

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 science de la nature et de la vie



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

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

Présenté Par :

- 1) Melle. DJERDOUBI Asmaa
- 2) Melle. DERRAR Wafaa

Devant le jury composé de :

Dr. Mme. DERRAG Z.	M C A UAT.B.B (Ain Temouchent)	Présidente
Dr. Mme. ABDELLAOUI H.	M A B UAT.B.B (Ain Temouchent)	Examineur
Dr. Mr. BELLAHCENE M.	M C A UAT.B.B (Ain Temouchent)	Encadrant

Année Universitaire 2020/2021

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 science de la nature et de la vie



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

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

1) Melle. DJERDOUBI Asmaa
2) Melle. DERRAR Wafaa

Encadrant :

Dr. Mr. BELLAHCENE M. professeur UAT.B.B

Année Universitaire 2020/2021

Remerciement

Nous tenons tous d'abord à remercier Dieu le tout puissant et le 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 Monsieur Le directeur de l'hôpital **BERREBI Abdelkader** de Hammam Bouhadjar, **M. ABED Mohamed** pour son accueil et pour son autorisation qui nous a donné la possibilité de réaliser la partie pratique.*

*Comme on présentes aussi les sincères remerciements et respects à notre encadreur **M. BELLAHCENE Miloud** enseignant au centre Universitaire d'Ain Temouchent qui nous a donné l'opportunité de réaliser ce travail, ainsi pour la patience et la confiance qu'il nous ait toujours accordé durant cette période de travail, sans oublier sa disponibilité de toujours nous guider pour nous éclaircir le chemin droit par la lumière de la science, ses encouragements qui nous étaient indispensable.*

*Nos vifs remerciement aussi aux membres du jury pour le temps qu'ils ont accordent en acceptant d'examiner notre thèse de mémoire. **MmDerragZ.** enseignante au centre universitaire d'Ain Temouchent pour le temps précieux qu'elle nous accorde a fin de présider le jury, et **Mm Abdellaoui H.** enseignante au centre universitaire d'Ain Temouchent, qui accepter d'examiner ce travail et siéger parmi les membres de ce jury.*

*Nos remerciements les plus sincères vont également à Monsieur le chef de service de laboratoire **M GATAY Bouhadjar** et à l'équipe du service de bactériologie au niveau du laboratoire de l'hôpital **BERREBI Abdelkader** Hammam Bouhadjar, surtout **M.CHAREF AFGHOUL Sid Ahmed** ET Mlle **BELLABBES AMINA** «Merci beaucoup pour tous ce que vous avez fait pour nous et merci pour vos conseils.»*

Dédicace

Je dédie ce travail à l'ensemble de ma famille et plus particulièrement à mes parents et ma sœur pour leur amour, leur confiance, leur confiance ainsi que leur soutien inconditionnel qui m'a permis de réaliser les études pour lesquelles je me destine et par conséquent ce mémoire

Un grand merci à ma collègue DERRAR Wafaa, plus particulièrement à mes copines BOUYAHIA Naima et KEBAILI Asmaa.

Asmaa

Dédicace

- *Je dédie ce travail à mes très chers parents, source de vie, d'amour et d'affection.*
- *A mes chères sœurs source de joie et de bonheur. A ma famille, mes proches et à ceux qui me donnent de l'amour et de la vivacité.*
- *A tous mes amis qui m'ont toujours encouragé, et à qui je souhaite plus de succès. tout particulièrement ASMAA chère amie avant d'être binôme*
 - *A vous cher lecteur*
Merci !

Wafaa

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction

CHAPITRE 1 : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralité sur les infections nosocomiales

1. Définition :	2
2. Historique	3
3. Les infections Nosocomiales problème de sante	3
3.1. Comment se transmettent les infections nosocomiales	3
4. La réglementation et/ou mesures mises en place.....	4
5. Les infections Nosocomiales en Algérie	5
6. Les origines des infections nosocomiales.....	5
6.1. Mode de transmission.....	6
7. Les fréquences des infections nosocomiales	8
7.1. Types d'infection.....	10
7.1.1 Les infections nosocomiales urinaires	10
7.1.2. Les infections nosocomiales du site opératoire	10
7.1.3. Les infections nosocomiales pulmonaires.....	11
7.1.4. Les infections nosocomiales liées au cathéter et dispositif intra vasculaire	11
7.1.5. Les infections nosocomiales gastro-intestinales.....	12
7.1.6. Les septicémies /bactériémies.....	12
8. Les différents germes impliqués dans les IN	13
8.1. L'environnement hospitalier	16
9. Rôle du laboratoire de microbiologie	16
9.1. Méthodologie de la surveillance.....	16
10. L'hygiène hospitalière	17
10.1. Hygiène de base	17
10.2. Hygiène du personnel	18
10.3. La tenue de travail et l'hygiène corporelle.....	18
10.4. Hygiène de matériel	18
11. La prévention des infections nosocomiales	18
11.1. Rôle du CLIN dans la prévention des infections nosocomiales.....	18
11.1.1 Qu'est ce que le CLIN ?.....	18
11.2. Stratégie pour la prévention de la résistance aux antibiotiques	19
12. Plan de lutte contre les IN.....	19

12.1. Qu'est-ce qu'un plan de lutte contre les infections nosocomiales ?.....	19
12.2. Le dispositif de lutte contre les infections nosocomiales s'appuie donc sur....	20

CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODES

1. Lieu de déroulement de stage.....	22
2. Objectif de travail	22
3. Les échantillons.....	22
3.1. Les échantillons.....	22
3.1. Conditions et méthodes de prélèvement.....	23
4. Enrichissement.....	24
5. L'isolement sur les milieux de cultures.....	24
5.1. Isolement à partir des surfaces sèches.....	24
5.2. Isolement à partir de l'air.....	25
5.3. Isolement à partir des urines.....	25
6. Identification des bactéries.....	25
6.1. Examen macroscopique.....	25
6.2. Examen microscopique.....	26
6.3. Identification biochimiques.....	28
6.3.1. Caractères biochimique des Staphylocoques pathogènes.....	28
6.3.2. Les tests biochimiques classiques.....	29
6.3.3. Identification des germes bactériens à l'aide de la galerie Api 20E.....	32
7. Etude de la sensibilité aux antibiotiques (Test d'antibiogramme).....	34

CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSION_μ

I. Résultats.....	37
1. Isolement et identification.....	37
1.1. Etude macroscopique et microscopique.....	37
1.2. Résultats des isolements et de l'identification.....	50

1.2.1. Résultats des tests biochimiques classiques.....	51
1.2.2. Résultats d'identification sur Galerie API 20 E.....	53
1.2.3. Identification des Staphylocoques pathogènes.....	54
1.3. Résultats du profil de sensibilité des souches aux antibiotiques.....	55
II. Discussion.....	57
CONCLUSION	59
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
ANNAXES	
Résume	
Abstract	
ملخص	

Liste des abréviations

ADH : L'arginine D'Hydrolase
API 20E : Analytical Profile Index 20E (E= Entérobactéries)
ATB : Antibiotique
BCP : Gélose Bromocrésol Pourpre
BGN : Bacille Gram Négatif
BMR : Les Bactéries Multi Résistantes
BN: Bouillon Nutritif
CCLIN: Centre de coordination des Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales.
CGP : Cocci Gram Positif
CHAP : Gélose Chapman
CHUO : Centre Hospitalo-universitaires d'Oran
CHU : Centre Hospitalo-universitaires.
CIT : Citrate de Simmons
CLIN : Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales
CMB : Concentration Minimale Bactéricide
CMI : Concentration Minimale d'Inhibition
CTNIN : Comité Technique Nationale des Infections Nosocomiales
CTINILS : Comité Technique Nationale des Infections Nosocomiales et des Infections Liées aux Soins
DM : Dispositifs Médicaux
DSP : Direction de Santé Publique
ECBU : L'étude Cytobactériologique des Urines
EOH : l'Equipe Opérationnelle d'Hygiène
ENP : Enquête Nationale de Prévalence des Infections Nosocomiales
GN : Gélose Nutritive
HK : Gélose Hektoen
H₂S : Le Sulfure d'Hydrogène ,ou Hydrogène Sulfuré
I : Intermédiaire
IAS : Infection Associée aux Soins
ILC : Ophtalmologue
IN : Infection Nosocomiale
IND : Indole
INVS : Institut Nationale de Veille Sanitaire
ISO : Infection de Site Opératoire
IU : Infection Urinaire
IUN : Infection Urinaire Nosocomiale
LBA : Laboratoire de Biologie d'Analyse
LDC : La Lysine Décarboxylase
MC : Gélose Mac Conkey
MH : Gélose Mueller Hinton
NNISS : Nationale Nosocomiale Infection Surveillance System
ODC : L'Ornithine Décarboxylase

OMS : l'Organisation Mondiale de la Santé

ONPG : Ortho-Nitrophényl- β -D-galactopyranoside

ORL : Oto-Rhino-Laryngée

PROPIAS : Programme de Prévention des Infections Associés aux Soins du ministère de la Santé

R : Résistant

S : Sensible

SCN : Staphylocoque à Coagulase Négative

TDA : Tryptophane Désaminase

TSI : Triple Sugar Iron

URE : Uree indole

VP : Voges Proskauer

VRS : Virus Respiratoire Syncytial

μ g : Microgramme

μ .O : Micro-Organisme

Liste des figures

•	Figure 1 :Schéma expliquant l'infection d'origine Endogène.....	7
•	Figure 2 :Schéma expliquant l'infection d'origine Exogène.....	8
•	Figure 3 :Liste des infections nosocomiales les plus fréquentes.....	9
•	Figure 4 :Différents germes impliqués dans les infections nosocomiales.....	15
•	Figure 5 :Systèmes de surveillance des infections nosocomiales à partir du service de bactériologie.....	17
•	Figure 6 :Schéma présente comment est organisée à ce jour la lutte contre les IN.....	21
•	Figure 7 :Illustration des résultats du test mannitol mobilité.....	30
•	Figure 8 :Tests biochimiques classiques.....	32
•	Figure 9 :Galerie API 20E avant inoculation.....	33
•	Figure 10 : Galerie API 20E avant et après inoculation.....	34
•	Figure 11 :Catalogue analytique de résultat d'une Galerie API 20 ^E	34
•	Figure 12 : Disques d'antibiotiques.....	36
•	Figure 13 : Méthode classique de diffusion d'antibiotiques.....	36
•	Figure 14 : A/ Milieux de culture témoins ; B/ Caractères cultureux sur milieux gélosés des bactéries isolées à partir du 1 ^{er} prélèvement.....	39
•	Figure 15 : Aspect microscopique des bactéries obtenues du 1 ^{er} prélèvement après coloration de Gram.....	39
•	Figure 16 : A/ Milieux de culture témoins ; B/ Caractères cultureux sur milieux gélosés des bactéries isolées à partir du 2 ^{ème} prélèvement.....	40
•	Figure 17 : Aspect microscopique des bactéries obtenues à partir du 2 ^{ème} prélèvement après coloration de Gram.....	40
•	Figure 18 : A/ Milieux de culture témoins ; B/ Caractères cultureux sur milieux gélosés des bactéries isolées à partir du 3 ^{ème} prélèvement.....	41
•	Figure 19 : Aspect microscopique des bactéries obtenues du 3 ^{ème} prélèvement après coloration de Gram.....	41
•	Figure 20 : A/ Milieux de culture témoins ; B/ Caractères cultureux sur milieux gélosés des bactéries isolées à partir du 4 ^{ème} prélèvement.....	42
•	Figure 21 : Aspect microscopique des bactéries obtenues à partir du 4 ^{ème} prélèvement, après coloration de Gram.....	42
•	Figure 22 : A/ Milieux de culture témoins ; B/ Caractères cultureux sur milieux gélosés des bactéries isolées à partir du 1 ^{er} prélèvement.....	43
•	Figure 23 : Aspect microscopique des bactéries obtenues à partir du 1 ^{er} prélèvement, après coloration de Gram.....	44
•	Figure 24 : A/ Milieux de culture témoins ; B/ Caractères cultureux sur milieux gélosés des bactéries isolées à partir du 2 ^{ème} prélèvement.....	44
•	Figure 25 : Aspect microscopique des bactéries obtenues à partir du 2 ^{ème} prélèvement, après coloration de Gram.....	45
•	Figure 26 : A/ Milieux de culture témoins ; B/ Caractères cultureux sur milieux gélosés des bactéries isolées à partir du 3 ^{ème} prélèvement.....	45
•	Figure 27 : Aspect microscopique des bactéries obtenues à partir du 3 ^{ème} prélèvement, après coloration de Gram.....	46

- **Figure 28** : A/ Milieux de culture témoins ; B/ Caractères culturaux sur milieux gélosés des bactéries isolées à partir du 1^{er} prélèvement.....47
- **Figure 29** : Aspect microscopique des bactéries obtenues à partir du 1^{er}prélèvement après coloration de Gram.....48
- **Figure30** : A/ Milieux de culture témoins ; B/ Caractères culturaux sur milieux gélosés des bactéries isolées à partir du 2^{ème} prélèvement.....48
- **Figure 31** : Aspect microscopique des bactéries obtenues à partir du 2^{ème}prélèvement, après coloration de Gram.....49
- Figure 32** : A/ Milieux de culture témoins ; B/ Caractères culturaux des bactéries isolées à partir du 3^{ème} prélèvement.....49
- **Figure 33** : Aspect microscopique des bactéries obtenues à partir du 3^{ème}prélèvement, après coloration de Gram.....50
- **Figure 34** : Résultats des caractères biochimiques des germes identifiés.....52
- **Figure 35** : Galerie API 20E, après incubation et addition des réactifs (prélèvement n° 02 - service de laboratoire d'hématologie).....53
- **Figure 36** : Galerie API 20E, après incubation et addition des réactifs(prélèvement n°01 - service de maternité).....53
- **Figure 37** : Galerie API 20E, après 'incubation et addition des réactifs (prélèvement n°03 - service de maternité).....53
- **Figure 38** : Test catalase positif et négative55
- **Figure 39** : Test coagulasse positif et négatif.....55
- **Figure 40** : Résultats de l'antibiogramme des souches bactériennes.....56

Liste des tableaux

•	Tableau1 :Caractéristiques et facteurs de risque des principales IN.....	13
•	Tableau2 : Différentes bactéries responsables des infections nosocomiales.....	15
•	Tableau3 :Sites et endroits de prélèvement des échantillons.....	23
•	Tableau4 :Disques d'antibiotiques utilisés.....	35
•	Tableau5 :Critères de catégorisation selon les valeurs critiques.....	36
•	Tableau6 : Résultats des isolements au niveau du service de maternité.....	38
•	Tableau7 :Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues du 1 ^{er} prélèvement.....	39
•	Tableau8 :Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du2 ^{ème} prélèvement.....	40
•	Tableau9 :Résultat de l'examen microscopique des bactéries à partir 3 ^{ème} prélèvement.....	41
•	Tableau10 :Résultat de l'examen microscopique des bactéries à partir du 4 ^{ème} prélèvement.....	42
•	Tableau11 :Résultats des isolements au niveau du service de laboratoire d'hématologie.....	43
•	Tableau12 :Résultat de l'examen microscopique des bactéries à partir du1 ^{er} prélèvement.....	44
•	Tableau 13 : Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du 2 ^{ème} prélèvement.....	45
•	Tableau 14 : Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du 3 ^{ème} prélèvement.....	46
•	Tableau 15 : Résultats des isolements au niveau du service de Radiologie.....	47
•	Tableau 16 : Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du 1 ^{er} prélèvement.....	48
•	Tableau 17 : Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du 2 ^{ème} prélèvement.....	49
•	Tableau 18 : Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du 3 ^{ème} prélèvement.....	50
•	Tableau 19 : Espèces bactériennes identifiées.....	51
•	Tableau 20 : Résultats des tests biochimiques classiques des germes identifiés.....	52
•	Tableau 21 : Résultats des tests enzymatiques des Staphylocoque les plus fréquemment isolées.....	54
•	Tableau 22 :Résultat de l'antibiogramme des souches isolées et identifiées.....	56

Introduction

Introduction

Chaque année, 700 000 personnes développent une infection nosocomiale soit environ un patient sur 20. On estime à 4200 le nombre de décès par an dus à une infection nosocomiale (IN) dont, 125 patients où le pronostic vital n'était pas engagé à l'admission. Les infections nosocomiales constituent de nos jours un réel problème de santé publique du fait de leur fréquence considérable, leur gravité et leur mortalité. Il est à noter qu'à tout instant, un grand nombre de personnes souffrent d'infections contractées à l'hôpital. 5 à 10 % des patients admis dans les hôpitaux des pays développés sont victimes d'une ou plusieurs infections, tandis qu'elles sont 2 à 20 fois plus élevées dans les pays en développement, ce qui fait que chez ces derniers, la proportion de patients souffrant d'une infection résultant de soins de santé peut dépasser les 25%. (CHEBALLAH *et al.*, 2020).

En Algérie, le taux des infections nosocomiales a atteint les 15% en 2016. En France, dix mille décès par année liés aux infections nosocomiales (IN) sont enregistrés contre plus de 100 000 cas en Angleterre. Les infections résultant de soins de santé aboutissent à plus de 5000 décès par an, directement liés à ces dernières. D'après l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), les infections nosocomiales (IN) peuvent être décrites comme « des infections survenant chez un patient au sein d'un hôpital ou d'un autre établissement de santé et chez qui cette infection n'était ni présente ni en incubation au moment de l'admission. Cette définition inclut les infections contractées à l'hôpital mais qui se déclarent après la sortie, et également les infections professionnelles parmi le personnel de l'établissement.

Une infection est dite associée aux soins (IAS) si elle survie au cours ou au décours d'une prise en charge (diagnostique, thérapeutique, palliative, préventive ou éducative) d'un patient, et si elle n'était ni présente, ni en incubation au début de la prise en charge. Lorsque que l'état infectieux au début de la prise en charge n'est pas connu précisément, un délai d'au moins 48 heures ou, un délai supérieur à la période d'incubation est couramment accepté pour définir une infection nosocomiale. Toutefois, il est recommandé d'apprécier dans chaque cas la vraisemblance de réassociation entre la prise en charge et l'infection. En péril les plus grandes avancées de la médecine moderne qui au lieu de ne faire qu'améliorer l'état de santé de la population augmente le risque de contacter une infection en milieu de soins et de subir leurs conséquences. (Dali.ALI, 2015).

Les multiples causes des infections nosocomiales sont souvent liées aux procédures de soins et aux pratiques comportementales des professionnels de la santé au sein des unités de soins hospitaliers. Le mésusage des antibiotiques et la méconnaissance des bases de l'hygiène hospitalière que ce soit par le corps médical ou paramédical ou encore par les agents de nettoyage ; ce qui fait que prévenir leur apparition est l'une des meilleure façon de les éviter en instaurant une discipline médicale dont le but est de lutter contre les infections nosocomiales, tout en se référant à des recommandations bien établies applicables par tous.

Notre étude, menée dans le Centre Hospitalier de Hammam Bouhadjar, Wilaya de Ain Témouchent, comprend les objectifs suivants : la recherche et l'identification des divers groupes de microorganismes bactériens responsables des infections nosocomiales. Dans un premier temps, nous nous sommes proposé d'isoler, purifier et identifier les germes bactériens responsables de ces infections sur la base de leurs caractères phénotypiques et biochimiques, ensuite nous avons étudié la sensibilité de ces germes vis-à-vis de certains antibiotiques disponibles au laboratoire, par le test d'antibiogramme.

Chapitre 1

Synthèse Bibliographique

Généralité sur les infections nosocomiales

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

Une infection nosocomiale peut être directement liée aux soins (par exemple l'infection sur cathéter) ou simplement survenir lors de l'hospitalisation, indépendamment de tout acte médical (par exemple, une grippe qui se transmet d'un visiteur extérieur à un patient hospitalisé). L'infection nosocomiale concerne les patients mais aussi les personnels qui travaillent au contact des malades contagieux. Toutes les infections nosocomiales n'ont pas la même gravité. Certaines infections nosocomiales peuvent entraîner la mort (ex. infections pulmonaires, certaines septicémies...). Les infections les plus graves surviennent généralement chez les patients les plus fragilisés ce qui rend difficile la distinction entre la responsabilité de l'infection nosocomiale elle-même et celle de la maladie préexistante.

Exemple : Un malade souffrant d'une insuffisance respiratoire du fait d'un cancer du poumon évolué sera très sensible à une infection nosocomiale, comme il serait très sensible à une simple grippe. La plupart des infections allongent la durée de séjour et entraînent un surcoût lié au traitement antibiotique. Les infections urinaires, qui représentent les plus fréquentes des infections nosocomiales, ne sont quant à elles, pour la plupart pas très graves, elles augmentent peu la durée de séjour et nécessitent un traitement court. (**Ministère des solidarités et de la santé., 2018**).

2. Historique

D'après le Guide technique d'hygiène hospitalière (2004), une infection est dite nosocomiale si elle apparaît au cours ou à la suite d'une hospitalisation (ou d'un soin ambulatoire) et si elle n'était ni présente, ni en incubation lors de l'admission à l'hôpital. Ce critère est applicable à toute infection. Lorsque la situation précise à l'admission n'est pas connue, un délai d'au moins 48 heures après l'admission (ou un délai supérieur à la période d'incubation lorsque celle-ci est connue) est communément accepté pour distinguer une infection d'acquisition nosocomiale d'une infection communautaire. Toutefois, il est recommandé d'apprécier, dans chaque cas douteux, la plausibilité du lien causal entre hospitalisation et infection .

Pour aider les professionnels de santé en charge de la détection, du suivi et de la surveillance des infections nosocomiales, des critères bien spécifiques ont été définis en fonction de la localisation anatomique de l'infection. Ces définitions standardisées ont été éditées par le Ministère de la santé en 1999 dans un guide nommé : « 100 recommandations pour la surveillance et la prévention des infections nosocomiales » et actualisé en 2010 avec une troisième version suite à une nouvelle définition des IAS : « Surveiller et prévenir les infections associées aux soins ». Ainsi, pour chaque type d'infection sont décrits des critères cliniques et/ou microbiologiques associés.

Ex. une infection de site opératoire est considérée comme nosocomiale s'il y a présence de pus provenant soit de la partie superficielle ou profonde de l'incision chirurgicale, soit localisé au niveau d'une cavité ou d'un organe relié à l'intervention médicale. Les infections de site opératoire survenues dans les 30 jours suivant l'intervention sont considérées comme

nosocomiales. S'il y a mise en place d'une prothèse ou d'un implant, ce délai s'étend à l'année qui suit l'intervention. Dans le cadre de l'évaluation et du suivi des infections nosocomiales, les EOH (L'équipe opérationnelle d'hygiène) doivent disposer de définitions très précises. Ce sont ces équipes qui proposent le programme de lutte contre les infections nosocomiales au sein d'un centre de soins. Ces définitions ont été établies dans un souci d'harmonisation pour faciliter le travail des soignants. (Fanny, 2018).

3. Les infections Nosocomiales problème de santé

Les infections associées aux soins constituent un véritable problème de santé dans les milieux de soins, en particulier dans les hôpitaux. Il s'agit d'une préoccupation majeure mondiale de la sécurité pour les patients et les professionnels de la santé. Une étude multicentrique a été menée dans 27 hôpitaux en Algérie, en Égypte, en Italie, au Maroc et en Tunisie afin d'évaluer la prévalence et les caractéristiques des infections nosocomiales. La population de l'étude avoisinant les 4634 patients était relativement jeune avec une moyenne d'âge de 41,1 ans. La prévalence des infections nosocomiales était de 10,5 % ; celle-ci était plus élevée dans les centres non universitaires et dans les hôpitaux de taille moyenne. Globalement, les infections urinaires étaient les plus fréquentes. Les services de pédiatrie ont enregistré une prévalence particulièrement élevée (11,3 %). Les germes les plus fréquemment isolés étaient *Escherichia coli* (17,2 %), *Staphylococcus aureus* (12,5 %), *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae* (9,2 % chacun). Le jour de l'enquête, 40,7 % des patients étaient sous traitement antibiotique, dont presque la moitié avec une indication empirique. La survenue d'une infection nosocomiale était significativement associée à la ventilation mécanique, un délai de séjour supérieur ou égal à 8 jours, la présence d'un cathéter central ou périphérique, une sonde urinaire, au diabète et à l'âge des malades. (Amazian *et al.*, 2010).

- Comment se transmettent les infections nosocomiales ?

Les infections nosocomiales peuvent être directement liées aux soins dispensés au patient (ex. l'infection sur cathéter) ou simplement survenir lors de l'hospitalisation, indépendamment de tout acte médical (ex. une épidémie de grippe). Il existe plusieurs types d'infections nosocomiales relevant de modes de transmission différents : le malade s'infecte avec ses propres micro-organismes, à la faveur d'un acte invasif et/ou en raison d'une fragilité particulière ; les micro-organismes ont pour origine les autres malades (transmission croisée entre malades ou par les mains ou matériels des personnels), les personnels ou la contamination de l'environnement hospitalier (eau, air, équipements, alimentation...). (Ministère des Solidarités et de la Santé, 2018).

4. La réglementation et/ou mesures mises en place

Plusieurs mesures ont été mises en place et adaptées par le comité des ministres du Conseil de l'Europe pour l'Hygiène Hospitalière en Novembre 1972, parmi ces mesures, nous citons:

1. Création dans chaque hôpital d'un "Comité de Lutte contre l'Infection Nosocomiale" (CLIN) suite à deux circulaires françaises des **18 octobre 1973** et du **1er septembre 1975**.

2. Obligation de constituer un CLIN dans les hôpitaux publics et les établissements privés participant au service public hospitalier (**décret n° 88-657 du 6 mai 1988**).

3. Création d'un "Comité Technique National des Infections Nosocomiales" (CTNIN) et de 5 centres interrégionaux (CCLIN) par **arrêté du 3 août 1992**.

4. Le **décret du 2 octobre 1992**, prévoit la décontamination, le stockage et l'entretien du matériel nécessaire aux soins et aux transports des patients (chirurgie ambulatoire).

5. L'**arrêté du 7 janvier 1993**, relatif au secteur opératoire pour les structures pratiquant l'anesthésie ou la chirurgie ambulatoire évoque "une hygiène spécifique et adaptée" pour limiter les risques de nature notamment infectieuse. L'organisation du secteur opératoire doit être précisé et consigné dans un document écrit qui définit les procédures et les modalités de nettoyage, décontamination, désinfection et stérilisation. Ces procédures sont vérifiées périodiquement "sous la responsabilité d'un médecin coordinateur, sans préjudice de la responsabilité de chaque praticien".

6. Le **décret du 6 septembre 1995**, dit que le médecin doit "veiller à la stérilisation et à la décontamination des dispositifs médicaux qu'il utilise et à l'élimination des déchets médicaux selon les procédures réglementaires".

7. L'**arrêté du 3 octobre 1995**, concerne essentiellement le matériel d'anesthésie et de réanimation dont l'organisation doit également être retranscrite dans un document écrit soumis à avis.

8. Le **décret du 7 avril 1997**, relatif à l'organisation et au fonctionnement de l'Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé prend en compte "la fréquence et la gravité des accidents iatrogènes et des infections nosocomiales" (art. R 791-1-2 du Code de la santé publique).

9. Une circulaire du **20 octobre 1997**, précise les modalités de stérilisation des dispositifs médicaux et fait de l'obtention de l'état stérile et son maintien une obligation de résultat.

10. Enfin, la **loi n°98-535 du 1er juillet 1998**, relative au renforcement de la veille sanitaire et du contrôle de la sécurité sanitaire des produits destinés à l'homme oblige les établissements de santé à organiser en leur sein la lutte contre les infections nosocomiales.

11. Le **décret n°99-1034 du 6 décembre 1999**, précise les dispositions relatives à l'organisation de la lutte contre les infections nosocomiales dans les établissements de santé.

12. La **circulaire n°2000-645 du 29 décembre 2000**, précise aux établissements de santé les modalités de mise en œuvre de l'ensemble des dispositions réglementaires.

13. La **circulaire du 30 mai 2001**, relative au bilan des activités de lutte contre les infections nosocomiales dans les établissements de santé présente les modalités de recueil, de saisie et d'analyse de ce bilan.

14. Le **décret n°2001-671 du 26 juillet 2001**, détermine la nature des infections nosocomiales soumises à signalement et fixe les conditions dans lesquelles les établissements de santé doivent recueillir les informations les concernant et répondre à l'obligation de signalement

15. La **circulaire n°2001-383 du 30 juillet 2001** précise le dispositif mis en place par le décret précédent. (www.caducee-net/dossierspecialises/infection/nosocomiale).

5. Les infections Nosocomiales en Algérie

Une conférence internationale du Maghreb, de France et de toute l'Algérie sur les infections nosocomiales ainsi que l'hygiène hospitalière de manière générale organisée par le CHU d'Oran. Ces infections tuent et se transmettent, dira, en ouverture, le professeur Mouffok qui annonce qu'en Algérie "le taux des infections nosocomiales a atteint les 15% et que dans 50 à 60% des cas, elles se transmettent par les mains. 5% des bactéries qui circulent en milieu hospitaliers sont multi-résistantes aux antibiotiques", posant d'autant le lourd problème de leurs coûts. Pour un autre intervenant, les maladies nosocomiales sont même un indicateur de développement des pays sans pour autant pouvoir situer la place de l'Algérie. Un rapport de l'OMS, au cours de ces dernières années, mis en avant l'urgence de fédérer les efforts quelles que soient les spécialités pour limiter l'ampleur des infections liées aux soins hospitaliers, Alors que les participants vont jusqu'à aujourd'hui débattre et présenter des communications sur les différents types d'infections rencontrées, les voies et moyens de lutter, nous avons appris que dans ce cadre des conventions avec des établissements hospitaliers français vont accompagner des équipes et des établissements algériens. (**Guertarni et al., 2016**).

6. Les origines des infections nosocomiales

Elles sont dues à la présence de germes ou bactéries dans l'établissement, et sont transmises de diverses façons : défenses immunitaires fragilisées, propagation par contact cutané ou transmission croisée entre malades ou via le personnel, contamination de l'environnement hospitalier (eau, air, matériel, aliments). Parmi les raisons qui favorisent le développement de ces infections, plusieurs choses sont à prendre en compte:

- L'hôpital, tout comme notre domicile ou tout autre endroit, possède sa vie bactériologique propre. Si les règles d'hygiène de base (gants, masques, désinfections du matériel, des surfaces ...) permettent de créer une barrière aux infections, elles ne sont pas toujours suffisantes. Or, lorsqu'un patient se rend dans un hôpital, c'est souvent qu'il est lui-même malade, donc plus fragile qu'en temps normal, avec une immunité probablement affaiblie. Il est mis en contact avec une flore bactérienne différente de la sienne à laquelle il est donc plus sensible, explique le médecin. Statistiquement, il y a plus de chance d'attraper quelque chose à l'hôpital lorsque l'on est malade que chez soi lorsqu'on est en bonne santé.

- Les bactéries que l'on trouve à l'hôpital sont en général plus résistantes que celles que nous avons à notre domicile.

- A l'hôpital, les patients sont généralement sous traitement (chimiothérapie, antibiothérapie, hormonothérapie ...). Ces traitements ont tendance à déséquilibrer profondément le microbiote intestinal du patient, ce qui le rend plus vulnérable à une bactérie étrangère possiblement agressive. Il se peut aussi que cette bactérie ait été déjà présente dans le microbiote du patient avant son hospitalisation mais ne s'exprimait pas, ajoute le Dr. Tafazzoli. Le problème c'est qu'on ne saura jamais si la bactérie a été attrapée à l'hôpital ou avant, mais légalement, l'infection sera classée maladie nosocomiale."

- Avec l'augmentation de l'espérance de vie, il y a de plus en plus de personnes très âgées qui sont porteuses saines de très nombreuses bactéries résistantes avec lesquelles elles ont été en contact durant leur vie. "Lors d'hospitalisation, ces personnes sont susceptibles de transmettre une de ces bactéries à une personne plus jeune, qui ne sera pas immunisée contre elles.(Tafazzoli, 2017).

6.1. Mode de transmission

On peut classer les infections nosocomiales selon l'origine du microorganisme responsable, soit d'infection d'origine endogène :le malade s'infecte avec ses propres germes, à la faveur d'un acte invasif (c'est-à-dire traversant la peau du patient) et/ou en raison d'une fragilité particulière.

Exemples :- Un patient sous respiration artificielle peut déclarer une pneumonie, due à un germe provenant de son propre tube digestif, et qui a pu " remonter " jusqu'aux voies respiratoires.

- Un patient porteur d'une sonde urinaire peut déclencher une infection urinaire avec des germes de son propre tube digestif remontés le long de la sonde.

- Une opération de l'intestin grêle ou du côlon, qui contiennent de nombreux germes, peut disséminer ceux-ci lors de l'incision de l'organe et déclencher une infection postopératoire. (www.caducee-net/dossierspecialises/infection/nosocomiale).

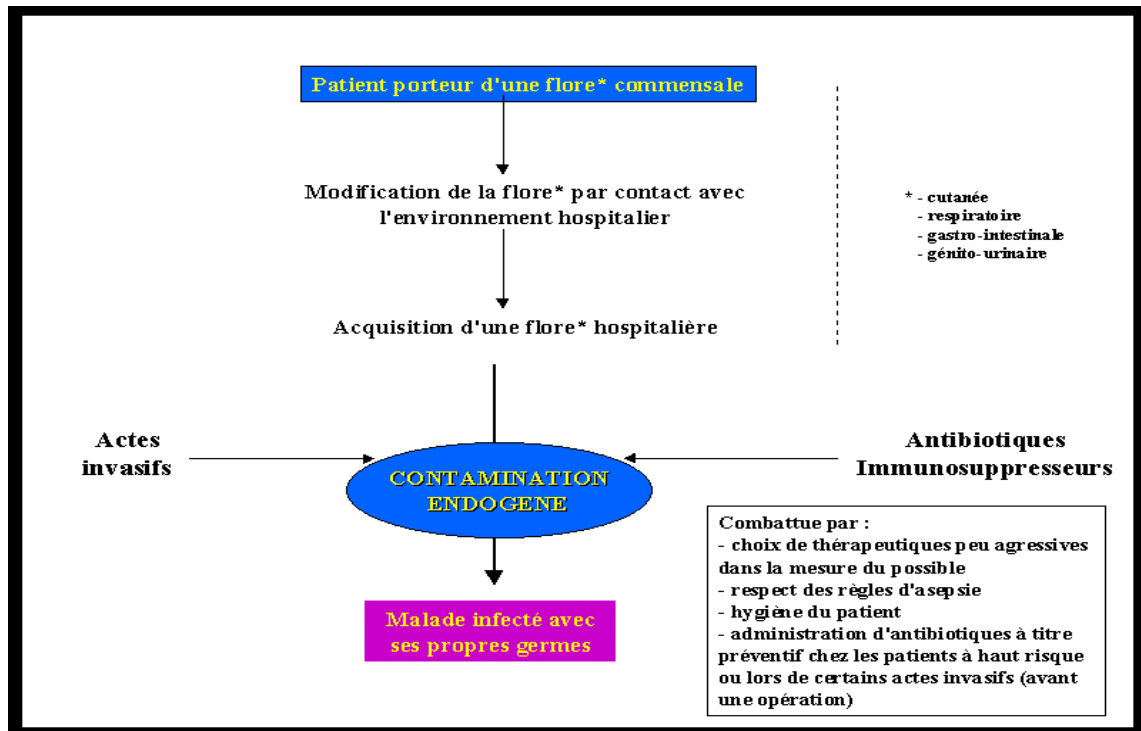


Figure 1 : Schéma expliquant l'infection d'origine endogène. (VESSERON et FAGOT, 2000).

Soit d'une infection d'origine exogène. Pour ce type d'infection, plusieurs voies de transmission sont possibles :

- Par contact : Il s'agit d'une contamination interhumaine directe ou indirecte dans le cas de la transmission manu portée.

- Par gouttelettes : Cette voie de transmission rentre dans cette catégorie les infections qui se transmettent via des particules de taille supérieure à $5\mu\text{m}$ (ex. méningite à méningocoque). Une toux ou un contact rapproché peuvent être à l'origine de la contamination. A cause de leur taille, les particules sédimentent rapidement et diffusent peu (maximum 1 mètre autour de la personne contaminée).

- Par voie aérienne : Pour des particules inférieures à $5\mu\text{m}$, le sujet infecté excrète lors d'une toux les particules infectieuses, contaminant ainsi l'air. Du fait de leurs petites tailles, les particules vont potentiellement diffuser à distance. Le sujet sain se contamine par inhalation des particules en suspension dans l'air.

-Par une source commune : Une contamination par l'alimentation, ou par l'environnement. Ce mode de transmission est souvent à l'origine de cas groupés d'infections nosocomiales. Les 3 premiers modes de transmission représentent 90% des contaminations et peuvent être facilement enrayés par des méthodes simples de prévention. Il paraît difficile de déterminer pour chaque patient les bactéries présentes lors de son admission, néanmoins des études sont réalisées afin d'identifier certaines populations à risque où le dépistage de la flore endogène serait pertinent. (VESSERON et FAGOT, 2000).

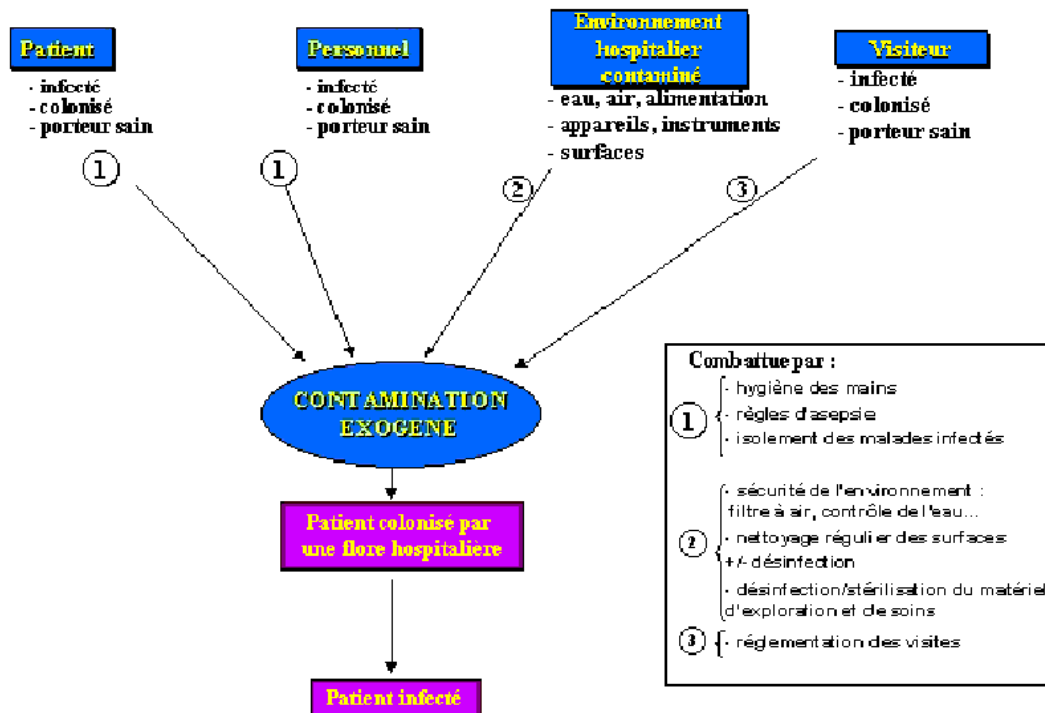


Figure 2 : Schéma expliquant l'infection d'origine exogène. (VESSERON et FAGOT, 2000)

7. Les fréquences des infections nosocomiales

La fréquence des infections nosocomiales qui constituent aujourd'hui un véritable problème, doit être exprimée sous forme de taux ou de proportions, ce qui veut dire qu'il faut ramener le nombre de cas observés dans une population exposée au risque, à l'effectif de cette population, ce que font différentes enquêtes nationales et internationales dont le but est de suivre de plus près l'évolution de ce phénomène.

Les enquêtes de prévalence ont été recommandées par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) pour des études nationales ou internationales car elles constituent l'outil de base pour la surveillance des infections nosocomiales, tout en permettant de faire, de manière simple et à moindre coût, un état des lieux du risque infectieux nosocomial. Cet avantage est encore plus important dans les pays de faible niveau socio-économique où les ressources disponibles pour la lutte contre les infections nosocomiales font défaut, sans oublier que ces enquêtes constituent un outil de sensibilisation et d'information du personnel.

Selon les différentes études épidémiologiques menées par l'OMS sur cinq hôpitaux de quatorze pays (14) d'Europe de l'Est Méditerranéen, Asie du Sud-est et le Pacifique occidental, 4 régions ont montré qu'au moins 8,7 % des patients admis dans les hôpitaux avaient une infection nosocomiale. Il est à noter que la prévalence des patients infectés varie selon : Le type d'établissement ; le type de séjour effectué ; la durée du séjour et le profil du patient. En France les dernières enquêtes de prévalence réalisées dans les établissements de soin montrent une prévalence stable des patients infectés entre 2012 et 2017, sachant qu'un patient hospitalisé sur 20 est touché par au moins une infection nosocomiale, ce qui équivaut à 5% des patients hospitalisés dont 3 infections sur 4 sont acquises dans l'établissement de santé dans lequel le

patient est hospitalisé et qu'une infection sur 4 est en revanche importée d'un autre établissement.

Aux Etats Unis d'Amérique la NNISS (National Nosocomial Infection Surveillance System) estime que 3 à 5% des malades hospitalisés contractent une infection liée aux soins.

En Algérie des épidémiologistes ont depuis longtemps alerté de la prévalence très élevée des infections nosocomiales, tout en assurant que le « risque zéro » n'existe pas et ne peut être atteint même dans les pays les plus développés. Les enquêtes de prévalence des IAS organisées dans plusieurs hôpitaux d'Algérie ont mis en évidence l'importance de ce problème de santé. Le taux des patients infectés par une ou plusieurs infections nosocomiales varie selon ces enquêtes parcellaires de 15 à 20% (Ministère de la Santé, 2013), et plus précisément dans la wilaya de Tizi-Ouzou, où on a observé une sensible augmentation des cas des IN. Selon un document de la Direction de Santé Public (DSP), indiquant un total de 47 cas jusqu'à octobre 2019, contre 16 cas pour toute l'année 2018. Une enquête de prévalence a été réalisée au CHU de Bab El Oued à Alger pour apprécier l'ampleur des infections nosocomiales a montré que parmi les 426 malades hospitalisés, 69 malades étaient infectés, soit une prévalence de 16,2 %.(*Bezzoucha et al., 1994*).

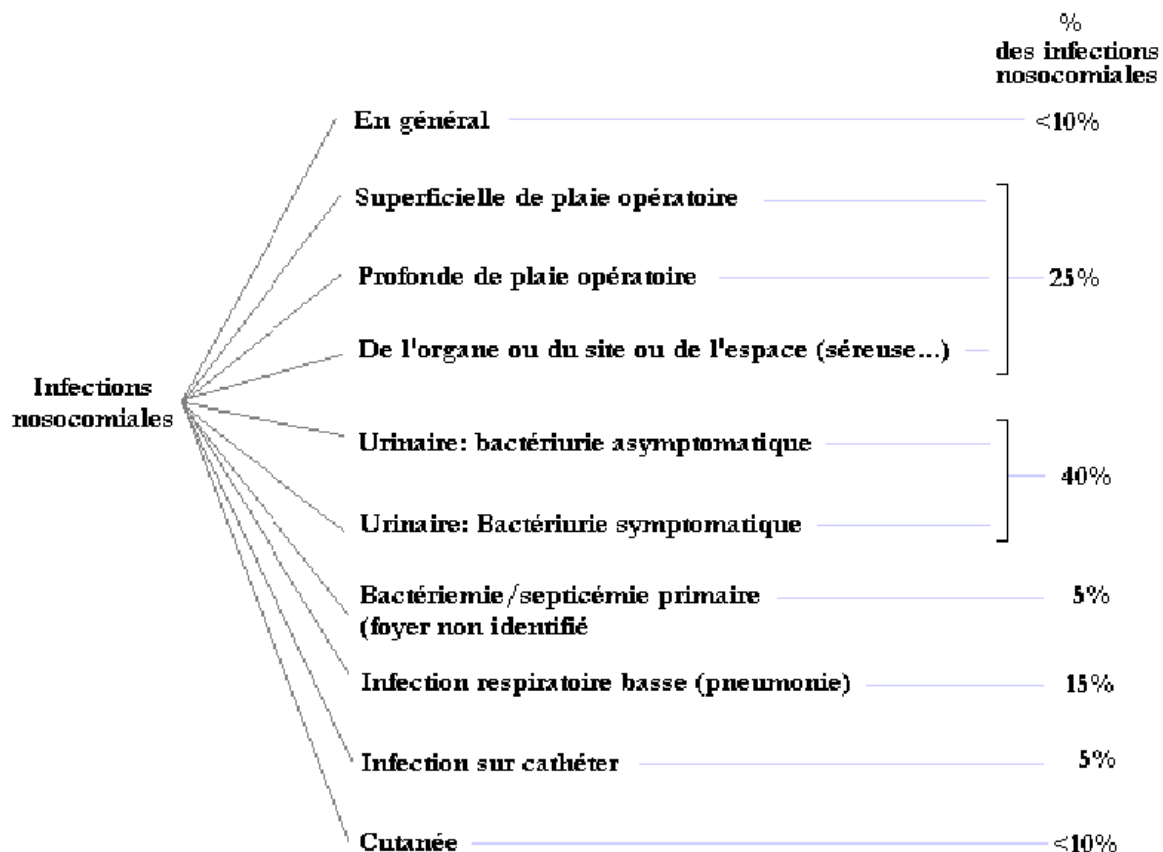


Figure 3 : Liste des infections nosocomiales les plus fréquentes. (VESSERON et FAGOT., 2000)

7.1. Types d'infection

Tous les organes et tous les systèmes de l'organisme peuvent être touchés par des agressions infectieuses: la peau et ses dépendances par voie cutanée, le système ORL et bronchique par une contamination atmosphérique, l'appareil digestif via une contamination alimentaire, l'appareil urinaire et gynécologique par une contamination locale ou profonde, le système nerveux central à travers la barrière hémato-méningée etc... (Patrick, 2000). On distingue également le cas particulier des infections nosocomiales qui sont contractées au cours d'une hospitalisation, c'est-à-dire qui se déclarent au moins 48 heures après l'admission du patient. Selon une étude révélée par l'Institut National de Veille Sanitaire (INVS) en 2012, cela concerne un patient hospitalisé sur vingt, soit 5%. (**Le journal des femmes, 2020**).

7.1.1 Les infections nosocomiales urinaires

130 000 cas d'infection urinaire nosocomiale (IUN) se déclarent par an. Les infections urinaires sont définies de façon clinique par la présence d'au moins un signe. Parmi ces signes : fièvre ($>38^{\circ}\text{C}$), impériosité mictionnelle, pollakiurie, brûlure mictionnelle ou douleur sus pubienne, en l'absence d'autre cause infectieuse ou non. On y associe une dimension microbiologique (CTINILS 2007):

- Sans sondage vésical ni autre abord de l'arbre urinaire : leucocyturie ($\geq 10^4$ leucocytes/ml) et uroculture positive ($\geq 10^3$ microorganismes/ml) et au plus 2 microorganismes différents.

- Avec sondage vésical ou autre abord de l'arbre urinaire, en cours ou dans les 7 jours précédents : uroculture positive ($\geq 10^5$ microorganismes/ml) et au plus 2 microorganismes différents. Les bactériuries asymptomatiques ne font pas partie de la définition des IUN. Les bactériuries asymptomatiques sont rares chez le patient de moins de 60 ans. Leur prévalence augmente avec l'âge, pouvant atteindre jusqu'à 19% des hommes de plus de 70 ans vivant chez eux et 40 % des patients institutionnalisés. Par ailleurs, dans le cas du port d'une sonde à demeure, l'incidence journalière d'une bactériurie varie de 3 à 10 % avec un risque de 100% après un mois de sondage (LAFURIE, 2004). De même l'incidence journalière d'une IUN chez les porteurs de sonde est de 5 à 10 %.(**ALBRECHT, 2015**).

7.1.2. Les infections nosocomiales du site opératoire

Les infections nosocomiales du site opératoire (ISO) représentent 13.7% des IN, les classant ainsi en 3^{ème} position des IN les plus fréquentes. On distingue trois catégories d'infection du site opératoire.

- Des Infection survenant dans les 30 jours suivant l'intervention ou dans l'année si prothèse en place.

- Les infections de la partie superficielle de l'incision : Ces infections touchent la peau et le tissu cellulaire sous cutané.

- Les infections de la partie profonde de l'incision : Ces infections touchent les tissus mous profonds, fascia ou muscles.

- Les infections de l'organe ou l'espace concerné par le site opératoire. Il est nécessaire néanmoins d'apprécier le possible lien entre l'intervention et l'infection en prenant en compte par exemple le type de pathogène mis en cause.(ALBRECHT, 2015).

7.1.3. Les infections nosocomiales pulmonaires

Elles sont classées en troisième position avec un pourcentage de 14.7%, et en première position en réanimation. Elles peuvent être précoces ou tardives selon qu'elles surviennent les 5 - 7^{ème} jours avant ou après l'hospitalisation du patient. Leur diagnostic repose essentiellement sur l'association d'un diagnostic radiologique (radiographie ou scanner du thorax), d'une ou de plusieurs opacités parenchymateuses récentes et évolutives et de l'un des éléments suivants : microorganisme identifié et isolé, de l'expectoration si habituellement non commensale des bronches, de la ponction transtrachéale, d'un LBA avec 10⁴bactéries/ml, d'une ponction d'un abcès pleural ou pulmonaire.

- Un des signes cliniques suivants : expectorations purulentes d'apparition récente ; toux/dyspnée/ tachypnée ; aggravation des gaz du sang ; associée à une hyperthermie ou une leucopénie ou une hyperleucocytose.(Cheballah *et al.*,2020).

7.1.4. Les infections nosocomiales liées au cathéter et dispositif intra vasculaire

En 2012 lors de l'ENP (Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales), sur les 300 330 patients inclus dans l'enquête, 31.4% étaient exposés à un dispositif médical invasif (sonde d'intubation, cathéter, sonde urinaire) et plus de 28% seulement pour les cathéters. On définit comme dispositif médical, tout produit qui n'est pas d'origine humaine et qui est destiné à des fins médicales, à l'exception des médicaments. Ces fins médicales sont précisées dans l'article R.5211-1 du Code de la Santé Publique:

- Diagnostic, prévention, contrôle, traitement ou atténuation d'une maladie.
- Diagnostic, contrôle, traitement, atténuation ou compensation d'une blessure ou d'un handicap.
- Etude, remplacement ou modification de l'anatomie ou d'un processus physiologique.
- Maitrise de la conception.

Les dispositifs médicaux (DM) sont classés selon leur dangerosité quant à leur destination. Le Code de la Santé Publique retient deux critères essentiels:

La pénétration ou non du DM dans le corps ainsi que sa durée d'utilisation (temporaire moins d'une heure, à court terme maximum 30 jours et à long terme).

L'abord vasculaire permettant la réalisation rapide d'actes médicaux (administration de médicaments, de nutrition parentérale, de soluté...). C'est une technique très largement utilisée

dans des services de réanimation ou encore d'oncologie. La principale complication reste l'infection. La prévalence des infections sur cathéter (ILC) est de 5,3%, que l'atteinte soit locale ou générale. Néanmoins, la présence d'un cathéter veineux est à l'origine de 20.9% des bactériémies nosocomiales. (ALBRECHT, 2015).

7.1.5. Les infections nosocomiales gastro-intestinales

Ces infections ont souvent été présentées comme mineures par rapport aux autres infections nosocomiales. Ceci est dû en partie au caractère presque inévitable d'une diarrhée non infectieuse chez un patient hospitalisé, l'évolution positive spontanée et la difficulté de mise en évidence d'agents infectieux.

Les gastro-entérites sont définies comme l'apparition d'une diarrhée aiguë, d'origine infectieuse ou non expliquée, acquises par un patient hospitalisé, on les considère comme nosocomiales lorsque les symptômes apparaissent 48 à 72 h après l'hospitalisation. Ce délai d'apparition peut poser problème pour les patients immunodéprimés, parfois porteurs asymptomatiques d'enteropathogènes. Le caractère nosocomial de l'infection devrait alors être admis si une coproculture réalisée juste après l'admission est négative pour le microorganisme mis en cause. (ALBRECHT, 2015).

7.1.6. Les septicémies /bactériémies

On parle de bactériémie nosocomiale si l'hémoculture est positive après 48h d'hospitalisation du patient en présence des signes cliniques d'un état de choc septique (hyperthermie > 38°C, frissons ou choc, hypothermie). Elle peut être primaire (absence de source d'infection au niveau d'un autre site anatomique) ou secondaire (présence d'une autre infection au niveau d'autres sites anatomiques). Les différents dispositifs médicaux utilisés en milieu hospitalier sont à l'origine de la majorité des septicémies enregistrées, que ce soit les dispositifs intravasculaires, centraux ou périphériques, avec un pourcentage de 10,1% pour les septicémies liées à l'introduction de cathéters. Il existe d'autres types d'infections nosocomiales représentées par:

- Les infections digestives, ORL (oto-rhino-laryngologiques) ;les OPH (surtout chez les enfants); les cutanées non opératoires, neuro-méningées, et d'autres infections diverses.(Cheballah *et al.*, 2020).

Tableau 1 : Caractéristiques et facteurs de risque des principales IN. (VESSERON et FARGO., 2000).

Site anatomique	1er lieu d'acquisition	Facteurs de risque	Principaux Microorganismes
Urinaire	Médecine	Sonde vésicale (durée, non respect du système clos)	<i>E. coli</i> (30%) <i>Entérocoque</i> (20%)
Pulmonaire	Réanimation	Ventilation BPCO Troubles de la conscience	<i>P. aeruginosa</i> (23%) <i>S. aureus</i> (20%)
Bactérienne	Transplantation Immunodéprimés	Cathéter intra vasculaire (durée. nombre de manip.)	<i>SCN</i> (32%) <i>S. aureus</i> (20%)
Site Opérateur	Chirurgie	Durée et type d'intervention Score ASA	<i>S. aureus</i> (23%) <i>P. aeruginosa</i> (17%)

8. Les différents germes impliqués dans les IN

Les principaux germes en cause sont les bactéries, les virus, les champignons et les prions. Parmi les agents responsables d'infections nosocomiales, les bactéries viennent en première position, encore faut-il considérer que les virus ont aussi une place importante en particulier dans certains services telle que la pédiatrie.

Les virus : Trois catégories de personnes peuvent contracter les infections nosocomiales, parmi eux :

- Les enfants avec des infections à Rota virus et à Virus Syncytial Respiratoire (VSR).
- Les personnes âgées ayant contractées le virus de la grippe, les virus responsables de conjonctivites, de rhino-pharyngites.
- Les immunodéprimés.

Les bactéries : Nous constatons que l'importance relative des bactéries responsables d'infections nosocomiales varie selon les sites d'infections.

- *Staphylococcus aureus*, cette bactérie est retrouvée dans les infections nosocomiales sur cathéter, les pneumonies et dans les infections du site opératoire.
- *Escherichia coli* est le germe de l'infection urinaire. Il est aussi retrouvé dans les bactériémies.
- *Pseudomonas aeruginosa* est responsable de nombreuses pneumonies.

- La *légiionella* spp. est une bactérie que l'on retrouve fréquemment dans les cours d'eau naturels, dans les étangs et dans les mares.

A côté de la résistance naturelle, le problème crucial est la résistance acquise aux antibiotiques des bactéries nosocomiales. Actuellement, en France, le pourcentage de souches résistantes à la pénicilline est très préoccupant et avoisine les 30%, ce qui est nettement supérieur à celle observée chez plusieurs pays voisins européens comme le Danemark qui n'observe que 1% de souches résistantes à la pénicilline. Selon les différentes analyses effectuées par l'Institut Pasteur, le tiers des microbes et bactéries répandues en milieu hospitalier est mortel et résistant aux antibiotiques. Il existe un grand nombre d'agents infectieux qui peuvent être responsables d'infections nosocomiales. Néanmoins, certains d'entre eux sont plus fréquemment impliqués que d'autres, à savoir : les bactéries, les parasites, les levures, les virus et les prions. 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. Trois germes bactériens représentent la moitié des microorganismes isolés dans le cadre d'infections nosocomiales. Parmi ces germes :

Escherichia coli: Ce germe représente 26%, vit naturellement dans les intestins de l'être humain. Il représente environ 80 % de la flore commensale intestinale aérobie de l'individu. Certaines souches d'*E. coli* peuvent être pathogènes, entraînant des gastro-entérites, des infections urinaires, des méningites ou sepsis.

Staphylococcus aureus: Cette bactérie représente 16%, retrouvée chez environ 27 % des individus sains au niveau des fosses nasales, de la peau et des autres muqueuses, dans le tube digestif et souvent au niveau du périnée. C'est l'espèce la plus pathogène du genre *Staphylococcus*, responsable d'intoxications alimentaires, d'infection urinaire, pneumopathie, bactériémie d'infections localisées suppurées et dans certains cas extrêmes, d'infections potentiellement mortelles.

Pseudomonas aeruginosa: Appelée bacille pyocyanique ou bacille du pus bleu, elle représente environ 8,4%, qui se développe dans les sols et en milieu humide (robinets, tuyauteries...) très résistante et fréquente en milieu hospitalier. Elle se renouvelle dans les hôpitaux via les fruits, plantes et légumes qui y entrent, c'est l'une des raisons pour lesquelles les fleurs et les plantes vertes sont interdites dans les chambres d'hôpitaux. Elle est peu ou pas virulente chez l'individu sain mais elle peut s'avérer redoutable chez les sujets dont l'immunité est affaiblie en causant des pneumopathies nosocomiales ou des infections urinaires. D'autres germes ont été isolés, parmi eux, des *Streptocoques*, des *entérobactéries*, *Clostridium difficile* ou encore *Acinetobacter baumannii*. (Fleury et Marianne, 2010).

Le groupe des champignons et levures représente un pourcentage de 3.7%. Parmi les espèces les plus représentées : *Aspergillus* sp, *Candida* sp, *Cryptococcus neoformans* et *Pneumocystis carinii hominis*. En revanche, les virus et les parasites sont très rarement incriminés. Ils représentent respectivement 0,4% et 0,2% des micro-organismes identifiés. Ex. de parasites : *Pediculus capitis*, responsable des poux de tête, *Pediculus corporis* (poux de

corps) et *Pediculus pubis* (poux de pubis ou morpion. Ces parasites ont comme habitat les zones pileuses et environnementales (vêtements, literie et matériel de toilette). (*Travail de santé publique réalisé en 2003*).

Le tableau ci-dessous résume les différentes bactéries responsables des infections nosocomiales les plus répandues:

Tableau 2 : Différentes bactéries responsables des infections nosocomiales. (VESSERON et FARGO, 2000).

	Urinaire	Plaie opératoire	Respiratoire	Bactériémies	Toutes infections (hôpital entier)	Toutes infections en réanimation
<i>E.coli</i>	49.8	13.5	9.0	15.4	25.9	13.1
<i>S.aureus</i>	3.5	29.2	14.7	18.4	15.9	12.3
<i>P.aeruginosa</i>	6.9	6.9	18.1	5.8	8.4	14.0
<i>Entérocoques</i>	7.5	5.7	-	3.9	4.6	3.9
<i>S.coagulase négative</i>	-	10.9	-	22.5	4.4	4.8
<i>Proteus spp</i>	6.4	2.4	-	1.7	3.2	1.6
<i>Enterobacter spp</i>	3.5	4.3	4.6	4.1	3.6	5.4
<i>K.lebsiella spp</i>	6.6	2.3	6.1	4.7	4.8	6.0
<i>Candida spp</i>	4.3	-	3.4	2.5	2.3	4.5

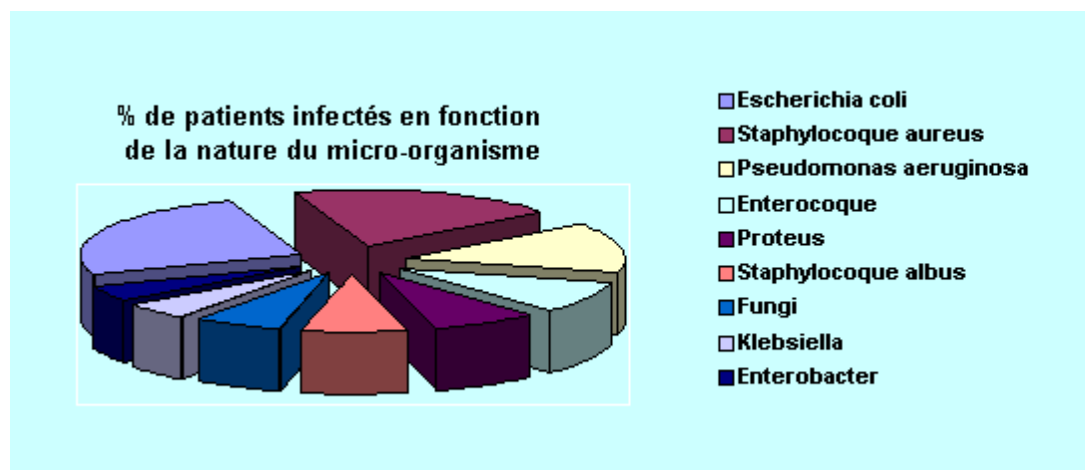


Figure 4 : Différents germes impliqués dans les infections nosocomiales. (VESSERON et FARGO, 2000).

8.1. L'environnement hospitalier

Les germes de l'environnement hospitalier sont constitués essentiellement par les microorganismes de surfaces, l'eau, l'air, le linge, les aliments, les dispositifs médicaux et les déchets. Il existe 3 groupes essentiels de germes retrouvés dans l'écosystème hospitalier à savoir : les microorganismes saprophytes tel que le genre *Pseudomonas* spp. qui peut devenir agent pathogène opportuniste surtout chez les immunodéprimés ; les commensaux de l'homme qui sont un indicateur de contamination de l'environnement (*E. coli*, et *Staphylococcus* spp.) et enfin les pathogènes pour l'homme (ex. *Salmonella* spp.).

Les bactéries de l'environnement ont un impact considérable dans l'apparition des infections nosocomiales à l'hôpital, ce que nous appelons communément bio contamination. La contamination de différentes parties constituant cet environnement est dû à des microorganismes dont le développement a été favorisé d'un côté par les techniques modernes de traitement de l'air tel que la climatisation, filtration, mais aussi par l'utilisation anarchique des antibiotiques et des produits de nettoyage permettant la sélection de germes devenant de plus en plus pathogènes. Cette situation explique que très souvent des germes peu virulents deviennent plus résistants tout en favorisant la survenue d'infections nosocomiales chez des personnes fragilisées. Parmi les pathogènes spontanés pour l'être humain : *Salmonella* spp., *Yersinia* spp. et *Listeria* spp. (Bouaziz et Ramdane, 2006).

9. Rôle du laboratoire de microbiologie

Le laboratoire de microbiologie constitue un observatoire privilégié des infections à l'hôpital. Certes, son premier rôle consiste à isoler et à identifier les micro-organismes, notamment les bactéries responsables d'infections, à partir des prélèvements qui lui sont adressés à des fins diagnostiques. Il doit aussi réaliser les antibiogrammes et éventuellement le typage par des méthodes phénotypiques et/ou génotypiques. Mais le personnel du laboratoire de microbiologie ne doit pas s'en tenir à ce stade ; il doit aussi étudier d'une manière régulière et continue, à partir des résultats obtenus, les variations de la flore rencontrée dans les différents services de l'hôpital et suivre l'évolution de la sensibilité aux antibiotiques des différentes espèces en analysant les phénotypes de résistance. Cette surveillance continue doit permettre d'informer précisément et rapidement les responsables des services cliniques des problèmes infectieux qui se posent chez leurs malades, de l'ambiance bactérienne dans laquelle ils travaillent et de revoir éventuellement certaines habitudes. (Cheballah et al, 2020).

9.1. Méthodologie de la surveillance

En effet, tous les résultats de prélèvements bactériologiques positifs doivent être enregistrés quotidiennement de manière informatique en indiquant, pour chacun d'eux les informations suivantes :

- Malade : nom, prénom, date et lieu de naissance, sexe, service d'hospitalisation.
- Prélèvement : date et nature exacte.
- Espèce bactérienne isolée : nature précise et sensibilité aux antibiotiques.

A partir de ces résultats, peut ainsi être établi chaque semaine et pour chaque service un relevé informatisé hebdomadaire qui est adressé aux correspondants de ces services et où les prélèvements positifs sont classés en rubriques selon le site infectieux en évitant de comptabiliser plusieurs fois les isollements répétitifs d'un même malade. (Dali Ali, 2015).

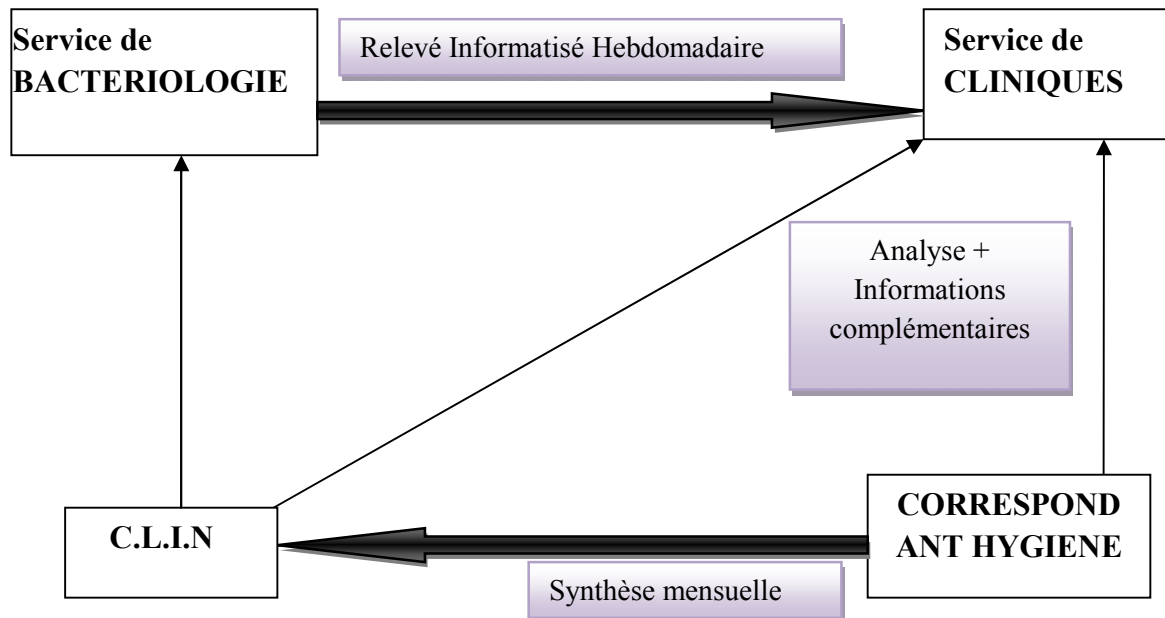


Figure 5 : Système de surveillance des infections nosocomiales à partir du service de bactériologie. (Dali Ali, 2015).

10. L'hygiène hospitalière

L'hygiène hospitalière concerne l'ensemble des actions qui visent à préserver au malade un lieu d'hospitalisation qui, de prêt ou de loin, ne soit pas dangereux et ne lui pose pas de problème de contamination. L'hygiène de l'environnement c'est d'abord l'hygiène de l'environnement de personne malade. Cet environnement concerne tout ce qui, de prêt ou de loin, concourt à la prise en charge d'un malade durant son hospitalisation, du holl-d'accueil au bureau des sorties. Cela concerne l'unité d'hospitalisation, mais aussi l'unité médico technique (consultation, exploration fonctionnelle et bloc opératoire), les installations assurant l'alimentation, le traitement de la ligne et celui des déchets...

C'est également l'hygiène de toutes les surfaces (sols, murs, table, chariots de transport, chaises...) et bien évidemment l'hygiène des soins infirmiers ; cette hygiène de l'environnement concerne également l'eau qui circule à tous les niveaux de l'hospitalisation.

(eau des salles de bains, eau des lavabos de blocs opératoires, circuit d'eau chaude, eau de piscines de rééducation. (Bouaziz, Ramdane, 2006).

10.1. Hygiène de base

Les règles d'hygiène de base s'appliquent aux patients et également à tout le personnel. Elles visent à limiter le risque de transmission croisée de microorganismes responsables d'infections nosocomiales. En effet, le niveau d'hygiène individuelle du malade modifie le

risque infectieux. La toilette du malade assure le bien-être physique et une bonne hygiène corporelle. Elle est indispensable pour les soins aseptiques. D'ailleurs, la garantie d'un bon niveau de propreté grâce à une toilette bien faite diminue le risque infectieux. (**Hamza et al., 2008**).

10.2. Hygiène du personnel

L'hôpital doit permettre la pratique des soins de propreté dans de bonnes conditions. Pour le malade dépendant disposé de moyens matériels facilitant l'accomplissement des soins d'hygiène et respecter son intimité. Pour le malade, il est valide de mettre à sa disposition les meilleures conditions matérielles. L'hygiène du personnel qui est un véhicule privilégié de la contamination, est une priorité. L'élément fondamental de cette hygiène du personnel est l'hygiène des mains et toute hygiène corporelle, une bonne hygiène des cheveux et une tenue propre sont le reflet de l'état de propreté et l'image de marque d'un établissement hospitalier. (**Hamza et al., 2008**).

10.3. La tenue de travail et l'hygiène corporelle

Ces mesures sont considérées aussi comme des règles d'hygiène de base pour le personnel. Les catégories professionnelles qui se regroupent au sein d'un même établissement hospitalier sont appelées à se distinguer par l'uniforme, l'insigne indiquant le grade, la fonction de l'individu. Ainsi, tout acteur de la communauté hospitalière doit revêtir obligatoirement une tenue avant de prodiguer un soin si minime soit-il. En fait, la contamination croisée entre l'extérieur et l'intérieur de l'espace hospitalier doit être diminuée grâce à un port de vêtements spécifiques, entretenus au quotidien. (**Hamza et al., 2008**).

10.4. Hygiène de matériel

Matériel de soins : Le gros matériel (respirateurs, machines d'hémodialyse, oxygénateurs, nutripompes, appareil de radiologie incubateurs) doivent être nettoyé et désinfecté entre deux utilisations et soumis à des contrôles bactériologiques. Le petit matériel doit être de préférence jetable si non doit être nettoyé, rincé et désinfecté ou stérilisé. (**Hamza et al., 2008**).

11. La prévention des infections nosocomiales

11.1. Rôle du CLIN dans la prévention des infections nosocomiales

11.1.1 Qu'est-ce que le CLIN ?

Le Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales (CLIN) organise la surveillance et la prévention des infections nosocomiales. Il incite les actions de formation des personnels, il propose un programme d'actions de prévention et il fournit les données de la surveillance. On ne peut pas parler de la prévention des infections nosocomiales sans parler de l'hygiène hospitalière, de mesures standards qui doivent être adaptées par tout le personnel ; ainsi une formation initiale en hygiène hospitalière est un préalable indispensable pour tous les professionnels de santé travaillant dans un établissement hospitalier. Ainsi, le CLIN s'appuie sur l'expertise technique et la collaboration de professionnels de l'hygiène hospitalière :

médecins, pharmaciens, infirmiers, bio-hygiénistes... . Ces professionnels constituent une plateforme (ou une équipe) opérationnelle d'hygiène hospitalière qui peut être commune à plusieurs établissements dans le cadre de la coopération inter-établissements. L'action du CLIN s'appuie également sur des référents ou correspondants médicaux et paramédicaux exerçant dans un service de soins. Ils sont les relais du CLIN dans les services pour les actions de prévention et de surveillance. Leurs missions doivent être définies et leur formation doit être organisée. **(Cheballah et al., 2020)**.

11.2. Stratégie pour la prévention de la résistance aux antibiotiques

Plusieurs stratégies ont été proposées pour améliorer l'usage des antibiotiques et prévenir l'émergence des BMR, Parmi celles-ci, on peut citer:

- Le respect des règles d'hygiène et en particulier le lavage des mains avec des solutions hydro-alcooliques qui doivent être régulièrement évaluées.

- Le bon usage des antibiotiques qui doit être régulièrement enseigné :

- Les antibiotiques doivent être réservés aux infections bactériennes prouvées ; même si l'antibiothérapie empirique peut faire appel à une antibiothérapie large, la réalisation des prélèvements microbiologiques avec réalisation d'antibiogramme doit permettre d'adapter le traitement et d'utiliser secondairement les antibiotiques au spectre plus étroit.

- L'optimisation du mode d'administration des antibiotiques répond à des critères pharmacocinétiques et pharmacodynamiques.

- La surveillance de l'écologie des services à risque doit s'accompagner d'une information à l'ensemble des personnels.

- L'utilisation de logiciel d'aide à la prescription semble également une mesure intéressante. Plusieurs autres mesures semblent également pouvoir limiter l'émergence des BMR, bien que les données issues de la littérature soient contradictoires : restriction de l'usage de certains antibiotiques, rotation des antibiotiques ou utilisation des associations d'antibiotiques. **(Bouaziz et Ramdane, 2006)**.

12. Plan de lutte contre les IN

12.1. Qu'est-ce qu'un plan de lutte contre les infections nosocomiales ?

Le plan de lutte contre les infections nosocomiales tient compte des objectifs de l'établissement présentés dans le projet médical : assurer la qualité, la sécurité et la permanence des soins et éviter toute perte de chance pour le patient. Il s'appuie sur le PROPIAS (programme de prévention des infections associées aux soins du ministère de la Santé). **(Andre et al., 2000)**.

12.2. Le dispositif de lutte contre les infections nosocomiales

S'appuie donc sur :

- Un dispositif législatif et réglementaire qui s'est construit depuis une quinzaine d'années.

- La mise en place de programmes nationaux spécifiques ou associés (ex : plan national de préservation de l'efficacité des antibiotiques).

- Une diffusion de recommandations de bonnes pratiques via les circulaires et la publication et diffusion de guides de recommandations de bonnes pratiques d'hygiène (Ex. l'entretien du matériel médical ; circulaire relative à la désinfection des endoscopes ; circulaire relative à la stérilisation ; circulaire sur les machines à laver les endoscopes ; guide de bonnes pratiques de désinfection des dispositifs médicaux. **(Andre et al., 2000)**).

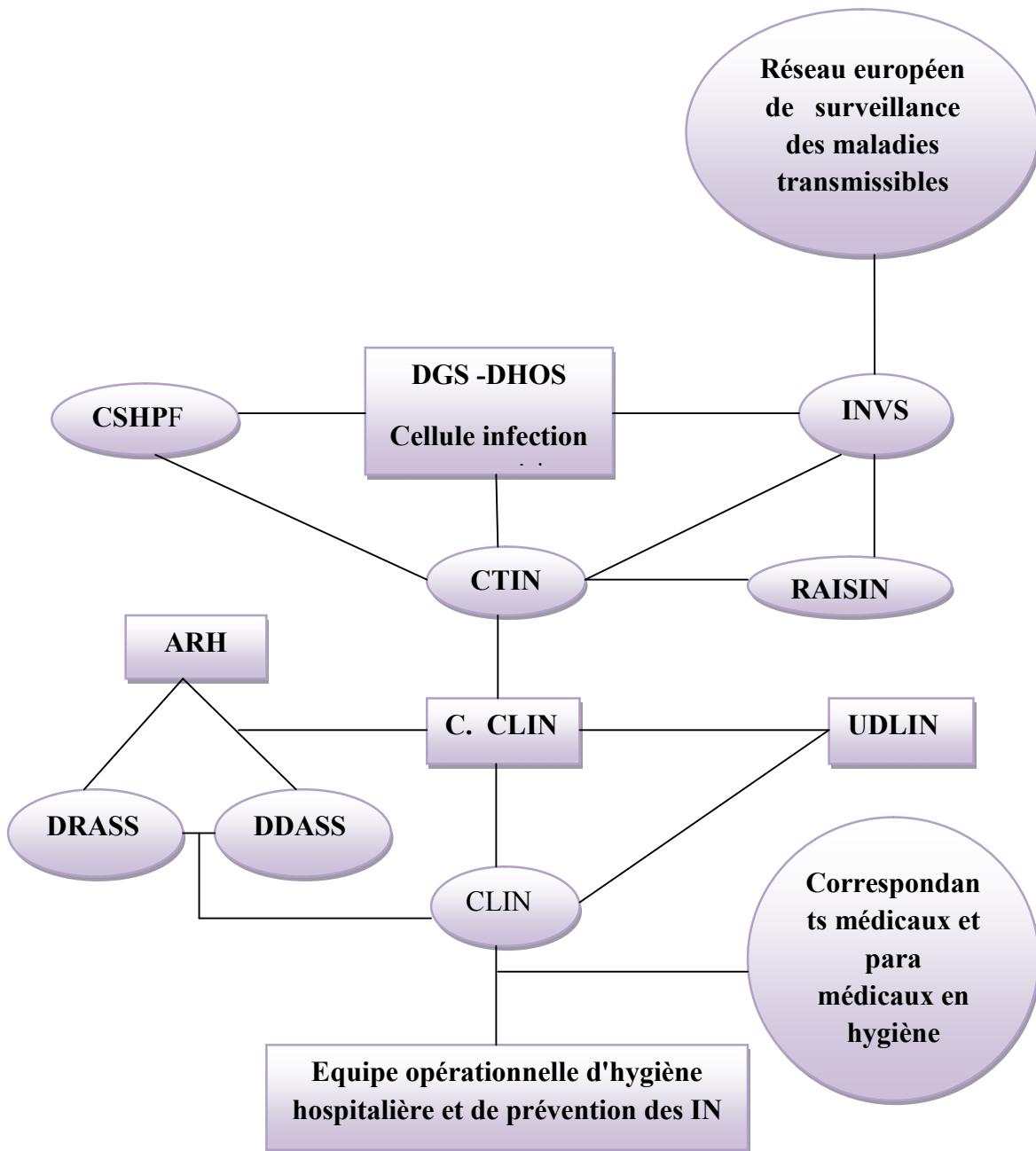


Figure 6 : Schéma présente comment est organisée à ce jour la lutte contre les IN. (Andre *et al.*, 2000).

Chapitre 2

Matériel et Méthodes

1. Lieu de déroulement de stage

Le travail a été effectué au sein de l'établissement hospitalier de Hammam Bouhadjar, Wilaya de Ain Témouchent. L'hôpital a été créé en 1995. Il est situé à 2 Km au Sud - Est de la Daïra de Hammam Bouhadjar, avec une superficie d'environ 4 hectares. La capacité de l'établissement est de 144 lits. Il regroupe une quarantaine (40) de médecins entre généralistes et spécialistes et d'une centaine (100) de soignants (infirmières, aide soignants) et huit chefs de service. Ce personnel est sous la direction de Mr. ABED M. L'hôpital dispose de 08 services, il s'agit du service de la réanimation, chirurgie, la médecine interne, la maternité, la pédiatrie, hémodialyse, pharmacie, et deux (2) laboratoires (laboratoire d'analyse bactériologique et laboratoire d'hématologie).

2. Objectif de travail

Cette étude a pour objectif, la recherche et l'identification des bactéries responsables des infections nosocomiales. Le stage a duré presque deux mois (du 19 avril au 06 juin) au sein du laboratoire de bactériologie. Les prélèvements ont été effectués dans trois (03) services (service de maternité, service de radiologie et laboratoire d'hématologie) de l'Hôpital BERRABI Abdelkader.

3. Les échantillons

3.1. Les échantillons ont été prélevés à partir de trois services (service de maternité, laboratoire d'hématologie et service de Radiologie) dans plusieurs endroits. Le tableau ci-dessous présente les lieux de prélèvement.

Tableau 3: Sites et endroits de prélèvement des échantillons

Numéro de prélèvement	Site de prélèvement
Service de maternité	
01	Table d'accouchement
02	Appareil d'écographie
03	Chariot
04	Le lit
Service de laboratoire d'Hématologie	
01	Chariot
02	Paillasse
03	Chaise
Service de radiologie	
01	Table horizontale
02	Table verticale
03	Casette numérique

3.2. Conditions et méthodes de prélèvement

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

Des surfaces sèches (par écouvillonnage) : Les prélèvements ont été effectués à l'aide d'un écouvillon stérile, dans des tubes contenant de bouillon nutritif en respectant les conditions d'asepsie et en mentionnant le numéro de prélèvement et le service concerné.

Soit à partir de l'air (salle d'isolement): En exposant une boîte de Pétri ouverte et contenant de la gélose nutritive pendant un jour à l'atmosphère aérienne dans une chambre d'isolement à une hauteur supérieur à un mètre.

Prélèvement urinaire: Pour ce type de prélèvement, on doit expliquer au patient les conditions de recueil aseptique des urines (en utilisant des flacons adaptés). Le recueil d'urine se fait par voie naturelle, cette technique dite milieu de jet et selon des règles strictes qui conditionnent la qualité de l'étude cyto bactériologique des urines ECBU (Wilson et Gaido, 2004).

Les flacons à urine doivent être fermés correctement et doivent être désinfectés s'ils sont souillés. L'examen et l'isolement seront faits généralement au plus tard dans les deux heures qui suivent le prélèvement.

Méthode de prélèvement urinaire : La récolte aseptique des urines est indispensable.

- Chez la femme : On procède à un lavage et désinfection des organes génitaux externes d'avant en arrière à l'aide d'un antiseptique tel que le dakin ensuite on recueille des urines deuxième jet dans un flacon stérile.

- Chez l'homme: On procède à une désinfection du méat urétral et le gland à l'aide d'un antiseptique peut irritant (Dakin), on rince abondamment à l'eau stérile et déclenchement de la miction 5 à 10 secondes après. On présente le flacon stérile sous le jet urinaire jusqu'à obtenir une quantité suffisante.

- Chez l'enfant et le nourrisson : On désinfecte les organes génitaux externes et leur voisinage à l'aide d'une solution antiseptique non irritante. On place ensuite un sac collecteur stérile adapté à cet usage, le surveiller régulièrement et ne pas le laisser en place plus de 30 minutes, on l'enlever dès que la miction aura lieu. Le contenu doit être ensemencé immédiatement.

4. Enrichissement

Les milieux d'enrichissement : Ce sont des milieux liquides ou solides favorisant la croissance du micro-organisme recherché. L'enrichissement est une étape qui se réalise quand on veut favoriser la croissance du germe recherché. Cette étape se réalise généralement sur milieu liquide tel que le bouillon nutritif (BN) et l'incubation dans une étuve réglée à 37°C pendant 24h.

5. L'isolement sur les milieux de cultures

Le principe de l'isolement consiste à séparer les divers microorganismes présents dans un mélange, l'isolement permet :

D'isoler une ou plusieurs souches bactériennes contenues dans un mélange, car il y a autant de colonies différentes que de souches. Elle permet aussi de les séparer les unes des autres, afin de les purifier. La purification des souches est une étape indispensable, ayant comme objectif, l'obtention d'une colonie issue d'une seule cellule.

5.1. Isolement à partir des surfaces sèches

Après avoir effectué les différents prélèvements, on a réalisé l'isolement sur différents milieux, en fonction du type de prélèvement. Ces milieux sont généralement fabriqués et commercialisés par l'institut Pasteur d'Alger. Les principaux milieux qui servent à l'isolement des germes de surfaces sèches après avoir effectué l'enrichissement sont :

La gélose nutritif (GN), par ensemencement en stries, la gélose Mac Conkey (MC), par ensemencement en quadrants, la gélose Hektoen (HK), par ensemencement en quadrants. Les milieux gélose Bromocresol Pourpre (BCP) et gélose Chapman (CHAP) sont ensemencés par la méthode des quadrants. La composition de ces milieux de culture est présentée en annexe (1).

L'incubation de ces milieux se fait dans une étuve à 37°C pendant 24h.

5.2. Isolement à partir de l'air

Une boîte de Pétri contenant le milieu adéquat, généralement, la gélose nutritive est exposée pendant 24h à l'atmosphère et incubée dans une étuve à une température de 37°C pendant 48h. Après incubation, les colonies obtenues sont repiquées dans les milieux: MC, BCP et CHAP. L'ensemencement est effectué selon la méthode des quadrants, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h.

5.3. Isolement à partir des urines

L'isolement des bactéries à partir des urines se fait essentiellement sur boîtes de Pétri contenant les milieux : GN, MC, HK, CHAP. L'ensemencement est réalisé selon la méthode de stries, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h. Elles sont placées en position renversée (couvercle en bas) pour éviter l'eau de condensation sur le couvercle et distinguer les boîtes ensemencées des boîtes stériles.

Généralement, après incubation on observe que la densité des colonies décroît du premier quadrant vers le dernier. La culture est en général confluyente dans le premier secteur alors que le dernier présente, si l'isolement est bien exécuté, des colonies bien espacées, facilitant leur purification.

6. Identification des bactéries

Malgré l'émergence des techniques moléculaires pour une identification fiable et précise des bactéries, les techniques microbiologiques classiques restent et demeurent encore largement utilisées.

Dans la continuité de ce qui vient d'être évoqué, l'identification des espèces bactériennes va être réalisée par une mise en évidence d'un ensemble de caractéristiques phénotypiques et biochimiques, qui finalement réunies, permettent de connaître le genre et l'espèce bactérienne de l'isolat étudié. L'activité des enzymes bactériennes et la capacité à croître en présence de substrats particuliers constituent la base de ces tests.

6.1. Examen macroscopique

La première étape du diagnostic bactérien et du bio-typage d'une souche est la description macroscopique des colonies isolées ; parfois cette description nous permet de se rapprocher à l'identification du genre de la bactérie. Il s'agit d'un examen à l'œil nu ou au microscope photonique à faible grossissement de boîtes de Pétri et de noter l'aspect des colonies. L'observation macroscopique permet d'effectuer une première caractérisation, avec une orientation possible des résultats au cours de l'identification. D'après Joffin et Leyral (2006), les éléments d'identifications macroscopiques sont généralement : La forme des colonies (punctiforme, irrégulières,...) ; La taille des colonies par la mesure du diamètre (taille petite, moyenne ou grande taille) ; La pigmentation (couleur de la colonie) ; l'élévation (bossue, convexe, plate) ; L'opacité (opaque, translucides ou transparente) et l'aspect de la surface de la colonie (lisse, rugueuse, sèche). **(Joffin et Leyral, 2006).**

6.2. Examen microscopique

Les observations microscopiques (à l'état frais, la mobilité et les colorations) permettent d'étudier la morphologie de la cellule bactérienne, au microscope optique. Ces observations permettent d'une part, la mise en évidence de la forme des bactéries et leur mode de regroupement et d'autre part, la mobilité, vérifier l'état de pureté ainsi que la nature biochimique de la paroi des cellules bactériennes. Ces renseignements peuvent être fournis par une simple préparation à l'état frais entre lame et lamelle d'une bactérie. Les bactéries étant alors observées soit vivantes, soit fixées après une coloration. Les examens microscopiques peuvent fournir des informations précieuses pour le diagnostic et le traitement d'une infection.

A- Examen direct à l'état frais

Une préparation à l'état frais permet d'examiner la mobilité et la forme des bactéries.

Pour observer la mobilité, on doit prendre en considération les conditions de prélèvement, de façon à ne pas détruire les flagelles bactériens lors d'un prélèvement et la préparation entre lame et lamelle.

Technique : Pour réaliser cet examen, une suspension bactérienne est préparée dans de l'eau distillée stérile. Ensuite, à l'aide d'une pipette stérile, une goutte de cette suspension est déposée sur une lame propre. L'examen microscopique est effectué à l'objectif (x40). Le but de cette technique est la mise en évidence de la mobilité des bactéries.

B- Examen microscopique après coloration

Plusieurs techniques sont utilisées en bactériologie, parmi ces techniques, nous citons, la technique simple (avec un seul colorant) et des techniques complexes ou différentielles (avec deux colorants). Parmi les techniques les plus utilisées en bactériologie médicale, la coloration de Gram. Cette dernière permet de différencier entre deux groupes de bactéries.

- **Préparation d'un frottis**

Pour préparer un frottis bactérien, on dépose une goutte d'eau distillée sur une lame propre et à l'aide d'une anse stérile on prélève une pincée à partir d'une colonie bien distincte. Après étalement de la colonie, la préparation est séchée puis fixée à la flamme bleue d'un bec benzène.

- **Coloration différentielle (coloration de Gram)**

Les bactéries se subdivisent en 2 groupes selon la coloration de Gram. Cette technique a été mise au point en 1884 par Hans Christian Gram, un bactériologiste danois. Le colorant utilisé est le violet de gentiane qui colore l'intérieur des bactéries. Celles-ci sont ensuite décolorées à l'alcool-acétone. En raison de leur paroi de structure plus épaisse

et de composition chimique particulière, les bactéries Gram+ gardent la coloration violette. En revanche, les bactéries Gram-, avec une paroi plus fine et plus perméable à la décoloration, perdent la couleur violette, de manière à visualiser les bactéries Gram-, on recoloré avec de la fuschine (rose).

Les bactéries Gram+ resteront violettes alors que les Gram- prendront une couleur rose, bien que le résultat de la coloration de Gram puisse dépendre de l'état physiologique des bactéries (âge de la colonie, conditions de croissances...). Elle reste cependant la technique de coloration de base de la bactériologie.

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

C'est une coloration très simple et rapide à effectuer. Elle nous renseigne sur la forme et la mobilité des bactéries. Cette coloration est utilisée sur l'ensemble des bactéries à l'exception des mycobactéries.

- **Technique de la coloration simple**

Pour réaliser cette coloration, un frottis bactérien est préparé sur lame à partir d'une suspension bactérienne. Après étalement, le frottis est fixé à l'aide d'une flamme bleue d'un bec benzène. Il est ensuite recouvert de bleu de méthylène, en le laissant agir 3min. La lame est bien rincée à l'eau distillé, séchée entre 2 feuilles de papier buvard, puis observée au microscope optique et à l'immersion, les structures colorables apparaissent bleues.

- **Principe de la coloration de Gram**

A partir d'une culture bactérienne on réalise un frottis sur une lame propre et le laisser sécher. Le frottis est ensuite fixé à l'aide de la flamme bleue d'un bec bunsen (frottis vers le haut). Cette phase est indispensable à toute coloration : elle tue les bactéries, rend les membranes plus perméables, fixe les structures et fait adhérer le frottis à la lame. Laisser la préparation refroidir. Recouvrir le frottis avec le violet de gentiane pendant 30 secondes, ce colorant se fixe sur les composants cytoplasmiques et les bactéries apparaissent de couleur violette. Le frottis est lavé à l'eau distillée ou à l'eau ordinaire. Il est ensuite recouvert de Lugol durant 30 secondes. Le Lugol forme un précipité avec le violet, après lavage à l'eau distillée le frottis est recouvert d'alcool acétone durant 10 secondes. Cette étape permet de différencier entre les bactéries Gram+ et Gram-. Chez les Gram+, la paroi ne le (l'alcool) laisse pas pénétrer, donc les bactéries restent violettes. Tandis que les Gram-, la paroi des bactéries le laisse pénétrer, il entre et il dissout le complexe violet + iode, le cytoplasme se décolore. L'alcool est éliminé puis la préparation est recouverte de fuchsine durant 30 secondes. La lame est lavée jusqu'à l'élimination complète du second colorant, elle est séchée avec du papier absorbant puis observer au microscope (x 100). Chez les bactéries à Gram négatif, la paroi est riche en lipides, laisse passer l'alcool (ou le mélange alcool + acétone) qui décolore le cytoplasme et la cellule se colore avec le second colorant (couleur rose). Chez les bactéries à Gram positif, la paroi constitue une barrière imperméable à l'alcool et le cytoplasme demeure coloré en violet. La différenciation est donc due à la différence de structure de la paroi.

6.3. Identification biochimiques

6.3.1 Caractères biochimique des Staphylocoques pathogènes

- **Etude des caractères biochimiques**

L'identification biochimique est un examen qui permet d'identifier une bactérien s'appuyant sur ces caractères biochimiques. Les méthodes biochimiques reposent sur la recherche d'enzymes responsables de certaines réactions biochimiques, sur l'utilisation d'un substrat particulier ou la présence de produits spécifiques issus du métabolisme intermédiaire.

A. Recherche de l'enzyme catalase (Test de la catalase)

La catalase est une enzyme qui sert à neutraliser les effets bactéricides du peroxyde d'hydrogène. Elle accélère la décomposition du peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée - H₂O₂) en eau et oxygène selon la réaction suivante :



- **Mode opératoire**

La recherche de la catalase s'effectue sur une lame de verre propre, en déposant une goutte d'eau oxygénée (H₂O₂), puis la mettre en contact avec une colonie bactérienne prélevée directement à partir d'une colonie bactérienne avec une pipette pasteur boutonnée ou une anse en plastique à usage unique.

Généralement ce test déconseille l'utilisation d'une anse en métal car elle serait alors oxydante. La lecture des résultats, montre soit, un test positif (catalase+), se traduisant par une production de bulles d'air, soit une catalase-, se traduisant par une absence de production de bulles d'air.

B. Recherche de l'enzyme coagulase (Test de coagulase)

La coagulase est une enzyme capable de faire coaguler le plasma sanguin. La mise en évidence d'une activité coagulase libre chez une souche de *Staphylococcus* est un des critères d'identification. Il permet de différencier l'espèce *Staphylococcus aureus* (coagulase positive) de *Staphylococcus spp.* à Coagulase Négative (SCN).

- **Mode opératoire** : 10 gouttes de plasma de lapin (0,5 ml) sont introduites dans un tube à hémolyse stérile. Ensuite, une suspension bactérienne de Staphylocoque, prélevée préalablement d'une culture pure sur gélose nutritive est préparée puis mélangée au plasma. Le tube contenant 0,5 ml de plasma de lapin avec 0,5 ml de la suspension bactérienne est incubé à 37°C pendant une durée allant de 2 à 24 h. Si le plasma coagule en un temps avoisinant les 24h, le germe possède une coagulase. En revanche, en cas d'absence de coagulation, la bactérie est coagulase.

6.3.2. Les tests biochimiques classiques

Selon la disponibilité des milieux de culture, différents tests biochimiques ont été effectués. Parmi ces tests :

A. Test de TSI (Triple Sugar Iron)

La gélose TSI Agar est un milieu contenant du lactose, du saccharose et une faible quantité de glucose (dextrose). Ce milieu est utilisé pour différencier les organismes entériques Gram négatifs sur la base de leur capacité de fermentation du dextrose, du lactose, du saccharose et la production H₂S (sulfures d'hydrogène) et du gaz.

- **Mode opératoire** : Un tube à essai contenant le milieu TSI est ensemencé au moyen d'une aiguille à ensemencer en piquant le culot et en striant la surface de la pente par mouvements de va-et-vient. Les tubes sont incubés dans une étuve à température de 37 °C pendant 24h. Après incubation, les résultats sont enregistrés comme suit :

- Culture glucose positive = Culot jaune (glucose fermenté).
- Culture glucose négative : culot inchangé.
- Culture lactose positive : pente virant au jaune.
- Culture lactose négative : pente alcalinisée (rouge groseille).
- Culture saccharose positive : pente virant au jaune.
- Culture saccharose négative : pente alcalinisée (rouge groseille).
- Culture H₂S positive : noircissement du milieu dans la zone joignant la pente et le culot. Production de gaz : bulle d'air, des bulles dans la masse du milieu ou contre les parois ou des poches gazeuses décollant le culot.

B. Le milieu citrate de Simmons

Ce milieu permet de mettre en évidence l'utilisation du citrate comme seule source de carbone et d'énergie. Ce caractère est intéressant pour discriminer les bactéries entre-elles et ainsi les identifier.

- **Principe** : Les bactéries capables d'utiliser le citrate de sodium comme seule source de carbone pourront se développer sur ce milieu. La fermentation du citrate de sodium entraîne une acidification en provoquant un virement de pH avec une coloration bleue du milieu en présence de bleu de bromothymol (indicateur de pH).

- **Technique** : Les tubes contenant le milieu citrate de Simmons sont ensemencés par piqure centrale à l'aide d'un fil droit ou une pipette de pasteur fermée, chargée de culture en milieu solide ou liquide. Les tubes sont ensuite incubés à 37 °C pendant 24 heures. Après incubation, les bactéries "citrate positive" bleuissent le milieu en donnant une culture souvent abondante. Les bactéries "citrate négative" ne donnent ni culture, ni bleuissement du milieu, même après plusieurs jours d'incubation.

C. Test mannitol mobilité

- **Principe** : Le milieu Mannitol-Mobilité-Nitrate est utilisé pour l'identification présomptive des entérobactéries basée sur la fermentation du mannitol, la mobilité et la réduction des nitrates en nitrites (en présence de l'enzyme, nitrate réductase).

- **Mode opératoire** : Le tube à essai contenant le milieu est ensemencé par une souche bactérienne pure avec une anse de platine stérile, par piqûre centrale, du haut jusqu'au fond du tube. Les tubes sont incubés pendant 18 à 24 heures à 37°C. Les résultats de ce test sont illustrés par la figure ci-dessous.

Tube A : Pas de dégradation du mannitol,

Tube B : Dégradation du mannitol,

Tube C : Dégradation du mannitol avec production de gaz,

Tube D : Bactérie non mobile, colonies au lieu de l'ensemencement,

Tube E : Bactérie mobile, répartition des colonies dans le milieu, Virement du milieu au jaune : mannitol + ; milieu rouge : mannitol –

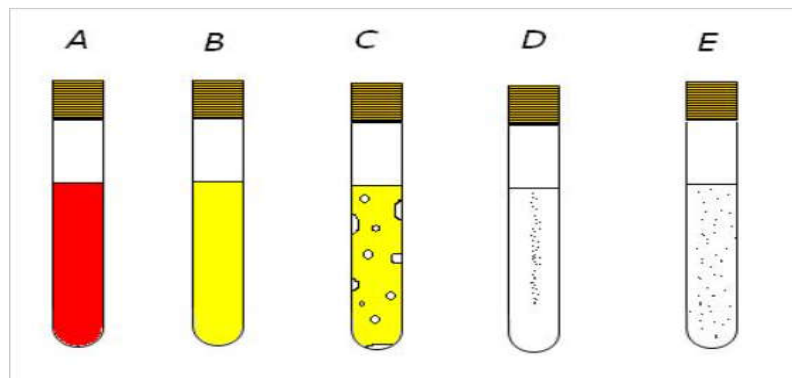


Figure 7 : Illustration des résultats du test mannitol mobilité

D. Milieu urée indole

Le milieu Urée Indole permet la mise en évidence de l'uréase, du tryptophane désaminase et de la production d'indole (le milieu contribue à la mise en évidence des caractères d'identification des Entérobactéries).

- **Mode opératoire** : Le tube contenant le milieu urée indole est ensemencé à l'aide d'une anse stérile à partir d'une culture pure et fraîche prélevée sur un milieu d'isolement. Le tube est ensuite incubé dans une étuve réglée à 37 °C pendant 24h. Les bactéries possédant une uréase transforment l'urée en carbonate d'ammonium entraînant une alcalinisation qui provoque une coloration rouge violacé du milieu en présence de rouge de phénol (indicateur de pH). La production d'indole est mise en évidence par l'addition de réactif de Kovacs (code 55313), qui agit avec l'indole en donnant une coloration rouge dans la partie supérieure du milieu en cas de réaction positive.

E. Test ONPG

Ce test est réalisé lors de l'identification de très nombreuses bactéries (Gram + et Gram-). Les entérobactéries acidifiant le lactose doivent posséder 2 enzymes :

- La lactose perméase qui permet au lactose de pénétrer dans la bactérie.
- La β -Galactosidase qui catalyse l'hydrolyse du lactose en glucose et galactose.

• **Principe** : En présence de β -galactosidase, l'orthonitrophényl-B-D-galactopyranoside (ONPG) incolore est scindé et libère l'orthonitrophénol jaune en solution.

• **Mode opératoire** : Dans un tube à essai contenant 0,5 ml d'eau distillée stérile on réalise une suspension bactérienne dense avec 1 à 3 colonies pures fraîchement isolées sur un milieu lactosé. On introduit ensuite un disque d'O.N.P.G. dans cette suspension. Le tube est incubé à 37°C pendant 24h. Le test est positif, ONPG+ si dégradation de couleur.

F. Recherche de la décarboxylase des acides aminés.

Recherche de la lysine décarboxylase (LDC) ;

L'ornithine décarboxylase (ODC) ;

L'arginine d'hydrolase (ADH).

• **Principe** : Les bacilles à Gram- aéro-anaérobies facultatifs à métabolisme fermentatif (*Enterobacteriaceae* et *Vibrionaceae*) fermentent le glucose ce qui entraîne une acidification du milieu et une coloration jaune du milieu en présence de pourpre de bromocrésol (indicateur de pH). A pH acide les décarboxylases et les dihydrolases présentent une activité maximale. Si les bactéries étudiées possèdent la décarboxylase ou la dihydrolase appropriée, l'activité enzymatique sera alors mise en évidence par la formation de métabolites aminés qui alcaliniseront le milieu, et entraîneront un nouveau changement de coloration du milieu en mauve. En revanche, les bacilles à Gram- aérobies stricts à métabolisme oxydatif (*Pseudomonas* spp., *Alteromonas* spp., *Flavobacterium* spp., *Xanthomonas* spp., *Alcaligenes* spp., *Acinetobacter* spp.) dégradent les glucides par voie oxydative en ne produisant que peu de catabolites acides ; il s'ensuit que la coloration des trois milieux demeure pratiquement inchangée, mauve pâle à violet foncé après 24 à 48 heures d'incubation.

• **Mode opératoire** : Une suspension bactérienne est tout d'abord préparée dans de l'eau physiologique stérile. Ensuite, les trois tubes contenant les différents acides aminés sont ensemencés chacun avec 2 gouttes de cette suspension en ajoutant 3 gouttes d'huile de vaseline, en créant des conditions d'anaérobiose. Les tubes sont incubés pendant 24 heures à 37°C, si la croissance est insuffisante le test est prolongé encore pendant 24h, après incubation. La présence d'une coloration jaunâtre, signifie une réaction négative (acidification du milieu). La présence d'une coloration violette, signifie une réaction positive, et se traduit par :

- LDC : Décarboxylation de la lysine, l'indicateur prend cette teinte par alcalinisation secondaire due à la diamine formée.
- ODC : Décarboxylation de l'ornithine.
- ADH : Décarboxylation de l'arginine.



Figure 8 : Tests biochimiques classiques. (Original 2021).

6.3.3. Identification des germes bactériens à l'aide de la galerie Api 20 E

- **Galerie Api 20 E**

La galerie API 20E est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatifs. C'est un système de micro tests prêts à l'emploi qui permet la réalisation de 23 tests biochimiques en partant d'une seule colonie prélevée sur une boîte de Pétri. Il s'agit d'une bande de plastique contenant 20 mini-chambres (Puits) de test contenant des milieux déshydratés ayant des compositions chimiquement définies pour chaque test (ONPG, ADH, ODC, LDH, CIT, H₂S, URE, TDA, IND, VP, GEL, GLU, MAN, INO, SOR, RHA, SAC, MEL, AMY, ARA).

- **Préparation de l'inoculum**

A partir d'une seule colonie bactérienne, on prépare la suspension bactérienne dans de l'eau distillée stérile. La suspension est soigneusement homogénéisée.

- **Préparation de la galerie**

On prépare une galerie d'incubation (fond et couvercle), on identifie ensuite la boîte en inscrivant la référence de l'analyse sur la languette prévue à cet effet. On répartit environ 5 ml d'eau au fond de la boîte pour créer une atmosphère humide, ensuite sortir une galerie de son emballage et la mettre dans la boîte. Introduire ensuite la suspension dans les microtubes de la galerie à l'aide d'une pipette stérile pointe posée sur le côté de la cupule. Refermer la boîte et mettre la galerie à incuber à 35°C pendant 24 heures (**Figure 10**).

- **Lecture des galeries**

Après incubation, on note toutes les réactions spontanées et la détermination de la positivité et de négativité de chaque test se fait en fonction des variations de couleurs, dues au changement de pH. Cette détermination peut se faire directement (sans ajouter de réactif) ou indirectement (en ajoutant des réactifs spécifiques).

- **Identification**

L'identification est effectuée à l'aide d'un tableau de pourcentage. L'identification des microorganismes peut être obtenue à l'aide du tableau de pourcentage inclus dans le mode d'emploi. L'ensemble des réactions obtenues, à partir d'une souche, doit être considérée comme un tout sans approche dichotomique.

Pour une identification rapide des espèces bactériennes, API propose un indexe comprenant un codeur qui transforme automatiquement les 21 résultats des tests biochimiques (20 + oxydase) en un nombre de 7 chiffres appelé le « profil numérique ». Pour ce faire, les tests de la galerie sont regroupés par trois. A chaque réaction enregistrée, une valeur numérique déterminée est attribuée. A l'aide d'un catalogue analytique, on recherche le profil numérique dans la liste des profils (**Figures 9 ; 11**).



Figure 9 : Galerie API 20E avant inoculation. (Original 2021).



Figure 10 : Galerie API 20E avant et après inoculation.(Original 2021).



Figure 11 : Catalogue analytique de résultat d'une Galerie API 20^E. (Original 2021).

7. Etude de la sensibilité aux antibiotiques (Test d'antibiogramme)

Avant d'initier un traitement antibiotique, il est utile et indispensable d'identifier avec certitude la bactérie pathogène et de tester sa sensibilité aux antibiotiques. Dans ce cas, il convient d'effectuer un prélèvement bactériologique sur le malade, d'isoler l'agent pathogène ensuite effectuer un antibiogramme.

L'antibiogramme est une étape très importante en bactériologie médicale. Elle suit l'étape d'identification du germe responsable d'infection, qui permet de mesurer la résistance bactérienne. Des milieux gélosés adéquats et adaptés sont recommandés pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques. Parmi ces géloses, la gélose de Mueller-Hinton (MH) est la plus utilisée. L'utilisation de cette gélose est très recommandée par le comité de l'antibiogramme de la société Française de microbiologie. Ainsi, l'examen microscopique et l'antibiogramme constituent un élément majeur pour une prise en charge thérapeutique adaptée.

- **But de l'antibiogramme :** Un antibiogramme permet de tester sur milieu de culture, l'action de molécules antibiotiques sur une souche bactérienne. Il est défini comme étant un examen bactériologique ayant pour but d'apprécier la sensibilité de la bactérie face à plusieurs antibiotiques lors d'une infection.

- **Principe** : C'est une technique de laboratoire qui a pour objectif de tester la sensibilité d'une souche bactérienne par rapport à un ou plusieurs antibiotiques. Le principe consiste à placer la culture de bactérie en présence du ou des antibiotiques et à observer les conséquences sur le développement et la survie de celle-ci.

- **Mode opératoire**

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

Tableau 4 : Disques d'antibiotiques utilisés.

Antibiotiques	Signes	Charge du disque
Acid oxolinique	OA	10 µg
Néomycine	N	30 UI
Ampicilline	AM	10 µg
Bacitracine	B	10 UI
Cephalexine	CL	30 µg
Kanamycine	KAN	30 µg
Norfloxacin	NOR	5 µg
Streptomycine	S	10 µg
Peniciline	P	10 UI
Amoxyciline/Clavulamic Acid	AMC	25µg

- **Lecture des résultats**

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

- Une bactérie est dite sensible (si le diamètre est supérieur à 13 mm) ; l'antibiotique est efficace. Il suffit d'une faible concentration de l'antibiotique en question pour inhiber les bactéries.
- Intermédiaire (si le diamètre est compris entre 12mm et 13mm) ; l'antibiotique est efficace que dans certaines conditions.
- Une bactérie est dite résistante (si le diamètre est inférieur à 10mm) ; l'antibiotique est inefficace. En effet, la dose nécessaire pour inhiber les bactéries est beaucoup trop élevée pour être supportée chez l'homme sans effets secondaires.

- **Lecture**

Des zones d'inhibitions de croissance vont apparaître dans la boîte contenant le milieu MH.

- . La sensibilité de la souche bactérienne est exprimée pour chaque antibiotique en S (sensible), R (résistante) et I (intermédiaire).
- . La CMI sont définies deux concentrations critiques, basse (c), et concentration haute (C) aux quelles correspondant des diamètres critiques (D) et (d). **(Tableau 5)**
 - Sensible (S) : La CMI de l'antibiotique testée est inférieure ou égale à la concentration critique basse (c), ce qui équivaut à un diamètre supérieur ou égal au diamètre critique (D).
 - Résistante (R) : La CMI de l'antibiotique testée est supérieur à la concentration critique haute (C), correspondant à un diamètre inférieur au diamètre critique (d).
 - Intermédiaire (I) : La CMI de l'antibiotique testée et du diamètre correspondant est compris entre les deux concentrations critiques (et les deux diamètres critiques. **(Médecin des hôpitaux, 2010).**

Tableau 5 : Critères de catégorisation selon les valeurs critiques.

Diamètre	CMI (mg/L)	Catégorie
Diamètre $\geq D$	CMI $\leq c$	Sensible
Diamètre $\leq d$	CMI $\geq C$	Résistante
$d \leq \text{Diamètre} \leq D$	$c \leq \text{CMI} \leq C$	Intermédiaire



Figure 12 : Disques d'antibiotiques. **(Original 2021).**

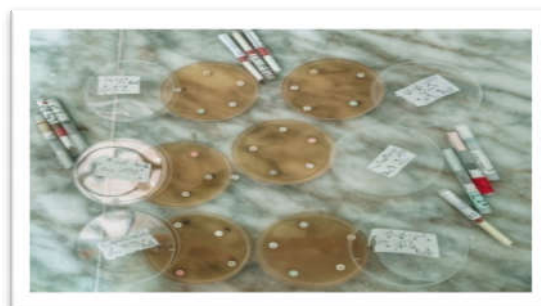


Figure 13 : Méthode classique de diffusion d'antibiotiques. **(Original 2021).**

Chapitre 3

Résultats et Discussion

I. Résultats**1. Isolement et identification**

Le diagnostic bactériologique est un moyen permettant de confirmer telle ou telle étiologie infectieuse d'origine bactérienne. Pour identifier les bactéries, nous avons utilisé les critères suivants :

- Des examens macroscopiques et microscopiques des bactéries en culture sur milieu gélosé après isolement et purification.
- Etude des caractères biochimiques à l'aide des tests classiques et la Galerie API 20E.
- Etude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques.

1.1. Etude macroscopique et microscopique

Les résultats exposés dans ce travail, sont les fruits d'une étude sur les germes bactériens Responsables des infections nosocomiales. Cette étude est réalisée dans trois services (service De maternité, service de radiologie et laboratoire d'hématologie) de l'hôpital de Hammam Bouhadjar. Les tableaux ci-dessous présentent les résultats de cette étude.

- Résultats des isolements au niveau du service de maternité

Tableau 6: Résultats des isolements au niveau du service de maternité.

N° et site de prélèvement	Caractères cultureux			Coloration	
	GN	HK	CHAP	Etat frais	Gram
01 : Table d'accouchement	Tapis bactérien	Petites colonies arrondis, lisses, plates, jaunâtres, virage de couleur de milieu.	Petites colonies blanchâtres sèches.	Bacilles mobiles sur HK. Cocci immobile sur CHAP.	Bacilles Gram négatif sur HK. Cocci Gram positif sur CHAP.
02 : Appareil d'écographie	Tapis bactérien	Petites colonies arrondis, lisses, plates, jaunâtres, virage de couleur de milieu.	Petites colonies blanchâtres sèches.	Bacilles mobiles sur HK. Cocci immobile sur CHAP.	Bacilles Gram négatif sur HK. Cocci Gram positif sur CHAP.
03: Chariot	Tapis bactérien	Petites colonies arrondis, lisses, plates, jaunâtres, virage de couleur de milieu.	Petites colonies blanchâtres sèches.	Bacilles mobiles sur HK. Cocci immobile sur CHAP.	Bacilles Gram négatif sur HK. Cocci Gram positif sur CHAP.
04: le lit de patient	Tapis bactérien	Petites colonies arrondis, lisses, plates, jaunâtres, virage de couleur de milieu.	Petites colonies blanchâtres sèches.	Bacilles mobiles sur HK. Cocci immobile sur CHAP.	Bacilles Gram négatif sur HK. Cocci Gram positif sur CHAP.

GN : Gélose Nutritive ; HK : Gélose Hektoen ; CHAP : Gélose Chapman. Ces milieux sont couramment utilisés pour des analyses médicales.

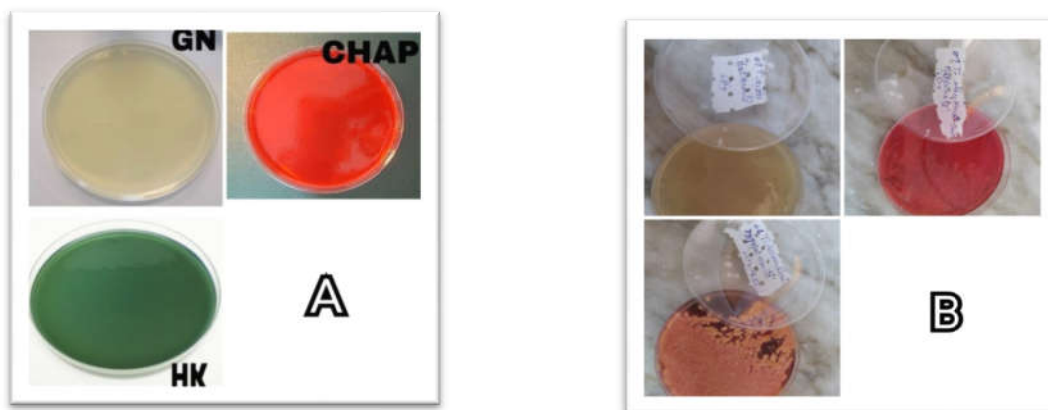
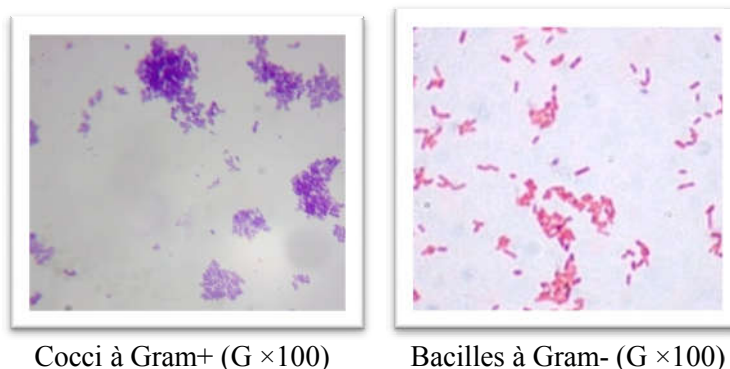


Figure 14 : A/ Milieux de culture témoins ; B/ Caractères cultureux sur milieux gélosés des bactéries isolées à partir du 1^{er} prélèvement. (Original 2021).



Cocci à Gram+ (G ×100)

Bacilles à Gram- (G ×100)

Figure 15 : Aspect microscopique des bactéries obtenues du 1^{er} prélèvement après coloration de Gram.

Tableau 7 : Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues du 1^{er} prélèvement.

Milieu	Examen	
	à l'état frais	à la coloration de Gram
Milieu HK	Bacilles mobiles	Bacilles Gram négatif
Milieu CHAP	Cocci immobile	Cocci Gram positif

La coloration de Gram permet de différencier les bactéries en deux groupes (Gram+ et Gram-). Les figures et les tableaux ci-dessus présentent les résultats du premier prélèvement. Il s'agit soit des Cocci Gram positives ou négatives, isolées ou associées en paire, parfois en chainettes plus ou moins courtes ou en amas, soit des Bacilles Gram négatives.

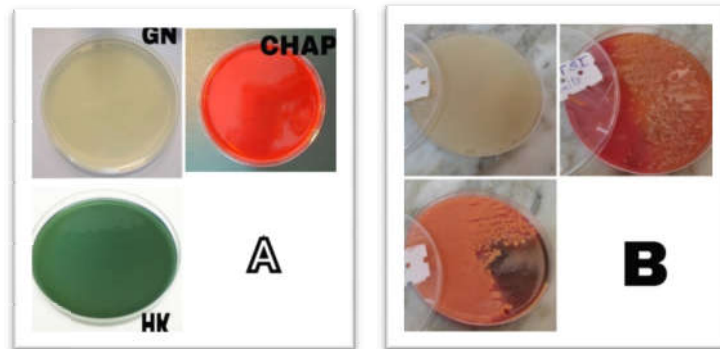
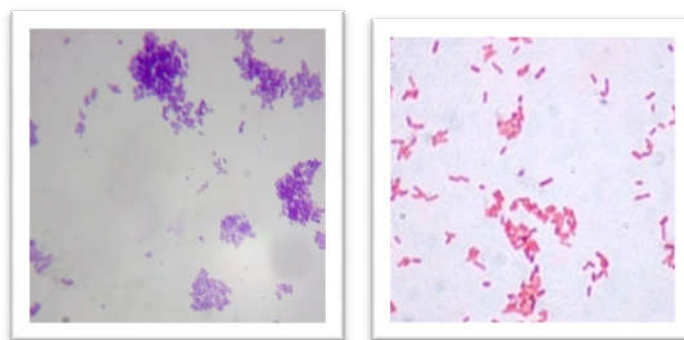


Figure 16 : A/ Milieux de culture témoins ; B/ Caractères cultureux sur milieux gélosés des bactéries isolées à partir du 2^{ème} prélèvement. (Original 2021).



Cocci à Gram + (G ×100) Bacilles à Gram- (G ×100)

Figure 17 : Aspect microscopique des bactéries obtenues à partir du 2^{ème} prélèvement après coloration de Gram.

Tableau 8 : Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du 2^{ème} prélèvement.

Milieu \ Examen	à l'état frais	coloration de Gram
Milieu HK	Bacilles mobiles	Bacilles Gram négatif
Milieu CHAP	Cocci immobile	Cocci Gram positif

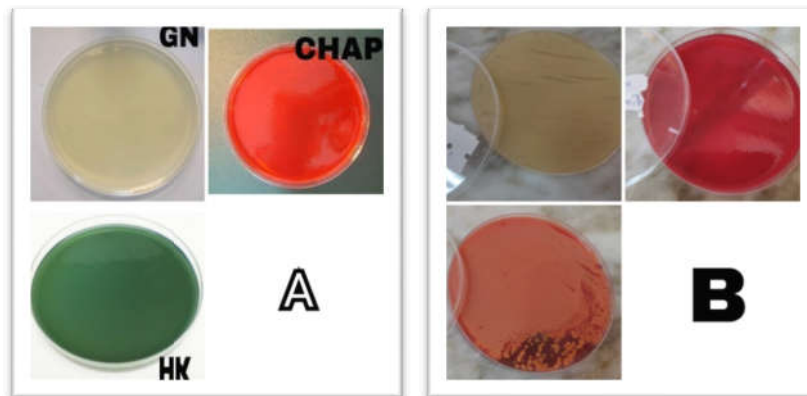


Figure 18 : A/ Milieux de culture témoins ; B/ Caractères cultureux sur milieux Gélésés des bactéries isolées à partir du 3^{ème} prélèvement. (Original 2021).



Bacilles à Gram- (G ×100)

Figure 19 : Aspect microscopique des bactéries obtenues du 3^{ème} prélèvement après coloration de Gram.

Tableau 9 : Résultat de l'examen microscopique des bactéries à partir 3^{ème} prélèvement.

Examen Milieu	Examen à l'état frais	Coloration de Gram
	Milieu HK	Bacilles mobiles

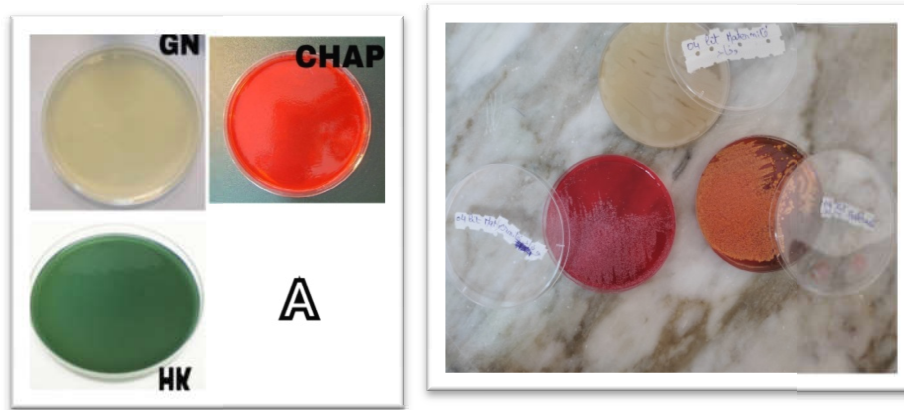


Figure 20 : A/ Milieux de culture témoins ; B/ Caractères cultureux sur milieux gélosés des bactéries isolées à partir du 4^{ème} prélèvement. (Original 2021).

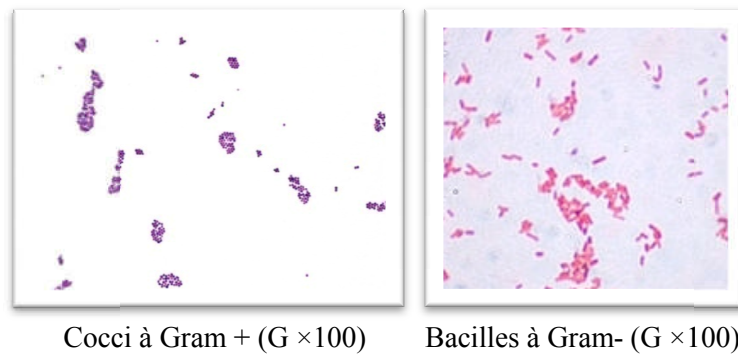


Figure 21 : Aspect microscopique des bactéries obtenues à partir du 4^{ème} prélèvement, après coloration de Gram.

Tableau 10 : Résultat de l'examen microscopique des bactéries à partir du 4^{ème} prélèvement.

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

• Résultats des isolements au niveau du laboratoire d'hématologie

Tableau 11: Résultats des isolements au niveau du service de laboratoire d'hématologie.

N° et site de prélèvement	Caractères cultureux			Coloration	
	GN	HK	CHAP	Etat frais	Gram
01 : Chariot	Tapis bactérien	Petites colonies arrondis, lisses, plates, jaunâtres, virage de couleur de milieu.	Petites colonies arrondis Mucoïdes, plates Jaunâtres.	Bacilles mobiles sur HK. Cocci immobile sur CHAP.	Bacilles Gram négatif sur HK. Cocci Gram positif sur CHAP.
02 : Paillasse	Tapis bactérien	Petites colonies arrondis, lisses, plates, jaunâtres, virage de couleur de milieu.	Petites colonies arrondies Mucoïdes, plates Jaunâtres.	Bacilles mobiles sur HK. Cocci immobile sur CHAP.	Bacilles Gram négatif sur HK. Cocci Gram positif sur CHAP.
03 : Chaise	Tapis bactérien	Petites colonies blanchâtres sèches.	Petites colonies arrondis, lisses, plates, jaunâtres, virage de couleur de milieu.	Bacilles mobiles sur HK. Cocci immobile sur CHAP.	Bacilles Gram négatif sur HK. Cocci Gram positif sur CHAP.

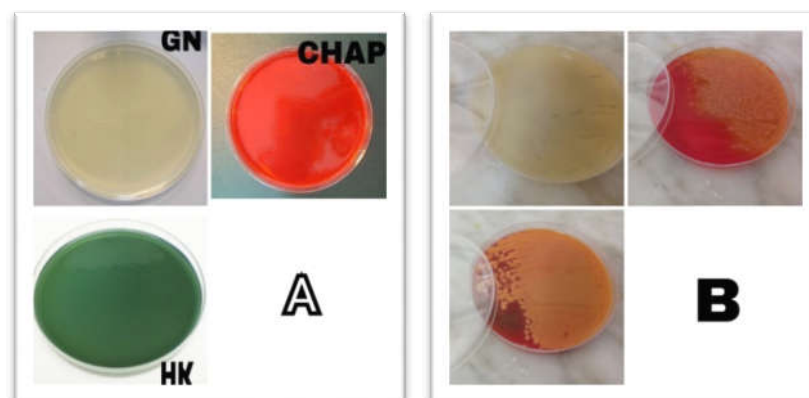
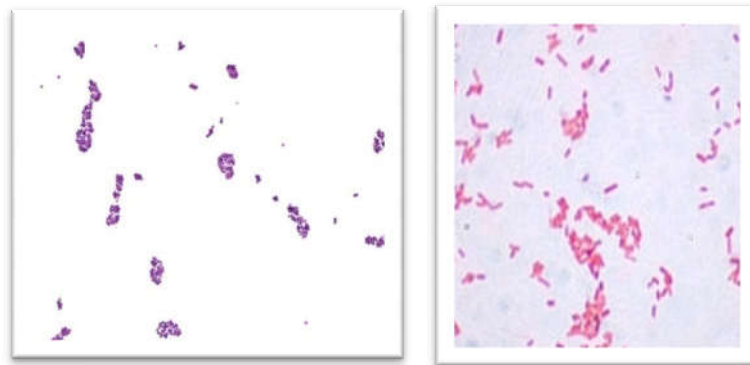


Figure 22 : A/ Milieux de culture témoins ; B/ Caractères cultureux sur milieux gélosés des bactéries isolées à partir du 1^{er} prélèvement. (Original 2021).



Cocci à Gram+ (G ×100)

Bacilles à Gram- (G ×100)

Figure 23 : Aspect microscopique des bactéries obtenues à partir du 1^{er}prélèvement, après coloration de Gram.

Tableau 12 : Résultat de l'examen microscopique des bactéries à partir du 1^{er} prélèvement.

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

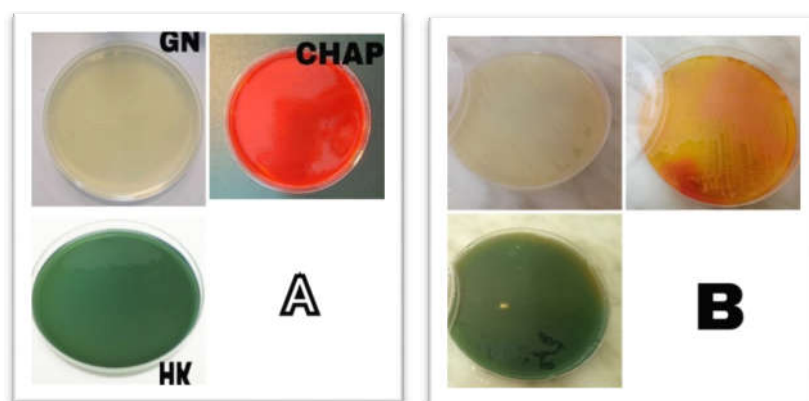
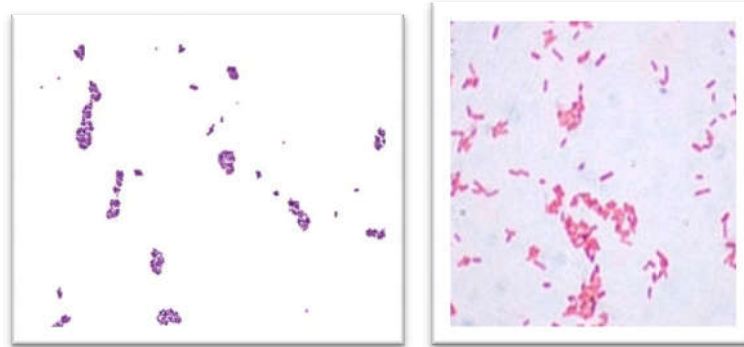


Figure 24 : A/ Milieux de culture témoins ; B/ Caractères cultureux sur milieux gélosés des bactéries isolées à partir du 2^{ème} prélèvement. (Original 2021).



Cocci à Gram + (G ×100)

Bacilles à Gram- (G ×100)

Figure 25 : Aspect microscopique des bactéries obtenues à partir du 2^{ème} prélèvement, après coloration de Gram.

Tableau 13 : Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du 2^{ème} prélèvement.

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

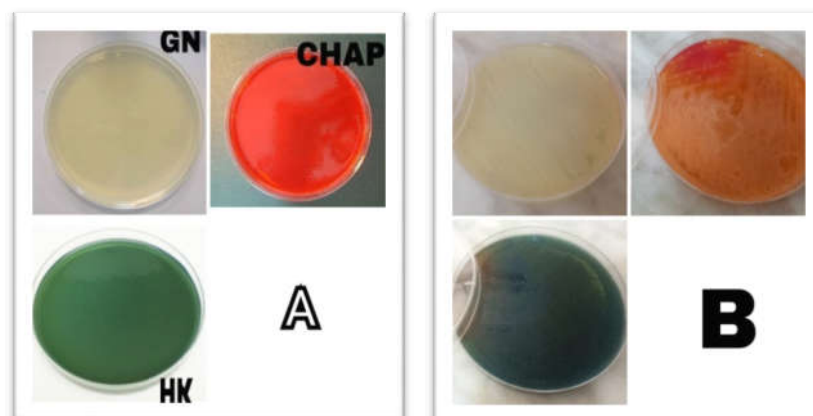
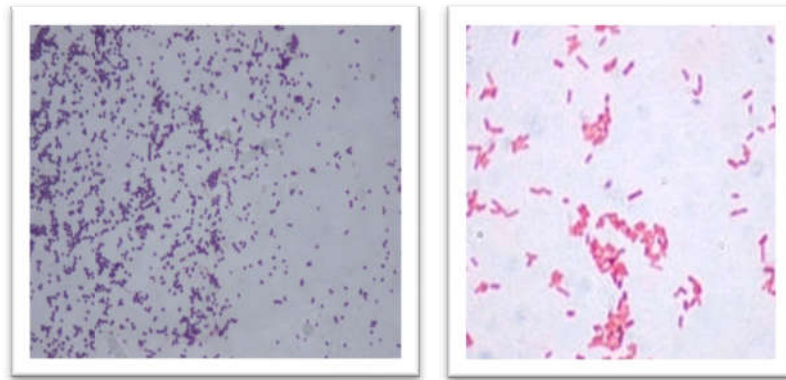


Figure 26 : A/ Milieux de culture témoins ; B/ Caractères cultureux sur milieux gélosés des bactéries isolées à partir du 3^{ème} prélèvement. (Original 2021).



Cocci à Gram + (G ×100)

Bacilles à Gram- (G ×100)

Figure 27 : Aspect microscopique des bactéries obtenues à partir du 3^{ème} prélèvement, après coloration de Gram.

Tableau 14 : Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du 3^{ème} prélèvement.

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

- Résultats des isolements au niveau du service de radiologie

Tableau 15 : Résultats des isolements au niveau du service de Radiologie.

N° et site de prélèvement	Caractères culturaux			Coloration	
	GN	HK	CHAP	Etat frais	Gram
01 : Table horizontale	Tapis bactérien	Petites colonies arrondis, lisses, plates, jaunâtres, virage de couleur de milieu.	Petites colonies blanchâtres sèches.	Bacilles mobiles sur HK. Cocci immobile sur CHAP.	Bacilles Gram négatif sur HK. Cocci Gram positif sur CHAP.
02 : Table verticale	Tapis bactérien	Petites colonies arrondis, plates, jaunâtres, virage de couleur de milieu.	Petites colonies blanchâtres sèches.	Bacilles mobiles sur HK. Cocci immobile sur CHAP.	Bacilles Gram négatif sur HK. Cocci Gram positif sur CHAP.
03 : Casette numérique	Tapis bactérien	Petites colonies arrondis, lisses, plates, jaunâtres, virage de couleur de milieu.	Petites colonies blanchâtres sèches.	Bacilles mobiles sur HK. Cocci immobile sur CHAP.	Bacilles Gram négatif sur HK. Cocci Gram positif sur CHAP.

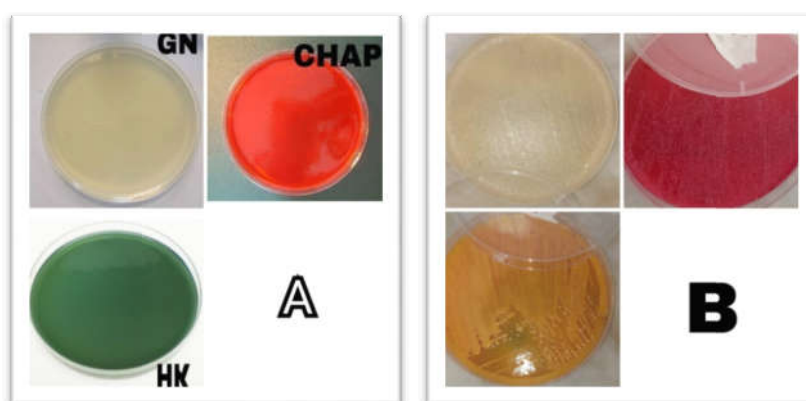


Figure 28 : A/ Milieux de culture témoins ; B/ Caractères culturaux sur milieux gélosés des bactéries isolées à partir du 1^{er} prélèvement. (Original 2021).

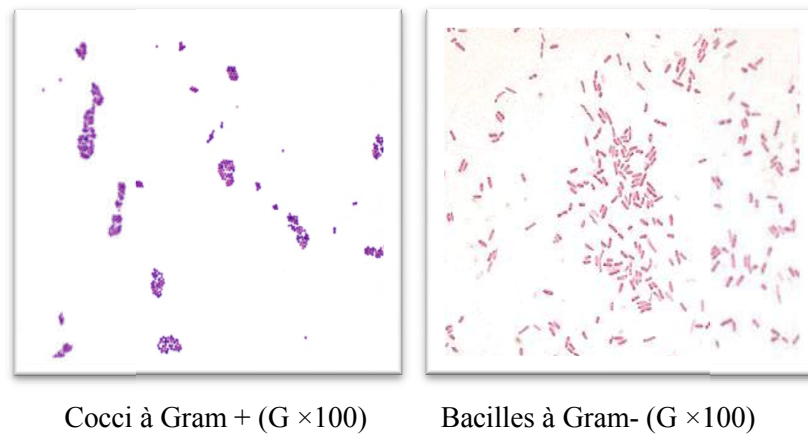


Figure 29 : Aspect microscopique des bactéries obtenues à partir du 1^{er}prélèvement après coloration de Gram.

Tableau 16 : Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du 1^{er}prélèvement

Milieu \ Examen	à l'état frais	à la coloration de Gram
Milieu HK	Bacilles mobiles	Bacilles Gram négatif
Milieu CHAP	Cocci immobile	Cocci Gram positif

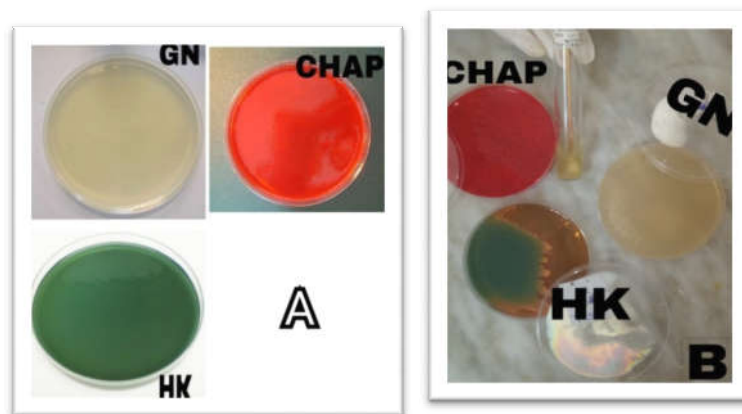


Figure 30 : A/ Milieux de culture témoins ; B/ Caractères culturaux sur milieux gélosés des bactéries isolées à partir du 2^{ème} prélèvement. (Original 2021).

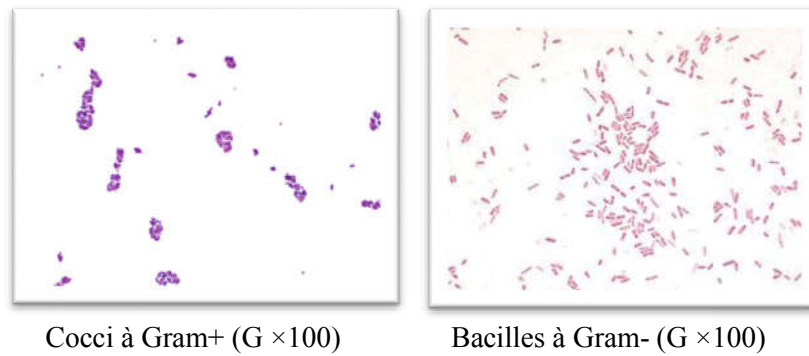


Figure 31 : Aspect microscopique des bactéries obtenues à partir du 2^{ème} prélèvement, après coloration de Gram.

Tableau 17 : Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du 2^{ème} prélèvement.

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

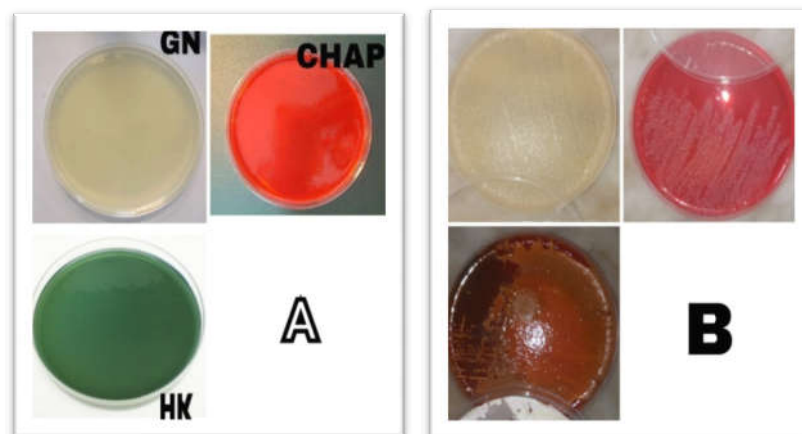


Figure 32 : A/ Milieux de culture témoins ; B/ Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du 3^{ème} prélèvement. (Original 2021).

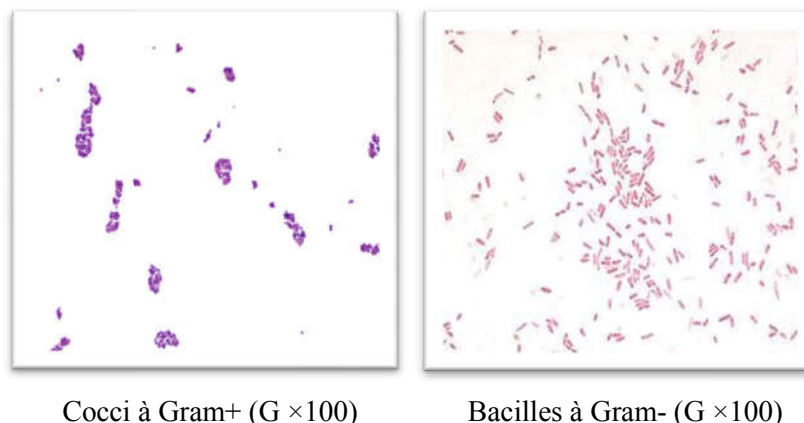


Figure 33 : Aspect microscopique des bactéries obtenues à partir du 3^{ème} prélèvement, après coloration de Gram.

Tableau 18 : Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du 3^{ème} prélèvement.

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

1.2. Résultats des isolements et de l'identification

A travers cette étude, trois sites hospitaliers ont été analysés, il s'agit des services : de maternité, service de radiologie et laboratoire d'hématologie) de l'hôpital de Hammam Bouhadjar. Dix (10) lieux de prélèvement ont été choisis parmi ces services, pour être analysé. Les résultats bactériologiques ont montré une importante biodiversité d'espèces. Au total, 09 espèces bactériennes ont été isolées, purifiées et identifiées. Ces espèces présentent des aspects morphologiques très différents. Le tableau 19 illustre les lieux de prélèvement et les résultats de l'identification. Sans surprise, l'espèce *Staphylococcus aureus* était présente dans presque tous les isolements à l'exception du service de radiologie. Ce germe semble être l'espèce la plus dominante parmi les autres germes bactériens. Les résultats ont révélé aussi la présence d'autres espèces bactériennes : *Serratia marcesens*, *Enterobacter cloecae*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae. ozaenae*, *Staphylococcus Epidermidis*, *Aeromonas hydrophila*, *Serratia odozifers* et *Leclercia adecarboxylata*. (**Tableau19**). D'ailleurs, *St. aureus*, est aujourd'hui est un des germes les plus répandus et les plus incriminés dans les infections nosocomiales.

L'identification de ces germes bactériens a été basée tout d'abord, sur l'aspect phénotypique et microscopique.

Cette première étape du diagnostic est essentielle et permet dans certains cas de connaître facilement le genre de la bactérie. Parmi, les isolats obtenus de nombreuses souches sont mobiles suite à l'examen frais, montrant ainsi que les germes sont purifiés et présentent des formes bacilles et d'autres Cocci (**Figure34**). Inversement d'autres sont immobiles. La coloration de Gram révèle la présence de deux groupes de bactéries : les Bacilles à coloration Gram négatif et les Cocci à Gram positif.

Tableau 19 : Espèces bactériennes identifiées.

Site de prélèvement	Germes
Service de maternité	
Table d'accouchement	<i>Staphylococcus aureus ; Serratia marcesens</i>
Appareil d'échographie	<i>Staphylococcus aureus ; Escherichia coli</i>
Chariot	<i>Enterobacter cloacae</i>
Le lit	<i>Staphylococcus Epidermidis ; Escherichia coli</i>
Service de laboratoire d'Hématologie	
Chariot	<i>Staphylococcus aureus ; Klebsiella pneumoniae.ozaenae</i>
Paillasse	<i>Staphylococcus aureus ; Klebsiella pneumoniae.ozaenae</i>
Chaise	<i>Staphylococcus aureus ; Leclercia adecarboxylata</i>
Service de radiologie	
Table horizontale	<i>Staphylococcus Epidermidis ; Aeromonas hydrophila</i>
Table verticale	<i>Staphylococcus Epidermidis ; Aeromonas hydrophila</i>
Casette numérique	<i>Staphylococcus Epidermidis ; Serratia odozifers</i>

1.2.1 Résultats des tests biochimiques classiques

Nous avons réalisé les tests biochimiques classiques, selon la disponibilité des milieux de culture. Les résultats de cette étude sont représentés dans le tableau 20 et le figure 35. Les résultats obtenus ont montré que la majorité des espèces bactériennes ont un profil glucidique positif. En revanche, ces espèces sont dans la plupart des cas, H₂S négatif, Indole négatif, et Uréase négatif. Le reste des tests ont montré que chez certaines espèces, les résultats sont positifs, alors chez d'autres bactéries, ses tests sont négatifs. Par ailleurs, l'identification des germes bactériens n'est pas toujours facile à résoudre, car elle repose sur un choix judicieux des tests, selon le germe, l'infection et les symptômes observés.

Tableau 20 : Résultats des tests biochimiques classiques des germes identifiés.

Caractères / Germes	Sucres	H ₂ S	Gaz	Mannitol mobilité	Citrate de simmons	Uréase	INDOL	ONPG	ADH	LDC	ODC
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-
<i>Serratia marcescens</i>	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+
<i>Escherichia coli</i>	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+
<i>Enterobacter cloacae</i>	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+
<i>Staphylococcus Epidermidis</i>	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	+
<i>Klebsiella pneumoniae. ozaenae</i>	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-
<i>Leclercia adecarboxylata</i>	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-
<i>Serratia odozifers</i>	+	-	-	+	+	-	d	+	-	+	d

(+) : réponse positive ; (-) : réponse négative ; (d) : (-) ou (+)



Aéromonas hydrophiles



Serratia odozifers

Figure 34 : Résultats des caractères biochimiques des germes identifiés. (Original 2021).

1.2.2 Résultats d'identification sur Galerie API 20 E

L'étude des bactéries et leur répartition dans un écosystème hospitalier est souvent délicate, car les espèces présentes sont extrêmement variées. Le système API 20 E apporte une aide précieuse dans cette recherche par sa simplicité de mise en œuvre et par la standardisation de la méthode employée. Utilisé avec le catalogue analytique, ce système permet au personnel de tous les laboratoires, l'identification facile et fiable des espèces bactériennes. Le système API 20 E, est parmi les systèmes commercialisés, le plus complet et le plus reproductible pour l'identification des bactéries. Facile à lire et interpréter, il permet une comparaison valable des résultats entre différents laboratoires de recherches.

Les métabolites produits après ensemencement des bactéries sont mis en évidence par des réactions colorées ou par addition de réactifs après 24 à 48 heures d'incubation à 35-37°C. Le profil numérique obtenu permet l'identification de trois souches : *Klebsiella pneumoniae.ozanae* (Paillasse) (**Figure 36**), *Serratia marcescens* (Table d'accouchement) (**Figure 37**), *Enterobacter cloacea* (Chariot) (**Figure 38**). Des tests biochimiques complémentaires sont parfois nécessaires pour parfaire l'identification.



Figure 35 : Galerie API 20E, après incubation et addition des réactifs (prélèvement n° 02 - service de laboratoire d'hématologie). (Original 2021).



Figure 36 : Galerie API 20E, après incubation et addition des réactifs (prélèvement n°01 - service de maternité). (Original 2021).



Figure 37 : Galerie API 20E, après l'incubation et addition des réactifs (prélèvement n°03 - service de maternité). (Original 2021).

En se basant sur les résultats de l'examen macroscopique et microscopique ainsi que les caractères biochimiques classiques et galerie API 20 E, nous pouvons rattacher les germes bactériens aux : *Staphylococcus aureus*, *Serratia marcesens*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus Epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae.ozaenae*, *Leclercia adecarboxylata*, *Aeromonas hydrophila* et *Serratia odozifers*.

1.2.3. Identification des Staphylocoques pathogènes

Les Staphylocoques appartiennent à la famille de *Staphylococcaceae* (*micrococcaceae*) et se caractérisent par une morphologie en forme de Cocci. Ce sont des bactéries Gram positives, présentes souvent en grappes et sont aéro-anaérobies facultatives. On divise le genre *Staphylococcus* en trois espèces : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus Epidermidis* et *S saprophyticus*. *S. aureus* étant caractérisée par la possession d'une enzyme, la coagulase, enzyme capable de transformer le fibrinogène du plasma de lapin en fibrine. Cette espèce présente aussi le pouvoir de sécréter des entérotoxines provoquant des toxi-infections.

Les Staphylocoques sont des bactéries impliquées dans des pathologies variées à des degrés de gravité divers. En Algérie, elles sont considérées comme les premiers agents responsables d'infections nosocomiales, ce sont des bactéries à coloration Gram positive avec une morphologie en Cocci regroupant une trentaine d'espèces. Les espèces les plus couramment isolées sont *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* et *S. saprophyticus*. L'espèce *Staphylococcus aureus* est le germe le plus pathogène et le plus virulent tandis que l'espèce *S. epidermidis* est à coagulase négative.

Selon l'aspect phénotypique et les tests enzymatiques et biochimiques, deux espèces de *Staphylococcus* ont été identifiées, il s'agit de *St. aureus* et *St. epidermidis*. Le tableau , et les figures Présentent les résultats des tests enzymatiques. La présence d'une coagulase témoigne l'appartenance de la bactérie à l'espèce *St. aureus*. En revanche, les souches testées pour la production d'une catalase ont décomposé l'eau oxygénée en eau et oxygène, donc sont catalase+. Les résultats ont montré une large domination des *St. aureus* par rapport au *St. epidermidis*. Cette Staphylocoque dorée semble être le germe le plus fréquent.

Tableau 21: Résultats des tests enzymatiques des Staphylocoque les plus fréquemment isolées.

Tests Les germes	Test catalase	Test coagulase
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	+	-

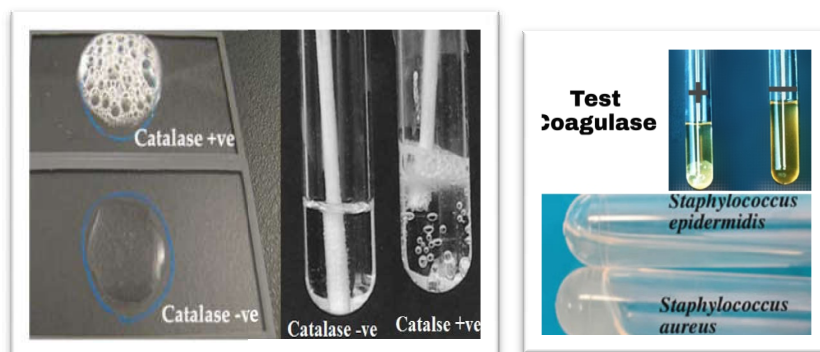


Figure 38 : Test catalase positif et négatif ; **Figure 39** : Test coagulase positif et négatif

1.3. Résultats du profil de sensibilité des souches aux antibiotiques

L'antibiogramme est un examen de laboratoire visant à déterminer la sensibilité d'une bactérie à différents antibiotiques. En effet, de nombreuses bactéries sont devenues, avec le temps, résistantes aux antibiotiques. L'antibiogramme permet d'évaluer l'action des antibiotiques sur la croissance bactérienne et de sélectionner les composés les plus efficaces pour traiter une infection.

Au cours de cette étude, nous avons réalisé un antibiogramme sur sept (07) germes bactériens. La sensibilité et la résistance des isolats ont été évaluées selon les critères suivants :

- Une bactérie est dite sensible (si le diamètre est \geq à 15 mm) ; l'antibiotique est efficace. Il suffit d'une faible concentration de l'antibiotique en question pour inhiber les bactéries.

- Intermédiaire (si le diamètre est compris entre 11 mm et 14 mm) ; l'antibiotique est efficace que dans certaines conditions.

- Une bactérie est dite résistante (si le diamètre est \leq à 10 mm), l'antibiotique est inefficace. En effet, la dose nécessaire pour inhiber les bactéries est beaucoup trop élevée. Les résultats de cette étude sont présentés dans le tableau 22 et illustrés par la figure 41.

Après 24 à 48 heures d'incubation, des zones d'inhibitions de croissance vont apparaître dans la boîte contenant le milieu M.H. On note les résultats (par la mesure de ce diamètre d'inhibition) et selon les résultats obtenus, illustrés par le tableau 22 et la figure 41, l'interprétation est la suivante.

Il ressort de cette étude que les germes testés présentent des réponses différentes vis-à-vis des dix antibiotiques testés. Ces résultats montrent que :

- *E.coli* est sensible pour Kanamycin (KAN) (15mm de diamètre).
- *S.aureus* est sensible pour Norfloxacin (NOR5) et la Kanamycin (KAN) (12 mm de diamètre).
- *S.epidermidis* est sensible pour Streptomycin (S10) (12 mm de diamètre).

Par ailleurs, le reste des antibiotiques est :

- *E.coli* est intermédiaire pour Streptomycin (S10) et Oxolinicacid (OA) (≤ 10 mm de diamètre).
- *S.aureus* est intermédiaire pour Neomycin (N) et Bacitracin (B10) et Oxolinicacid (≤ 10 mm de diamètre).
- *S.epidermidis* est intermédiaire pour Oxolicacid (OA), Norfloxacin (NOR5), Penicillin (P), Kanamycin (KAN), Cephalexin (CL30), Bacitracin (B10) et Neomycin (N) (≤ 10 mm de diamètre).

Les autre antibiotique qui on a utilisé sont Résistants

Tableau 22 : Résultats de l'antibiogramme des souches isolées et identifiées.

ATB Germes Identifiés	OA	N	AM	B	CL	KAN	NOR	S	P	AMC
<i>E. coli</i>	I	R	R	R	R	S	R	I	R	R
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	I	I	R	I	I	I	I	S	I	R
<i>Staphylococcus aureus</i>	I	I	R	I	R	S	S	R	R	R

S : Sensible ; R : Résistant ; I : Intermédiaire.



Staphylococcus aureus

Escherichia coli

Staphylococcus epidermidis

Figure 40 : Résultats de l'antibiogramme des souches bactériennes. (Original 2021).

La résistance naturelle se manifeste soit par une tolérance à certains antibiotiques, soit par une destruction de l'antibiotique par des enzymes comme les bêta-lactamases. Ces deux formes de résistances sont fréquentes chez de nombreuses bactéries telles que les Entérobactéries.

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 plasmique, 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.

II. Discussion

Les infections nosocomiales présentes dans nos structures de soins constituent un problème majeur de santé publique. Durant la période de notre stage au sein de l'hôpital de BERREBI Abedlkader, Daïra de Hammam Bouhadjar, Wilaya de Ain Témouchent, nous avons isolé et identifié quelques bactéries responsables des infections nosocomiales. Au total, 09 germes bactériens ont été isolés et purifiés à partir de 10 prélèvements au niveau de trois services précédemment cités. L'analyse bactériologique a révélé que les micro-organismes isolés appartiennent soit à des Cocci Gram Positive (GGP), soit à des Bacilles Gram Négatif (BGN). Ces dernières se sont montrées les plus fréquentes et représentent environ 56% des micro-organismes isolés, avec 23% d'Entérobactéries (*Leclerciaadecarboxylata*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia odozifers*, *Serratia marcesens* et *Escherichia coli*), et 20 % représentent d'autres bacilles Gram négatives tel que *Aeromonas hydrophila*. Les Cocci Gram positives (CGP), représentent environ 44% des micro-organismes isolés avec 25% d'espèces de *Staphylococcus aureus*, qui semble être l'espèce la plus dominante au niveau du service de maternité et le laboratoire d'hématologie. En revanche, *Staphylococcus epidermidis* représente environ 6% et semble être la plus dominante au niveau du service de radiologie. D'ailleurs, dans une étude menée au CHU de Tizi-Ouzou en 2012, les auteurs ont montré qu'environ 94.11% des germes isolés sont des Bacilles Gram négatifs.

Nos résultats concordent avec ceux obtenus par Bounab *et al.*, (2011), qui ont montré une prédominance des Gram négatifs, avec 70,6 % d'Entérobactéries ; 30 % d'*E. coli*, 15 % de *Proteus spp.*, 10 % de *Providencia spp.*, 9 % de *Citrobacter spp.*, 6,6 % de *Shigella spp.*, et 29,4 % de Staphylocoques ; ce dernier pourcentage est réparti sur trois espèces : *S. epidermidis* (16%), *S. aureus* (7,4%) et *S. saprophyticus* (5.6%). Une autre étude représentée par Chebbah, (2014) a montré que *S. aureus* occupe la 1^{er} position des germes isolés dans une structure hospitalière, avec un pourcentage de 68%, suivie par *E. coli* avec un pourcentage de 31%. Les résultats des travaux menés par Boukredimi et Bouyahia, (2020) au niveau de la même structure hospitalière - BERREBI Abedlkader – Hammam Bouhadjar, ont montré une importante présence des Bacilles Gram négatives (56%) suivi de 34% d'entérobactéries et de 22% représenté par d'autre bacilles Gram négatives. Les Cocci Gram positifs représentent 44%, avec un pourcentage de 28% de *S. aureus* et 16% de *S. epidermidis*.

Les résultats de l'antibiogramme sur les germes bactériens révèlent une multi-sensibilité pour l'ensemble des isolats identifiés. Les antibiotiques testés présentent une action non négligeable sur la majorité des bactéries.

Il est à signalé que la perte de la sensibilité est liée probablement à la présence, dans le cytoplasme des bactéries d'un facteur génétique extra chromosomique entraînant l'apparition de résistance. (Petter et Russel, 1981).

A travers ces résultats, nous pouvons conclure que, les trois services ayant fait l'objet de ce travail s'avère très contaminés et présentent un mauvais état hygiénique, car ces trois services renferme des germes responsables d'infections nosocomiales. L'influence du manque d'hygiène et du rapport entre l'être humain et son environnement a été nettement remarquée dans cette étude et c'est à partir de ces données qu'une surveillance devrait être efficace, afin de limiter le nombre de cas touchés par une infection nosocomiale.

Les infections nosocomiales restent un problème très fréquent au niveau de nos structures hospitalières, car il pose un obstacle socioéconomique important malgré les mesures d'hygiène prise par le service de santé public. A l'heure actuelle, la situation n'apparaît pas préoccupante, mais des mesures de prévention sont nécessaires. Parmi ces mesures :

- Mise en place de mesures de contrôle des infections nosocomiales et réalisation des analyses bactériologiques.
- Conscience et surveillance pour détecter les germes responsables des infections nosocomiales.
- Contrôle de l'hygiène hospitalière au niveau des différents services, sans laisser passer le contrôle du personnel hospitalier.

Conclusion

Conclusion et Perspectives

Ce mémoire résume cette étude effectuée lors du stage au niveau du laboratoire de bactériologie de l'hôpital de Hammam Bouhadjar-Ain Temouchent. C'est une première expérience à la fois très intéressante et très enrichissante.

Les infections nosocomiales demeurent une préoccupation mondiale vu leur gravité et le surcoût qu'elles entraînent. Le risque de contracter une infection à l'hôpital a toujours existé et ce risque s'est accru avec l'évolution des pratiques de soins, une négligence de mesures d'hygiène et de recrutement des patients.

Notre étude nous a permis de montrer la dominance des bactéries pathogènes au niveau des trois services étudiés. Ces bactéries sont généralement des Cocci Gram positives, des bacilles Gram négatives. Elles étaient localisées au niveau des instruments, des patients, des surfaces, de l'air et des soignants. Les résultats de l'antibiogramme que nous avons obtenus montrent l'inefficacité de certains antibiotiques et l'efficacité d'autres antibiotiques. L'origine de la multi-résistance observée chez certaines souches serait probablement liée à l'utilisation anarchique des médicaments. La fréquence croissante des micro-organismes résistants aux antibiotiques, comme *S. aureus* résistant à la méticilline ou les entérocoques résistants à la vancomycine est très préoccupante (Who, 2002). Les bactéries multi-résistantes (BMR) qui cumulent de nombreuses résistances acquises posent des problèmes particuliers : diffusion épidémique, circulation des patients porteurs, mode de transmission, menace de diffusion des gènes de résistance impliqués à d'autres espèces bactériennes. Les bactéries multi-résistantes, par leur fréquence ou leurs conséquences thérapeutiques, tant à l'hôpital (ex. *St. aureus*, résistant à la méticilline ou SARM) que dans la communauté, justifient une surveillance spécifique chez l'être humain à l'hôpital et dans l'environnement.

A la lumière des résultats obtenus, ayant démontré la réalité de contracter une infection nosocomiale et la nécessité d'appliquer les mesures préventives, comme dit le proverbe "vaut mieux prévenir que guérir", cette prévention nécessite un programme intégré et contrôlé, dont les éléments clés sont les suivants :

- Limiter la transmission d'agents microbiens de patient à patient pendant les activités de soins directs par le lavage adéquat des mains et le port de gants, et en observant des pratiques et stratégies d'asepsie, d'isolement, de stérilisation, de désinfection et de blanchisserie appropriées.
- Promouvoir le bon usage des antibiotiques,
- Maîtriser les risques infectieux liés à l'environnement,
- Protéger les patients par l'usage approprié d'anti infectieux à titre prophylactique, par l'alimentation et par les vaccinations,
- Limiter le risque d'infection endogène par la réduction des gestes invasifs et par la promotion d'un usage optimal des anti-infectieux,

Conclusion et Perspectives

- Surveiller les infections, identifier et maîtriser les flambées,
- Assurer la prévention des infections chez les membres du personnel,
- Développer la prise en compte des infections nosocomiales et du risque infectieux en général dans les soins extrahospitaliers en développant le dispositif réglementaire et les actions d'information auprès des professionnels libéraux.
- Renforcer les pratiques de soins et assurer la formation continue du personnel.

Par ailleurs, l'une des limites majeures de cette contribution a été le manque de moyen et de matériel pour approfondir certaines questions, telles que le test d'antibiogramme et la recherche des CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) et CMB (Concentration Minimale Bactéricide). Enfin, cette étude nous a permis d'apporter une contribution au vaste chantier que constituent les infections nosocomiales. Les expériences acquises au cours de ce stage seront sans aucun doute capitalisées et valorisées.

Références bibliographiques

- Al-Hajje M. Ezedine H. Hammoud S. Awada S. Rachidi S. Zein et Salameh P (2012) ; Aspects actuels des infections nosocomiales au Centre Hospitalier Libanais de Beyrouth
- Bezzaoucha A, Makhlof E, Dekkar N et Lamdjadan N (1994) ; Prèvalence des infections nosocomiales au centre hospitalo-universitaire de Bab ElOued-Alger
- BOUAZIZ S et RAMDANE A (2006) ; Contrôle de l'état général d'hygiène au niveau de service des urgences de L'hôpital de Med Boudiaf
- Charline D. 2018 ; Infections nosocomiales
- Cheballah L et 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
- DALI ALI A (2015) Infections nosocomiales a bactéries multi résistantes (BMR) en réanimation adulte a l'EHUO profil épidémiologique facteurs de risque et facteurs pronostique
- Dr Tafazzoli J (2017) ; Infection nosocomiale : cause, mode de transmission, symptômes
- Estry-Behar, M., Leimdorfer, F., & Picot, G. (2010). Comment des médecins hospitaliers
- Fleury E, & Marianne C, (2010). I-Bird, comprendre les infections nosocomiales.
- Gérin, M., Gosselin, P., Cordier, S., Viau, C., Quénel, P., & Dewailly, É. (2003). Environnement et santé publique: Fondements et pratiques. Édisem/Tec & Doc.
- Guetarni N, Zouagui S, Besbes F, Derkaoui A, Hanba M, Ahmed Fouatih Z (2016); Infections Nosocomiales (IN) : Enquête de prévalence et d'identification des facteurs de risque dans un centre hospitalier universitaire de la région ouest d'Algérie
- Guide technique d'hygiène hospitalière (2004); C.CLIN Sud-Est-fiche n°2.08 (les microorganismes responsables aux IN)
- [Inserm](#). Consulté le 14 juin 2018
- La Lettre de L'INSTITUT PASTEUR ; Février 2011
- M. VASSELLE A (2006) ; Prévenir les infections nosocomiales : une exigence de qualité des
- Michel, F. B., & Ménardo, J. L. (2004). *Les allergies* (Vol. 68). Le Cavalier Bleu.
- Questions réponses. [Ministère des Solidarités et de la Santé](#). Consulté le 14 juin 2018.
- TAESCH F (2018) ; Enquête auprès des cabinets libéraux : qu'en est-il de l'hygiène chez les médecins de ville ?
- Travail de santé publique réalisé en 2003 ; Hygiène hospitalière et infections nosocomiales
- Vesseron S et Fagot L (2000) ; Infections Nosocomiales Réflexions pour l'Ingénieur Biomédical
- [www.coducee-net/dossierspecialises/infection/nosocomial](#)
- Wilson, M. L., & Gaido, L. (2004). Laboratory diagnosis of urinary tract infections in adult patients. *Clinical infectious diseases*, 38(8), 1150-1158.

Annexes

Annexe 1

- La composition des différents milieux utilisés dans l'étude expérimentale

1. Le bouillon nutritif

-Peptone -----	5,0 g/L.
-Extrait de viande -----	3,0 g/L.
- PH : 6,8 à 25°C.	

2. Gélose nutritif

-Extrait de viande -----	1,0 g/L
-Extrait de levure -----	2,5 g/L
-Peptone -----	5,0 g/L
-Chlorure de sodium -----	5,0 g/L
-Agar-agar -----	15,0 g/L
-pH = 7,0	

3. CHAPMAN

- Peptone -----	10.0 g.
- Extrait de sodium -----	1.0 g.
- Mannitol -----	10.0 g
- Rouge de phénol -----	0.025 g.
- Agar -----	15.0 g.
- PH = 7, 4.	

4. Gélose Hektoen

- Peptone-protéose -----	12.0 g.
- Extrait de levure-----	3.0 g.
- Lactose -----	12.0 g.
- Saccharose-----	12.0 g.
- Salicine -----	2.0 g.
- Citrate de fer 3 et d'ammonium -----	1.5 g.
- Sels biliaires-----	9.0 g.
- Fuchsine acide -----	0.065 g.
- Bleu de bromothymole -----	5.0 g.
- PH = 7.5	

5. Milieu BCP

-Peptone -----	20,0 g
-Lactose -----	10,0 g
-Sels biliaires-----	5,0
-Chlorure de sodium-----	5,0
-Bromocrésol pourpre -----	0,02
-pH = 7,4	

6. Milieu MC

-Peptone -----	20,0 g
-Sels biliaires n°3 -----	5,0
-Cristal violet-----	0,001 g
-Lactose -----	10,0 g
Rouge neutre-----	0,05g

-Chlorure de sodium	5,0
-Agar	15,0
-pH = 7,1	

7. **Mueller Hinton (gélose)**

-Infusion de viande de bœuf	300,0 cm
-Amidon de maïs	1,5 g
-Agar	17,0 g
-Peptone de caséine	17,5 g
-pH = 7,4	

Annexe 2

Les tests biochimiques classiques

1. **Citrate de Simmons**

-Chlorure de sodium	5g
-Sulfate de magnésium	0,2g
-Phosphate d'ammonium POH	1g
-Phosphate di potassique POHK	2g
-citrate trisodique	2g
-Solution de bleu bromothymol %	8ml
-Agar	15g
-Eau distillée	1000ml
-Ajuster le pH à 7_7,2	

2. **Milieu Mannitol Mobilité**

- Peptone tryptique de viande	20 g/L.
- Agar	4 g/L.
- Mannitol	2g/L.
- KNO ₃	1g/L.
- Rouge de phénol à 1%	4 ml.
-Eau distillée	1000ml
- pH 7,6-7,8	

3. **Milieu Urée- Indole**

- Urée	2.0 g.
- L- tryptophane	0.3 g.
- Ethanol à 095	1 cm ³
- Rouge de phénols	2.0 cm ³
- Dihydrogénophosphate de potassium	0.1 g.
- Hydrogénophosphate de potassium	0.1 g.
-Eau distillée	1000ml
- pH = 7	

4. Milieu TSI

-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
-Ajuster le pH a 7,4	

Annexes 3

Les réactifs de la coloration de gram

1. Lugol

- Iode -----	1g
-Iodure de potassium -----	2g
-Eau distillée -----	3g

3. Violet de gentiane

- Violet de gentiane -----	1g
-Ethanol a90% -----	10ml
-acide phénique neigeux -----	2g

4. Fushine

-fushine basique -----	10g
-alcool éthylique -----	10ml
-eau distillé -----	100ml

ملخص

يتم التعرف على عدوى المستشفيات على أنها مشاكل صحية عامة رئيسية من خلال تواترها وتكلفتها وشدتها، ولهذا أجرينا هذه الدراسة، تم اقتراح خلال هذا العمل ثلاث (03) خدمات طبية (معمل الأمامة والأشعة وأمراض الدم) داخل مستشفى "سيدي عايد" في دائرة حمام بوحجر/ ولاية عين تموشنت لتقديم هذه المساهمة، أين تم عزل البكتيريا من المرضى ومن الأدوات الطبية: قمنا بعزل وتنقية (10) عزلات تم التعرف عليها، أولاً بالطرق المظهرية والاختبارات البيوكيميائية الكلاسيكية، ثم بواسطة نظام API20E. أظهرت النتائج البكتريولوجية عن وجود تنوع بيولوجي مهم في الأنواع، ليتم تحديد 09 أنواع من البكتيريا، تقدم هذه الأنواع جوانب شكلية مختلفة للغاية في عدد عزلات البكتيرية باختلاف القسم الذي أجريت فيه التحليلات، ليس من المستغرب أن تكون أنواع *Staphylococcus aureus* موجودة في كل عذلة تقريباً باستثناء قسم الأشعة. يبدو أن هذه الجرثومة هي أكثر الأنواع انتشاراً بين الجراثيم البكتيرية الأخرى، كما كشفت النتائج عن وجود أنواع بكتيرية أخرى *E.coli-Staphylococcus epidermidis-Serratia Odzifers-Klebsiella Pneumoniae.OzaenaeAeromonasHydrophila-* فعالية بعضها ضد بكتيريا معينة، بينما تكون ذات فعالية ضد الجراثيم الأخرى. يبدو أن أصل مقاومة الأدوية المتعددة التي لوحظت مرتبطة باستخدام المضادات الحيوية الخاصة بكل قسم، مما يؤدي لتكيفها المنزلي معها والذي يحتمل ألا يتوقف عن الانتشار.

الكلمات الرئيسية: عدوى المستشفيات - نظام API20E - *Staphylococcus Aureus* - *Enterobacter Cloacea* - *Epidermidis* - المكورات العنقودية - مضاد حيوي - *Escherichia Coli-Serracia Odzifers- AeromonasHydrophila*

Résumé

Les infections nosocomiales sont reconnues comme des problèmes majeurs de santé publique par leur fréquence, leur coût et leur gravité, la raison pour laquelle nous avons entrepris cette étude. Au cours de ce travail, trois (03) services médicaux (Maternité, Radiologie et Laboratoire d'hématologie) au sein de l'hôpital « SIDI AYED » de Hammam Bouhadjar – Wilaya d'Ain Témouchent ont été proposés pour effectuer cette médicaux. Nous avons isolé et purifié dix (10) isolats. Ces derniers ont été identifiés tout d'abord par des méthodes phénotypiques et des tests biochimiques classiques, ensuite par la galerie API 20 E. Les résultats bactériologiques ont montré une importante biodiversité d'espèces. Au total, 09 espèces bactériennes ont été identifiées. Ces espèces présentent des aspects morphologiques très différents et le nombre d'isolat bactérien varie en fonction du service dans lequel les analyses ont été effectuées. Sans surprise, l'espèce *Staphylococcus aureus* était présente dans presque tous les isolements à l'exception du service de radiologie. Ce germe semble être l'espèce la plus dominante parmi les autres germes bactériens. Les résultats ont révélé aussi la présence d'autres espèces bactériennes : *Staphylococcus épidermidis*, *E.coli*, *KlebsiellaPneumoniae.ozaenae*, *Aeromonashydrophila*, *Serratiaodzifers*, *Serratiamarcesens*, *Leclerciaadecarboxylataet Enerobactercloacea*. D'après la littérature, *St. aureus*, est aujourd'hui est un des germes les plus répandus et les plus incriminés dans les infections nosocomiales. Les tests d'antibiogramme ont montré l'inefficacité de certains antibiotiques vis-à-vis de certaines bactéries et l'efficacité sur d'autres germes. L'origine de la multi résistance observée semble être liée à l'utilisation des antibiotiques spécifiques à chaque service induisant une adaptation grandissante à ces médicaments qui ne cessera probablement pas de s'étendre.

Mots clés : Infections nosocomiales, Galerie API 20 E, *Staphylococcus aureus*, antibiogramme, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobactercloacea*, *Aeromonashydrophila*, *Escherichia coli* et *Serraciaodzifers*.

Abstract

Nosocomial infections are recognized as major public health problems by their frequency, their cost and their severity, which is why we have undertaken this study. During this work, three (03) medical services (Maternity, Radiology and hematology laboratory) within the « SIDI AYED » hospital of Hammam Bouhadjar Wilaya Ain Témouchent were proposed to perform this medical. We have isolated and purified ten (10) isolates. The latter were identified first by phenotypic methods and classical biochemical tests, then by the API 20E Gallery. The bacteriological results showed an important biodiversity of species. In total, 09 bacteria species have been identified. These species present very different morphological aspects and the number of bacterial isolates varies according to the department in which the analyzes were carried out. Unsurprisingly, the species *Staphylococcus aureus* was present in almost all the isolates with the exception of the Radiology department. This germ appears to be the most dominant species among other bacterial germs. The results also revealed the presence of other bacterial species: *Staphylococcus epidermidis*, *E.coli*, *Klebsiella Pneumoniae.ozaenae*, *Aeromonas hydrophila*, *Serratia odzifers*, *Serratia marcesens*, *Leclercia adecarboxylata* and *Enerobacter cloacea*. According to the literature, *St. aureus* is today one of the most widespread germs and the most implicated in nosocomial infections. Antibiotic tests have shown the ineffectiveness of certain antibiotics against certain bacteria and effectiveness on other germs. The origin of the multidrug resistance observed seems to be linked to the use of antibiotics specific to each department, inducing a growing adaptation to these drugs which will probably not cease to spread.

Keywords: Nosocomial infections, API 20 E gallery, *Staphylococcus aureus*, antibiogram, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter cloacea*, *Aeromonas hydrophila*, *Escherichia coli* and *Serracia odzifers*.