares. Cet établissement hospitalier dispose de 144 lits, avec un effectif de cinquante (50) médecins et cent (100) soignants et aide soignants. L'hôpital renferme 11 services, dont un service de la chirurgie, la réanimation, le bloc opératoire, la médecine interne, la maternité, la pédiatrie, l'hémodialyse... .

Il dispose de 02 laboratoires, un laboratoire d'analyse bactériologique et un autre laboratoire d'hématologie.

**2- Cadre d'étude**

Le but de notre travail est l'isolement, la purification et l'identification des bactéries à l'origine des infections nosocomiales ainsi que l'étude de leurs biorésistances aux antibiotiques.

**3- Matériels:**

Le matériel et les réactifs utilisés durant notre étude expérimentale sont représentés dans (Annexe 01).

**4- Méthode de prélèvement****Tableau 3:** Présentation des sites de prélèvement.

Les services	Numéro de prélèvement	Site de prélèvement
Cuisine	01	Mur
	02	Paillasse
	03	Chariot
	04	Les boîtes d'alimentation
	05	Corbeille à pain
	06	Robinet
	07	L'air de la chambre froide
	08	Tables de malade
	09	Chariot d'instrument

<b>Hémodialyse</b>	10	Lit de malades
	11	Murs
	12	Potence
	13	Prélèvement urinaire (urine du premier patient)
	14	Prélèvement urinaire (urine du deuxième patient)
	15	Machine d'hémodialyse un générateur d'hémodialyse
<b>Bloc opératoire</b>	16	Boîte d'instruments stérile à l'intérieur
	17	L'air de la salle septique
	18	Boîte d'instruments à l'extérieur la surface de la boîte
	19	Table d'opération
	20	Respirateur
	21	Scialytique

#### 4.1 Méthode de prélèvement

Les méthodes de prélèvement des infections nosocomiales dépendent du type d'infection et de l'emplacement de l'infection. Le tableau 2, présente les sites de prélèvement. En bactériologie médicale, plusieurs méthodes de prélèvements sont proposées, parmi ces méthodes :

##### 4.1.1 Prélèvement à partir de l'environnement

Les méthodes de prélèvement des germes responsables d'infections nosocomiales à partir de l'environnement peuvent varier en fonction de l'objet ou de la surface à prélever.

##### 4.1.1.1- Prélèvement à partir surface sèches

Le principe de cette méthode est de frotter une zone spécifique avec un écouvillon stérile ensuite collecter l'échantillon pour une analyse ultérieure. Les échantillons doivent porter quelques renseignements, à savoir : le numéro et la date de prélèvement et le service concerné. Les surfaces à haut risque d'infection sont souvent ciblées, telles que les poignées de porte, les interrupteurs, les lits et les rails de lit... .

Si la surface est trop importante, il est possible d'effectuer plusieurs échantillons à différents endroits pour avoir une meilleure représentativité. Il est souhaitable de réaliser les analyses très rapidement pour éviter que les bactéries ne meurent ou ne se détériorent.

##### 4.1.1.2- Prélèvement à partir de l'air

Cette méthode consiste à collecter des particules aériennes pour analyse. Ces particules peuvent être collectées selon plusieurs méthodes, simples ou complexes. Dans notre cas, les particules de l'air

ont été collectés à l'aide de la technique de sédimentation sur boîte de Pétri. Le principe consiste à exposer à l'air libre une boîte de Pétri ouverte contenant de la gélose nutritive (GN) ou du milieu Sabouraud avec ou sans chloramphénicol, pendant quelques minutes. Dans d'autres cas, les boîtes sont exposées ouvertes dans une pièce pendant 24 heures, de sorte que les bactéries présentes dans l'air se déposent. Les boîtes sont ensuite enfermées en remettant le couvercle puis, mises à incuber pendant 24 à 48h, à 37°C.

#### **4.1.2- Prélèvement à partir des patients**

##### **4.1.2.1- Prélèvement d'urine**

Cette méthode consiste à prélever d'une façon rigoureusement aseptique un échantillon d'urine pour détecter la présence de bactéries ou de virus dans les voies urinaires. Elle est souvent utilisée pour diagnostiquer les infections urinaires. Pour obtenir un échantillon d'urine non contaminé par les germes de l'environnement, il est recommandé de prélever les premières urines du matin. Avant de procéder au prélèvement, il est important de nettoyer la zone génitale avec une solution antiseptique. Les premières gouttes d'urine doivent être éliminées et les 20 à 50 ml suivantes seront retenues dans un récipient stérile. Chez les femmes, il est préférable de réaliser le prélèvement en dehors des périodes de menstruation ou d'infection vaginale. Le flacon doit être étiqueté avec le nom et le prénom du patient et la date de prélèvement, puis stocké au frais avant d'être transporté au laboratoire pour être analysé.

**Remarque :** Le prélèvement doit être effectué de manière aseptique pour éviter toute contamination. La méthode de prélèvement dépend du type d'infection suspect, ainsi les résultats du prélèvement aident les médecins à choisir le traitement approprié pour l'infection nosocomiale. Le transport des échantillons doit impérativement suivre les règles conseillées.

#### **4.2- Enrichissement**

Après avoir prélevé l'échantillon, ce dernier est mis dans un tube à essai contenant le bouillon nutritif (BN), ensuite homogénéiser par agitation vigoureuse à l'aide d'un vortex. Le tube est ensuite placé dans un incubateur à la température appropriée de 37°C pendant 24h, pour une meilleure croissance bactérienne. Le but de cette étape est de pouvoir augmenter la population bactérienne ciblée dans un environnement d'enrichissement liquide.

#### **4.3- Isolement des bactéries**

L'étude précise de micro-organismes tels que les bactéries exige d'une façon générale :

- l'isolement du micro-organisme 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). Une telle culture doit pouvoir être poursuivie longtemps que nécessaire.

L'extrême abondance des germes disséminés dans l'atmosphère et le milieu ambiant, apporte quelques difficultés à la réalisation de ces objectifs, car ces germes peuvent compromettre la validité d'un isolement, aussi bien que la pureté des cultures.

L'isolement des germes bactériens peut être effectué à l'aide de différentes méthodes, telles que, l'isolement sur milieu ordinaire, ou par la technique de l'étalement sur gélose et la dilution en série. Le but de l'isolement est d'obtenir des colonies bactériennes nettement séparées. Les colonies bactériennes de forme, de taille, de couleur et de consistance variables, dépendant de l'espèce bactérienne en cause, sont des amas de bactéries toutes identiques, issues d'une seule bactérie originelle.

Ces techniques sont essentielles pour l'identification précise et rapide des bactéries dans un échantillon et pour la mise en place des traitements appropriés en cas d'infection bactérienne. L'isolement des germes bactériens est généralement réalisé en utilisant des milieux de culture sélectifs et différentiels, qui sont conçus pour favoriser la croissance de certains types de bactéries tout en inhibant la croissance d'autres types de bactéries non désirables. Les milieux de culture sélectifs contiennent des agents qui inhibent la croissance de certaines bactéries, tandis que les milieux de culture différentiels contiennent des agents qui permettent de différencier les différentes espèces bactériennes. Parmi les milieux de culture couramment utilisés dans ce genre d'analyse : la gélose nutritive (GN), la gélose au Bromocrésol pourpre (BCP), la gélose Hektoen (HK) et la gélose Chapman (CHAP), dont la composition est présentée dans l'annexe 02.

#### **4.3.1. Isolement à partir de surface sèches**

- Isolement sur gélose coulée en boîte de Pétri.

Pour isoler les germes des surfaces solides après l'étape d'enrichissement, il est conseillé d'utiliser la méthode de stries multiples serrées à l'aide d'une anse de platine stérile pour ensemercer le milieu GN, ainsi que la méthode des trois quadrants pour les milieux BCP et CHAP. Après ensemencement des boîtes, ces dernières sont incubées à 37°C pendant 24 heures. Les boîtes de Pétri ensemencées doivent toujours reposer couvercle en bas, que ce soit à l'étuve ou sur la paillasse à température ambiante, sinon, l'eau de condensation, quasi inévitable à la surface inférieure du couvercle, va retomber à la surface du milieu transformant l'isolement en une nappe inutilisable et difficile à interpréter. Après incubation, les boîtes sont ensuite examinées à l'œil nu pour détecter la présence de colonies bactériennes. Les figures 6 et 7 présentent les deux méthodes précédemment citées.

La méthode des 3 quadrants permet de séparer les colonies bactériennes et de les isoler sur des

zones distinctes de la boîte de Pétri. Elle permet également de visualiser les différentes colonies.

En utilisant cette méthode, il est possible d'obtenir des colonies pures de bactéries à partir d'un échantillon mixte, qui peut ensuite être utilisé pour des tests d'identification et de sensibilité aux antibiotiques. Néanmoins, l'étape isolement et purification constitue un chapitre capital, sur le plan pratique, renfermant l'essentiel de la technique bactériologique et doit être l'objet d'exercice incessante.

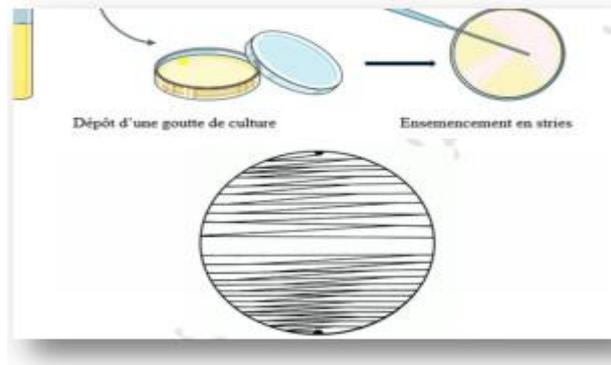


Figure 6: La méthode des stries (introduire de le site 6).

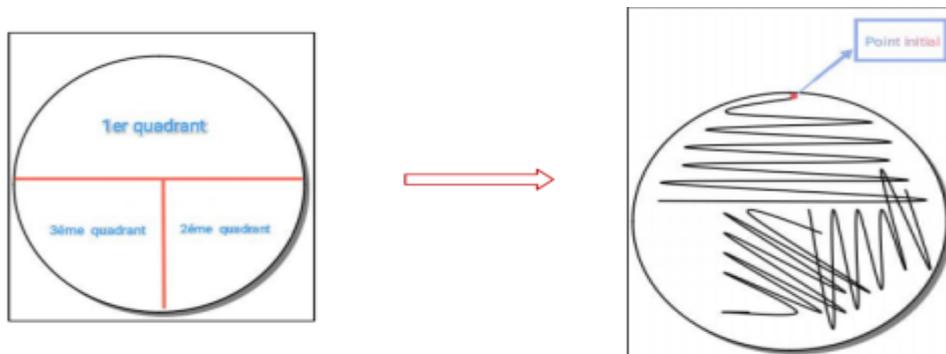


Figure 7 : La méthode des quadrants.

#### 4.3.2 Isolement à partir de l'air

Après incubation des boîtes, les colonies obtenues sur gélose nutritive et milieu Sabouraud ont été repiqués dans les milieux BCP et Chapman. L'ensemencement des milieux a été réalisé selon la méthode des quadrants. Les boîtes ont été ensuite incubées à 37°C pendant 24 h. La lecture des résultats se fait à l'œil nu et l'interprétation des résultats se fait en prenant en considération l'aspect macroscopique et microscopique des colonies.

### **4.3.3. Isolement à partir des échantillons d'urines**

Différentes techniques d'isolement de bactéries à partir d'échantillons d'urine sont proposées, en utilisant différents milieux de culture tels que la GN, le milieu BCP et le milieu CHAP. La méthode des stries multiples serrées a été utilisée pour ensemercer le milieu GN, tandis que la méthode des trois quadrants a été utilisée pour l'ensemencement des milieux BCP et CHAP. Après ensemencement, les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 heures. La lecture des résultats se fait par une étude macroscopique suivie d'une étude microscopique.

### **4.3.4. Purification des bactéries**

Cette étape est cruciale. Elle consiste à choisir une colonie bien isolée de chaque type de bactérie. Ensuite, prélever à l'aide d'une anse de platine stérile un ose de la colonie choisie et la mettre en suspension dans un tube à essai contenant quelques ml d'eau distillée stérile. On effectue ensuite un contrôle microscopique sur lame – lamelle (état frais – coloration de Gram), avant de procéder à l'identification.

## **4.4- Identification des bactéries**

Une bactérie ne peut être identifiée qu'une fois isolée et obtenue à l'état pur. Pour parvenir à identifier le germe, on est en général amené à réaliser :

- 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).

Le développement des bactéries présentes dans les échantillons d'urine est parfois lent. Le milieu doit être laissé à l'étuve et faire l'objet d'une observation après 48 heures à 37°C. L'identification des bactéries est un processus essentiel dans la microbiologie pour déterminer la

nature et l'espèce des bactéries présentes dans un échantillon donné. Elle peut être effectuée à l'aide de différentes méthodes et nécessite souvent une approche complémentaire pour obtenir une identification précise et fiable.

#### **4.4.1- Examen macroscopique**

L'examen macroscopique est une étape préliminaire importante dans l'identification des bactéries. Elle consiste à observer visuellement les caractéristiques macroscopiques des colonies bactériennes sur des milieux de culture ordinaires et parfois spécifiques. L'examen macroscopique permet d'obtenir des informations préliminaires sur l'apparence, la taille, la forme, la couleur, la texture, la consistance et l'odeur des colonies bactériennes. Ces caractères peuvent aider à orienter l'identification des bactéries présentes dans un échantillon (Denis *et al.*, 2007).

#### **4.4.2- Examen microscopique**

L'examen microscopique permet d'observer les bactéries à un niveau microscopique pour obtenir des informations sur leur morphologie, leur structure cellulaire et leur arrangement. Cet examen peut être réalisé en utilisant diverses techniques, soit sans coloration de l'échantillon par observation directe entre lame et lamelle ou bien après coloration. Parmi ces examens :

##### **4.4.2.1- L'examen à l'état frais**

L'examen à l'état frais est une méthode d'examen microscopique des bactéries entre une lame porte objet rigoureusement propre et bien dégraissée et une lamelle couvre objet extra-mince, également très propre, sans l'utilisation de colorants. . Il permet alors d'observer les bactéries dans leur état naturel, sans altérer leur morphologie ou leur structure cellulaire. L'examen à l'état frais permet d'apprécier la mobilité du germe étudié. On dit d'une bactérie est mobile lorsqu'on voit au moins un élément bactérien traversant le champ du microscope.

Pour réaliser un examen à l'état frais, une goutte d'eau distillée stérile est déposée sur une lame propre. En moyen d'une anse de platine stérile, un frottis bactérien mince est préparé par prélèvement et étalement d'une faible quantité de la culture bactérienne. Le frottis est recouvert d'une lamelle. Généralement, les bords de la lamelle sont séchés avec du papier filtre stérile. On examine ensuite avec un objectif 40, puis à l'immersion.

##### **4.4.2.2- Examen après coloration**

L'examen microscopique après coloration est une technique couramment utilisée pour observer les bactéries en utilisant diverses techniques de coloration, notamment la coloration simple (utilisant

d'un seul colorant) et la coloration de Gram, qui permet de différencier les bactéries Gram-positives des bactéries Gram-négatives en fonction de la composition de leur paroi cellulaire. Cette technique permet d'améliorer la visualisation des bactéries sous le microscope en ajoutant des colorants qui se fixent aux structures bactériennes, facilitant ainsi leur identification. La plupart des colorants sont des dérivés des hydrocarbures. Cette coloration différentielle comprend plusieurs étapes.

#### **4.4.2.2.1- Préparation d'un frottis bactérien**

Pour réaliser un frottis bactérien, on dépose une goutte d'eau distillée stérile sur une lame propre et à l'aide d'une anse de platine stérile on prélève une fine quantité de la colonie bactérienne ensuite on l'étale sur une lame. La préparation est séchée, puis fixée par passage rapide au-dessus d'une flamme bleue du bec bunsen ensuite colorée puis examinée à l'aide d'un microscope optique. En bactériologie, deux types de colorations sont généralement utilisées :

#### **4.4.2.2.2- Coloration simple (coloration au bleu de méthylène)**

La coloration au bleu de méthylène est une technique simple et rapide, car elle nécessite qu'un seul colorant. L'objectif principal de la coloration au bleu de méthylène est de permettre l'observation de la morphologie, de la taille, de l'arrangement et de la distribution des cellules bactériennes dans un échantillon. Elle permet également d'apprécier la viabilité et la motilité du germe étudié. Pour réaliser cette coloration, un frottis bactérien est fixé puis recouvert de quelques gouttes de bleu de méthylène. Le colorant est laissé agir pendant 1 à 2 minutes. Le bleu de méthylène se lie aux structures cellulaires des bactéries et les colore en bleu, la lame est ensuite rincée délicatement à l'eau distillée ou à l'eau de robinet pour éliminer l'excès de colorant, puis séchée avec du papier absorbant pour enlever l'excès d'eau et observer au microscope optique à immersion.

#### **4.4.2.2.3- 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-. C'est une technique de coloration différentielle qui permet de distinguer les bactéries en se basant sur la composition de leur paroi cellulaire. Elle est l'une des méthodes les plus courantes pour classer les bactéries en deux groupes : les bactéries Gram+ et les bactéries Gram-. Cette coloration comprend plusieurs étapes :

##### Protocole opératoire

Cette coloration consiste à recouvrir le frottis bactérien fixé avec 4 à 5 gouttes de violet de gentiane. Le colorant est laissé agir pendant 1 minute maximum.

Le violet de gentiane pénètre dans les cellules bactériennes et les colore en violet. Le violet de gentiane est rejeté en inclinant la lame, sans la laver. Elle est ensuite recouverte avec du Lugol (solution aqueuse d'iode et d'iodure de potassium) qui constitue le mordant. Celui-ci prend une teinte mordorée. On le jette au bout 30 à 45 secondes. La préparation prend alors une teinte noirâtre. La lame est rincée délicatement à l'eau de robinet. Ensuite, on laisse couler goutte à goutte sur la préparation tenue inclinée de l'alcool 90°, jusqu'à ce que cet alcool s'écoule incolore, mais sans trop insister. On arrête immédiatement la décoloration en lavant la lame à l'eau. On verse ensuite sur la préparation 4 à 5 gouttes de Fuch sine de Ziehl et on le laisse agir pendant 1 minute. La lame est ensuite lavée, égouttée puis séchée. Après observation microscopique sous un objectif à immersion, les bactéries Gram+ sont colorées en violet et les bactéries Gram-, sont colorées en rouge ou rose.

La composition de ces deux colorants (violet de gentiane = colorant primaire) et le colorant de contraste = Fuch sine de Ziehl) est présente dans l'annexe 03.

#### **4.4.3- Identification biochimiques**

##### **4.4.3.1- Les tests biochimiques classiques**

Différents tests biochimiques classiques ont été utilisés dans l'identification bactérienne. Parmi ces tests (Annexe 02).

##### **4.4.3.1.1-TSI (Triple Sugar Iron)**

Le métabolisme glucidique des bactéries renferme plusieurs tests, parmi ces tests, le test TSI. Il s'agit d'un test biochimique utilisé pour l'identification des bactéries à Gram-négatives. Le test de TSI est réalisé en utilisant un milieu de culture solide contenant trois sucres : glucose, saccharose et lactose. Ce test permet de détecter la production de gaz et la production du soufre d'hydrogène (production H<sub>2</sub>S = noircissement du milieu sur une zone). La composition de ce milieu est indiquée en annexe 02.

➤ Mode opératoire : Les colonies à tester sont inoculées dans un tube contenant de l'eau physiologique stérile, en utilisant une anse de platine stérile. A l'aide d'une anse stérile on prélève un échantillon d'inoculum et onensemence la surface abondamment (stries bien serrés) du milieu TSI, puis le culot par piqûre centrale. Les tubes sont incubés pendant 24 heures à 37°C.

Après incubation, la lecture des résultats de ce test se fait par l'observation des changements de couleur du milieu, la production de gaz et la formation de précipités dans le milieu de culture.

- Changement de couleur : Les bactéries qui fermentent le glucose produisent de l'acide, ce qui fait apparaître une coloration jaune, par contre si les bactéries ne fermentent pas le glucose, le culot ne change pas. Si les bactéries fermentent également le lactose et/ou le saccharose, elles produisent

également de l'acide, ce qui entraînera une coloration jaune dans la partie inférieure du tube, et si le lactose et le saccharose sont négatifs, la pente est alcalinisée, ce qui entraînera une coloration rouge groseille.

- La production de gaz : Les bactéries qui produisent du gaz lors de la fermentation des sucres forment des bulles ou des fissures ou décollement dans le milieu de culture.

- La production de H<sub>2</sub>S : Dans ce milieu, le sulfate ferreux, sert d'indicateur de production d'H<sub>2</sub>S. Si les bactéries produisent du H<sub>2</sub>S, cela entraînera la formation d'un précipité noir dans la partie inférieure du tube.

#### **4.4.3.1.2- Milieu Urée - Indole**

Le métabolisme protéique renferme aussi plusieurs tests et la recherche de l'uréase et de l'indole, constitue un des principaux tests. Le test d'urée indole est un test biochimique utilisé pour identifier certaines espèces de bactéries en se basant sur leur capacité à hydrolyser l'urée et à produire de l'indole à partir de l'acide aminé tryptophane, notamment dans l'identification des entérobactéries. Le milieu se présente généralement en ampoules scellées de 1 ml, de couleur jaune orangé. La composition de ce milieu est présentée en annexe 02.

➤ Mode opératoire : À l'aide d'une anse de platine stérile on ensemence le tube d'urée, en prélevant à partir d'une suspension bactérienne préalablement préparée et l'introduisant dans le tube d'urée. Le milieu est mélangé délicatement pour bien répartir les bactéries dans le milieu, ensuite le tube d'urée est incubé à une température 37°C pendant 24 heures.

➤ Lecture des résultats : Après incubation, le résultat est observé pour le changement de couleur. Si une couleur rose à rouge apparaît dans le tube d'urée, cela indique une hydrolyse positive de l'urée et donc une production d'ammoniac par l'enzyme uréase. Si une couleur jaune à orange apparaît, cela indique une hydrolyse négative de l'urée et donc l'absence d'uréase. Si la bactérie produit de l'indole à partir du tryptophane, cela peut être détecté en ajoutant du réactif de Kovacs (qui réagit avec l'indole pour former un composé coloré) dans le tube. Si un anneau rose à rouge apparaît à la surface du milieu de culture après l'addition du réactif de Kovacs, cela indique une production d'indole.

#### **4.4.3.1.3-Test Citrate de Simmons**

Le test de citrate de Simmons est utilisé pour déterminer la capacité d'une bactérie à utiliser le citrate comme seule source de carbone et d'énergie.

➤ Mode opératoire : À partir d'un inoculum préparé, on ensemence le tube de citrate de

Simmons en des stries bien serrées à l'aide d'une anse de platine. On incube le tube de citrate de Simmons pendant 24 heures à 37°C.

➤ Lecture des résultats : Après incubation, si la bactérie est capable d'utiliser le citrate comme seule source de carbone et d'énergie, le milieu vire du vert au bleu, si le milieu reste vert, cela indique une réaction négative.

#### **4.4.3.1.4- Test de Mannitol mobilité**

C'est une gélose molle contenant du mannitol (polyol dérivé du mannose) et un indicateur coloré (rouge de phénol). Le principe de ce milieu de culture serait donc de permettre aux bactéries de dégrader le mannitol comme source de carbone et d'énergie, ce qui provoquerait un virage du pH de l'indicateur (du rouge phénol au jaune) en raison de la production d'acides lors de la fermentation du mannitol. En même temps, on observe la capacité des bactéries à se déplacer (mobilité) dans le milieu. La composition de ce milieu est indiquée en annexe 02.

➤ Mode opératoire : À partir d'une colonie bactérienne pure et à l'aide d'une anse de platine stérile on ensemence le milieu mannitol mobilité, par piqûre centrale aussi fine que possible. Les tubes sont incubés dans une étuve pendant 24 heures à 37°C.

➤ Lecture des résultats : Après incubation, la lecture de résultats comme suit :

1- Pour le mannitol : si la bactérie est capable de fermenter le mannitol, le milieu vire au jaune. Si le milieu reste rouge, cela indique une absence de fermentation du mannitol.

2- Pour la mobilité : si la bactérie diffuse à partir de la ligne d'ensemencement en créant un trouble dans le milieu, cela indique la mobilité de la bactérie. Si aucune traînée n'est observée, cela indique l'absence de mobilité de la bactérie.

#### **4.4.3.1.5- Recherche de l'ONPG**

Le test de l'ONPG, ou o-nitrophényl- $\beta$ -D-galactopyranoside, est une méthode utilisée pour déterminer la capacité d'une bactérie à fermenter le lactose. Pour que ce sucre soit fermenté, il faut :

- qu'il pénètre dans la cellule bactérienne. Cette pénétration dépend de la bêta-galactoside perméase.
- qu'un autre enzyme intracellulaire, la bêta-galactosidase, hydrolyse en glucose et galactose la molécule de lactose.

Le principe de la recherche de l'ONPG repose sur la capacité de la bactérie à hydrolyser l'ONPG en libérant du galactose et un produit du o-nitrophényl qui se colore en jaune, en présence d'une enzyme appelée  $\beta$ -galactosidase qui dégrade le lactose en glucose et galactose.

➤ Mode opératoire : La recherche de l'ONPG peut être effectuée en ajoutant de l'ONPG dans un tube d'eau physiologique contenant la souche bactérienne à tester, et en observant tout changement de couleur du tube après un temps d'incubation de 24 heures à 37°C. Si la bactérie est capable de fermenter le lactose et de produire la  $\beta$ -galactosidase, le milieu se colore en jaune. Si la bactérie est incapable de fermenter le lactose, le milieu reste inchangé.

#### **4.4.3.1.6- Test d'oxydase (recherche de l'oxydase)**

Le test oxydase est une méthode utilisée en bactériologie pour détecter la présence de l'enzyme oxydase chez une bactérie. Le test oxydase est souvent utilisé pour aider à différencier les bactéries Gram-négatives oxydase-positives, telle que *Pseudomonas* et des bactéries Gram-négatives oxydase-négatives.

➤ Mode opératoire : Le test oxydase est généralement réalisé en utilisant une bandelette d'essai oxydase qui contient un substrat sensible à l'oxydase, généralement la tétra méthyl-p-phénylènediamine (TMPD). Pour effectuer le test, une colonie bactérienne fraîche est prélevée sur une plaque de culture et est appliquée sur la bandelette d'essai oxydase. Si la bactérie possède l'enzyme oxydase, la bandelette d'essai oxydase changeant de couleur, généralement du jaune pâle au bleu-violet, en raison de l'oxydation du TMPD par l'enzyme oxydase.

#### **4.4.3.2- Caractères biochimique des *Staphylocoques* pathogènes**

Les staphylocoques appartiennent à la famille des micrococcaceae, et se caractérisent par une morphologie en Cocci; ce sont des bactéries Gram+, se présentent souvent en grappes, sont aéro-anaérobies facultatives. Parmi les principales espèces : *St. aureus*, *St. épidermis* et *St. saprophyticus*.

L'espèce *St. aureus* est caractérisée par la possession d'une enzyme, la coagulase qui transforme le fibrinogène du plasma en fibrine. Cette espèce possède aussi le pouvoir de sécréter des entérotoxines provoquant des toxi-infections et c'est la raison pour laquelle, elle est étudiée en bactériologie alimentaire.

Parmi les propriétés métaboliques générales – types respiratoires, figure le test de la recherche de l'enzyme catalase.

##### **4.4.3.2.1- Test de la catalase (recherche de la catalase)**

La catalase est une enzyme qui catalyse la décomposition de l'eau oxygénée (peroxyde d'hydrogène) en eau et en oxygène selon la réaction suivante :



Ce test est souvent utilisé pour différencier les bactéries Gram-positives catalase-positives telles que *Staphylococcus* et des bactéries Gram-négatives catalase-négatives, telles que *Streptococcus*.

➤ **Mode opératoire:** Pour effectuer le test, une goutte de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) est déposée sur une lame propre, puis à l'aide d'une anse de platine on prélève une öse de culture bactérienne à examiner et est déposée dans cette goutte. Si la bactérie possède l'enzyme catalase, on observe un dégagement gazeux (petites bulles).

#### **4.4.4- Test de la sensibilité des souches aux antibiotiques (l'antibiogramme)**

La surveillance de l'anti-biorésistance des germes bactériens est très importante car à côté de la résistance naturelle à certains antibiotiques, existe une résistance acquise des souches bactériennes. Le test d'antibiogramme permet de déterminer la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques in vitro. Le test de sensibilité des souches aux antibiotiques est une méthode utilisée pour évaluer la réponse des bactéries aux différents antibiotiques. Il consiste à mesurer la zone d'inhibition de croissance microbienne autour d'un antibiotique déposé à la surface du milieu de culture gélosé. On peut réaliser cette détermination de deux manières :

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

Le test de sensibilité aux antibiotiques est généralement réalisé en utilisant une méthode de diffusion sur gélose, telle que la méthode de diffusion en disque. Ce test est également connu sous le nom d'antibiogramme.

##### **4.4.4.1- L'antibiogramme**

L'antibiogramme est une procédure importante dans la gestion des infections bactériennes, car il aide les cliniciens à choisir les antibiotiques plus appropriés pour traiter une infection particulière.

##### **4.4.4.2- But de l'antibiogramme**

Le but de l'antibiogramme est d'évaluer la sensibilité des bactéries aux antibiotiques. Il permet de déterminer lesquels sont efficaces contre une souche bactérienne spécifique et lesquels sont inefficaces en raison de la résistance bactérienne.

##### **4.4.4.3- Principe**

Le principe de l'antibiogramme repose sur la détermination de la sensibilité des souches bactériennes isolées en utilisant des méthodes de laboratoire standardisées. Le processus d'antibiogramme consiste généralement à utiliser une méthode de diffusion de disques en milieu gélosé.

Des disques d'antibiotiques sont placés sur la surface d'une gélose Muller Hinton (MH) contenant la souche bactérienne. Les disques sont imprégnés d'antibiotiques spécifiques en concentrations standardisées.

#### **4.4.4- Mode opératoire**

On utilise deux méthodes pour réaliser l'antibiogramme :

1- Méthode d'inondation : À l'aide d'une anse de platine stérile on inocule une souche bactérienne isolée d'une culture pure dans un tube contenant 10 ml d'eau physiologique. La suspension est mise dans une étuve pendant 10-15 minutes. puis couler-la sur milieu MH et laisser la boîte pendant 15 minutes à l'air ambiante pour la sédimentation des bactéries dans le milieu, ensuite jeter l'inoculum et mettre encore la boîte dans l'étuve pendant 15 min pour la sécher. La Figure 8 présente la méthode d'inondation. Dans des conditions stériles et à l'aide d'une pince stérile, les disques d'antibiotiques sont placés sur la surface de la gélose inoculée (Figure 10). Les boîtes sont incubées à une température de 37°C pendant 24 heures.

2- Méthode d'ensemencement : À partir d'une suspension bactérienne préparée, on ensemence une boîte contenant le milieu M.H en utilisant un écouvillon stérile, imbibé de la suspension. La suspension bactérienne est étalée régulièrement dans toute la surface du milieu gélosé en des stries bien serrées (Figure 9). À l'aide d'une pince stérile des disques d'antibiotiques sont déposés sur la surface de la gélose (Figure 10). Les boîtes de Pétri sont incubées à une température de 37°C pendant 24 heures. Le tableau 4 présente les disques d'antibiotiques utilisés et leur charge.



**Figure 8** : Méthode d'inondation.



**Figure 9**: Méthode d'ensemencement.



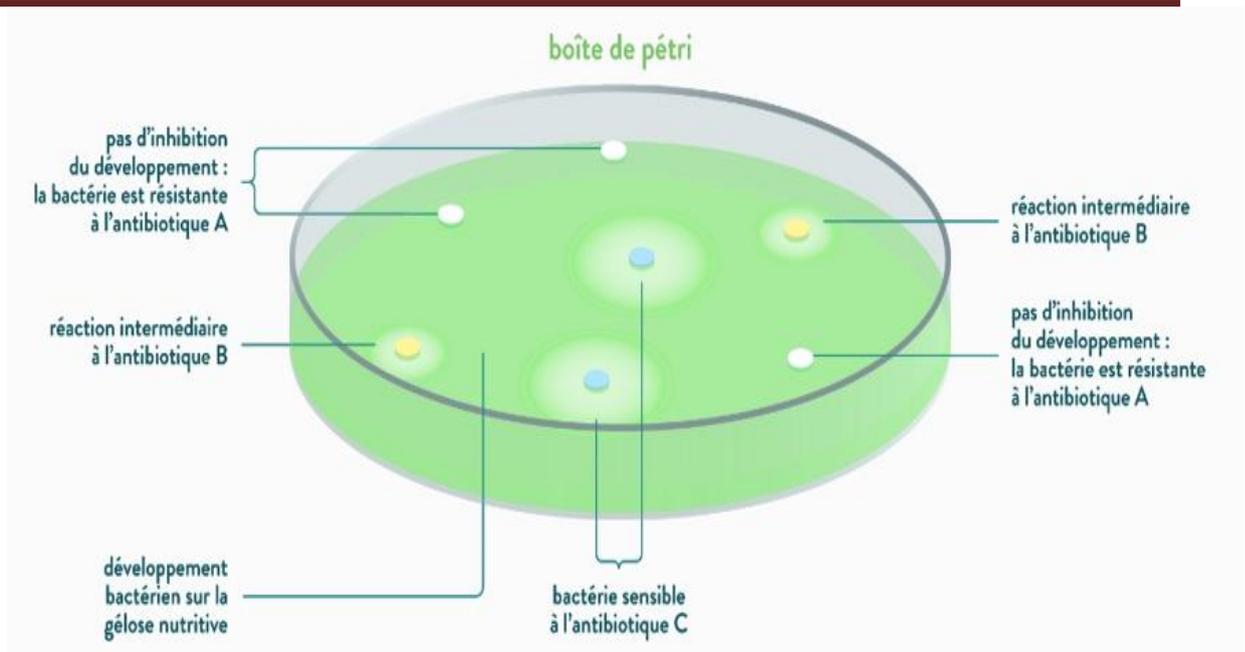
**Figure 10 :** Dépôt des disques d'antibiotiques à la surface gélosée.

**Tableau 4:** Disques d'antibiotiques utilisés et leur charge.

<b>Antibiotiques</b>	<b>Signes</b>	<b>Charge du disque</b>
Erythromycine	E	15 µg
Gentamicine	GEN	500 µg
Cefixime	CFM	10 µg
Amoxyclave	AMC	30 µg
Azithromycine	AZM	500 µg
Amoxicilline	AML	25 µg

#### 4.4.4.5- Lecture des résultats

Après incubation, les zones d'inhibition de la croissance bactérienne autour des disques d'antibiotiques sont mesurées à l'aide d'une règle et enregistrées en millimètres. Ensuite, on compare les résultats obtenus avec les valeurs critiques selon la Standardisation des tests de sensibilités aux antibiotiques à l'échelle nationale, (2014) désignées dans les tables de lecture correspondantes (Annexe 05). En fonction de la taille des zones d'inhibition, la souche bactérienne peut être classée comme sensible, intermédiaire ou résistante à un antibiotique spécifique. La figure 11, illustre les résultats de l'antibiogramme.



**Figure 11:** Résultat de l'antibiogramme (site 6).

Il est à signaler que par manque de matériel et de produits, nous nous sommes limités à effectuer ces tests. Mais, il aurait probablement été intéressant d'affiner et de confirmer ces résultats avec d'autres tests, notamment la galerie API,...

Il est absolument indispensable d'appliquer lors des manipulations de rigoureuses précautions d'aseptie. Les précautions devront, par la suite, toujours être observées, quelles que soient les manipulations de cultures effectuées. Le bactériologiste doit acquérir un automatisme réfléchi qui lui permettra le travail aseptique, et d'éviter la contamination.

# ***Chapitre 3***

## ***Résultats et Discussion***

**1- 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 Bouhdjar : le service de cuisine, le service d'hémodialyse et le service de bloc opératoire. 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.

Les tableaux ci-dessous résument les résultats obtenus.

**1.1- Résultat de l'enrichissement**

Après 24 heures d'incubation, les résultats ont montré que les tubes correspondant au service de cuisine se sont tous révélés positifs, avec l'apparition d'une turbidité, tandis que pour les services d'hémodialyse et du bloc opératoire, certains tubes présentent une turbidité alors que d'autres n'ont présenté aucun signe de turbidité. Les résultats de l'enrichissement sont présentés dans le tableau 5.

**Tableau 5:** Résultats de l'enrichissement.

Services	Aspects macroscopiques	
Cuisine		Tous les tubes présentent un trouble, avec l'apparition d'un voile dans les tubes de prélèvement N°1, 2, 4 et 5.
Hémodialyse		Les tubes de prélèvement N°8, 9, 10 et 12 présentent un trouble, tandis qu'un voile apparaît uniquement dans les tubes de prélèvement N°8 et 9. Les tubes N°11 et 15, quant à eux, ne présentent aucun trouble.

Bloc opératoire		Les tubes de prélèvement N° 18, 19 et 20 présentent un trouble, tandis que les tubes de prélèvement N° 16 et 21 sont exempts.
-----------------	---	---

### 1.2-Résultats de l'étude macroscopique et microscopique des bactéries isolées

L'étude macroscopique consiste à décrire l'aspect cultural des colonies, la couleur, la taille et le contour sur des milieux solides. Tandis que les résultats de l'étude microscopique sous microscope optique permettent d'obtenir des informations sur la morphologie des bactéries. Les résultats des isolements des germes bactériens ont été obtenus sur quatre 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 et les figures ci-dessous présentent ces résultats.

1.2.1. Résultats des isolements au niveau du service de cuisine

Tableau 6 : Résultats de l'étude macroscopique au niveau du service de cuisine.

N° et site de prélèvement	Caractères culturaux			Coloration	
	GN	Chapman	BCP	Bleu de méthylène	Gram
1- Mur	Colonies extensives, irrégulières, lisses, crémeuses, et convexes avec un centre opaque et des bords clairs. Elles sont de couleur bleu-vert.	Colonies de couleur crème, volumineuses, irrégulières, bombées, opaques, virage de la couleur du milieu au jaune.	Colonies extensives, irrégulières, et convexes avec un centre opaque et des bords clairs.		Bacilles Gram positives sur Chapman
2- Paillasse	Tapis bactérien.	Colonies de couleur crème, volumineuses, irrégulières, bombées, opaques, virage de la couleur du milieu au jaune.	Petites colonies, opaques, circulaires, convexes, crémeuses, lisses, Ses couleurs sont vertes fluorescentes.		Bacilles Gram positives sur Chapman
3- Chariot	Colonies extensives, irrégulières, lisses, crémeuses, et convexes avec un centre opaque et des bords clairs. Elles sont de couleur bleu-vert.	Colonies de couleur crème, irrégulières, bombées, opaques, virage de la couleur du milieu au jaune.	Colonies extensives, irrégulières, et convexes avec un centre opaque et des bords clairs.		Bacilles Gram positives sur Chapman

4- Les boîtes d'alimentation	Colonies extensives, irrégulières, et plates avec un centre opaque et des bords clairs. Elles sont de couleur bleu-vert	Petites colonies de couleur jaunes dorées à blanc, circulaires, convexe, lisses, crémeuses, opaques, virage de la couleur du milieu au jaune	Colonies extensives, irrégulières, et convexes avec un centre opaque et des bords clairs.	Bacille sur BCP	Cocci Gram positives sur Chapman
5- Corbeille à pain	Tapis bactérien.	Colonies de couleur crème, volumineuses, irrégulières, bombées, opaques, virage de la couleur du milieu au jaune.	Colonies moyennes de couleur beige à brune, rondes, convexe.		Bacilles Gram positives sur Chapman  Bacilles Gram négatives sur BCP
6- Robinet	Tapis bactérien.	Petites colonies de couleur blanchâtre, rondes, convexe, lisses.	Petites colonies, rondes, convexe, lisses, muqueuse, opaque.		Cocci Gram positives sur Chapman
7- L'air de la chambre froide	Champignons.	SB Champignons.			

Résultats des caractères cultureux (aspect phénotypique)

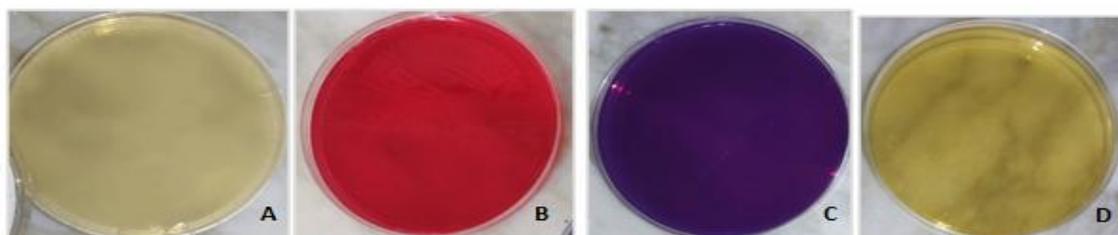


Figure 12: Milieux de cultures témoins (non ensemencés)

A : GN, B : Chap., C : BCP et D : SB.

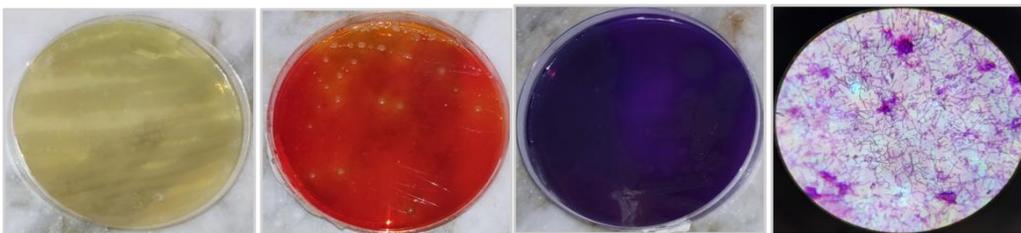
Résultats de l'aspect cultureux au niveau du service de cuisine



**Figure 13:** Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N° 01 et aspect microscopique après coloration de Gram (Bacille G+) (G. 100).



**Figure 14:** Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°02 et aspect microscopique après coloration de Gram (Bacille Gram+) (G×100).



**Figure 15:** Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°03 et aspect microscopique après coloration de Gram (Bacille Gram+) (G×100).



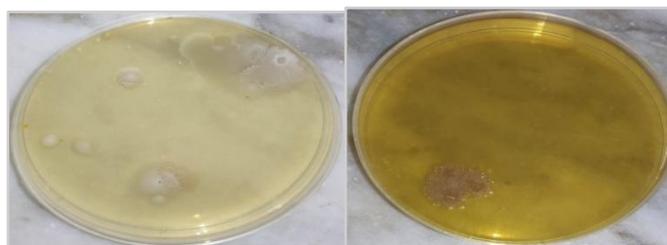
**Figure 16 :** Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°04 et aspect microscopique après coloration de Gram (Cocci Gram+) et Bacille Gram- (G×100).



**Figure 17 :** Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°05 et aspect microscopique après coloration de Gram (Bacille Gram+) et (Bacille Gram-) (G×100).



**Figure 18 :** Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°06 et aspect microscopique après coloration de Gram (Cocci Gram+)(G×100).



**Figure 19:** Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°07.

L'étude microscopique a permis de différencier les germes bactériens en deux groupes, le premier correspond aux bactéries Gram positives et le second au groupe des bactéries Gram négatives. Cette étude a permis aussi d'observer la forme des cellules et le mode d'association (isolées, associées en paire, en chaînettes...).

### 1.2.2. Résultats des isolements au niveau du service d'hémodialyse

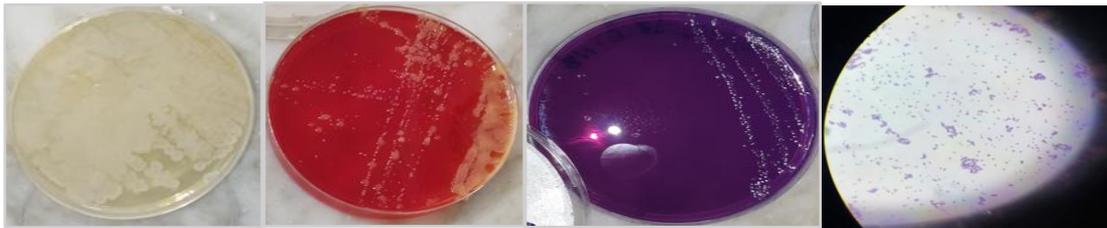
**Tableau 7:** Résultats de l'étude macroscopique au niveau du service d'hémodialyse.

N° et site de prélèvement	Caractères cultureux			Coloration	
	GN	Chapman	BCP	Bleu de méthylène	Gram
8- Tables de malade	Tapis bactérien.	Colonies volumineuses, circulaires, convexes, opaques, lisses, crémeuses, jaunes dorés à blanc.	Petites colonies blanchâtres, régulières, convexes, opaques, muqueuses.		Cocci Gram positives sur Chapman
9-Chariot d'instrument	. Tapis bactérien.	Colonies jaunes dorés à blanc, volumineuses, irrégulières, convexes,	Aucune croissance.		Cocci Gram positives sur Chapman

		crémeuses, virage de la couleur du milieu vers d'orange.			
10- Lit de malade	Tapis bactérien.	Petites colonies blanchâtres lisses, rondes, crémeuses. Certaines colonies jaunâtres volumineuses, bombées.	Petites colonies transparentes, régulières, convexes, opaques, muqueuses, lisses.	Cocci sur Chapman	Cocci Gram positives sur Chapman
11- Murs	Aucune croissance.	Aucune croissance.	Aucune croissance.		
12- Potence	Tapis bactérien.	Petites colonies blanchâtres convexes, rondes, lisses, crémeuses.	Aucune croissance.		Cocci Gram positives sur Chapman
13-Prélèvement urinaire (urine du premier patient)	Petites colonies blanchâtres, translucides, rondes, convexes, crémeuses.	Aucune croissance.	Petites colonies, opaques, circulaires, convexes, crémeuses, lisses, Ses couleurs sont vertes fluorescentes.		Bacilles Gram négatives sur BCP
14-Prélèvement urinaire (urine du deuxième patient)	Petites colonies blanchâtres, translucides, rondes, convexes, crémeuses.	Aucune croissance.	Petites colonies, opaques, circulaires, convexes, crémeuses, lisses, Ses couleurs sont		Bacilles Gram négatives sur BCP

			vertes fluorescentes.		
15- Machine d'hémodialyse (un générateur d'hémodialyse)	Aucune croissance.	Aucune croissance.	Aucune croissance.		

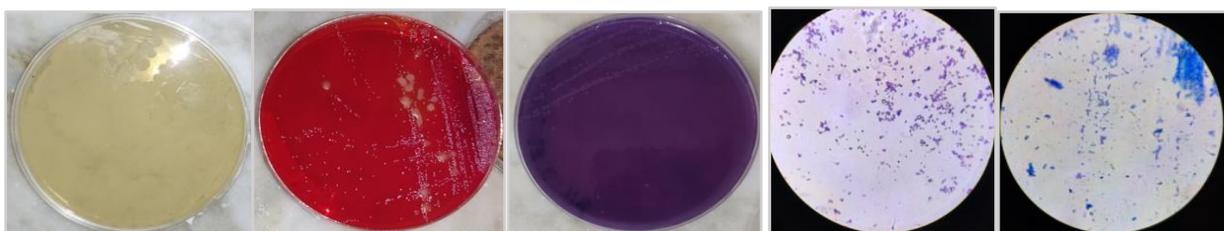
Résultats de l'aspect culturaux au niveau du service d'hémodialyse



**Figure 20:** Caractères culturaux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°08 et aspect microscopique après coloration (Cocci Gram+) (G×100).



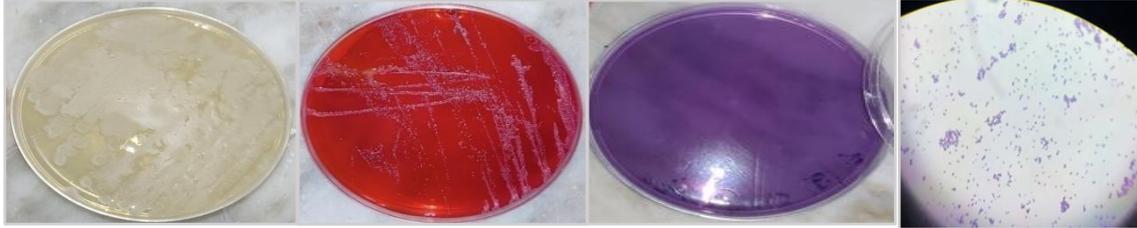
**Figure 21:** Caractères culturaux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°09 et aspect microscopique après coloration de Gram (Cocci Gram+) (G×100).



**Figure 22:** Caractères culturaux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°10 et aspect microscopique après coloration de gram (Cocci Gram+) (G×100).



**Figure 23 :** Caractères culturaux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°11.



**Figure 24** : Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°12 et aspect microscopique après coloration de Gram (Cocci Gram+) (G×100).



**Figure 25** : Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°13 et aspect microscopique après coloration de Gram (Bacille Gram-) (G×100).



**Figure 26** : Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°14 et aspect microscopique après coloration de Gram (Bacille Gram-) (G×100).



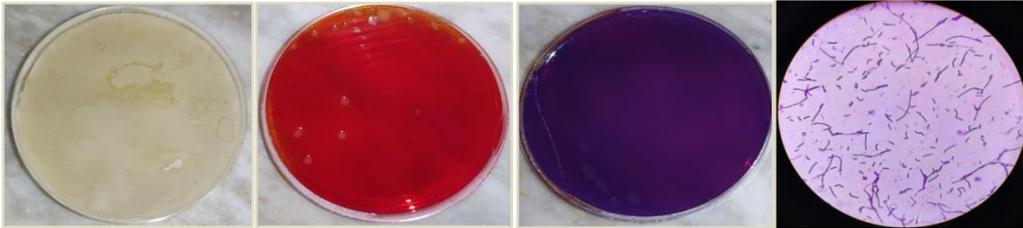
**Figure 27** : Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°15.

1.2.3. Résultats des isolements au niveau du service de bloc opératoire

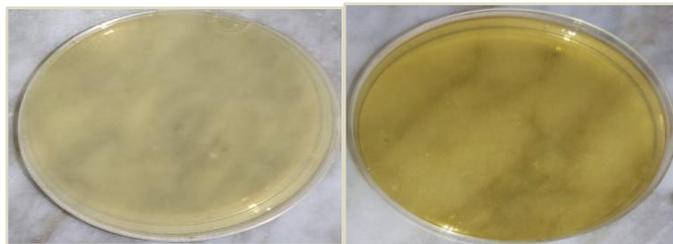
Tableau 8 : Résultats de l'étude macroscopique au niveau du service de bloc opératoire.

N° et site de prélèvement	Caractères cultureux			Coloration	
	GN	Chapman	BCP	Bleu de méthylène	Gram
16- Boîte d'instruments stérile à l'intérieur	Tapis bactérien	Colonies de couleur crème, irrégulières, bombées, opaques, virage de la couleur du milieu au jaune.	Colonies volumineuses, irrégulières, et convexes avec un centre opaque et des bords clairs.		Bacilles Gram positives sur Chapman
17- L'air de la salle septique	Aucune croissance.	SB. Aucune croissance.			
18-Boîte d'instruments à l'extérieur la surface de la boîte	Tapis bactérien	Colonies de couleur crème, irrégulières, bombées, opaques, virage de la couleur du milieu au jaune.	Aucune croissance.		Bacilles Gram positives sur Chapman
19- Table d'opération	Petites colonies blanchâtres lisses, rondes, crémeuses, et présence d'un champignon.	Petites colonies de couleur blanchâtre, rondes, convexe, lisses.	Aucune croissance.		Cocci Gram positives sur Chapman
20- Respirateur	Tapis bactérien.	Colonies de couleur crème, volumineuses, irrégulières, bombées, opaques, virage de la couleur du milieu au jaune.	Colonies extensives, irrégulières, et convexes avec un centre opaque et des bords clairs.		Bacilles Gram positives sur Chapman
21- Scialytique	Aucune croissance.	Aucune croissance.	Aucune croissance.		

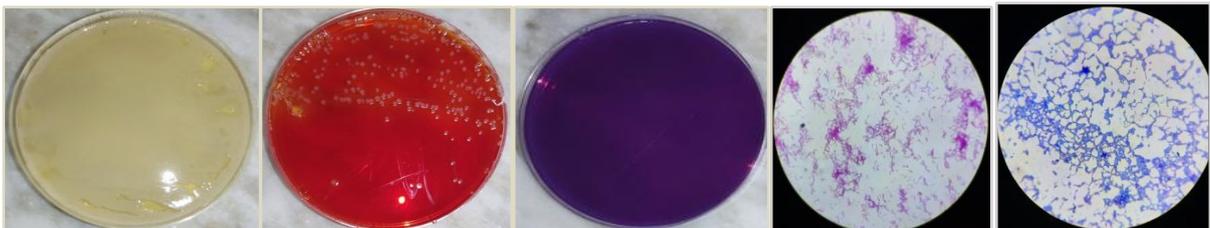
## Résultats de l'aspect culturaux au niveau du service de bloc opératoire



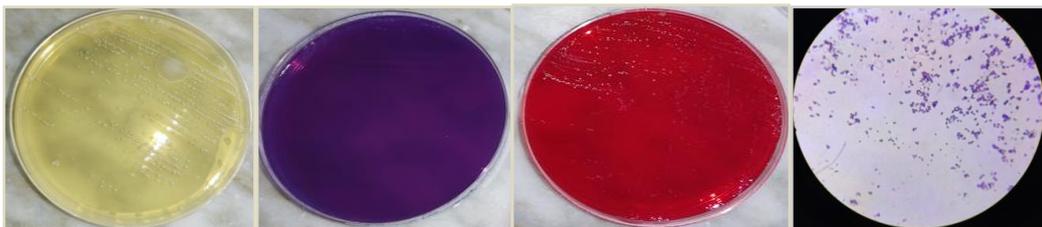
**Figure 28** : Caractères culturaux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°16 et aspect microscopique après coloration de Gram Bacille (Gram+) (G×100).



**Figure 29** : Caractères culturaux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°17.



**Figure 30** : Caractères culturaux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°18 et aspect microscopique après coloration de Gram (Bacille Gram+) (G. 100).



**Figure 31** : Caractères culturaux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°19 et aspect microscopique après coloration de Gram (Cocci Gram) (G×100).

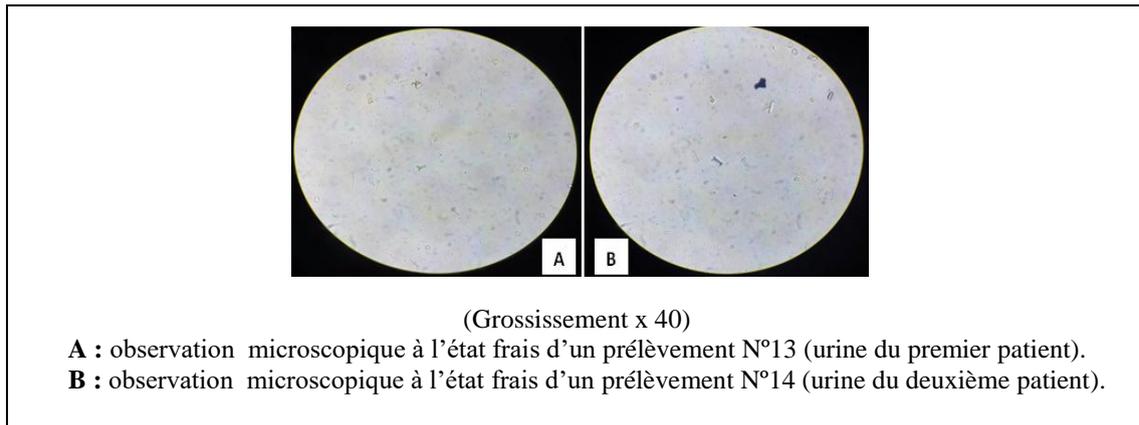


**Figure 32** : Caractères culturaux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°20 et aspect microscopique après coloration (Bacille Gram+) (G×100).



**Figure 33 :** Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du prélèvement N°21.

### Résultats des observations microscopiques à l'état frais



**Figure 34 :** L'observation microscopique à l'état frais.

Les observations microscopiques des deux échantillons (N°13/N°14) ont montrés une absence de leucocytes.

Ces observations ont montrés la présence de quelques bactéries, avec la rareté des éléments cellulaires tel que (des cristaux d'oxalate et acide urique, des quelques hématies, des cellules épithéliales, des leucocytes).

### 1.3. Pré-identification des bactéries

L'étude bactériologique a été effectuée dans trois services hospitaliers, dont vingt un (21) sites ont été analysés. Les résultats bactériologiques ont montré une diversité d'espèces bactérienne. Au total, huit (08) isolats bactériens ont été isolés, purifiés en suite 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.

### 1.4- Résultat de l'identification biochimique

#### 1.4.1. Résultats des tests biochimiques classiques

Neuf tests ont été réalisés en fonction de la disponibilité des milieux et des moyens. Les résultats de ces tests sont illustrés dans la figure 35 et le tableau 9 Selon les premières résultats des tests biochimiques, nous pouvons préjuger que les souches bactériennes appartiennent à : *Enterobacter*

*agglomerans*, *Klebsiella Kp.subsp orrenae*, *Klebsiella subsp rhinoscleronatis* et *Pseudomonas spp*

Cette identification est approximative et demande une confirmation au moins par la galerie API.

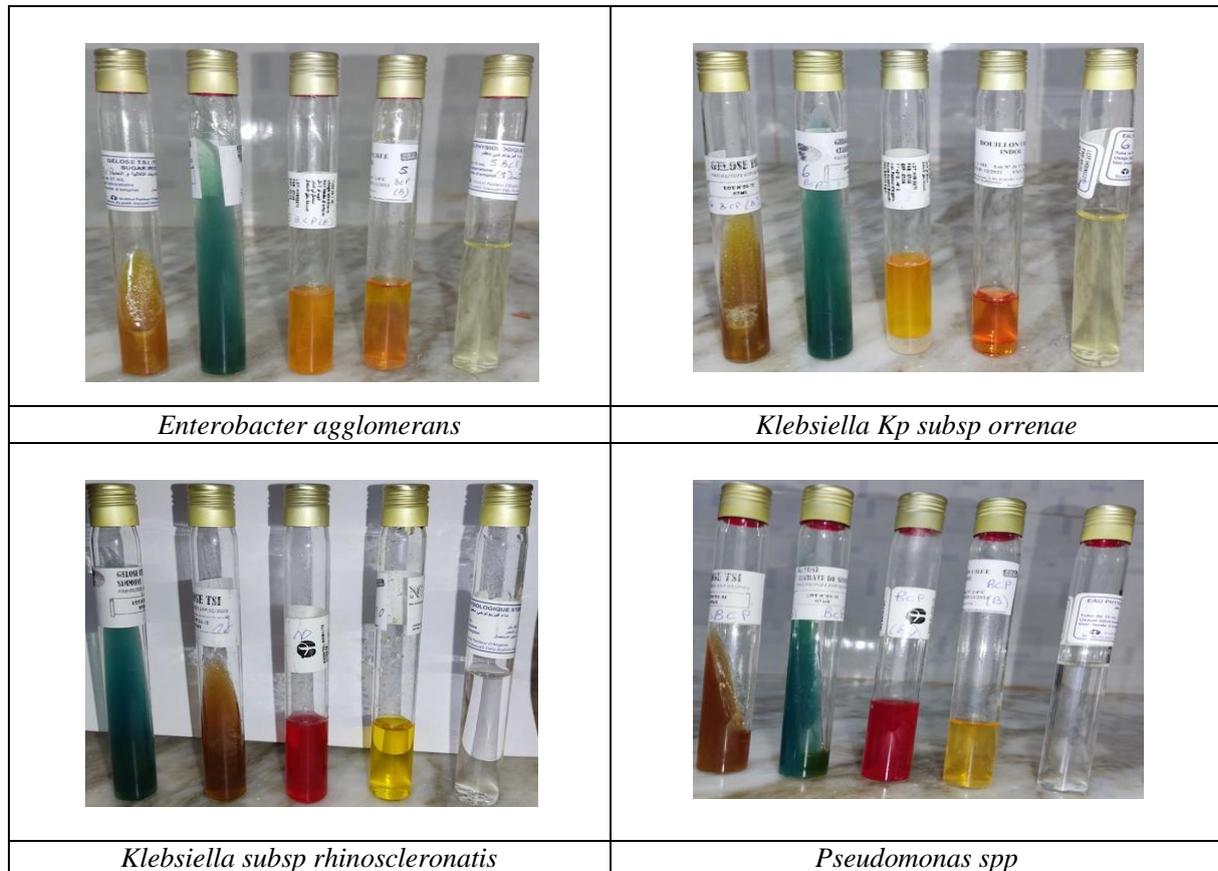


Figure 35 : Résultats des caractères biochimiques des germes bactériens.

Tableau 9 : Résultats des tests biochimiques classiques.

Tests \ Germes	Sucres	H <sub>2</sub> S	Gaz	Mannitol mobilité	Citrate de Simmons	Uréase	INDOL	ONPG
<i>Enterobacter agglomerans</i>	+	-	-	+	-	-	-	+
<i>Klebsiella Kp subsp orrenae</i>	+	-	+	+	-	-	-	+
<i>Klebsiella subsp rhinoscleronatis</i>	+	-	-	+	-	-	-	-
<i>Pseudomonas spp</i>	+	-	-	-	-	-	-	-

(+) test positif ; (-) test négatif

### 1.5- Résultats de test oxydase

Le test d'oxydase est une méthode couramment utilisée pour identifier les *Pseudomonas*, un genre de bactéries à Gram négatif appartenant à la famille des *Pseudomonadaceae*. Les *Pseudomonas* sont des micro-organismes aérobies stricts qui se caractérisent par leur morphologie en bacilles. Il existe de très nombreuses espèces de *Pseudomonas* appartenant toutes à l'environnement. Les deux plus répandues sont *Ps. aeruginosa* (ou bacille pyocyanique), qui s'est adaptée à l'homme, et *Ps. fluorescens* uniquement lié à l'environnement mais rencontrée souvent dans les contrôles industriels.

Le test d'oxydase repose sur la présence d'une enzyme appelée oxydase. La détection positive de l'enzyme oxydase chez les *Pseudomonas* est un indicateur utile pour différencier ces bactéries par rapport à d'autres genres bactériens.

Lors du test d'oxydase, les souches testées ont été soumises à un réactif contenant du tétra méthyl-p-phénylènediamine. Les résultats ont montré une réaction positive chez certaines souches, indiquant ainsi leur capacité à produire l'enzyme oxydase. La réaction positive se manifestait par un changement de couleur, généralement vers une teinte bleue ou violette, dans les zones où les souches étaient présentes. En revanche, certaines souches ne présentaient pas de réaction positive et se sont donc considérées comme oxydase négatives. Les résultats de ce test sont présentés par la figure 36.



Figure 36 : Test d'oxydase.

### 1.6- Identification des Staphylocoques pathogènes

Les Staphylocoques sont considérés comme saprophytes, soit de l'homme (*St. epidermidis*, *St. hominis*...), soit des animaux (*St. intermedius*...), soit de l'environnement (*St. xylosus*, *St. warneri*). Le *Staphylocoque* est une bactérie à Gram positif, ayant une morphologie en forme de Cocci et se regroupant souvent en grappes. Cette famille de bactéries, appelée *Staphylococcaceae* (ou *micrococcaceae*), comprend environ 30 espèces différentes, parmi lesquelles, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus épidermidis* et *Staphylococcus saprophyticus* sont les plus couramment rencontrées. *Staphylococcus aureus* est une espèce particulièrement remarquable en raison de sa possession d'une enzyme appelée coagulase. Cette enzyme a la capacité de convertir le fibrinogène présent dans le plasma en fibrine, formant ainsi des caillots. De plus, *Staphylococcus aureus* est capable de sécréter des entérotoxines, des toxines qui peuvent provoquer des toxi-infections chez l'homme.

D’après les résultats des caractères phénotypiques et biochimiques, nous pouvons rattacher les staphylocoques à deux espèces : *St. aureus* et *St. epidermidis*. Le tableau 10 et la figure 37 présentent les résultats du test de la catalase.

**Tableau 10** : Résultats des tests enzymatiques des genres de *Staphylocoques*.

Germe \ Test	Test de catalase
<i>Staphylococcus aureus</i>	+
<i>Staphylococcus épidermidis</i>	+



**Figure 37** : Test de Catalase.

### 1.6.1. Résultat du test catalase

Une des premières étapes d’identification est la recherche de cette enzyme. Elle permet de différencier : les streptocoques et les entérocoques (catalase-), des Staphylocoques et des Microcoques (catalase+). La catalase est une enzyme respiratoire qui catalyse la rupture de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, en absence d’accepteur d’oxygène (à la différence des peroxydases) et qui libère l’oxygène.



Les souches bactériennes testées ont montré leur capacité à décomposer l'eau oxygénée en eau et oxygène, ce qui indique leur caractère catalase positif. Les résultats de cette étude ont montré que les souches de *Staphylococcus aureus* présentaient une activité catalase similaire à celle des *Staphylococcus épidermidis*. Les résultats des tests enzymatiques sont montrés dans le tableau 10 et les figures 37.

Cette étude nous a permis d’identifier 8 espèces bactériennes. Il convient de remarquer que les prélèvements numéro 11, 15 et 21 n’ont révélés aucune souche bactérienne. Ce résultat est très probablement lié, aux mesures d’hygiène et de contrôle pratiquées au niveau de ces sites. Le tableau 11 présente les résultats de l’identification des espèces bactériennes dans chaque lieu de prélèvement.

Les résultats ont montré une présence importante de souches de *Staphylocoques* (30%), suivies de *Bacillus* (26%), d'*Entérobactéries* (26%) et de *Pseudomonas* (18%).

**Tableau 11:** Résultats de l'identification des espèces bactériennes pour chaque site de prélèvement.

N° et site de prélèvements	Germes identifiées
<b>Service de cuisine</b>	
1- Murs	<i>Bacillus spp.</i> ; <i>Pseudomonas spp</i>
2- Paillasse	<i>Bacillus spp.</i> ; <i>Escherichia coli</i>
3- Chariot	<i>Bacillus spp.</i> ; <i>Pseudomonas spp</i>
4- Les boîtes d'alimentation	<i>Staphylococcus aureus</i> ; <i>Pseudomonas spp</i>
5- Corbeille à pain	<i>Bacillus spp</i> ; <i>Enterobacter agglomerans</i>
6- Robinet	<i>Staphylococcus épidermidis</i> <i>Klebsiella Kp subsp orrenae</i>
7- Lair de la salle septique pas stérile	Champignon
<b>Service d'hémodialyse</b>	
8- Tables de malade	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Klebsiella subsp rhinoscleronatis</i>
9- Chariot d'instrument	<i>Staphylococcus aureus</i>
10- Lit de malade	<i>Staphylococcus aureus</i> + <i>Staphylococcus épidermidis</i> et <i>Klebsiella subsp rhinoscleronatise</i>
11- Murs	Aucune croissance
12- Potence	<i>Staphylococcus épidermidis</i>
13- Prélèvement urinaire (urine de premier patient)	<i>Escherichia coli</i>
14- Prélèvement urinaire (urine de deuxième patient)	<i>Escherichia coli</i>
15- Machine d'hémodialyse	Aucune croissance
<b>Service de bloc opératoire</b>	
16- Boite d'instrument stérile à l'intérieur	<i>Bacillus spp</i> <i>Pseudomonas spp</i>
17- L'air dans la salle septique	Aucune croissance
18- Boite d'instrument à l'extérieur de la surface de la boîte	<i>Bacillus spp</i>
19- Table d'opération	<i>Staphylococcus épidermidis</i> Champignon

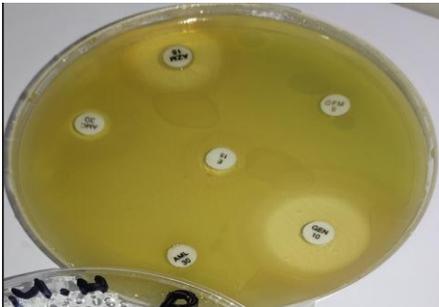
20- Respirateur	<i>Bacillus spp</i> <i>Pseudomonas spp</i>
21- Scialytique	Aucune croissance

**1.7- Résultats de l'Antibiogramme**

Le test d'antibiogramme est une méthode utilisée pour évaluer la sensibilité d'une souche bactérienne à un ou plusieurs antibiotiques. L'approche consiste à cultiver la souche bactérienne en présence des antibiotiques et à observer les effets de ces derniers sur la croissance et la survie bactérienne. L'objectif de l'antibiogramme est de déterminer l'antibiotique le plus efficace contre la bactérie responsable de l'infection.

Après une incubation de 24 à 48 heures, des zones d'inhibition de la croissance bactérienne se formeront dans la boîte contenant le milieu M.H. Les résultats sont notés en mesurant le diamètre de ces zones d'inhibition. La sensibilité et la résistance des bactéries sont évaluées la méthode de Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale et internationales.

Les résultats de l'antibiogramme réalisé sur les 8 espèces bactériennes sont présentés dans la figure 38 et le tableau 12.

	
<i>Enterobacter agglomerans</i>	<i>Klebsiella Kp subsp orrenae</i>
	
<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas spp</i>

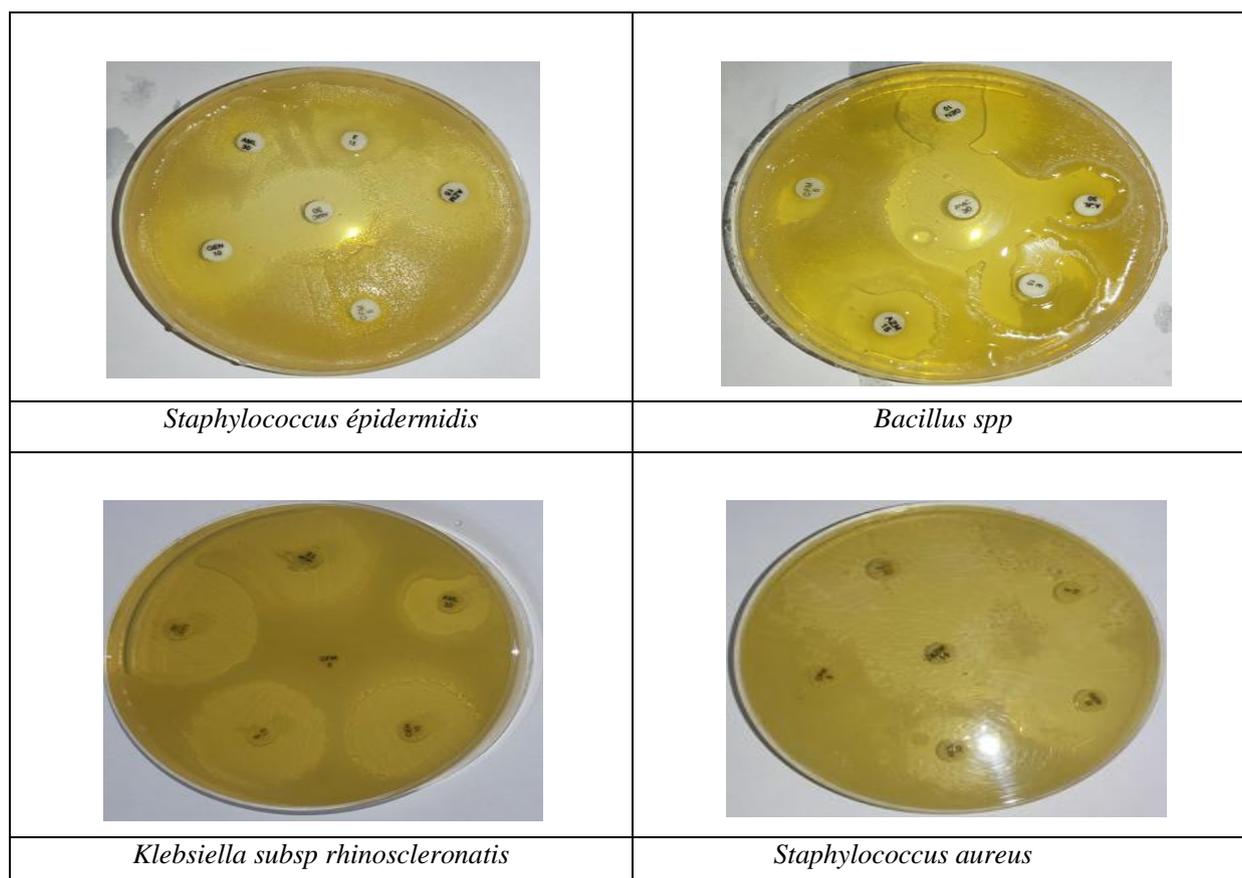


Figure 38 : Résultats de l’antibiogramme.

Tableau 12 : Résultats de l’antibiogramme des souches bactériennes isolées.

ATB \ Germes	E	GEN	CFM	AMC	AZM	AML
<i>Enterobacter agglomerans</i>	R	S	R	R	S	R
<i>Klebsiella Kp subsp orrenae</i>	R	S	R	R	I	R
<i>Klebsiella subsp rhinoscleronatis</i>	S	S	R	S	S	I
<i>Escherichia coli</i>	R		R	S	S	R
<i>Pseudomonas spp</i>	I	S	R	S	S	R
<i>Bacillus spp</i>	S	S	I	S	I	I
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	I	S	R	S	S	I
<i>Staphylococcus aureus</i>	S	S	R	S	S	I

S : sensible ; R : résistant ; I : intermédiaire

Les résultats de l'antibiogramme ont révélé que la majorité des souches bactériennes testées se sont montrées résistantes vis-à-vis de l'antibiotique CFM, à l'exception de *Bacillus spp*. En revanche, ces mêmes souches bactériennes se sont montrées sensibles aux antibiotiques AMC et gentamycine. Par ailleurs, en présence des autres antibiotiques, les germes testés présentent des réponses différentes

vis-à-vis des antibiotiques testés. Il est à souligner que les bactéries, *Enterobacter agglomerans* et *Pseudomonas spp* semblent être résistantes à l'ensemble des antibiotiques, à l'exception de GEN et AZM.

En conclusion, ces résultats soulignent la présence de résistances multiples parmi les souches bactériennes étudiées, ce qui limite les options thérapeutiques. 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.

### Discussion générale

Les résultats obtenus après l'isolement et l'identification des germes responsables des infections nosocomiales dans les trois services, précédemment cités nous ont permis de constater une dominance des bactéries Gram positives (56%), représentées essentiellement d'environ 30% de Cocci Gram positives, dont *St. aureus* (15%) et *S.épidermidis* (15%). Les Bacilles Gram-positives représentent environ 26% dont, *Bacillus spp.* Par contre, les bacilles à coloration Gram négatif constituent 44% des microorganismes isolés, avec une prédominance d'Entérobactéries (26%) telles que *Escherichia coli* (11%), *Klebsiella subsp rhinoscleronatis* (7%), *Klebsiella Kp subsp orrenans* et *Enterobacter agglomerans* (4%), suivies par des souches de *Pseudomonas* (18%).

Nos résultats se rapprochent de ceux obtenus par Amara et Bekhedda (2021), qui ont montré une prédominance des bactéries Gram positives (51%), notamment, *Staphylococcus aureus* (36%), ainsi qu'une proportion de 48% de bactéries Gram négatives dont, une grande proportion était constituée d'Entérobactéries (32%). Une autre étude effectuée par Lakikza et Slimani (2018) a également montré une prévalence élevée de Cocci Gram positifs (67%), principalement *Staphylococcus aureus*, ainsi que 33% de Bacilles Gram négatifs. De même, les analyses de Chebbah Boujaham (2014) ont montré que *Staphylococcus aureus* était le germe le plus fréquemment isolé dans une structure hospitalière, avec un pourcentage de 68%, suivi par *E. coli* avec un pourcentage de 31%. En revanche, nos résultats diffèrent de ceux obtenus par Djerdoubi et Derrar (2021) dans la même structure hospitalière, Berrebi Abdelkader à Hammam Bouhadjar, où ils ont signalé une prédominance des bactéries Gram négatives (56%) et 44% de bactéries Gram-positives. De même analyses de Mebarki *et al.*, (2017) ont montré la présence de 55% de bactéries Gram négatives, dont 44% étaient des Entérobactéries, 11% de *Pseudomonas spp.*, ainsi que 45% de bactéries Gram positives, dont 34% appartenaient à *Staphylococcus aureus* et 11% à *Staphylococcus épidermidis*. Les travaux de Cherafa et Ziadi Chibane, (2017) réalisés à l'hôpital Ibn-Zohr et à l'hôpital Hakim Okbi de la ville de Guelma ont révélé une présence importante de bacilles Gram négatifs, représentant 66% du total, avec une prédominance d'Entérobactéries (58%) et 32% de bactéries Gram positives, dont 28% étaient des *Staphylocoques*. Une autre étude menée par Bounab *et al.*, (2011) a également montré une prédominance des bactéries Gram négatives, avec 70,6% d'Entérobactéries et 29,4% de *Staphylocoques*. Les tests que nous avons réalisés ont montré que les *Staphylocoques* et les Entérobactéries soient les plus fréquemment observés dans la plupart des sites. En revanche, les travaux antérieurs n'ont signalé aucune souche de *Bacillus spp.* Cette identification est cependant insuffisante et ne peut être validée pour l'instant que comme analyse préliminaire. En conclusion, il serait souhaitable de poursuivre cette étude afin d'affiner cette caractérisation et d'obtenir des résultats précis.

Enfin, les résultats de l'antibiogramme se sont révélés très proches de ceux obtenus par Boukredimi et Bouyahia (2020). D'ailleurs, Les germes bactériens tels que *Enterobacter agglomerans*, *Klebsiella Kp subsp orrenaeet*, *Klebsiella subsp rhioseleronatise* ont réagi et/ou répondu de la même façon dans les deux travaux. Cependant, des divergences ont été observées en ce qui concerne les deux antibiotiques (CFM) et (AML). De même, nos résultats se rapprochent de ceux obtenus par de Cherafa et Ziadi Chibane, (2017). D'ailleurs, parmi les germes bactériens isolés et étudiés, les entérobactéries ont montré une résistance aux antibiotiques testés dans les deux types études. Néanmoins, une divergence a été constatée chez le germe *Pseudomonas spp.-Pseudomonas*,

Résultats semblent aussi très proches de ceux obtenus Amara et Bekhedda, (2021).Les deux études ont montré que *Staphylococcus aureus* est sensible à (GEL), (CZ) et à (AML), démontrant ainsi une multi-sensibilité chez cette bactérie. L'espèce *Enterobacter agglomerans* s'est montrée également sensible aux mêmes antibiotiques (GEL, CZ et AML), dans les deux études.

# **Conclusion**

## Conclusion et Perspectives

---

### Conclusion

Il est indéniable 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.

Notre travail réalisé au niveau de l'hôpital BERREBI Abdelkader de Hammam Bouhdjar a permis d'isoler et d'identifier les principales bactéries responsables des infections nosocomiales dans cette région et surtout de démontrer une prédominance d'espèces bactériennes par rapport à d'autres espèces. Au cours de cette étude, les résultats révèlent la présence d'un nombre non négligeable d'espèces de *Staphylococcus*, de *Bacillus*, de *Pseudomonas* et d'Entérobactéries. 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.

Il est préoccupant de constater que la plupart des souches bactériennes identifiées présentent une résistance importante aux différents antibiotiques couramment utilisés et commercialisés dans notre pays. 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.

Les souches bactériennes isolées et identifiées au cours de ce travail sont bien connues pour leur implication dans les infections nosocomiales. La résistance observée, en particulier chez la souche d'*Escherichia intermedius*, souligne la présence persistante du risque d'infection nosocomiale dans ces services et constitue un problème majeur pour la santé publique de la wilaya. 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.

*Références  
bibliographiques*

- **Albrecht, A. (2015).** Les infections nosocomiales d'origine bactérienne. Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Faculté de pharmacie, 10 –50.
- **Alfandaris. (1997).** Infections nosocomiales. Epidémiologie, critères du diagnostic, prévention et principe du traitement. Impact internat : Maladies infectieuses. Dec 1997. N°4 : 161-168.
- **Amara. H et Bekhedda. F.Z. (2021).** Contribution à l'étude des germes responsables des infections nosocomiales dans deux services (le bloc chirurgical et la dialyse) et la restauration collective à l'hôpital de Hammam Bouhadjer, Ain-Temouchent.
- **Amiar, M., Bendjama, B. (2011).** Les Infections Nosocomiales [Mémoire de Master, Université 8 Mai 1945 - Guelma].
- **Aggoune, Y., Boudjenah, I., Louachame, A.E. (2020).** Contribution à l'étude de la résistance bactérienne au sein du milieu hospitalier.
- **Balkan, S., Bottineau, M. C., Carreno, C., Drogoul, F., Illanes, V., Sutton, M., ... Rigal, J. (2019).** Guide clinique et thérapeutique. Chapitre 10 : Pathologie médicochirurgicale. Infections nécosantes de la peau et des tissus mous, 315
- **Benhaddouche, D. (2016).** Le datta minning en milieu hospitalier application au domaine médicale : outils d'aide ou suivi des patients en réanimation. Diplôme de doctorat en science, université des sciences et de la technologie, Mohamed Boudiaf, Oran. Microsoft Word - Garde\_Doctorat\_En\_Sciences .doc (univ-usto.dz).
- **Biomérieux, (s.d.).** Gastrointestinal infection. Repéré à :   
<https://www.biomerieux-diagnostics.com/gastrointestinal-infections>.
- **Bounab, R., Chekakla, M. et Saci, H. (2011).** Isolement et identification des bactéries responsables d'une infection nosocomiale chez les patients - nouveaux nés-. Diplôme de master. Faculté des sciences et de l'ingénierie département de biologie, 56.
- **Boukredimi, W., Bouyahia, N. (2020).** Recherche des germes bactériens responsables des infections nosocomiales au niveau de deux services (médecine et pédiatrie) de l'hôpital de Hammam-Bouhadjar, Ain –Témouchent
- **Charnonneau, P., Wolff, M. (2013).** Infectiologie en réanimation. Editions springer : 432
- **Cheballah, L, Mamou, C et Kassous, D. (2020).** Evaluation du degré d'implication des professionnels de la santé dans la prévention des Infections liées aux soins dans quelques établissements de soin de la wilaya de TIZI-OUZOU
- **Cherafa, I., Ziadi, C. M. (2017).** Isolement des bactéries en milieu hospitalier et l'étude de la résistance aux antibiotiques.
- **Cronin, W. et Tietjen, L. (1992).** Prévention des infections. Guide à l'intention des programmes de planifications familiales. JHPIEGO Corporation, Baltimore, Maryland.ch 13.5.
- **Denis F., Ploy M-C., Martin C., et al. 2007.** Bactériologie médicale. 2èmeEdition. Ellipses. Paris.573p.

- **Djerdoubi, A et Derrar, W. (2021).** Recherche des germes bactériens responsables des infections nosocomiales au niveau de 03 services (maternité - laboratoire d'hématologie et radiologie) de l'hôpital de Hammam-Bouhadjar, Ain-Temouchent
- **Ducel, G., Fabru, J. et Nicolle, L. (2012).** Prévention des infections nosocomiales (2èd). Repère WHO\_CDS\_CSR\_EPH\_2002.12\_fre.pdf
- **Faure, E. (s.d.).** Les infections nosocomiales. Repéré à :  
<https://www.caducee.net/DossierSpecialises/infection/nosocomiales.asp#:~:tex=%2D%20les%20infections%20exog%C3%A8nes%20qui%20sont,manque%20de%20pratiques%20d'hygi%C3%A8ne>
- **Gilles Brücker (1998).** Infection nosocomiales et environnement hospitalier.P7
- **Hadji, M., Birem, S. et Hamaidi, A. (2009).** Les infections nosocomiales. Diplôme de master. Faculté des sciences exactes et science de la nature et de la vie département de biologie moléculaire et cellulaire.
- **HAS. (2008).** Stratégie d'antibiothérapie et prévention des résistances bactériennes en établissement de santé. Hygiène et infections nosocomiales [En ligne].2008 [Consulté le 16/01/2020]. Disponible sur : <http://www.ce-mir.fr/UserFiles/File/national/livreferentiel/61-ch55-562-574-9782294755163-copie.pdf>
- **Hassoune, S., Nani, A.O. et al., (2012).** « Incidence des bactériémies nosocomiales dans les services à haut risque du centre hospitalier universitaire de Casablanca (Maroc) », *Pratiques et Organisation des Soins*, (Vol. 43), p. 19-24. DOI : 10.3917/pos.431.0019. URL:<https://www.cairn.info/revue-pratiques-et-organisation-des-soins-2012-1-page-19.htm>
- **Jacqueline, R. L. et Lyonel, R. (2017).** Infections néonatales Prévention des infections néonatale
- **Kama, U., Fereirra, A., Amonkar, D., Motghare, D. & Kulkarni, M. (2009).** Epidemiology of hospital acquired urinary tract infections in a medical college hospital in Goa. *Indian J Urol* **25**, 76–80.
- **Kamgaing, E. K., Rogombé, E. K., Mymbila, M., M'ella, M. M., Koko, J et Ategbó, S. (2017).** « Colonisation digestive par des germes nosocomiaux des nouveau nés
- **Kane, O., Bèye, M. D., Diop, N. M., Ndiaye, P. I., Diouf, E., & Sall, K. B. (2007).** Les mesures préventives et la lutte contre les infections nosocomiales [Preventive measures and the strife against nosocomial infection]. *Dakar medical*, 52(2), 82–89.
- **Kone, (2010).** Etude des infections nosocomiales dans le service de traumatologie et chirurgie orthopédique du chu gt. Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie ; université de Bamako.
- **Kasongo, K. D., Kalenga, M.P., Byl, B., Dramaix, W.M. (2016).** Étude de la prévalence des infections nosocomiales et des facteurs associés dans les deux hopitaux universitaires de Lubumbashi, République Démocratique du Congo: cas des Cliniques Universitaires de Lubumbashi et l'Hôpital Janson Sendwe.

- **Katlama, C., Beytout, J., Christmann, D., Dellamonica, P., Frottier, J., Girard, P.M.,... Matheron, S. (2003).** Le POPI. Maladies infectieuses ; Chapitre 29 – Infections nosocomiales, 186 -201.
- **Lakziza, A., Slimani,Z. (2018).** Les infections nosocomiales dans le service de dermatologie du CHU de Constantine. Mémoire Master : Microbiologie et Hygiene Hospitalière. Constantine : université de frère Mentouri Constantine 1
- **Letreche A S. (2012).** Contribution à l'étude des infections nosocomiales « service de chirurgie à CHU Tlemcen » [Thèse]. Tlemcen : Université Abou Bakr Belkaid
- **Mainardi, J. L. (2018).** Résistance aux antibiotiques. unité 1138 Inserm/Sorbonne Université/Université Paris.
- **Makki, A. ( 2007).** Septicémie et choc septique. Mémoire online en biologie et médecine . Université LIBANAISE - Maitrise en science de laboratoire
- **Mebarki , M.,Kedadra , Y., Diakaridia, K . (2017).** Isolement et identification des bactéries responsables des infections nosocomiales au niveau de service des urgences de l'hoptal ELHakim Okbi . mémoire master : Biologie -Santé et Hygiène hospitalière
- **Munoz, F. M. et al., (1999)** « Influenza A virus outbreak in a neonatal intensive care unit», *Pediatr. Infect. Dis. J.*, vol. 18, no 9, p. 811–815.
- **Njall, C. Adiogo, D. Bitá, A. Ateba, N. Sume, G. Kollo, B. et al (2013).** Écologie bactérienne de l'infection nosocomiale au service de réanimation de l'hôpital Laquintinie de Douala, Cameroun. *Pan Afr Med J*, 14:140.
- **OMS (Organisation mondiale de la santé). (2010).** Prévention des infections nosocomiales : Guide Pratique. ..
- **Oubih, B. (2015).** Epidémiologie des infections nosocomiales en milieu de réanimation. Mémoire de doctorat en médecine. Université CADI Ayyad , p:45.
- **Pasteur, L. (2011).** Les infections nosocomiales. La lettre de l'institut pasteur.
- **Philippon A., (2008).** Résistance bactérienne : définition, mécanismes, évolution.
- Edition : Elsevier Masson SAS.
- **Popi (2003).** Maladies infectieuses. Paris : CMIT, 2003 :185-224
- **Raisin et Cclin. (2012).** Enquête nationale de prévalence 2012 des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé. Mai-juin 2012.Protocole-guide de l'enquêteur
- **Samou F. S., 2005.** Les infections nosocomiales dans le service de chirurgie «B» de l'hôpital de point G .Thèse de doctorat en Médecine. Université de Mali .Pp :33- 57.
- **Sikora A, Zahra F.** Nosocomial Infections. [Updated 2022 Sep 23]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559312/>
- **Su, C., Zhang, Z., Zhao, X. et al (2021).** Changes in prevalence of nosocomial infection pre- and post-COVID-19 pandemic from a tertiary Hospital in China. *BMC Infect Dis* 21, 693. <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06396-x>

- **Usman, A., Omalhassan, A & Jesús, R.B. (2022).** J. Healthcare-associated infections in Africa: a systematic review and meta-analysis of point prevalence studies. J of Pharm Policy and Pract 15, 99 <https://doi.org/10.1186/s40545-022-00500-5>
- **Villiot-Danger, E. (2010).** Qu'en est-il aujourd'hui de la lutte contre les infections nosocomiales ? Kinésithérapie, La Revue, 10(107), 4-5. [https://doi.org/10.1016/S1779-0123\(10\)74932-9](https://doi.org/10.1016/S1779-0123(10)74932-9)
- **Zeroual, Z (2010).** Profil épidémiologique et bactériologique des infections nosocomiales (à propos d'une enquête de prévalence des infections nosocomiales du chu ibn sina de rabat janvier-2010) (thèse de doctorat, Université Mohammed V Faculté De Médecine Et De Pharmacie –Rabat).

### Site d'internet

1. Dossier « Bactéries multi résistantes », soins n°620-novembre 1997 (p5-p30).
2. IINSERM. INSERM : infections nosocomiales[en ligne] :2015 [mise à jour le 01 février 2015 ;consulté le 24 décembre 2019].Disponible sur: [https://www.inserm.fr/information-en\\_sante/dossiers-information/infections-nosocomiales](https://www.inserm.fr/information-en_sante/dossiers-information/infections-nosocomiales)
3. <https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fslideplayer.fr%2Fslide%2F444282%2F&psig=AOvVaw1UwPeEZ8V5qc5uerJiYM7e&ust=1685036857492000&source=images&cd=vfe&ved=0CA4QjRxqFwoTCNCc59DBjv8CFQAAAAAdAAAAABAD>
4. <https://www.medisafe.fr/blog/infection-nosocomiale/>
5. <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-sante-du-quotidien/2646159-infection-definition-differents-types-traitement-antibiotiques/>
6. [https://www.researchgate.net/figure/Etapes-de-realisation-dun-ensemencement-en-strie-sur-un-milieu-solide-a-laide-dune\\_fig7\\_350357012](https://www.researchgate.net/figure/Etapes-de-realisation-dun-ensemencement-en-strie-sur-un-milieu-solide-a-laide-dune_fig7_350357012)

# *Annexes*

## Annexe 1 : Matériel utilisé

### Appareillages et instruments

Étuve - Réfrigérateur - Centrifugeuse - Lames - Lamelles - Pipettes Pasteur - Tubes à essai stérile.

### Milieux de culture:

Gélose Nutritive - Gélose Hektœn - Gélose Chapman- Milieu Sabouraud - Bouillon Nutritif - Gélose BCP - Milieu TSI - Citrate de Simmons - Mannitol mobilité

### Réactifs et colorant:

Alcool - Fuchsine - Huile à immersion - Lugol - Réactifs de Kovacs - Rouge de méthylène - Violet de Gentiane – Bleu de méthylène - Peroxyde d'hydrogène - Disque ONPG - Disques d'antibiotique

### Autres matériel:

Étiquettes - Anse de platine - Bec bunsen - Boite de Pétri stériles - Portoir - Marqueur -Écouvillons - Micro pipette

## Annexe 02 : Composants des milieux de cultures

### 1-Composition du Gélose Nutritive

<b>Eléments</b>	<b>Pourcentage (en masse sèche)</b>
<b>Extrait de viande</b>	1,0 g
<b>Extrait de levure</b>	2,0 g
<b>Peptone</b>	5,0 g
<b>Chlorure de sodium</b>	5,0 g
<b>Agar</b>	15,0 g
<b>pH</b>	<b>7,4</b>

### 2-Composition de la Gélose BCP

<b>Eléments</b>	<b>Pourcentage (en masse sèche)</b>
<b>Extrait de viande</b>	3,0 g
<b>Eau distillée</b>	1,0 L
<b>Peptone</b>	5,0 g
<b>Bromocrésol pourpre</b>	0,25 g
<b>Lactose</b>	10,0
<b>Agar</b>	11,0 g
<b>pH</b>	<b>6</b>

### 3- Composition de la Gélose Hektoen

<b>Eléments</b>	<b>Pourcentage (en masse sèche)</b>
<b>Extrait de levure</b>	3,0 g
<b>Eau distillée</b>	1,0 L
<b>Peptone</b>	12,0 g
<b>Désoxycholate de sodium</b>	9,0 g
<b>Lactose</b>	

<b>Saccharose</b>	12,0 g
<b>Salicine</b>	12,0 g
<b>Bleu de bromothymol</b>	2,0 g
<b>Fuchsine acide</b>	65 mg
<b>Thiosulfate de sodium</b>	100 mg
<b>Citrate ferrique ammoniacal</b>	5,0 g
<b>Chlorure de sodium</b>	1,5 g
<b>Agar</b>	5,0 g 15,0 g
<b>pH</b>	<b>7,5</b>

#### 4- Composition de la Gélose Chapman

<b>Eléments</b>	<b>Pourcentage (en masse sèche)</b>
<b>Extrait de viande de bœuf</b>	1,0 g
<b>Eau distillée</b>	1L
<b>Peptone</b>	10,0 g
<b>Rouge de phénol</b>	0,025 g
<b>Mannitol</b>	10,0
<b>Chlorure de sodium</b>	75,0 g
<b>Agar</b>	15,0 g
<b>pH</b>	<b>7,5</b>

## 5- Composition du Milieu TSI

<b>Eléments</b>	<b>Pourcentage (en masse sèche)</b>
Agar	12g/L
Extrait de l'œuf	3g/L
Extrait de levure	3g/L
Peptone	20g/L
Lactose	10g/L
Saccharose	10g/L
NaCl	5g/L
Glucose	1g/L
Citrate ferrique	3g/L
Thiosulfate de sodium	3g/L
Rouge de phénol	0,025g/L
Eau distillée	1000ml
<b>pH</b>	<b>7,4</b>

## 6- Composition du milieu urée indole

<b>Eléments</b>	<b>Pourcentage (en masse sèche)</b>
L-tryptophane	3g
phosphate monopotassique	1g
phosphate di potassique	1g
Chlorure de sodium	5g
Urée	20g
Solution rouge de phénol a 1%	2,5ml
Alcool a95°	10ml
Eau distillée	1000ml

## 7- Composition du milieu citrate de Simmons

<b>Eléments</b>	<b>Pourcentage (en masse sèche)</b>
Chlorure de sodium	5g
Sulfate de magnésium	0,2g
Phosphate d'ammonium POH	1g
Phosphate di potassique POHK	2g
Citrate trisodique	2g
<b>pH</b>	<b>7_7,2</b>

## 8- Composition du milieu mannitol- mobilité

<b>Eléments</b>	<b>Pourcentage (en masse sèche)</b>
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
<b>pH</b>	<b>7,2</b>

## Annexes 03 : Les réactifs de la coloration de Gram

1-Violet de gentiane :

<b>Eléments</b>	<b>Pourcentage (en masse sèche)</b>
Violet de gentiane	1g
Ethanol a90%	10ml
acide phénique neigeux	2g
<b>Eau distillée</b>	<b>100ml</b>

2-Lugol :

Eléments	Pourcentage (en masse sèche)
Iode	1g
Iodure de potassium	2g
Eau distillée	3g

3-Fushine :

Eléments	Pourcentage (en masse sèche)
Fushine basique	10g
alcool éthylique	10g
Eau distillée	100g

**Annexe 05 : Tableau de lecture d'antibiogramme (standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale, 2014.**

**ANTIBIOGRAMME**  
Interprétation des zones d'inhibition

ANTIBIOTIQUES	Désignation commerciale	Code	Dose mg/10 G	Désignation commerciale	Concentration antibiotique (µg/ml)	DIAMÈTRES DES ZONES (mm)																																		
						R	I	S																																
PÉNICILLINES	G	Pénicilline G (V)	P.V.	Benzathine/Benzathine/Procaine/Benzathine/Procaine	0,25 - 16	8	8 - 20	≥ 29																																
						Amoxicilline (A)	AM	Amoxicilline/Amoxicilline/Clavulanate/Amoxicilline/Clavulanate	4 - 16	11	11 - 18	≥ 17																												
										Amoxicilline + acide clavulanique	AMC	Amoxicilline/Acide clavulanique	4 - 16	14	14 - 20	≥ 21																								
														Carbapénème	W	Carbapénème	128	16	16 - 18	≥ 18																				
																		Ticarcilline	W	Ticarcilline	128	13	13 - 18	≥ 13																
																						Azlocilline	AZ	Azlocilline	16 - 128	10	10 - 18	≥ 18												
																										Mecillinamine	AZ	Mecillinamine	8 - 32	16	16 - 20	≥ 21								
																														Piperacilline	W	Piperacilline	16 - 128	13	13 - 18	≥ 21				
																																		Moxicilline	MEC	Moxicilline	1 - 8	17	17 - 22	≥ 23
																																						Moxicilline	DX	Moxicilline
Oxacilline	OX	Oxacilline	2	20	20 - 25																																			
				Cefazolin	CF	Cefazolin	8 - 32	12	12 - 17																															
								Cefepime (Cefepime)	CEP	Cefepime	8 - 32	12	12 - 17																											
												Ceftriaxone (Ceftriaxone)	CN	Ceftriaxone	8 - 32	12	12 - 17																							
																Cefuroxime	CZ	Cefuroxime	8 - 32	12	12 - 17																			
																				Cefotaxime	FOX	Cefotaxime	8 - 32	15	15 - 21															
																								Cefuroxime	MA	Cefuroxime	8 - 32	15	15 - 21											
																												Cefuroxime	CRM	Cefuroxime	8 - 32	15	15 - 21							
																																Cefotaxime	CTX	Cefotaxime	4 - 32	15	15 - 20			
																																				Cefuroxime	CHO	Cefuroxime	4 - 32	18
Cefepime	CEP	Cefepime	4 - 32																																					14
				Cefuroxime	DPS	Cefuroxime	8 - 32																																	14
								Moxifloxacin	MOX	Moxifloxacin	4 - 32																													17
												Cefaclor	CAZ	Cefaclor	4 - 32																									15
																Benzimidazole	S.X	Benzimidazole	8 - 16																					13
																				Gentamicine	GMX	Gentamicine	4 - 8																	14
																								Furazolidone	MFX	Furazolidone	1 - 8													14
																												Spectinomycine	SBS	Spectinomycine	4 - 8									14
																																Dibekacin	DBK	Dibekacin	4 - 8					14
																																				Amikacine	AM	Amikacine	8 - 16	15
Netilmicine	NET	Netilmicine	4 - 8																																					17
				Kanamycine	K.X	Kanamycine	8 - 16																																	15
								Neomycine	N.X	Neomycine	8 - 16																													15
												Paromomycine	PAR	Paromomycine	8 - 16																									15

**ANTIBIOGRAMME**

ANTIBIOTIQUES	Désignation commerciale	Code	Dose mg/10 G	Désignation commerciale	Concentration antibiotique (µg/ml)	DIAMÈTRES DES ZONES (mm)																	
						R	I	S															
PHÉNOLS	Chloramphénicol	CL	30	Thiamycine/Chloramphénicol/Spectinomycine	8 - 16	15	15 - 22	≥ 23															
						Thiostrepton	TST	Thiostrepton/Amoxicilline/Amoxicilline	8 - 16	15	15 - 22	≥ 23											
										Tetracycline	TE	Tetracycline/Anhydride	4 - 8	17	17 - 18	≥ 19							
TETRACYCLINES	Doxycycline	D	30	Tetracycline/Vibramycine	4 - 8	17	17 - 18	≥ 19															
						Miconazole	MI	Miconazole	4 - 8	17	17 - 18	≥ 19											
										Erythromycine	E	Erythromycine/Albendazole/Erythromycine	1 - 4	17	17 - 21	≥ 22							
														Oxibuprocaine	OB	Oxibuprocaine	1 - 4	17	17 - 21	≥ 22			
																		Spiramycine (A)	SP	Spiramycine (A)	2 - 8	16	16 - 21
MACROLIDES	Lincosamine	L	15	Lincosamine	2 - 8	17	17 - 20	≥ 21															
						Clarithromycine	CC	Clarithromycine	2	16	16 - 19	≥ 19											
										Virginiamycine	VA	Virginiamycine	2	19	19 - 21	≥ 21							
														Pivoxilone	PV	Pivoxilone	2	19	19 - 21	≥ 21			
																		Bacitracine	B	Bacitracine	2	16	16 - 19
POLYPEPTIDES	Polymyxine B	PB	300 U	Polymyxine B	2	15	15 - 16	≥ 16															
						Colistine	CL	50	Colistine	2	8	8 - 10	≥ 11										
NITROFURANS	Furazolidone	FM	300 U	Furazolidone/Paracetamol/Furazolidone/Paracetamol/Uracyl	20 - 100	14	14 - 18	≥ 19															
						Sulfonamide (I)	S	250	Sulfonamide (I)	100 - 300	12	12 - 18	≥ 19										
SULFAMIDES	Triméthoprim-sulfaméthoxazole	SXT	1,25 / 23,75	Triméthoprim-sulfaméthoxazole/Sulfaméthoxazole/Triméthoprim	2 - 8	10	10 - 15	≥ 16															
						Acide nalidixique (N)	NA	30	Acide nalidixique (N)	8 - 16	15	15 - 18	≥ 19										
QUINOLONES	Acide sparfloxacine (S)	SP	30	Sparfloxacine	8 - 16	14	14 - 18	≥ 19															
						Pefloxacine	PF	30	Pefloxacine	1 - 4	16	16 - 21	≥ 22										
GLYCOSIDES	Sélectomycine	SA	30	Sélectomycine	4 - 16	14	14 - 18	≥ 19															
						Acide fusidate	FA	30	Acide fusidate	2 - 16	15	15 - 21	≥ 22										
DIVERS	Netilmicine	NET	30	Netilmicine	4 - 8	14	14 - 15	≥ 16															
						Furazolidone	FM	30	Furazolidone	8 - 16	15	15 - 18	≥ 19										
											Furazolidone	FM	30	Furazolidone	2 - 16	15	15 - 18	≥ 19					
																Netilmicine	NET	30	Netilmicine	4 - 8	14	14 - 15	≥ 16
																					Furazolidone	FM	30
Furazolidone	FM	30	Furazolidone	20	11	11 - 12	≥ 13																

## Résumé

L'étude porte sur les infections nosocomiales contractées dans un environnement hospitalier, pouvant représenter une cause majeure de morbidité et de décès parmi les patients hospitalisés. L'objectif de cette étude était d'identifier les bactéries responsables de ces infections en les isolant à partir de diverses sources telles que les instruments, les patients, l'air dans le bloc opératoire, le service de dialyse ... . Différentes méthodes ont été utilisées pour isoler, purifier et pré-identifier les germes, notamment des caractéristiques phénotypiques, des tests biochimiques classiques. Les résultats bactériologiques ont révélé une grande diversité d'espèces, avec un total de huit (08) espèces bactériennes identifiées provenant de 21 prélèvements. Parmi ces espèces, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus épidermidis*, *Bacillus spp*, *Pseudomonas spp*, *Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans*, *Klebsiella Kp subsp orrenae* et *Klebsiella subsp rhioseleronatis*. Les résultats de l'antibiogramme ont révélé une variabilité de la réponse des germes bactériens aux antibiotiques testés, en particulier aux antibiotiques, Erythronycine, Gentamicine, Cefixime, Amoxyclave, Azithromycine, et Amoxicilline.

**Mots clés :** Infections nosocomiales, environnement hospitalier, identification, germes bactériens, antibiogramme.

## Abstract

The study pertains to nosocomial infections contracted within a hospital environment, which can serve as a significant etiology of morbidity and mortality among hospitalized patients. The objective of this investigation was to ascertain the bacterial etiological agents implicated in these infections by means of their isolation from diverse sources including medical instruments, patients, the ambient air within the operating theater, and the dialysis unit. Various methodologies were employed to isolate, purify, and preliminarily characterize the microbial isolates, encompassing phenotypic traits and conventional biochemical assays. Bacteriological analyses unveiled a pronounced diversity of species, encompassing a total of eight (08) identified bacterial species originating from 21 clinical specimens. Noteworthy among these species were *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus spp*, *Pseudomonas spp*, *Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans*, *Klebsiella Kp subsp orrenae*, and *Klebsiella subsp rhioseleronatis*. The antimicrobial susceptibility profiling results showcased considerable heterogeneity in the response patterns of the bacterial isolates to the panel of tested antibiotics, with discernible variations noted particularly in relation to Erythromycin, Gentamicin, Cefixime, Amoxiclav, Azithromycin, and Amoxicillin.

**Keywords :** Nosocomial infections, hospital environment, identification, bacterial germs, antibiogramme.

## ملخص

تركز هذه الدراسة على عدوى المستشفيات المكتسبة في بيئة المستشفى، والتي تمثل سبباً رئيسياً للمرض والوفاة بين المرضى في المستشفى. الهدف من هذه الدراسة هو التعرف على البكتيريا المسؤولة عن هذه الالتهابات من خلال عزلها من مصادر مختلفة مثل الأدوات والمرضى وهواء غرفة العمليات وقسم غسل الكلى ومطبخ مستشفى حمام بوحجر. تم استخدام طرق مختلفة لعزل الجراثيم وتنقيتها والتعرف عليها مسبقاً، بما في ذلك الخصائص المظهرية والاختبارات البيوكيميائية الكلاسيكية. كشفت النتائج البكتريولوجية عن تنوع كبير في الأنواع حيث تم تحديد ثمانية (08) أنواع بكتيرية تم التعرف عليها من 21 عينة. من بين هذه الأنواع: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus épidermidis*, *Bacillus spp*, *Pseudomonas spp*, *Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans*, *Klebsiella Kp subsp orrenae*, *Klebsiella subsp rhioseleronatis*.

أظهرت نتائج اختبار الحساسية للمضادات الحيوية تبايناً في استجابة الجراثيم البكتيرية للمضادات الحيوية المختبرة، خاصة الإريثروميسين، الجنتاميسين، السيفيكسيم، الأموكسيليف، أزيثروميسين، أموكسيسيلين.  
**الكلمات المفتاحية:** عدوى المستشفيات، بيئة المستشفى، التحديد، الجراثيم البكتيرية، المضاد الحيوي.