
République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique
Centre Universitaire BELHADJ Bouchaib D'Ain-Témouchent



Faculté des sciences

Département de science de la nature et de la vie

Mémoire

Pour l'obtention du Diplôme de Master en Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Appliquée

Présenté par

-BOUKREDIMI Wissem

-BOUYAHIA Naïma

Recherche des germes bactériens responsables des infections nosocomiales au niveau de deux services (médecine et pédiatrie) de l'hôpital de Hammam-Bouhadjar, Ain –Témouchent

Encadrant

Mr. BELLAHCENE Miloud

Professeur à C.U.B.B.A.T

Soutenu le 02 juillet 2020

Devant le jury composé de :

Présidente : Mme. AHMED Ammar Y.	(M.C.B)	C.U.B.B.A.T
Examineur : Mme. ABDELLAOUI H.	(M.A.B)	C.U.B.B.A.T
Encadrant : Mr. BELLAHCENE M.	(Professeur)	C.U.B.B.A.T

Remerciement

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

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

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

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

*Nos vifs remerciements vont aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail en acceptant d'examiner ce mémoire et de l'enrichir par leurs suggestions. **Madame AHMED Ammar Y.** enseignante au Centre Universitaire d'Ain-Témouchent pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury, veuillez trouver ici le témoignage de notre reconnaissance et notre respect le plus profond. Nos remerciements les plus respectueux vont à **Madame ABDELLAOUI H.** enseignante au Centre Universitaire d'Ain-Témouchent, qui a bien voulu examiner ce travail et de siéger parmi ce jury.*

*Nos remerciements les plus sincères vont également à Monsieur le chef de service du 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 AFROUL Sid Ahmed** et **Mademoiselle BELABBES Amina** « Merci beaucoup pour à tout ce que vous avez fait pour nous et merci pour vos conseils ».*

Dédicaces

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

A mes très chers parents qui ont été toujours à mes côtés, pour leurs générosités, leur sacrifice et pour leurs soutiens moraux et matériels durant toutes les étapes de ma vie et surtout durant mon parcours éducatif de ma première année primaire jusqu'à maintenant.

Merci beaucoup

A la mémoire de mes grand-mères, Qu'elles reposent en paix.

A ma tendre, gentille et adorable sœur NOR El Houda.

A mes chères cousines Wafaa, Ikram et Lina

Qui m'ont toujours soutenu.

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire. Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fait de votre soutien infaillible,

Merci d'être toujours là pour moi.

A toutes mes chères amies et surtout Naïma, Hadjer et Fatima Zohra, Je les remercie pour le sourire qu'elles ont su toujours dessiner sur mon visage.

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

Et à tous ceux que j'aime.

Wissem

Dédicaces

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

A mes très chers parents qui ont été toujours à mes côtés, pour leurs générosités, leurs sacrifices et pour leurs soutiens moraux et matériels durant toutes les étapes de ma vie et surtout durant mon parcours éducatif de ma première année primaire jusqu'à maintenant.

Merci beaucoup

A la mémoire de mes grands-pères, Qu'ils reposent en paix.

A mes tendres, gentilles et adorables sœurs Rahmouna, Chahinaz et Ilhem.

A ma chère cousine Hafida, qui m'a toujours soutenu.

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire. Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fait de votre soutien infaillible,

Merci d'être toujours là pour moi.

A toutes mes chères amies et surtout Wissem, Hadjer et Fatima Zohra, Je les remercie pour le sourire qu'elles ont su toujours dessiner sur mon visage.

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

Et à tous ceux que j'aime.

Naïma

Table des matières

Liste des abréviations	I
Liste des figures	III
Liste des tableaux	V
INTRODUCTION	1
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
I. Généralité sur les infections nosocomiales	2
1. Définition.....	2
2. Épidémiologie.....	2
3. La Chaine d'infection.....	3
3.1. La source (réservoir).....	3
3.2. L'hôte.....	3
3.3. Modes de transmission.....	3
3.3.1. Infection d'origine endogène.....	4
3.3.2. Infection d'origine exogène.....	4
4. Facteurs de risques des infections hospitalières.....	4
4.1. Facteurs liés aux malades.....	4
4.2. Facteurs liés aux soins.....	5
4.3. Services à haut risque infectieux.....	5
4.3.1. Les infections nosocomiales en médecine interne.....	6
4.3.2. Les infections nosocomiales en pédiatrie	6
5. Fréquence et types d'infections nosocomiaux.....	7
5.1. Les infections urinaires.....	7
5.2. Les infections nosocomiales pulmonaires.....	7
5.3. Les infections du site opératoire.....	8
5.4. Les infections sur cathéter.....	8
5.5. Bactériémie / Septicémie.....	8
5.6. Les infections de la peau et les tissus mous.....	8
5.7. Les infections gastro-intestinales.....	9
5.8. Les infections nosocomiales néonatales.....	9

II. Les agents responsables des infections nosocomiales	10
1. Les virus.....	10
2. Les champignons.....	10
3. Les parasites.....	11
4. Les bactéries.....	11
4.1. Les bactéries commensales.....	11
4.2. Les bactéries pathogènes.....	11
4.3. La résistance bactérienne aux antibiotiques.....	15
4.3.1. Sensibilité aux antibiotiques.....	15
4.3.2. Résistance aux antibiotiques.....	16
III. Prévention et stratégie de lutte contre les infections nosocomiales	16
1. Prévention des infections nosocomiales.....	16
1.1. Mesures générales de prévention.....	16
1.2. Principes généraux de prévention pour les hôpitaux.....	17
1.3. Mesures spécifiques de prévention	17
1.3.1. Prévention des IUN sur sonde	17
1.3.2. Prévention des pneumonies nosocomiales	18
1.3.3. Prévention des infections des sites opératoires	18
1.3.4. Prévention des infections sur cathéter	18
1.3.5. Prévention des bactériémies nosocomiales	18
1.3.6. Prévention des infections gastro-intestinales	19
1.3.7. Prévention des infections néonatales	19
2. Plan de lutte contre les infections nosocomiales.....	19

MATERIEL ET METHODES

1. Présentation de l'établissement hospitalier.....	20
2. Objectif de l'étude.....	20
3. Origine des échantillons.....	21
3.1. Echantillonnage	21
3.2. Conditions et méthode de prélèvement.....	21
4. Enrichissement.....	22
5. Isolement sur les milieux de cultures.....	22
5.1. Isolement à partir des surfaces sèches.....	22
5.2. Isolement à partir de l'air.....	23
5.3. Isolement à partir des urines	23
6. Identification des bactéries.....	24

6.1. Examen macroscopique.....	24
6.2. Examen microscopique.....	25
6.3. Identification biochimique.....	26
6.3.1. Une galerie biochimique classique.....	27
6.3.2. La Galerie API 20E	29
6.3.3. Caractères biochimique des Staphylocoques pathogènes.....	31
7. Etude de la sensibilité aux antibiotiques en milieu solide.....	32

RESULTATS ET DISCUSSION

I. Résultats.....	35
1. Isolement et identification des souches bactériennes.....	35
1.1. Résultats de l'étude macroscopique et microscopique des bactéries.....	35
1.2. Résultats de l'identification biochimique.....	48
1.2.1. Résultats des tests biochimiques classiques	48
1.2.2. Résultats de la galerie API 20E.....	50
1.2.3. Identification des Staphylocoques pathogènes.....	52
1.3. Résultats de l'antibiogramme.....	53
II. Discussion	55

CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	58
--	-----------

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des abréviations

API 20E : Analytical profile index 20E (E= Entérobactéries)

ATB : Antibiotique

BCP : Gélose Bromocrésol Pourpre

BGN : Bacille Gram Négatif

BN : Bouillon Nutritif

CGP : Cocci Gram Positif

CHAP : Gélose Chapman

CHU : Centre Hospitalier Et Universitaire

CLIN : Comités De Lutte Contre Les Infections Nosocomiales

CMI : Concentration Minimale D'inhibition

CTS : Centre De Transfusion Sanguine

ECBU : Examen Cytobactériologique Des Urines

ENP : Enquête nationale de prévalence

GN: Gélose Nutritive

HK: Gélose Hektoen

I : Intermédiaire

IN : Infection Nosocomiale

IND : Indole

ISO : Infection du Site Opérateur

IU : Infection urinaire

IUN : Infection urinaire nosocomiale

MC: Gélose Mac Conkey

MH: Gélose Mueller Hinton

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ONPG: Ortho-nitrophényl- β -D-galactopyranoside

PN : Pneumonie Nosocomial

R : Résistant

S : Sensible

SCN : Staphylocoque à Coagulase Négative

S.d * : Sans date

SEMEP : Service d'Epidémiologie et de Médecine Préventive

TDA : Tryptophane Désaminase

TSI : Triple Sugar Iron

USA : Etats-Unis d'Amérique

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

VP : Voges Proskauer

VRS : Virus Respiratoire Syncytial

μ.O : Micro-Organisme

μg : Microgramme

Listes des figures

N° de figures	Titres	N° de Pages
1	La chaîne de transmission infectieuse	3
2	Schéma des différents modes de transmission des infections nosocomiales.	4
3	Distribution des principaux sites infectieux	9
4	Les types d'agents infectieux	10
5	Schéma de la démarche d'une analyse bactériologique	20
6	Méthode d'ensemencement en quadrants	23
7	Méthode d'ensemencement en stries.	24
8	Morphologies des colonies bactériennes	24
9	Morphologie microscopique des bactéries	25
10	Tests biochimiques classiques.	29
11	Mode opératoire d'une galerie Api 20 E.	30
12	Galerie API 20 E avant et après inoculation.	31
13	Catalogue analytique et la fiche de résultat d'une galerie API 20E.	31
14	Schéma représentant un antibiogramme	33
15	Méthode classique de diffusion d'antibiotiques sur milieu gélosé.	34
16	Disques d'antibiotiques.	34
17	caractères culturels des bactéries isolées à partir du 1 ^{er} prélèvement.	37
18	Aspect microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°1 après coloration de Gram.	37
19	Caractères culturels des bactéries isolées à partir du 2 ^{ème} prélèvement.	38
20	Aspect microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°2 après coloration de Gram.	38
21	Caractères culturels des bactéries isolées à partir du 3 ^{ème} prélèvement.	39
22	Aspect microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°3 après coloration de Gram.	39
23	Caractères culturels des bactéries isolées à partir du 4 ^{ème} prélèvement.	40

24	Aspect microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°4 après coloration de Gram.	40
25	Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du 5 ^{ème} prélèvement.	41
26	Aspect microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°5 après coloration de Gram.	41
27	Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du 6 ^{ème} prélèvement.	42
28	Aspect microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°6 après coloration de Gram.	42
29	Absence de cultures bactériennes sur les quatre milieux de culture à partir du 7 ^{ème} prélèvement.	44
30	Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du 8 ^{ème} prélèvement.	44
31	Aspect microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°8 après coloration de Gram.	44
32	Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du 9 ^{ème} prélèvement.	45
33	Aspect microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°9 après coloration de Gram.	45
34	Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du 10 ^{ème} prélèvement.	46
35	Aspect microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°10 après coloration de Gram.	46
36	Caractères cultureux des bactéries isolées à partir du 11 ^{ème} prélèvement.	47
37	Aspect microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°11 après coloration de Gram.	47
38	Résultats des caractères biochimiques des germes identifiés.	50
39	Galerie API 20 E après incubation et addition des réactifs.	51
40	Fiche des résultats de la galerie API 20E.	51
41	Test catalase Positif.	52
42	Test coagulase positif et négatif.	52
43	Résultats de l'antibiogramme des souches isolées.	54

Liste des tableaux

N° de tableaux	Titres	N° de pages
1	Services à risque à l'hôpital.	6
2	Principaux germes bactériens responsables d'IN.	12
3	Présentation des sites de prélèvement.	21
4	Disques d'antibiotiques utilisés.	33
5	Critères de catégorisation selon les valeurs critiques.	34
6	Résultats des isolements au niveau du service de médecine interne.	36
7	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°1.	37
8	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du prélèvement N°2.	38
9	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du prélèvement N° 3.	39
10	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du prélèvement N°4.	40
11	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du prélèvement N°5.	41
12	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du prélèvement N° 6.	42
13	Résultats des isolements au niveau du service de pédiatrie.	43
14	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du prélèvement N°8.	45
15	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du prélèvement N° 9.	46
16	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du prélèvement N° 10.	46
17	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du prélèvement N°11.	47
18	Espèces bactériennes identifiées.	48
19	Résultats des caractères biochimiques des germes identifiés.	49
20	Résultat de la galerie biochimique API 20 E (urine).	51
21	Le code du germe identifié.	51
22	Résultats des tests enzymatiques des Staphylocoque les plus fréquemment isolées.	52
23	Résultats de l'antibiogramme des souches isolées.	53

Introduction

Les infections nosocomiales constituent un problème de santé public majeur pour tous les établissements de soins. Elles exigent le pronostic des patients hospitalisés en termes de morbidité et de mortalité. L'hôpital est considéré comme un écosystème pour les personnes affaiblies, traumatisées... C'est un lieu où l'on traite mais c'est également un lieu où l'on peut contracter un univers microbien et ainsi le risque de contracter des infections dites "Hospitalières" appelées également infections nosocomiales rançon du progrès en matière de techniques diagnostiques et thérapeutiques.

Selon l'OMS, plus de 1,4 million de personnes hospitalisées dans le monde souffrent de ces infections. Dans les pays développés, ces infections touchent 5 à 10 % des patients. Dans certains pays en développement, le taux le plus élevé de prévalence de ces infections est estimé à 25 %.

En Algérie, des épidémiologistes ont depuis longtemps alerté de la prévalence très élevée des infections nosocomiales dans les établissements de soins algériens.

Parmi les agents responsables de l'infection nosocomiale, on y trouve donc une grande diversité de microbes. Celle-ci est constituée de virus, champignons, parasites et de bactéries qui ont une origine soit endogène ou exogène. Selon l'OMS, les infections nosocomiales sont l'une des causes principales de la morbidité et la mortalité chez les patients hospitalisés ; alors que l'infection nosocomiale constitue un problème de santé publique, réel qui génère un coût économique et humain considérable. Dans les pays en voie de développement tel que l'Algérie, les infections nosocomiales ne cessent d'augmenter sous l'effet d'une pression démographique importante et d'une négligence d'hygiène.

Les infections nosocomiales sont nombreuses et polymorphes. Les sites anatomiques les plus infectés représentent les trois quarts des infections nosocomiales, sont par ordre décroissant : l'appareil urinaire, la voie respiratoire inférieure, les sites opératoires, les bactériémies et l'infection du cathéter. Pour réduire les infections nosocomiales, il est nécessaire de mettre en place des programmes de lutte efficace comme la formation du personnel spécialisé, surveillance active, sensibilisation de la population, modernisation et évolution des méthodes thérapeutiques. S'ajoute à ces mesures des analyses et des contrôles bactériologiques systématiques. C'est dans ce contexte que nous avons entrepris cette étude afin d'identifier les germes responsables de ces infections et de pouvoir comparer entre certains services.

Le manuscrit comprend trois chapitres avec une introduction, une conclusion générale et quelques perspectives.

Le premier chapitre fait une synthèse bibliographique sur les principales infections nosocomiales, la prévention et les stratégies de lutte contre les infections nosocomiales.

Le second chapitre consacré au matériel et méthodes présents sur le site d'étude et décrit les protocoles expérimentaux.

Le troisième chapitre regroupe les résultats et leurs discussions. Enfin, le manuscrit s'achève par la présentation des références bibliographiques et les annexes.

Chapitre I

*Synthèse
Bibliographique*

I .Généralité sur les infections nosocomiales

1. Définition

L'infection est aussi définie comme une pénétration dans un organisme d'un agent étranger (bactérie, virus, champignons, parasite) capable de s'y multiplier et d'y induire des lésions pathologiques. L'infection peut s'accompagner de manifestations cliniques (**Faure, s.d.**).

Nosocomial : vient du grec « nosokomeone », qui signifie "hôpital". Qualifie ce qui se rapporte aux hôpitaux, ce qui se contracte à l'hôpital (**Faure, s.d.**).

Une infection est dite nosocomiale (Infection Nosocomiale) si elle apparaît au cours ou à la suite d'une hospitalisation (prise en charge) d'un patient, et si elle n'était ni présente, ni en incubation au moment de l'admission. Lorsque 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 IN (**Vincent, 2008**).

Ce délai est porté à 30 jours pour les infections nosocomiales sur un site opératoire et jusqu'à l'année suivant la pose d'une prothèse ou d'un implant (**Albrecht, 2015**).

Chez le nouveau-né, une infection acquise après la naissance ou au moins 48 heures après, alors que l'enfant était indemne in utero, est considérée comme nosocomiale. Les infections transmises par voie transplacentaire connue (herpes, toxoplasmose...) et dont les premiers signes se manifestent peu après la naissance ne peuvent donc pas entrer dans cette définition (**Albrecht, 2015**).

2. Épidémiologie

Les infections nosocomiales sont un problème de santé publique préoccupant. Elle affecte un grand nombre de patients dans le monde, ce qui augmente considérablement le taux de mortalité et les pertes financières. En 2009, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), estimait que plus de 1,4 million de personnes hospitalisées dans le monde souffrent de ces infections. Dans les pays développés, ces infections touchent 5 à 10 % des patients (**WHO, 2009**). La prévalence des infections nosocomiales est de 4,5 % aux USA, 10,5 % au Canada, 6,7 % en France et 6 % en Belgique (**Vrijens et al, 2008 ; Samou, 2005**).

En Afrique et dans certains pays en développement, le taux le plus élevé de prévalence de ces infections est estimé à 25,0 % (**Samou, 2005**). Une étude réalisée au Maroc en 2006 a montré un taux d'infections nosocomiales de 17,8 % (**Dridi et al, 2006**). La Tunisie avec un taux de 17,8 % (**WHO, 2009**).

En Algérie, des épidémiologistes ont depuis longtemps alerté de la prévalence très élevée des infections nosocomiales (en Algérie). Selon l'enquête réalisée par la tutelle (Ministère de la santé) en 2005, le taux de prévalence des IN varie entre 7 et 14% en Algérie. A cette occasion, le Dr.TARFANI Youcef, sous-directeur de la prévention hospitalière au ministère de la Santé a signalé que ce taux est deux fois plus important que celui enregistré en France (**Kernane et Khanouche, 2013**).

En 2012, une autre enquête a été réalisée et qui a révélé un taux de prévalence national variant de 12 à 15 %. Un peu plus tard, en 2013, le professeur SOUKEHAL Abdelkrim, chef de service au C.H.U de Beni Messous, déclare à la presse que le taux de ces infections est en état d'aggravation, passant de 15 à 18 % (**Kernane et Khanouche, 2013**).

3. La Chaîne d'infection

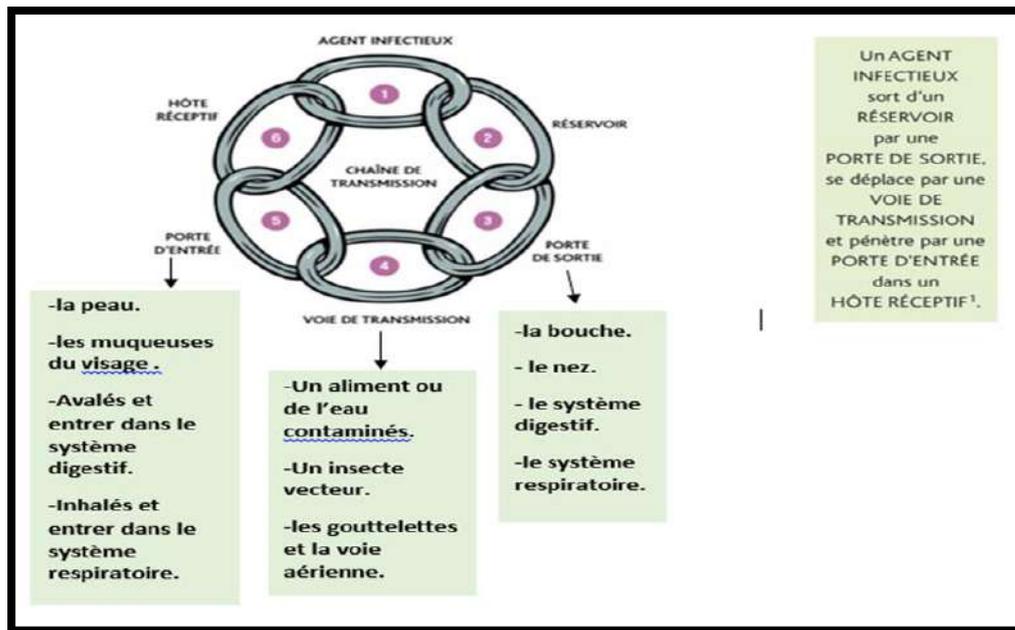


Figure 1 : La chaîne de transmission infectieuse (**Bouchard, 2017**).

Pour que l'infection se développe chez un malade à l'hôpital, il faut que trois éléments se réunissent :

3-1) La source (réservoir) : La source est considérée comme le lieu de contact entre le micro-organisme et l'hôte qui permet la dissémination de l'infection nosocomiale. Les personnes (bénéficiaires, travailleurs et visiteurs) et l'environnement, y compris les équipements, sont les réservoirs les plus fréquents dans les établissements de santé. Toutefois, l'eau, les aliments et les animaux peuvent aussi être des réservoirs (**Bouchard, 2017**).

3-2) L'hôte : Tout malade hospitalisé est peu ou pas immunodéprimé, donc particulièrement susceptible d'être récepteur à l'infection, le patient doit avoir de façon transitoire ou permanente une défaillance de son système de protection contre l'infection (**Mergoud, 2004**).

3-3) Modes de transmission : Les infections nosocomiales sont de deux types.

3-3-1) Infection d'origine endogène

C'est-à-dire que le malade se contamine par ses propres germes. Interviennent alors la situation médicale du patient c'est-à-dire son âge et sa pathologie, ses traitements, la qualité des soins, la présence de germes pathogènes pour certains patients fragilisés. Les infections endogènes représentent 50 % au moins des infections nosocomiales (**Faure, s.d.**)

3-3-2) Infection d'origine exogène

Les infections exogènes : Qui sont soit des infections croisées transmises d'un malade à l'autre, soit des infections provoquées par les germes du personnel de l'hôpital porteur (par les mains ou au contact avec les instruments médicaux), soit des infections liées à la contamination de l'environnement hospitalier. A l'origine de ces infections : (**Faure, s.d.**)

- Un manque de pratiques d'hygiène. Il a été montré que la cause majeure de la transmission des bactéries était le manque d'hygiène (absence de lavage des mains...).
- Les progrès de la médecine et de la chirurgie, avec par exemple des soins et des thérapeutiques de plus en plus agressifs qui peuvent être des sources possibles d'infection.

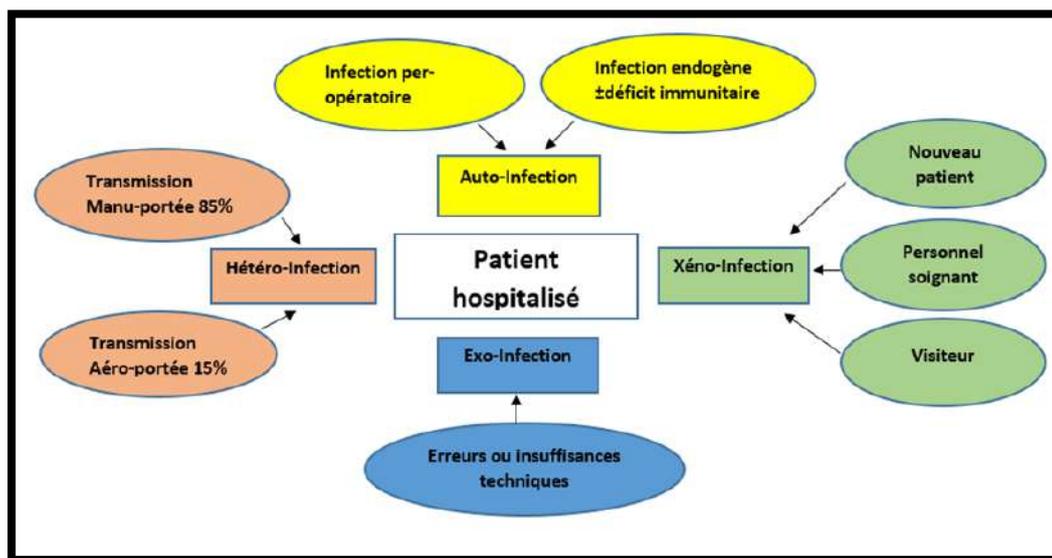


Figure 2 : Schéma des différents modes de transmission des infections nosocomiales.

4. Facteurs de risques des infections hospitalières

4-1) Facteurs liés aux malades : La présence chez les malades de certaines caractéristiques augmente, quelque fois de façon très importante, leur risque d'acquérir une infection nosocomiale.

- Les pathologies chroniques : Diabète, insuffisance rénale, insuffisance hépatique, immunodépression (Aplasie, cancer, sida).

- Les pathologies aiguës : Polytraumatisme, brûlures... .
- Un état nutritionnel perturbé : La dénutrition est un facteur important favorisant tous les sites d'infections et l'obésité favorise les abcès pariétaux post-opératoires.
- L'âge : Avant 1 an et après 65 ans, le risque infectieux est toujours majoré.
- Le sexe : Le risque des infections nosocomiales urinaires est deux fois plus élevé chez la femme, alors que le risque de bactériémie est plus élevé chez l'homme (**Mchich, 2002**).

4-2) Facteurs liés aux soins

- Les actes invasifs : Ils sont liés au traitement du patient (sondage urinaire, pose d'un cathéter, ventilation artificielle ou intervention chirurgicale...) peuvent aussi constituer des facteurs de risque.
- Les insuffisances dans l'organisation des soins

- Hygiène des mains déficiente :

La propreté des mains est obligatoire. Le lavage des mains avec un savon bactéricide à effet rémanent est indispensable.

- Stérilisation inefficace :

La stérilisation est tout procédé permettant l'élimination de toute vie bactérienne sur un objet, un instrument ou dans un liquide. Elle est aussi définie comme une opération appliquée à un produit ou à un objet pour le rendre stérile, c'est à dire débarrasser de tous les microorganismes vivants quelle que soit leur nature.

- Désinfection insuffisante :

La désinfection est une méthode chimique employée pour détruire les microorganismes sur une surface inerte. Nous pouvons aussi la définir comme une opération au résultat momentané, permettant d'éliminer ou de tuer les microorganismes et (ou) d'inactiver les virus indésirables sur des milieux inertes en fonction des objectifs fixés.

- Asepsie insuffisante :

L'Asepsie est une méthode de protection qui consiste à empêcher les germes de parvenir jusqu'à nous.

- Antibiothérapie mal conduite.

4-3) Services à haut risque infectieux

Le tableau ci-dessous représente la distribution des services hospitaliers selon leurs risques infectieux :

Tableau 1 : Services à risque à l'hôpital (CCLIN, 2005).

1	2	3	4
Risques minimales	Risques moyens	Risques sévères	Très hauts risques
<ul style="list-style-type: none"> -Halls . -Bureaux . -Services administratifs. -Service techniques . -Maison de retraite. -Résidence pour personnes âgées . 	<ul style="list-style-type: none"> -Circulations . -Ascenseurs . -Escaliers . -Salle d'attente. -Consultation externe . -Salle de rééducation Fonctionnelle. -Maternité . -Unité d'hébergement pour personnes âgées. -Service long et moyen séjour. -Psychiatrie . -Stérilisation centrale (zone de lavage). -Pharmacie . -Blanchisserie . -Locaux d'entreposage Intermédiaire des déchets ou du linge sale . -sanitaires . 	<ul style="list-style-type: none"> -Soins intensifs. -réanimation . -Urgence . -Salle de "petite chirurgie ". -Salle de soins post-interventionnelle (salle de réveil). -Salle d'accochement . -Nursérie . -Biberonnerie . -Pédiatrie . -Chirurgie . -Médecine . -Hémodialyse. -Radiologie . -Laboratoires . -Exploration fonctionnelle . -Stérilisation centrale (zone de conditionnement). -Salle d'autopsie . 	<ul style="list-style-type: none"> -Néonatalogie . -Bloc opératoire . -Service de greffe . -Service de brûlés .
		Oncologie , oncohématologie, hématologie endoscopie, hémodynamique, imagerie médicale interventionnelle.	

Selon certaines études, les services les plus touchés sont par ordre décroissant : la réanimation, la chirurgie et la médecine interne. Les services à moindre risque sont les services de pédiatrie et de psychiatrie (**Faure, s.d.**).

4-3-1) Les infections nosocomiales en médecine interne

L'apparition d'une infection nosocomiale dans des services de médecine interne est favorisée par la situation médicale du patient. Autrement dit, les infections sont plus fréquentes dans des services de médecine interne où les patients ont souvent subi des actes invasifs et sont particulièrement fragilisés.

4-3-2) Les infections nosocomiales en pédiatrie

Les infections nosocomiales en pédiatrie sont expliquées par le recours à des technologies invasives (ventilation artificielle et surtout alimentation parentérale sur cathéter central) et l'immaturation immunitaire, en particulier chez le nouveau-né (**Yannick et al., 2003**).

Certains facteurs de risque paraissent propres à la pédiatrie : anomalies congénitales ou neuromusculaires, de même les ré-intubations et les déplacements en dehors du service sont des facteurs de surinfection pulmonaire chez les enfants ventilés. Les visites de la famille majorent le risque d'infection virale en cours d'hospitalisation chez les enfants les plus malades (**Dider, 2011**).

5. Fréquence et types d'infections nosocomiales

On distingue pour la plupart des infections nosocomiales : (**Faure, s.d.**)

- Les infections de plaies opératoires superficielles ou profondes.
- Les infections urinaires qui sont les plus fréquentes (bactériurie symptomatique et asymptomatique).
- Bactériémie / septicémie primaire.
- Les infections respiratoires (pneumonie).
- Les infections sur cathéter.

5-1) Les infections urinaires

Les infections urinaires (IU) sont définies de façon clinique par la présence d'au moins un signe parmi les suivants : fièvre (>38°C), impériosité mictionnelle, brûlure mictionnelle ou douleur sus pubienne ... (**Albrecht, 2015**).

Les infections urinaires nosocomiales (IUN) sont les IN les plus fréquentes avec une proportion de 29,9% des IN totales et un taux de prévalence de 1,6%. La mise en place de sonde urinaire constitue le facteur de risque majeur (**Albrecht, 2015**).

Le germe isolé le plus souvent est un *Escherichia coli*, mais la flore se modifie et la distribution écologique est en perpétuelle évolution. Malgré leur caractère habituellement bénin, ces infections nosocomiales ont néanmoins un retentissement sur la mortalité hospitalière (**Butreau et Botto, 1997**).

5-2) Les infections nosocomiales pulmonaires

Les infections nosocomiales pulmonaires regroupent les pneumopathies ainsi que les autres infections des voies respiratoires, comme par exemple : bronchite, bronchiolite... . Deuxième cause d'IN tout site confondu, les IN pulmonaires représentaient 16,7% des IN lors de l'ENP de 2012 (**Albrecht, 2015**).

Pseudomonas aeruginosa multi-résistant est le 1^{er} pathogène mise en cause dans les pneumopathies (18,1%) suivi par *S. aureus* (14,7%). Des entérobactéries résistantes aux Bactamines (*Klebsiella*, *E.coli* ou encore *Enterobacter*) représentent ensemble 19,7% des microorganismes responsables de pneumopathies nosocomiales (**Albrecht, 2015**).

Elles sont liées le plus souvent à la ventilation artificielle réalisée par l'intermédiaire d'une sonde d'intubation. La pose de cette dernière, ainsi que les manipulations, notamment les aspirations trachéales, peuvent faire migrer des micro-organismes jusqu'aux poumons. Ceux-ci peuvent se multiplier et causer une pneumonie nosocomiale (PN) (**Thiolet et al, 2006**).

5-3) Les infections du site opératoire

Les infections du site opératoire (ISO) sont des infections nosocomiales survenant suite à une intervention chirurgicale. Elles dépendent de l'environnement pré-, per- et postopératoire du malade ainsi que de l'équipe soignante, les défenses immunitaires de l'hôte et surtout le niveau de propreté de l'acte chirurgical. Les ISO représentent 13.7% des IN, les classant ainsi en 3^{ème} position des IN les plus fréquentes (**Fournels, 2017**). Les cocci à Gram positifs (*S. aureus*, *Enterococcus sp*) sont responsables de près de 75% des cas (**Avril et Carlet, 1998**). Certaines études ont démontré que 35 % des staphylocoques isolées à l'hôpital sont résistants à la méthiciline.

5-4) Les infections sur cathéter

Les infections sur cathéter représentent environ 20% des infections nosocomiales, les cathéters cutanés sont plus rarement infectés que les cathéters posés après acte chirurgical. Les cathéters périphériques sont plus rarement infectés que les cathéters centraux. Les cathéters sont la porte d'entrée bée d'au moins 30% des bactériémies primitives nosocomiales (**Spicer, 2002**).

En ce qui concerne les micro-organismes impliqués, les staphylocoques à coagulase négatif sont responsables de nombreuses infections, y compris de septicémies.

5-5) Bactériémie / Septicémie

Les bactériémies nosocomiales sont fréquentes, représentant 10% des infections nosocomiales. Elles peuvent être primaires (portes d'entrée vasculaires) ou secondaires (à partir d'un foyer tissulaire). Les bactériémies primaires nosocomiales sont le plus souvent liées à l'infection de cathéter, les bactériémies secondaires sont à partir de pneumopathies et d'infections intra abdominales.

Les septicémies sont des affections graves, responsables d'une morbidité et d'une mortalité significatives à travers le monde. Le taux de mortalité observé varie entre 30 à 50 % des cas. Les germes les plus rencontrés : les bacilles à Gram négatif (BGN), *S. aureus* et *S. epidermidis*.

5-6) Les infections de la peau et les tissus mous

Ce sont des infections caractérisées par une invasion des tissus mous : peau, tissu sous-cutané, aponévrose superficielle ou profonde, muscle. Ces IN représentent 6,7% des IN totales. Le retard de traitement d'une plaie mineure et certains types de plaies, telles que blessures par balle ou arme blanche, fractures ouvertes ou injections intramusculaires, favorisent le développement d'une infection nécrosante. Les facteurs de risque d'infection nécrosante sont, chez l'adulte, l'immunodépression, le diabète, la malnutrition et les vieux ; chez l'enfant, la malnutrition, la varicelle et l'omphalite. La majorité des infections bactériennes cutanées est causée par des bactéries à Gram positif et les deux germes principalement retrouvés sont le *Staphylococcus aureus* et le *Streptococcus pyogenes* (**Balkan et al., 2019**).

5-7) Les infections gastro-intestinales

Les infections gastro-intestinales sont des infections virales, bactériennes ou parasitaires qui provoquent des gastro-entérites, des inflammations du tube digestif touchant l'estomac, l'intestin grêle et le côlon. Les symptômes les plus courants sont la diarrhée, les vomissements et les douleurs abdominales. Ces infections ont souvent été présentées comme mineures par rapport aux autres infections nosocomiales. On les considère comme nosocomiales lorsque les symptômes apparaissent 48 à 72 h après l'hospitalisation. Ce délai d'apparition peut poser problème chez certaines populations spécifiques, comme par exemple les nouveau-nés / jeunes enfants, les patients immunodéprimés et les personnes âgées.

Selon la dernière enquête de prévalence de 2012, les infections nosocomiales du tractus gastro-intestinal représentent un taux de prévalence de 4,8 % (**RAISIN et CCLIN, 2012**). *Clostridium difficile* est responsable de plus de 48% des IN gastro-intestinale (**ECDC, 2011, 2012**).

5-8) Les infections nosocomiales néonatales

Les infections nosocomiales néonatales représentent un problème majeur pour les prématurés et les enfants à terme présentant des troubles médicaux nécessitant une hospitalisation prolongée. Le nouveau-né à terme en bonne santé a un taux d'infection < 1%. Les infections nosocomiales les plus fréquentes sont les infections sanguines associées aux voies centrales et la pneumonie hospitalière.

L'infection est favorisée par les multiples procédures invasives (par ex : cathétérisation artérielle ou veineuse de longue durée, intubation, ventilation spontanée, sonde nasogastrique ou jéjunale). Plus le séjour en unité de soins est long et plus les interventions effectuées sont nombreuses, plus la probabilité d'infection augmente. Chez le nouveau-né à terme, l'infection cutanée due au *Staphylococcus aureus* est l'infection nosocomiale la plus fréquente. Chez les enfants de très petit poids de naissance (< 1500 g), les bactéries Gram positives sont impliquées dans près de 70% des infections, la majorité étant des staphylocoques à coagulase négatif (**Brenda et Tesini, 2018**).

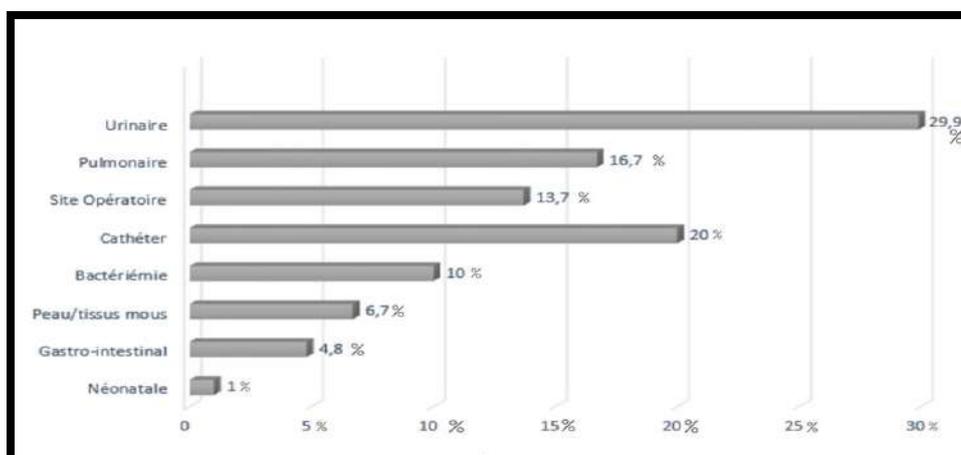


Figure 3 : Distribution des principaux sites infectieux (ENP, 2012).

II. Les agents responsables des infections nosocomiales

Les infections nosocomiales concernent tous les types d'agents infectieux, elles sont le plus souvent d'origine bactériennes et fongiques, virales ou parasitaires.

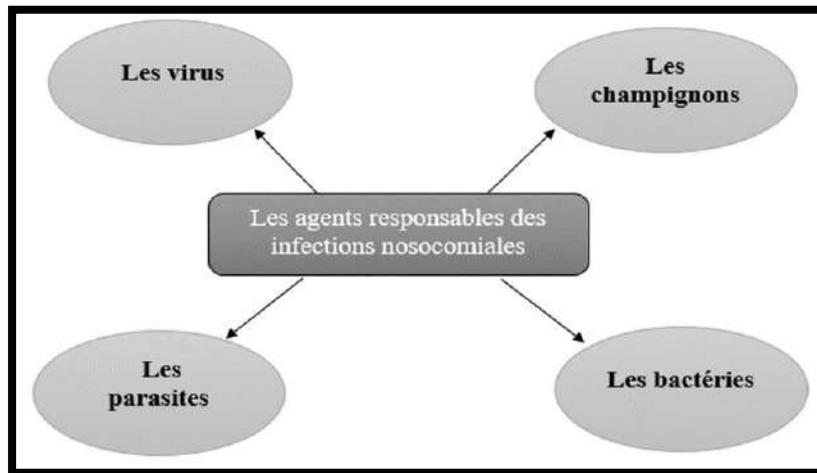


Figure 4 : Les types d'agents infectieux.

1. Les virus

Ce sont des micro-organismes (μo) de petite taille, ils sont obligatoirement parasites de l'hôte qui les héberge (animal, végétal ou être humain) car ils ne peuvent se reproduire qu'à l'intérieur d'une cellule vivante. Les infections virales nosocomiales sont moins connues et leur fréquence est évaluée à 5%.

Il existe une possibilité de transmission nosocomiale pour de nombreux virus, notamment ceux des hépatites B et C (transfusions, dialyses, injections, endoscopies), le virus respiratoire syncytial (VRS), les rotavirus et les entérovirus (transmis par contact main-bouche et par voie féco-orale). D'autres virus comme le VIH, le virus Ebola, les virus grippaux, les virus de l'herpès et le virus varicelle zona (Ducel et al., 2002).

2. Les champignons

Ce sont des micro-organismes (μo) ayant une structure plus complexe, comportant des lipides, des cholestérols et des modes de reproduction plus particuliers, Leur pouvoir pathogène est en relation avec leur pénétration intra-tissulaire. De nombreux champignons se multiplient sous forme filamenteuses, provoquant des destructions tissulaires et des réactions inflammatoires.

Les infections fongiques sont un bon témoin de l'évolution des risques infectieux en milieu hospitalier. Elles sont peu fréquentes et touchent les personnes sévèrement immunes défaillantes. Les agents en cause s'agisse des champignons levuriformes, en particulier des *Candida*, ou des *Aspergillus*. Ces agents infectieux sont avant tout des commensaux ou des saprophytes de notre environnement, à répartition ubiquitaire.

3. Les parasites

Ce sont des êtres vivants qui vivent au dépend d'un autre être vivant supérieur. Sont rares dans les infections nosocomiales, on rencontre dans la plupart des cas, la pneumopathie à pneumocystis, Celle-ci se transmet à l'homme par voie aérienne (**Mergoud, 2004**). Des traitements immunodépresseurs sont parfois responsables de l'évolution grave voire mortelle de certaines parasitoses. Il s'agit le plus souvent d'une toxoplasmose.

4. Les bactéries

Ce sont les plus courants des agents pathogènes. Ce groupe représente 90% des micro-organismes impliqués dans les infections nosocomiales. Parmi ces bactéries, on trouve :

4-1) Les bactéries commensales

Elles sont présentes dans la flore normale des sujets en bonne santé, elles jouent un rôle protecteur significatif en empêchant la colonisation par des micro-organismes pathogènes. Certaines bactéries commensales peuvent provoquer une infection si les défenses immunitaires de l'hôte sont affaiblies. Par exemple, les staphylocoques à coagulase négatif (SCN) cutanés provoquent des infections sur cathéter vasculaire et les *Escherichia coli* présentes dans l'intestin sont la cause la plus courante des infections urinaires (**Michel et al., 2005**).

4-2) les bactéries pathogènes

Elles ont une virulence plus élevée et provoquent des infections (sporadiques ou épidémiques) quel que soit l'état immunitaire de l'hôte. Le tableau ci-dessous représente les principaux germes, ceux qui sont le plus souvent rendus responsables d'infections nosocomiales :

Tableau 2 : Principaux germes bactériens responsables d'IN.

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

		<ul style="list-style-type: none"> - Indoles (+). - ONPG (+). - Mannitol (+). 	<ul style="list-style-type: none"> - Infections intestinales : les entérites (diarrhée aiguë).
<i>Enterobacter sp</i>	<ul style="list-style-type: none"> -Cutanéomuqueuse. - Digestive. - Respiratoire. - Endogène. 	<p><u>Caractères bactériologique :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Bacilles gram négatif. - Anaérobies. - Mobile (flagelle péritriche). <p><u>Caractères biochimiques :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - La fermentation du glucose, donnent une réaction négative à l'épreuve au rouge de méthyle et une réaction positive au test de Voges-Proskauer. 	<ul style="list-style-type: none"> - Pneumopathie. - Suppuration. - Bactériémie. - Infection urinaire.
<i>Proteus sp</i>	<ul style="list-style-type: none"> -Digestive. -Endogène. 	<p><u>Caractères bactériologique :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Bacilles à Gram négatif polymorphes. - Très généralement mobiles. <p><u>caractères biochimiques :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Glucose(+) ; ind (-) Lactose(-) ; ONPG(-) ; Mobilité(+) ; H₂S(+) ; uréase(+) ; TDA(+) ; VP- donc RM (+) ; Saccharose(-). 	<ul style="list-style-type: none"> -Infection cutanée, surinfection des plaies chirurgicales des brûlures. -septicémie grave chez le nouveau-né). - Infection des voies respiratoires chronique supporté sinusites, et infection broncho pulmonaire.
<i>Klebsiella sp</i>	<ul style="list-style-type: none"> -Cutanéomuqueuse. - Digestive. - Respiratoire. - Endogène. 	<p><u>Caractères bactériologique :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Bactéries Gram négatif. - Forme bâtonnet. - Non mobile. - Généralement encapsulées. <p><u>caractères biochimiques :</u></p> <p>Ces bactéries produisent de la lysine-décarboxylase, mais pas d'ornithine-décarboxylase.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Suppuration. - Bactériémie. - Pneumopathie. - Infection urinaire.

<p><i>Salmonella enterica</i> (typhi, paratyphi)</p>	<p>- Digestive.</p>	<p><u>Caractères bactériologique :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Bacille à Gram négatif. - Mobile. <p><u>Caractères biochimiques :</u></p> <p>Catalase (+) ; Oxydase (-) lactose (-) ; H₂S (+) ; uréase(-).</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Fièvres typhoïde et paratyphoïdes. - Toxi-infections alimentaires.
<p>AUTRES BACILLES A GRAM NEGATIF</p>			
<p><i>Pseudomonas aeruginosa</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> -Cutanéomuqueuse. - Digestive. - Respiratoire. - Endogène. 	<p><u>Caractères bactériologique :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Bacilles à gram négatif. - <i>Pseudomonas aeruginosa</i> doit son nom à sa pigmentation liée à la production des pigments hydrosolubles. - Mobile par flagelle polaire. <p><u>caractères biochimiques :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>P. aeruginosa</i> possède une catalase, un cytochrome oxydase et une arginine dihydrose. 	<ul style="list-style-type: none"> - Pneumopathie. - Infection urinaire. - Infection de la peau et des parties molles (plaie, brûlure). - Bactériémie. - Suppuration.
<p><i>Acinetobacter sp</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> -Cutanéomuqueuse. -Digestive. 	<p><u>Caractères bactériologique :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - bacilles courts à gram négatif souvent en diplocobacilles. - Aérobie stricts. - Immobiles, souvent encapsulés. <p><u>caractères biochimiques :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - catalase (+). - Oxydase (-). - ne réduisent pas les nitrates. 	<ul style="list-style-type: none"> - Pneumopathie. - Bactériémie.
<p>COCCI A GRAM POSITIF</p>			
<p><i>Staphylococcus aureus</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> -Cutanéomuqueuse. - Percutanée - Digestive 	<p><u>Caractères bactériologique :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Les staphylocoques sont des cocci à gram positif en amas, en diplocoques en courtes 	<ul style="list-style-type: none"> - Staphylococcie. - Infection de la peau et des parties molles (plaie, brûlure). - Pneumopathie.

	<ul style="list-style-type: none"> - Respiratoire - Endogène 	<p>chainettes, voir engrappetypique.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Sont des bactéries aérobies anaérobies facultatives. - Ils sont immobiles, a sporulés, parfois capsulés. <p><u>Caractères biochimiques :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Catalase(+). - Coagulase (+). - Mannitol (+). 	<ul style="list-style-type: none"> - Bactériémie, septicémie. - Infection urinaire. - Infection osteo-articulaire. - Infection sur cathéter et sur prothèse. - Toxi-infection alimentaire.
<p>Staphylococcus à coagulase negative (<i>S. epidermidis</i>)</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Cutanéomuqueuse. - Percutanée. - Endogène. 	<p><u>Caractères bactériologique :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Cocci à gram positif - - Anaérobie facultative.- - - Petites colonies blanches ou beiges. <p><u>Caractères biochimiques :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Catalase(+). - Coagulase (-). - Mannitol (-) 	<ul style="list-style-type: none"> - Staphylococcie. - Bactériémie. - Infections sur cathéter et sur prothèse.
<p><i>Streptococcus pneumoniae</i> (pneumocoque)</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Respiratoire. - Endogène. 	<p><u>Caractères bactériologique :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Cocci à Gram positif - Diplocoque, courtes chaînettes. - Non sporulé ; immobile ; capsulé. <p><u>Caractères biochimiques :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Catalase (-). - Oxydase (-). 	<ul style="list-style-type: none"> - Pneumonie. - Bronchite. - Infections ORL. - Bactériémie. - Méningite. - Arthrite.

4-3) La résistance bactérienne aux antibiotiques

4-3-1) Sensibilité aux antibiotiques

Chaque antibiotique (ATB) est caractérisé par son spectre d'activité qui correspond aux différentes espèces bactériennes susceptibles d'être sensibles à son action. Selon les antibiotiques, le spectre est limité ou large. Par exemple, la pénicilline G a un spectre limité aux bactéries à Gram positif et aux coques à Gram négatif (**Fong et Drlica, 2008**).

4-3-2) Résistance aux antibiotiques

Une souche bactérienne est considérée résistante à un ATB donné, lorsqu'elle est capable de croître en présence de cet ATB, à une concentration significativement plus élevée que celle normalement active sur les souches sensibles de cette espèce.

- La résistance aux antibiotiques peut résulter de plusieurs mécanismes (**Mainardi, 2018**).
 - Production d'une enzyme modifiant ou détruisant l'antibiotique.
 - Modification de la cible de l'antibiotique.
 - Imperméabilisation de la membrane de la bactérie.
- Types de résistance

Les résistances bactériennes aux antibiotiques peuvent être naturelles ou acquises.

Certaines bactéries sont naturellement résistantes à des antimicrobiens. Plus préoccupante, la résistance acquise concerne l'apparition d'une résistance à un ou plusieurs antibiotiques chez une bactérie auparavant sensible. Ces résistances peuvent survenir via une mutation génétique affectant le chromosome de la bactérie, ou bien être liées à l'acquisition de matériel génétique étranger porteur d'un ou plusieurs gènes de résistance en provenance d'une autre bactérie (**Mainardi, 2018**).

III. Prévention et stratégie de lutte contre les infections nosocomiales

Chaque établissement hospitalier dispose d'un comité de lutte contre les infections nosocomiales (CLIN) lequel est chargé d'organiser et de coordonner la surveillance, la prévention et la formation continue en matière de lutte contre les infections. Il est composé de médecins, pharmaciens, infirmières et directeurs d'établissement. Le CLIN est assisté, dans la plupart des établissements de santé, de personnels d'hygiène hospitalière (**Faure, s.d.**).

1. Prévention des infections nosocomiales

1-1) Mesures générales de prévention

1-1-1) L'antisepsie : Opération au résultat momentané permettant au niveau des tissus vivants dans la limite de leur tolérance, d'éliminer ou de tuer les micro-organismes (**Cronin et Tietjen, 1992**).

1-1-2) La décontamination : C'est éliminer, tuer, ou inhiber les micro-organismes indésirables, et diminuer leur nombre sur le matériel utilisé (**Cronin et Tietjen, 1992**).

1-1-3) La désinfection : Elle permet d'éliminer la plupart des micro-organismes à l'origine des maladies sur le matériel utilisé (**Cronin et Tietjen, 1992**). Les désinfectants chimiques sont le plus fréquemment employés.

1-1-4) La stérilisation : C'est l'ensemble des méthodes permettant de tuer les micro-organismes vivants (**Cronin et Tietjen, 1992**).

1-2) Principes généraux de prévention pour les hôpitaux (**Cronin et Tietjen, 1992**).

- Les bâtiments : Ils doivent être dans les normes par leurs surfaces, leur aération ; ils doivent être nettoyés et désinfectés matin et soir. Nettoyage et désinfection sont donc complémentaires aucune désinfection n'est possible si elle n'a été précédée d'un nettoyage efficace.
- Hygiène du personnel : Il faut insister sur la formation et l'éducation du personnel socio sanitaire dans le respect strict des règles d'hygiène et de fonctionnement des services. Une coiffe enveloppant la totalité de la chevelure est souhaitable et même indispensable dans certains services, la coiffe est destinée à éviter que les cheveux et les poussières dont ils sont le support ne contaminent les patients.
- La propreté des mains : L'objectif est de prévenir la transmission manuportée, éliminer la flore transitoire et de diminuer la flore commensale. Le lavage des mains avec un savon bactéricide à effet rémanent est indispensable à chaque reprise de travail, après l'usage des toilettes. De façon générale, après toute opération susceptible de les contaminer.
- Le port de gants et des blouses à manches longues ou courtes : Il est nécessaire lors de tout contact avec un liquide biologique (sang, urines, ...) afin de prévenir le risque infectieux et de protéger le personnel soignant.
- La tenue professionnelle : Elle doit être changée quotidiennement et à chaque fois qu'elle est souillée.
- Les isolements : Les mesures d'isolement ont pour objectif d'établir des barrières à la transmission des micro-organismes : d'un patient à un autre patient ; d'un patient à une personne soignante ; d'une personne soignante à un patient ; de l'environnement au patient.
- Le déchet : Pour prévenir le risque infectieux, les déchets hospitaliers doivent être éliminés selon certaines procédures.
- Les sacs noirs sont utilisés pour des déchets assimilables aux ordures ménagères.
- Les sacs jaunes sont utilisés pour les déchets d'activité de soins à risque infectieux.

1-3) Mesures spécifiques de prévention

1-3-1) Prévention des IUN sur sonde : (**Katlama, 2003**)

- Limiter l'indication du sondage.
- Respect des règles générales d'hygiène : lavage des mains avant et après les soins au malade sondé.
- Pose aseptique de la sonde.
- Le système de drainage doit être clos.

1-3-2) Prévention des pneumonies nosocomiales (PN) : (**Philippe et al., 2016**)

- Eviter l'intubation et de réduire sa durée.

- L'utilisation de la ventilation non-invasive pour éviter l'intubation a fait la preuve de son utilité en réduisant la fréquence des PN.

- Prévention de la colonisation de la sonde d'intubation.
- Réduction des micro-inhalations.

1-3-3) Prévention des infections des sites opératoires : (Katlama, 2003)

➤ Préopératoire :

- Il faut limiter le plus possible la durée du séjour préopératoire.
- Les infections préexistantes doivent être dépistées et traitées.
- Dépilation (tondeuse ou crème épilatoire) au plus proche de l'intervention.

➤ Per-opératoire :

- Savonnage antiseptique de la zone opératoire puis rinçage.
- Asepsie chirurgicale.
- Environnement maîtrisé.

➤ Post-opératoires :

- Soins post-opératoires, surveillance.

1-3-4) Prévention des infections sur cathéter : (Katlama, 2003)

- Protocole écrit de pause et d'entretien.
- Préférer les matériels métalliques ou en téflon.
- Asepsie rigoureuse lors de la pause.
- Pansement occlusif stérile.
- Changement de l'abord veineux systématique toutes les 72 heures.
- Fixation efficace du cathéter.

1-3-5) Prévention des bactériémies nosocomiales : (Vaud, 2018)

Les mesures de prévention des bactériémies nosocomiales doivent être discutées à la lumière de cette interprétation : elles comprennent des mesures spécifiques au patient, aux soins apportés, ainsi qu'aux germes le plus souvent responsables d'infections bactériémiques.

1-3-6) Prévention des infections gastro-intestinales : (Biomérieux, s.d.)

Les meilleurs moyens de prévenir les infections gastro-intestinales comprennent :

- Un bon lavage des mains.
- Désinfection des surfaces contaminées avec de l'eau de javel.

- Lavage de vêtements sales.
- Identifier les patients infectés dès que possible pour mettre en œuvre un contrôle étendu des infections.

1-3-7) Prévention des infections néonatales : (Jacqueline et Lyonel, 2017)

- L'asepsie de tous les gestes, même les plus anodins, pour tous les soins donnés au nouveau-né.
- Le matériel stérile à usage unique est un progrès important à cet égard.
- Dans les services hospitaliers, il faut se laver les mains avant et après chaque manipulation d'enfants.
- Stériliser les biberons et les tétines.

2. Plan de lutte contre les infections nosocomiales

L'objectif d'un tel plan est de réduire les infections nosocomiales et la fréquence des bactéries multi-résistantes aux antibiotiques. En effet, le ministère de la santé a pour objectif de diminuer les taux d'infection nosocomiale afin d'atteindre un faible pourcentage. Plusieurs axes sont à prendre en compte dans cette lutte contre les infections nosocomiales : **(Faure, s.d.)**

- L'instauration obligatoire des comités de lutte contre les infections nosocomiales (CLIN) dans les cliniques privées, au même titre que l'obligation à laquelle sont soumis les hôpitaux.
- La mise en place de documents de référence sur les précautions à prendre à l'égard des patients atteints de maladies infectieuses et sur la désinfection des dispositifs médicaux.
- Un plan d'inspection lancé dans l'ensemble des régions pour contrôler l'application des procédures et des bonnes pratiques.
- Des moyens budgétaires consacrés aux actions spécifiques d'hygiène dans les hôpitaux (formation du personnel).
- Un mécanisme de recueil et de signalement des infections nosocomiales.
- La surveillance épidémiologique des infections nosocomiales par des experts rendant compte de la situation de chaque service.

Chapitre II

Matériel et Méthodes

1. Présentation de l'établissement hospitalier

L'Etablissement hospitalier de Hammam Bouhadjar a été créé en 1995. Il est situé à 2 Km au Sud de la Daïra de Hammam Bouhadjar, avec une superficie d'environ 4 hectares. La capacité de l'établissement est de 144 lits. L'établissement regroupe une cinquantaine (50) de médecins entre généraliste et spécialiste et une centaine (100) de soignants (infirmiers et aide soignants) et 11 chefs de service. Tous ces personnels sont sous la direction de Monsieur ABED Mohamed. L'hôpital dispose de 11 services, il s'agit du service de la chirurgie, la réanimation, le bloc opératoire, la médecine interne, la maternité, la pédiatrie, l'hémodialyse, la radiologie, le CTS (centre de transfusion sanguine), la pharmacie et de 02 laboratoires (laboratoire d'analyse bactériologique et laboratoire d'hématologie).

2. Objectif de l'étude

Notre travail comporte une série d'étude basée sur des méthodes de recherche et d'identification des divers groupes de micro-organismes bactériens. Ce travail a été réalisé depuis 01/03/2020 jusqu'au 19/03/2020 dans un environnement hospitalier et sur différents individus (patients hospitalisés et personnels soignants) au niveau de deux services (médecine et pédiatrie) de l'hôpital BERREBI Abdelkader ; Daïra de Hammam Bouhadjar wilaya de Ain-Témouchent. Le travail avait pour but d'isoler, purifier et identifier les germes bactériens responsables d'infection nosocomiale. Le protocole de travail suivi est présenté dans la figure ci-dessous :

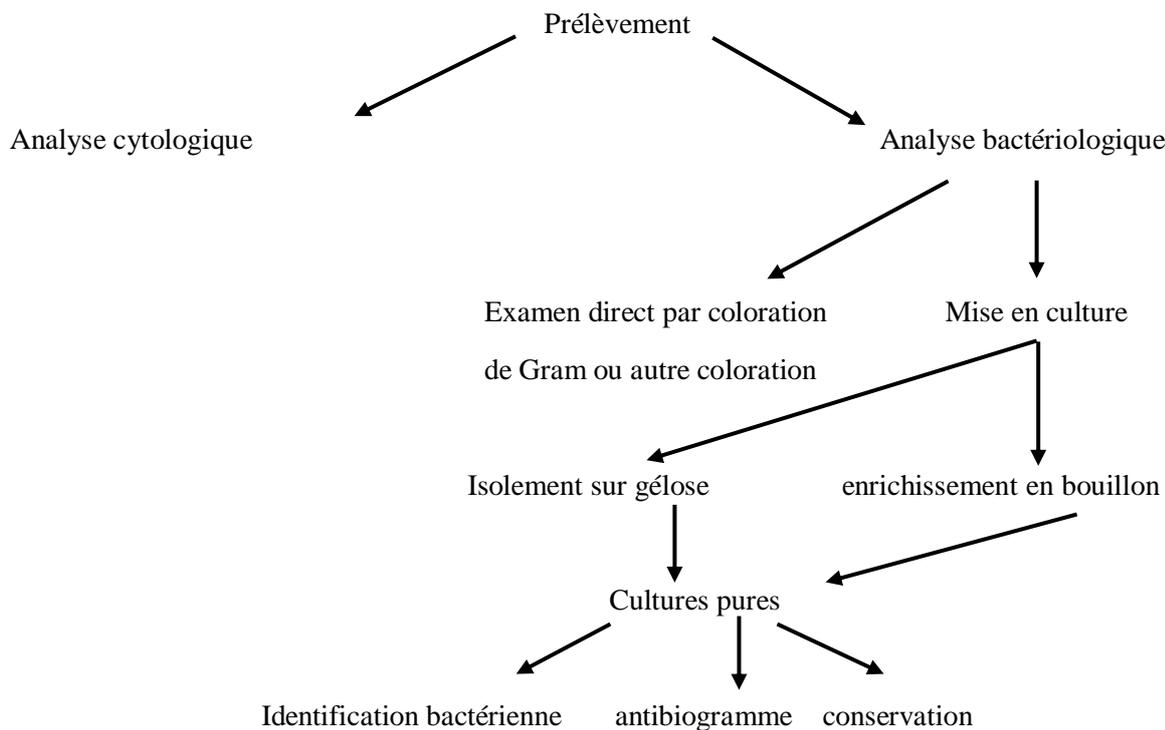


Figure 5 : Schéma de la démarche d'une analyse bactériologique.

L'analyse d'un prélèvement effectué dans un but diagnostique est en règle générale une analyse à la fois cytologique et bactériologique.

3. Origine des échantillons

3-1) Echantillonnage

Les échantillons ont été prélevés à partir de deux services de l'hôpital (service de médecine et de pédiatrie) en affectant plusieurs endroits, présentés selon le tableau ci-dessous :

Tableau 3 : Présentation des sites de prélèvement

Numéro de prélèvement	Site de prélèvement
Service de médecine interne	
01	Table de nuit
02	Chariot de soins
03	L'air de la salle d'isolement
04	Cathéter veineux
05	Potence à sérum
06	Gants du personnel soignant
Service de pédiatrie	
07	Couveuse bébé
08	Le lit du patient
09	Pèse bébé
10	Le mur de la salle
11	L'urine (enfant)

3-2) Conditions et méthode de prélèvement

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

Des surfaces sèches : Les prélèvements sont effectués à partir d'écouvillon stérile rigoureuse, dans des tubes contenant de bouillon nutritif en respectant les conditions et en mentionnant le numéro de prélèvement et le service concerné.

Soit à partir de l'air (salle d'isolement) : Une boîte de gélose nutritive (GN) est exposée ouverte pendant 24h 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 selon la technique dite « milieu de jet » et selon des règles strictes qui conditionnent la qualité de l'étude cyto bactériologique des urines ECBU (**Wilson 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.

Technique de prélèvement

Prélèvement urinaire : La récolte aseptique des urines est indispensable.

- Chez la femme : Lavage et désinfection des organes génitaux externes d'avant en arrière à l'aide d'un antiseptique tel que le Dakin. Recueil alors des urines du deuxième jet dans un flacon stérile.
- Chez l'homme : Désinfection du méat urétral et le gland à l'aide d'un antiseptique peut irritant (Dakin), rinçage abondant à l'eau stérile et déclenchement de la miction 5 à 10 secondes après. Présenter le flacon sous le jet urinaire jusqu'à obtenir une quantité suffisante.
- Chez l'enfant et le nourrisson : Désinfection des organes génitaux externes et leur voisinage à l'aide de 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. Enlever dès que la miction aura lieu. Le contenu doit êtreensemencé immédiatement.

4. Enrichissement

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

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

5 . Isolement sur les milieux de cultures

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 (**Annexe 01**). Les principaux milieux qui servent à l'isolement des germes de surfaces sèches après avoir fait l'enrichissement sont :

- Gélose nutritif (GN), par ensemencement en stries.
- Gélose Mac Conkey (MC), par ensemencement en quadrants.
- Gélose Hektoen (HK), par ensemencement en quadrants.
- Gélose Bromocresol Pourpre (BCP), par ensemencement en quadrants.
- Gélose Chapman (CHAP), par ensemencement en quadrants.

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

5-2) Isolement à partir de l'air

Les boîtes de Pétri contenant de la GN ont été exposées pendant 24h à l'atmosphère est incubée directement dans une étuve à 37°C pendant 48h. Après l'incubation on fait un repiquage des colonies dans les milieux suivants : MC, BCP, CHAP. L'ensemencement se fait par la méthode des quadrants et leur incubation à 37°C pendant 24h.

5-3) Isolement à partir des urines

L'isolement des germes à partir des urines se fait essentiellement sur les milieux : GN, MC, HK, CHAP. L'ensemencement se fait par la méthode de stries et leur incubation à 37°C pendant 24h. Les boîtes 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, dans une étuve réglée à la température adéquate.

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 copacées.

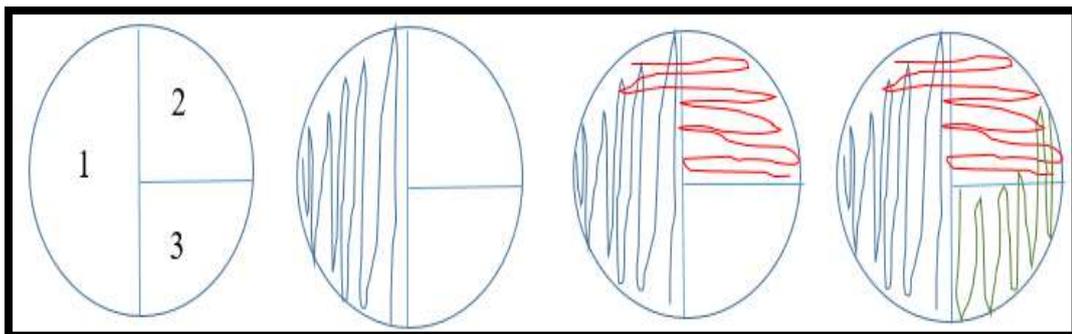


Figure 6 : Méthode d'ensemencement en quadrants.

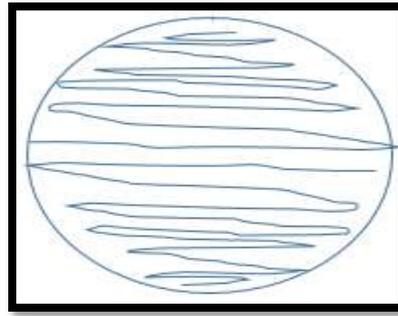


Figure 7 : Méthode d'ensemencement en stries.

6. Identification des bactéries

Une bactérie ne peut être identifiée qu'une fois isolée et obtenue à l'état pur. Les méthodes d'étude des bactéries sont multiples et se perfectionnent sans arrêt. Ces techniques sont nombreuses car chaque groupe de bactérie exige ses propres milieux de culture.

6-1) Examen macroscopique

L'observation de l'aspect macroscopique des colonies 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 clés d'identifications macroscopiques sont :

- l'aspect morphologique : la forme des colonies : rondes, irrégulières,...etc.,
- la taille des colonies par la mesure du diamètre,
- la couleur de la colonie,
- l'élévation : convexe, concave, plate,
- l'opacité : opaque, translucide ou transparente,
- la surface : lisse, rugueuse, sèche, dentelée,...etc (Joffin et Leyral, 2006).

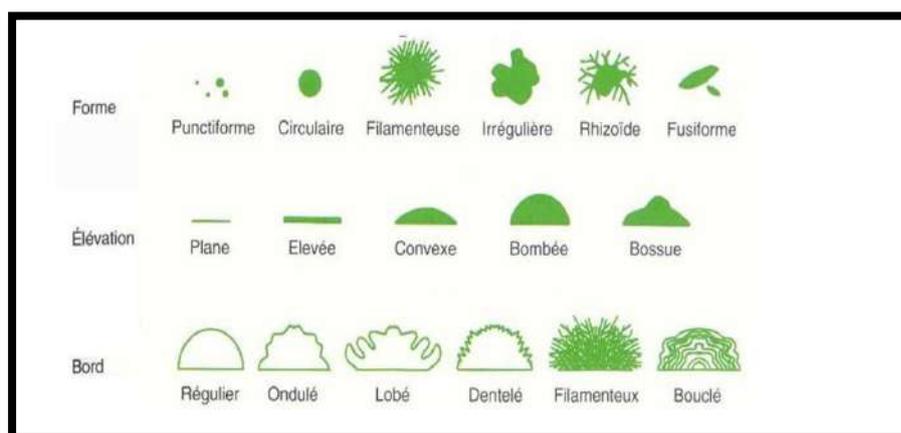


Figure 8 : Morphologies des colonies bactériennes (Prescott et al., 2003).

6-2) Examen microscopique

L'examen microscopique en bactériologie peut être effectué sans coloration de l'échantillon par observation directe entre lame et lamelle (technique de l'état frais) ou bien après coloration de l'échantillon. Cet examen renseigne sur la présence de bactéries confirmant l'origine bactérienne d'une infection. L'examen microscopique est une étape clé dans la démarche diagnostique des infections bactériennes. L'observation microscopique consiste à observer les cellules bactériennes au microscope optique. Cette observation permet de connaître la forme, la mobilité, vérifier la pureté ainsi que la nature biochimique de la paroi des cellules purifiées.

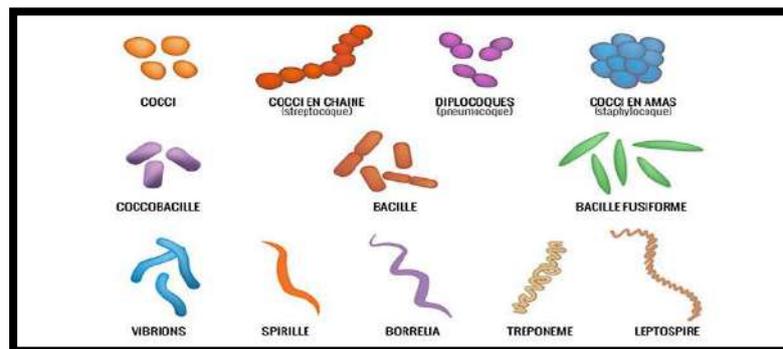


Figure 9 : Morphologie microscopique des bactéries (Heart et Shears, 2006).

A) Examen direct à l'état frais

Les méthodes fondées sur la technique de l'état frais correspondent à l'observation d'un matériel biologique ou d'une suspension bactérienne entre lame et lamelle sans fixation préalable du matériel par la chaleur. Cet examen concerne une observation au microscope optique à l'objectif 40 de l'état frais des colonies après obtention d'une culture bactérienne issue de n'importe quel prélèvement.

Technique de l'état frais : C'est une méthode rapide qui consiste à observer entre lame et lamelle une suspension bactérienne à l'objectif 40. Les renseignements obtenus par cette technique concernent principalement la mobilité des bactéries.

B) Examen microscopique après coloration

Les techniques les plus communément utilisées en bactériologie médicale font appel à des colorants. La préparation est fixée sur une lame puis colorée.

➤ Préparation d'un frottis :

-Déposer une goutte d'eau stérile sur une lame propre.

- Faire étaler avec une anse de platine ou une pipette pasteur une colonie bactérienne sur la goutte d'eau de façon circulaire.
- Réaliser le frottis par un doux étalement.
- Sécher et fixer le frottis devant un bec bunsen.

➤ Plusieurs types de colorations existent :

- Coloration non différentielle (Coloration au bleu de méthylène)

La coloration au bleu de méthylène est réalisée en faisant couler quelques gouttes de bleu de méthylène sur un frottis bactérien correctement fixé sur lame. Le temps de contact entre le colorant et le frottis est généralement une minute. La lame est ensuite rincée à l'eau du robinet, séchée entre deux feuilles de papier buvard, puis observée à l'immersion. Les structures colorables apparaissent bleues. Cette méthode n'est que peu informative.

- Coloration différentielle (coloration de Gram)

C'est la coloration de référence en bactériologie. Elle est réalisée comme suit : Cette coloration s'effectue sur une lame dégraissée et séchée à partir d'un frottis bactérien. Après étalement et séchage au bec bunsen, le frottis est recouvert avec une quantité suffisante de solution de violet de gentiane, ensuite on laisse au contact de l'air pendant une minute en inclinant la lame afin d'éviter un dépôt de colorant. On rejette le violet de gentiane et on lave la lame à l'eau. On recouvre la préparation avec la solution de lugol et on laisse agir pendant 30 à 45 secondes. On rejette le lugol et on lave à l'eau puis à l'alcool éthylique à 95° avec délicatesse (en maintenant la lame en oblique et on verse l'alcool goutte à goutte jusqu'à ce qu'il devienne incolore). On passe la lame sous l'eau de robinet ensuite on recolore avec la fuchsine quelques secondes à une minute, puis on lave à l'eau. On sèche la lame entre deux papiers joseph et on examine sous un objectif à immersion (X 100). (**Annexe 03**).

Lecture : Bactérie Gram positive : Coloration violette.

Bactérie Gram négative : Coloration rouge-rose.

6-3) Identification biochimique

Les tests biochimiques sont indispensables pour obtenir l'identification d'une bactérie. Les méthodes biochimiques reposent sur la recherche d'enzymes responsables de certaines réactions biochimiques, sur l'utilisation d'un substrat particulier ou la présence de produits spécifiques issus du métabolisme intermédiaire. Pour l'identification biochimique, on a utilisé :

6-3-1) une galerie biochimique classique ; Parmi les tests effectués : (**Annexes 02 et 04**)

- **TSI (Triple Sugar Iron.)** : Trois sucres internationaux, c'est un milieu gélosé qui nous fournit cinq renseignements principaux : le lactose, le glucose, le saccharose, H₂S et le Gaz.

Principe : Ce milieu permet de confirmer la fermentation du glucose et d'orienter l'identité du genre, l'étude de l'attaque du lactose et du saccharose et la production d'H₂S et du gaz.

Technique : La méthode consiste à ensemencer le culot des tubes à essai contenant le milieu incliné par piqûre (par pipette ou à l'aide d'une anse stérile) ensuite la pente du milieu en stries longitudinales. Les tubes sont incubés à 37 °C pendant 24 h. après le délai d'incubation, les modifications de milieu se traduisent de la façon suivante :

Lecture : 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 poche gazeuses décollant le culot.

- **Mannitol mobilité** : ce milieu est une gélose moelle contenant du mannitol et un indicateur de pH, le rouge phénol. Ce milieu permet d'apprécier simultanément la fermentation du mannitol par virage au jaune et la mobilité du germe. Donc, le principe est la dégradation du mannitol par les bactéries et voir la mobilité de ces bactéries.

Technique : Les tubes contenant le milieu sont ensemencés par piqure centrale à l'aide d'un fil bien droit ou une pipette de pasteur fermée chargée de culture en milieu solide ou liquide. L'incubation se fait à 37 °C pendant 24 heures.

Lecture : La fermentation du mannitol entraîne le virage au jaune du milieu. Les bacilles mobiles diffusent à partir de la ligne d'ensemencement en créant un trouble du milieu.

- **Citrate de Simmons**

Principe : le milieu contient le citrate comme source de carbone. Seules les bactéries possédant un citrate perméase sont capables de se développer sur ce milieu.

Technique : Les tubes contenant le milieu sont ensemencés en stries serrées au moyen d'une anse de suspension bactérienne. Les tubes sont ensuite incubés pendant 24 h à 37°C.

Lecture : Citrate de Simmons positif : Culture avec alcalinisation du milieu (virage de l'indicateur au bleu).

Citrate de Simmons négatif : Coloration verte du milieu inchangée.

- **Milieu Urée Indole** : Le principe consiste à mettre en évidence l'uréase, seules les bactéries à uréase suffisamment active donne une réaction positive, ceci est réalisé à partir d'une suspension bactérienne aussi dense que possible de la gélose nutritive dans 1 ml du milieu urée-indole. Après incubation à 37°C pendant 24 h.

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

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

Production d'indole : A partir de la gélose nutritive on a ensemencé des tubes d'eau peptonée exempt d'indole. Les tubes sont incubés à 37 °C pendant 24 h. Après incubation, la recherche de l'indole est effectuée par l'ajout de quelques gouttes de réactif de Kovacs. On agite et on laisse le réactif remonter en surface.

Lecture immédiate : Réaction indole positive : anneau en surface rouge vermillon

Réaction indole négative : anneau brunâtre (teinte originelle du réactif)

- **Recherche de l'ONPG**

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

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

Lecture : ONPG positif : la suspension se colore en jaune citron.

ONPG négatif : pas de coloration.

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

- **Recherche de la décarboxylases des acides aminés**

- Recherche de la lysine décarboxylase (**LDC**)

- L'ornithine décarboxylase (**ODC**)

- L'arginine dihydrolase (**ADH**)

Technique : On introduit dans 3 tubes, 2 à 3 gouttes de la suspension bactérienne, ensuite on additionne dans chaque tube 01 ml des acides précédemment cités (dans le premier : 01 ml de LDC, le second tube : 01 ml d'ODC et le troisième tube : 01 ml d'ADH). On recouvre ensuite la surface de chaque tube d'une mince couche d'huile de vaseline (paraffine) stérile d'environ 15 ml de hauteur. Les tubes sont incubés dans une étuve à 37°C, pendant 24 h. Après incubation :

Lecture :

-LDC : Coloration jaunâtre : Réaction négative (acidification du milieu)

Coloration violette : réaction positive, il y a eu décarboxylation de la lysine, l'indicateur prend cette teinte par alcalinisation secondaire due à la diamine formée.

-ODC : Coloration jaunâtre : pas de modification, réaction négative.

Coloration violette foncée : réaction positive, il y a eu décarboxylation de l'ornithine.

-ADH : Virage au violet de l'indicateur : Réaction positive. Ce test sert à tester la dégradation de l'arginine, qui donne une première réaction dans laquelle elle est décarboxylée en agmatine ; une dihydrolase transforme secondairement l'agmatine en tétraméthylène-diamine ou putrixine.

Virage au jaune de l'indicateur coloré : Réaction négative (acidification du milieu).



Figure 10 : Tests biochimiques classiques.

6-3-2) La Galerie API 20E

Un système standardisé pour l'identification des Entérobactéries et autres bacilles à Gram négatif, comprenant 20 tests biochimiques standardisés et miniaturisés, ainsi qu'une base de données ont été effectués.

- **Principe**

La galerie API 20E comporte 20 micro-tubes contenant des substrats sous forme déshydratée. Les tubes contenant différents milieux sont inoculés avec une suspension

bactérienne. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

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

- **Mode opératoire**

Le mode opératoire est effectué selon les étapes suivantes :

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- On introduit la suspension bactérienne dans chaque tube à l'aide d'une pipette pasteur stérile, on distingue 3 types de remplissage :
 - ✓ Pour les tubes qui sont marqués par des caractères ni soulignés, ni encadrés. On remplit seulement le tubule.
 - ✓ Pour ceux qui ont marqués par caractères soulignés .On remplit seulement le tubule et on le ferme avec 3 gouttes d'huile de paraffine (ADH, ODC, LDC, H₂S, URE).
 - ✓ Pour les tubes qui sont marqués par des caractères encadrés .On remplit le tubule et la cupule (CIT, VP, GEL).

Au total, nous avons effectué une vingtaine de tests biochimiques (Galerie API 20E). La boîte d'incubation est refermée puis placée dans une étuve à 37°C pendant 24h.

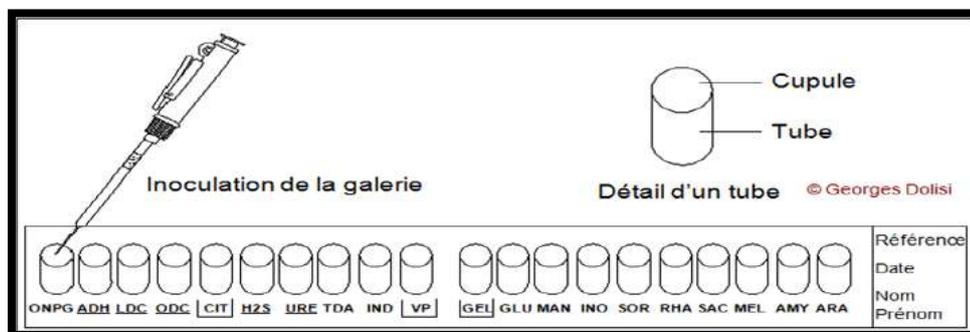


Figure 11 : Mode opératoire d'une galerie API 20E.

- **Lecture et interprétation des résultats**

La détermination de la positivité et de négativité de chaque test consiste sur une lecture soit directe (sans ajouter de réactif) soit indirecte (en ajoutant des réactifs spécifiques).

- ✓ Test TDA : ajouter 01 goutte de réactif TDA. Lecture immédiate.
- ✓ Test VP : ajouter 01goutte de VP1 et VP2. Attendre 10 mn.
- ✓ Test IND : ajouter 01goutte de réactif de Kovacs.

- La lecture de ces réactions se fait selon le profil numérique sur la fiche de résultat. Les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun, en additionnant à l'intérieur de chaque groupe de la galerie les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 7 chiffres qui constituent le profil numérique.
- L'identification est obtenue à l'aide d'un catalogue analytique API 20E.

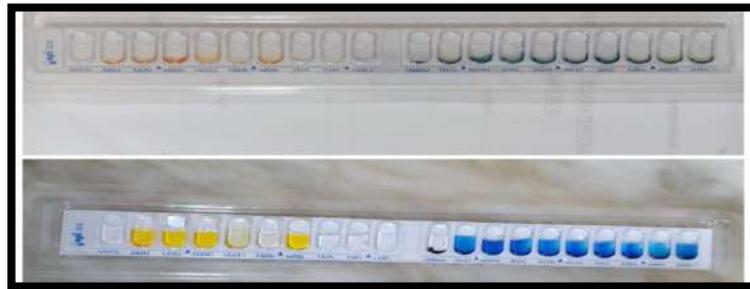


Figure 12 : Galerie API 20E avant et après inoculation.

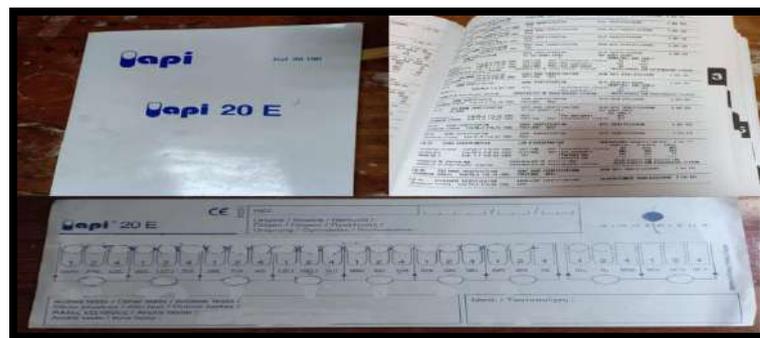


Figure 13 : Catalogue analytique et la fiche de résultat d'une galerie API 20E.

6-3-3) Caractères biochimique des Staphylocoques pathogènes

- **Recherche de la catalase**

Principe : Cette enzyme empêche l'accumulation d'H₂O₂, dont l'action serait létale pour la cellule bactérienne. La catalase est une enzyme qui dégrade l'eau oxygène en eau et oxygène libre, qui se dégage sous forme gazeuse selon la réaction suivante : $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$

Mode opératoire : Le test s'effectue dans un verre de montre ou sur une lame propre, où on a déposé quelques gouttes d'eau oxygénée ensuite on a ajouté une suspension bactérienne à partir d'une gélose nutritive.

Lecture de résultat : La présence de l'enzyme se manifeste par le dégagement de bulles d'air (le test est dite positif).

- **Recherche de la Coagulase**

Principe : Le test de la coagulase est utilisé pour différencier le *Staphylococcus aureus* (coagulase positif) du *Staphylococcus* à coagulase négatif. La coagulase est une enzyme

produite par *S. aureus* qui convertit le fibrinogène (soluble) dans le plasma en fibrine (insoluble).

Mode opératoire : 10 gouttes de plasma de lapin (0,5 ml) sont introduits dans un tube à hémolyse stérile. Ensuite, une suspension bactérienne de staphylocoque, prélevée préalablement d'une culture pure sur gélose nutritive est préparée. Le tube contenant 0,5 ml de plasma de lapin avec 0,5 ml de la suspension bactérienne est incubé à 37°C pendant 2 h jusqu'à 24 h.

Remarque : la souche de *S. aureus* provoque la coagulation du plasma en un temps variant d'une demi-heure à 24 heures.

Résultat : L'observation d'une masse coagulée occupant plus de trois quart du volume de tube indique que la réaction est (+) et leur absence indique une coagulase négative.

D'autres tests sont recommandés, tels que la recherche de la thermonucléase et la recherche de la phosphatase. Ces derniers n'ont pas fait l'objet d'étude à défaut (par manque) de produits.

7. Etude de la sensibilité aux antibiotiques en milieu solide

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

- **But de l'antibiogramme**

Un antibiogramme 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. Il détermine le caractère sensible, intermédiaire ou résistant de la souche, en fonction de la concentration minimale inhibitrice (CMI) déterminée par l'examen (**Médecin des Hôpitaux, 2010**).

- **Principe :**

Pour la méthode d'étude de la sensibilité aux antibiotiques, nous avons utilisé la méthode de diffusion classique de disque sur gélose (**Delarras, 1998**). Pour réaliser cette technique nous avons utilisé le milieu Muller Hinton (MH) standardisé pour toutes les bactéries à l'exception de quelques souches exigeantes.

-Les disques pré imprégnés d'une dose connue d'antibiotique sont déposés à la surface de la gélose MH après son inoculation par la souche étudiée.

- Après l'incubation de la boîte les disques d'antibiotique vont diffuser dans le milieu MH en créant un gradient de concentration minimal inhibitrice apparaît par des zones circulaires.

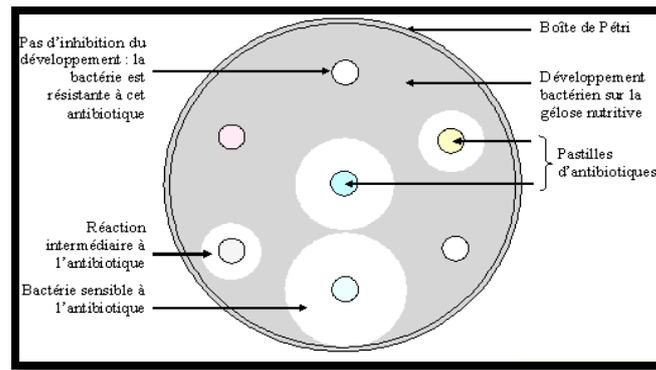


Figure 14 : Schéma représentant un antibiogramme.

• **Préparation de l'inoculum**

-A partir d'une culture pure bactérienne réaliser une suspension microbienne dans un tube contenant 10 ml d'eau physiologique stérile.

- L'inoculum bactérien doit idéalement être employé dans les 15 min qui suivent sa préparation.

• **Préparation de la gélose et l'application des disques d'ATB**

-Prendre la gélose de Mueller-Hinton, vérifier l'absence d'eau à la surface.

-Annoter où sera positionnés les disques d'antibiotiques sur le fond de la boîte (Il faut les éloigner de 1 cm du bord au minimum).

-Tremper l'écouvillon dans la suspension, écouvillonner régulièrement la gélose en tournant la boîte de 60° jusqu'à ensemencement de la totalité de la surface.

-Déposer les disques d'antibiotiques avec une pince stérile ; Dans chaque boîte de Pétri de 90 mm, 06 disques ont été déposés. Selon la disponibilité, 06 disques ont été testés.

-Une fois les disques sont déposés, ces derniers ne seront plus déplacés car leur diffusion est très rapide.

-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
GENTAMICINE	GEN	500 µg
AMOXICLAV	AMC	20 µg
PRISTINAMYCINE	RP	15 µg
CEFAZOLIN	CZ	30 µg
CEFIXIME	CFM	10 µg
AMOXICILLINE	AML	25 µg

Lecture et interprétation (Médecin des Hôpitaux, 2010)

-Après la culture bactérienne avec les antibiotiques, 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). Outre la CMI sont définies deux concentrations critiques : la concentration critique basse (c) et la concentration critique haute (C) auxquelles correspondent des diamètres critiques (D) et (d).

- ✓ Sensible (S) : Les souches pour lesquelles 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) : Les souches vis-à-vis desquelles la CMI de l'antibiotique testée est supérieure à la concentration critique haute (C), correspondant à un diamètre inférieur au diamètre critique (d).
- ✓ Intermédiaires (I) : Les souches vis-à-vis desquelles la CMI de l'antibiotique testée et du diamètre correspondant est compris entre les deux concentrations critiques et les deux diamètres critiques.

Tableau 5 : Critères de catégorisation selon les valeurs critiques.

Catégorie	CMI (mg/L)	Diamètre (mm)
S	$CMI < c$	Diamètre $> D$
R	$CMI > C$	Diamètre $< d$
I	$c < CMI < C$	$d < \text{Diamètre} < D$



Figure 15 : Méthode classique de diffusion d'antibiotiques sur milieu gélosé.



Figure 16 : Disques d'antibiotiques.

Chapitre III

Résultats et Discussion

I. Résultats

1. Isolement et identification des souches bactériennes

Une bactérie ne peut être identifiée qu'une fois isolée et obtenue à l'état pure. Pour l'identification des souches bactériennes, nous avons utilisé les critères suivants :

- Des examens morphologiques, macroscopiques et microscopiques des bactéries en culture.
- La recherche des caractéristiques biochimiques à l'aide des tests classiques et la galerie API 20E.
- Les tests d'antibiorésistance.

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

1-1) Résultats de l'étude macroscopique et microscopique des bactéries

Les résultats de notre étude basée sur l'isolement et l'identification des bactéries responsables d'une infection nosocomiale au niveau de deux services (médecine et pédiatrie) sont présentés pour chaque type de prélèvement. 10 souches bactériennes ont été isolées à partir des différents prélèvements. Les isolements ont été réalisés sur milieux solides (GN, HK, MC, CHAP, BCP). Ces milieux ont été utilisés pour satisfaire les besoins nutritifs et énergétiques des bactéries recherchées et ont l'avantage de faire une pré-identification des germes les plus souvent impliqués dans les infections.

Les colonies ont été d'abord purifiées et ont subi un premier screening basé les caractéristiques morphologiques et la coloration de Gram.

L'étude morphologique consiste à décrire l'aspect des colonies, la couleur et la taille sur milieux solides. Elle est ensuite conduite par une coloration différentielle de Gram pour écarter les bactéries Gram négatif et positif, à observer leurs formes coques ou bâtonnets et leurs modes de regroupements par une observation en immersion au microscope optique. Les tableaux ci-dessous présentent ces résultats.

- Résultats des isolements au niveau du **service de médecine interne**

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

N° et site de prélèvement	Caractères cultureux					Coloration	
	GN	HK	MC	CHAP	BCP	Etat frais	Gram
1 : Table de nuit	Tapis bactérien.	Petites colonies rondes, lisses, plates, crémeuses, jaunâtres, virage de couleur de milieu.	Petites colonies rondes, lisses, bombées, jaunâtres.	Colonies volumineuses, Pigmentés, jaunâtres, virage de couleur de milieu.		Bacilles mobiles sur MC Cocci immobile sur CHAP	Bacilles Gram négatif sur MC Cocci Gram positif sur CHAP
2 : chariot de soins	Tapis bactérien.	Petites colonies arrondies, visqueuses, vert, virage de milieu de culture.	Petites colonies rondes, lisses, plates, jaunâtres.	Petites colonies jaunâtres, virage de couleur de milieu.		Bacilles mobiles sur HK Cocci immobile sur CHAP	Bacilles Gram négatif sur HK Cocci Gram positif sur CHAP
3 : Air de la salle d'isolement	Tapis bactérien, présence de champignon.		Absence de croissance	Colonies volumineuses, pigmentés, jaunâtres, virage de la couleur du milieu.	Petites colonies blanchâtres, sèches	Bacilles mobiles sur BCP Cocci immobile sur CHAP	Bacilles Gram négatif sur BCP Cocci Gram positif sur CHAP
4 : cathéter veineux	Tapis bactérien		Aucune croissance	Petites colonies jaunâtres, virage de la couleur du milieu.	Petites colonies jaunes dispersées, virage de la couleur du milieu.	Bacilles mobiles sur BCP Cocci immobile sur CHAP	Bacilles Gram négatif sur BCP Cocci Gram positif sur CHAP
5 : potence à sérum	Tapis bactérien, virage de la couleur du milieu (verte).		Colonies filamenteuses, plates, dorée.	Aucune croissance.	Petites colonies transparentes, crémeuses, virage de la couleur du milieu.	Bacilles mobiles sur MC	Bacilles Gram négatif sur MC
6 : gants du personnel soignants	Tapis bactérien		Aucune croissance	Colonies volumineuses, Pigmentés, jaunâtres, virage de la couleur du milieu	Colonies transparentes, plates, muqueuses, virage la couleur du milieu	Bacilles mobiles sur BCP Cocci immobile sur CHAP	Bacilles Gram négatif sur BCP Cocci Gram positif sur CHAP

GN : Gélose Nutritive ; HK : Gélose Héктоen ; MC : Gélose Mac Conkey ; CHAP : Gélose Chapman ; BCP : Gélose Bromocrésol Pourpre. : Ces milieux sont couramment utilisés pour des analyses médicales.

➤ **Table de nuit**

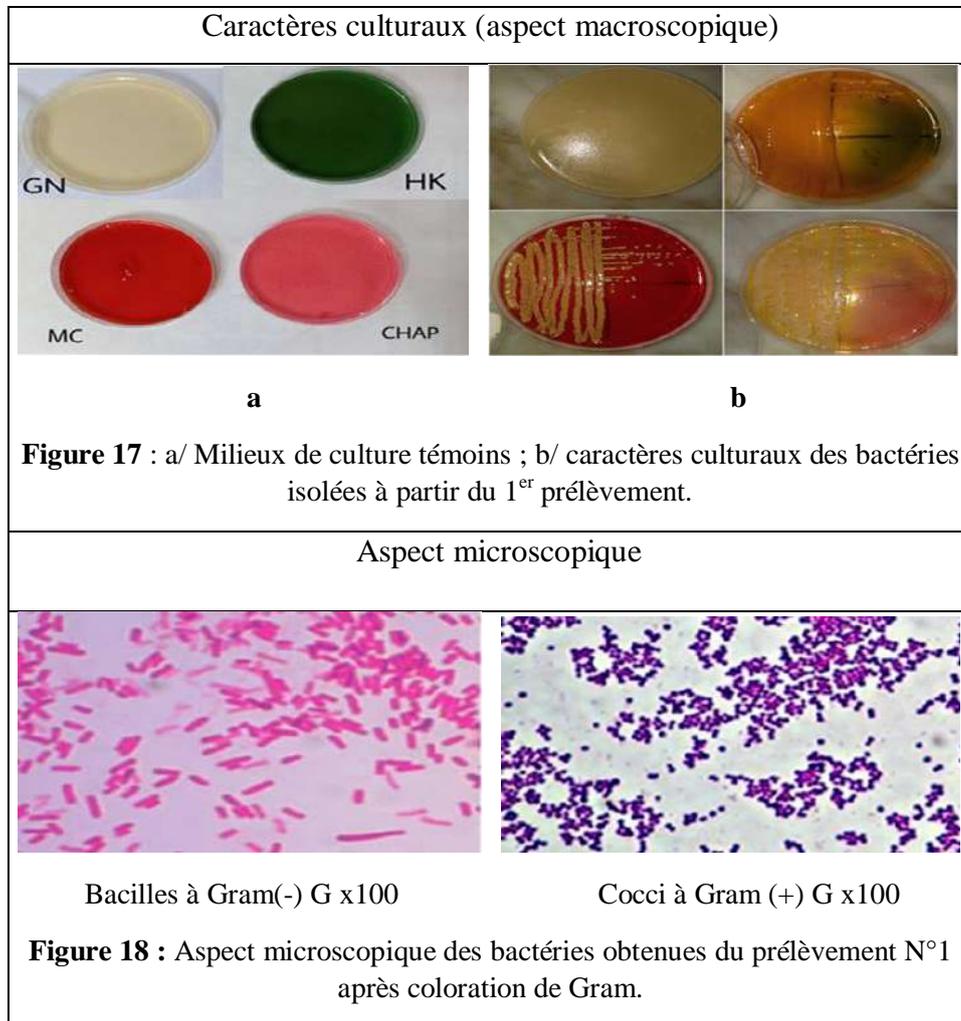


Tableau 7 : Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°1.

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

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

➤ Chariot de soins

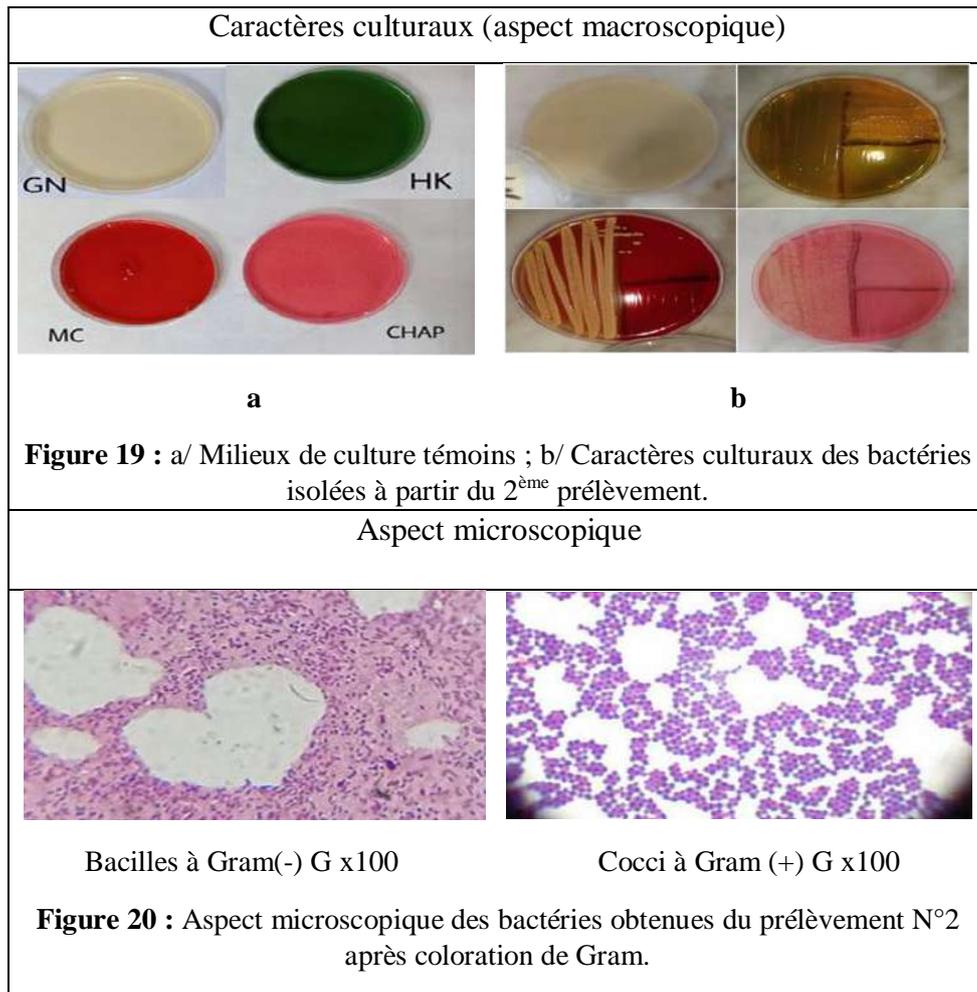


Tableau 8 : Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du prélèvement N°2.

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

➤ Air de la salle d'isolement

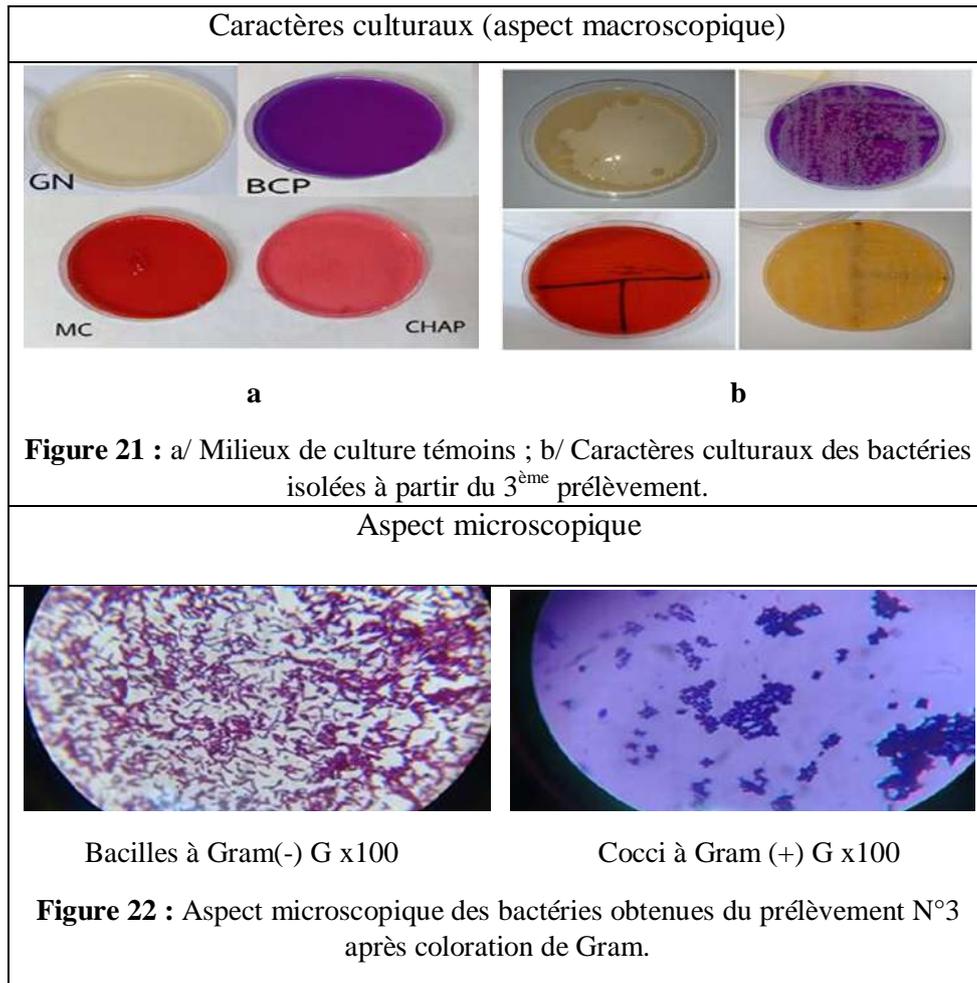


Tableau 9 : Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du prélèvement N° 3.

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

➤ Cathéter veineux

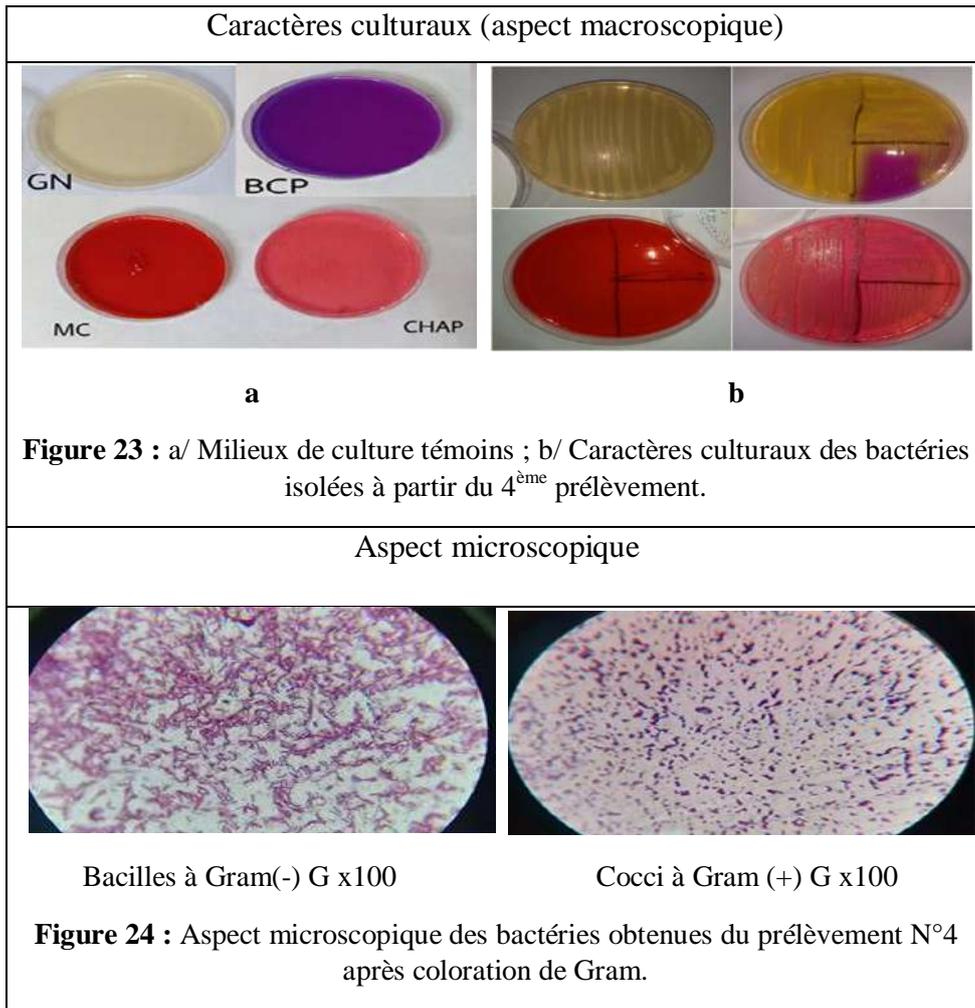


Tableau 10 : Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du prélèvement N°4.

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

➤ Potence à sérum

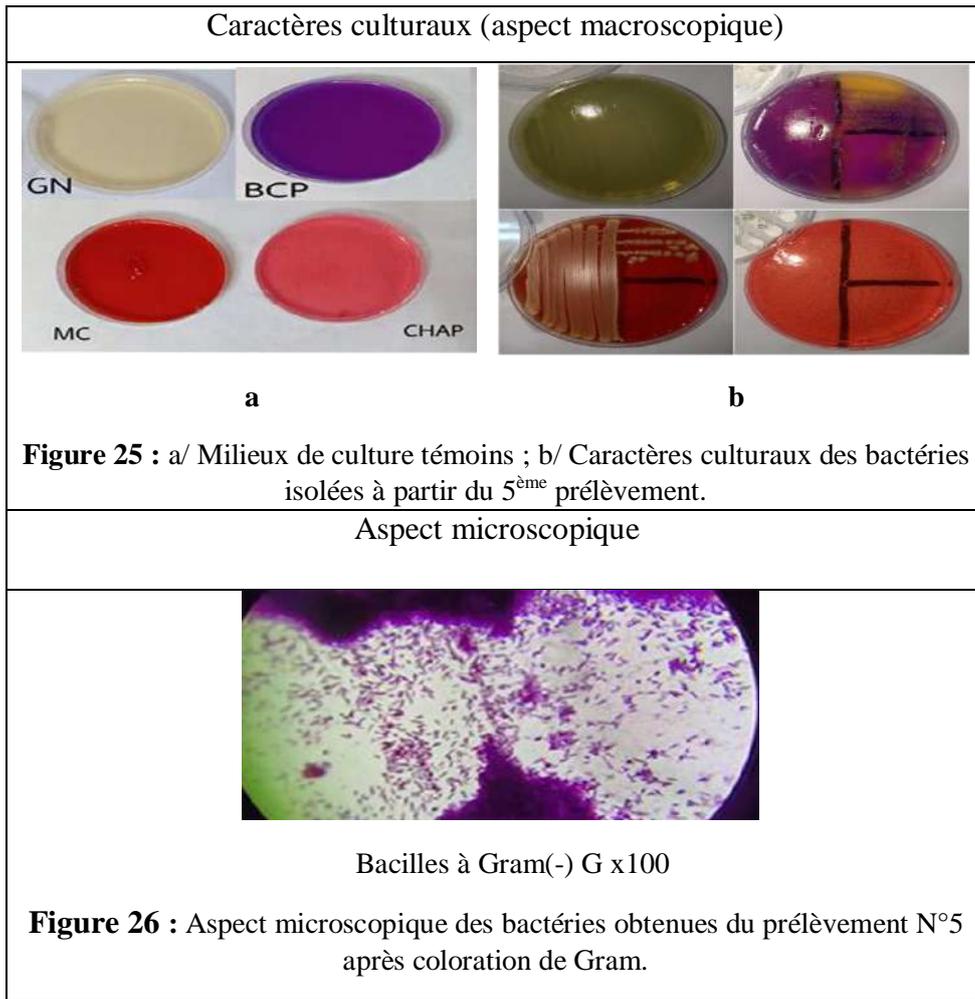


Tableau 11 : Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du prélèvement N°5.

Examen Milieu	Examen à l'état frais	Coloration de Gram
Milieu MC	Bacilles mobiles.	Bacilles Gram négatif.

➤ Gants du personnel soignants

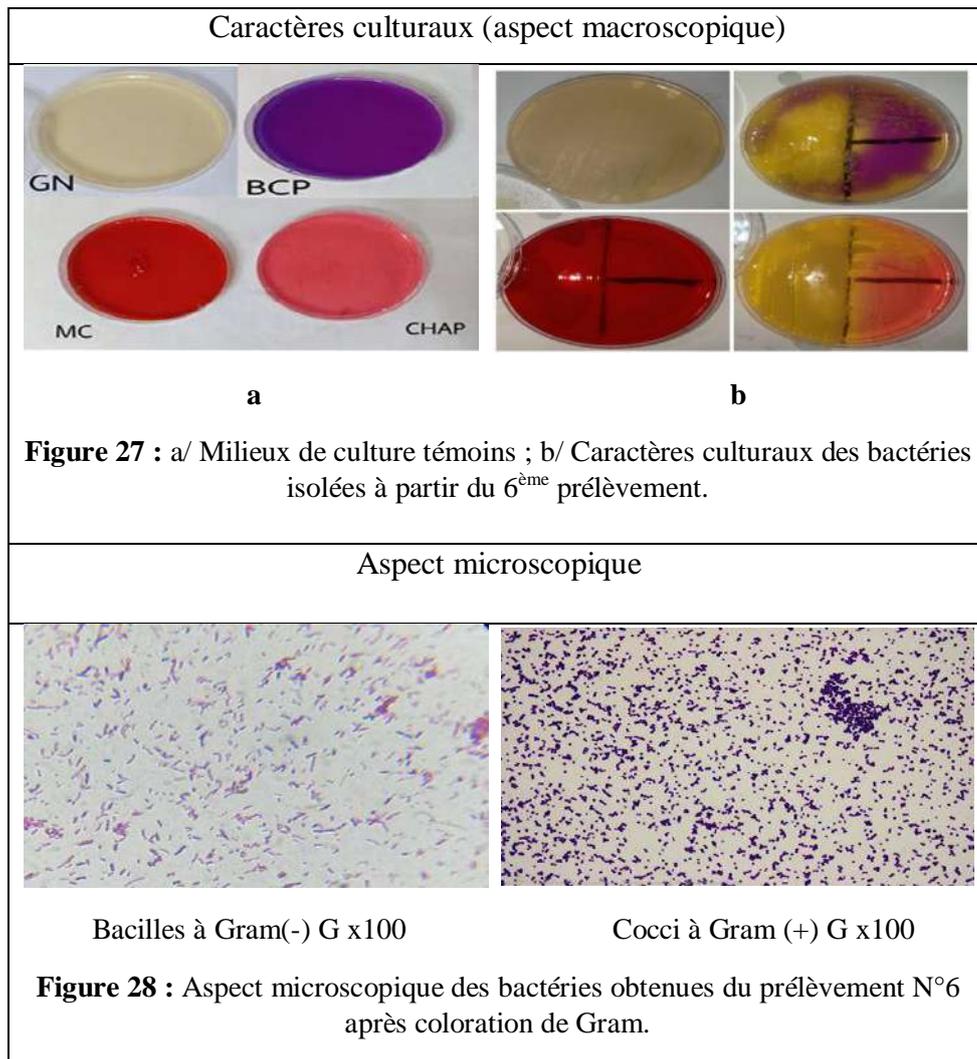


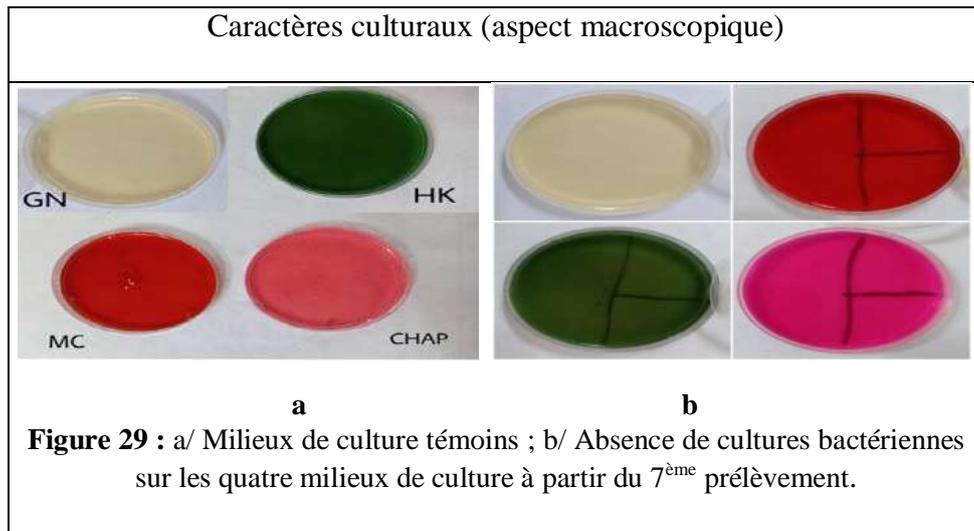
Tableau 12 : Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du prélèvement N° 6.

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

➤ Résultats des isolements au niveau du **service de pédiatrie****Tableau 13** : Résultats des isolements au niveau du service de pédiatrie.

N° et sites de prélèvement	Caractères culturaux				Coloration	
	GN	HK	MC	CHAP	Etat frottis	Gram
7 : Couveuse bébé	Absence de culture	Absence	Absence	Absence		
8 : Lit du patient	Tapis bactérien.	Aucune croissance.	Petites colonies blanchâtres, sèches.	Petites colonies blanchâtres, dispersés, sans virage de couleur du milieu.	Bacilles mobiles sur MC Cocci immobile sur CHAP	Bacilles Gram négatifs sur MC Cocci Gram positif sur CHAP
9 : pèse bébé	Tapis bactérien	Aucune croissance	Petites colonies transparentes	Aucune croissance.	Bacilles immobiles sur MC	Bacilles Gram négatifs sur MC
10 : mur de la salle	Tapis bactérien	Petites colonies transparentes, virage de la couleur du milieu.	Petites colonies transparentes	Petites colonies blanchâtres, sans virage de la couleur du milieu.	Bacilles mobiles sur HK Cocci immobile sur CHAP	Bacilles Gram négatifs sur HK Cocci Gram positif sur CHAP
11 : Urine d'enfant	Tapis bactérien	Colonies filamenteuse, virage de la couleur du milieu	Petites colonies jaunâtres, bombés, dispersés, visqueuses, virage de couleur du milieu.	Petites colonies blanchâtres, dispersés, sans virage de la couleur du milieu.	Bacilles mobiles sur MC Cocci immobile sur CHAP	Bacilles Gram négatif sur MC Cocci Gram positif sur CHAP

➤ Couveuse bébé



➤ Lit du patient

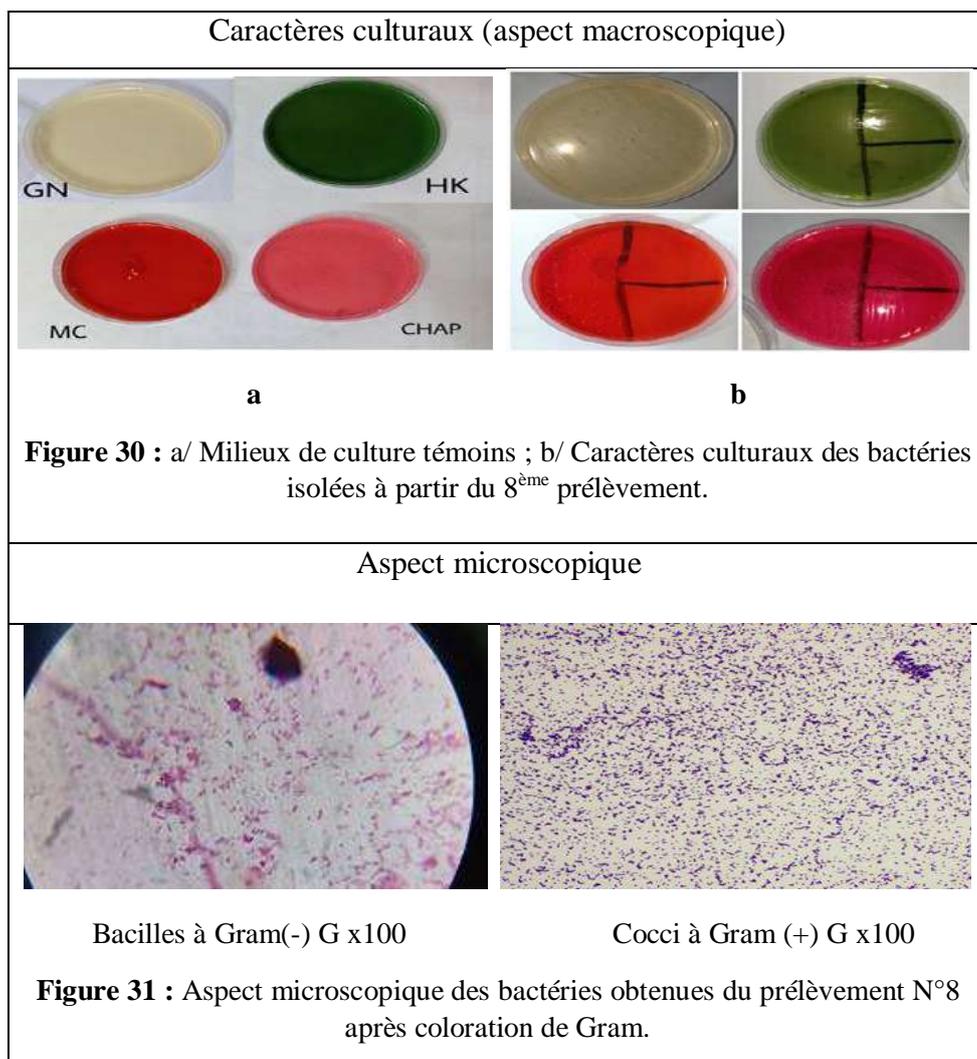


Tableau 14 : Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du prélèvement N°8.

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

➤ Pèse bébé

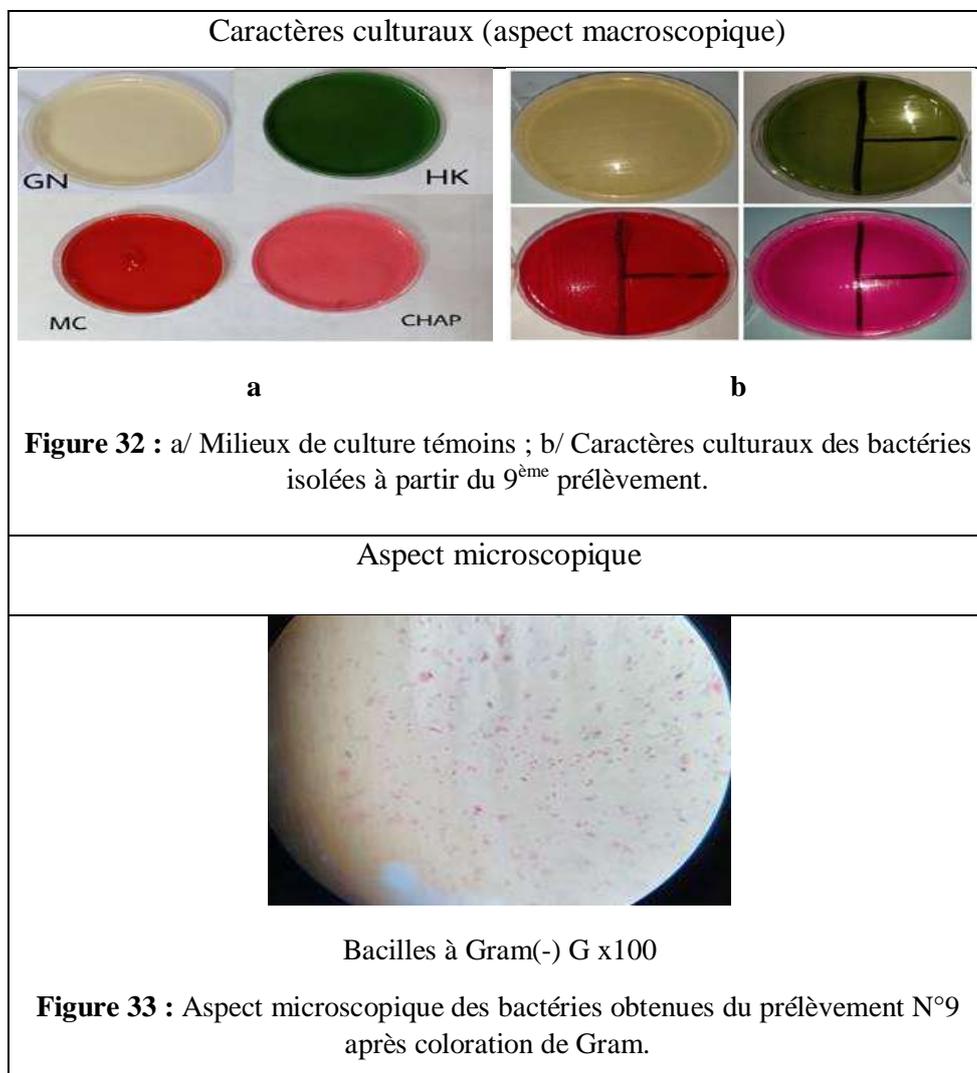


Tableau 15 : Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du prélèvement N° 9.

Examen Milieu	Examen à l'état frais	Coloration de Gram
Milieu MC	Bacilles immobiles.	Bacilles Gram négatif.

➤ **Mur de la salle**

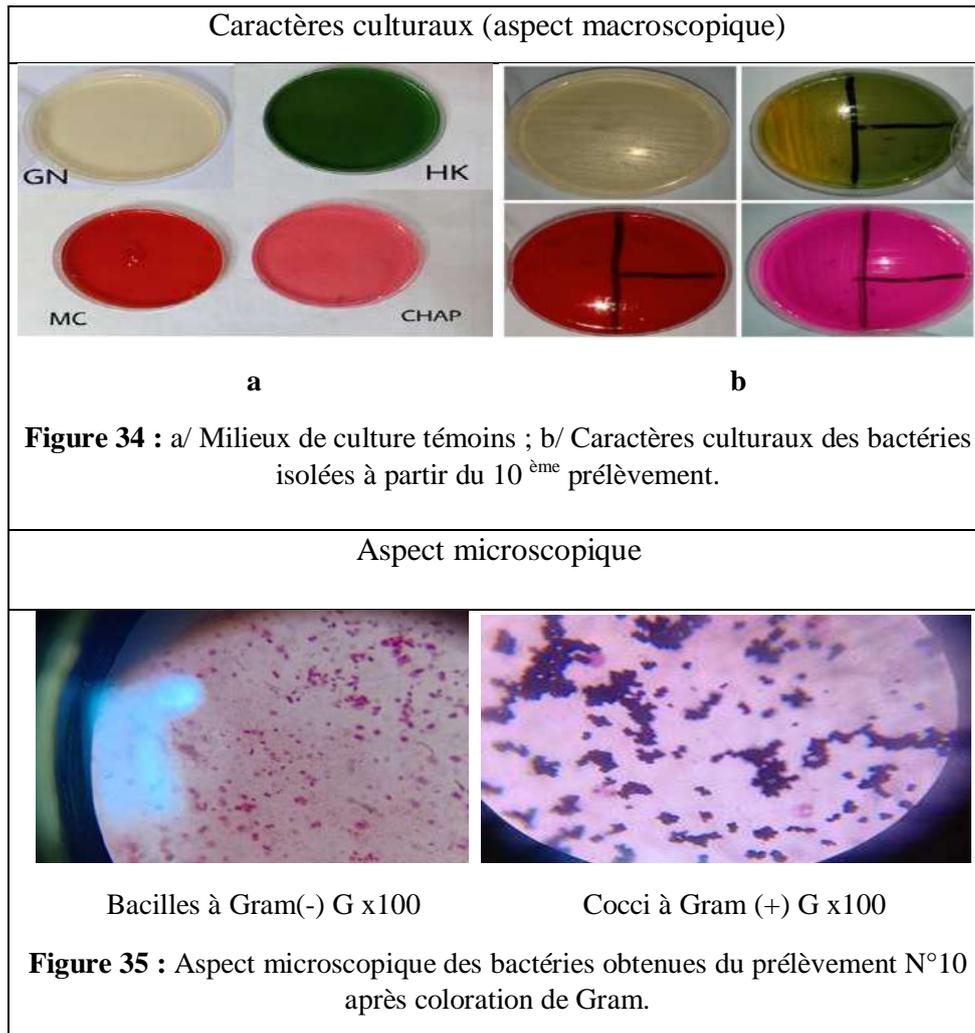


Tableau 16 : Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du prélèvement N° 10.

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

➤ Urine d'enfant

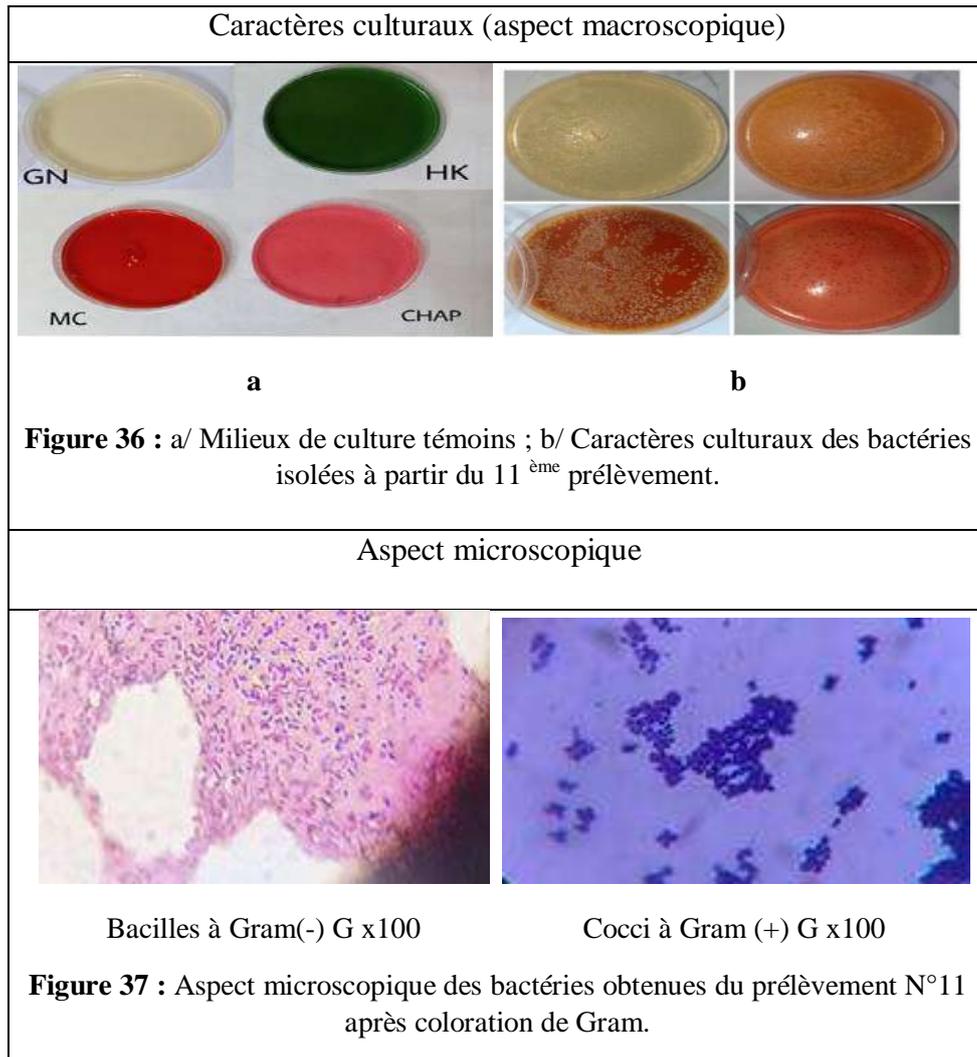


Tableau 17: Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du prélèvement N°11.

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

1-2) Résultats de l'identification biochimique

L'étude biochimique nous a permis d'identifier 10 espèces bactériennes à partir des 10 prélèvements effectués. Il est à noter que le prélèvement N°7 n'a pas donné de souches bactériennes. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 18 ci-dessous.

Tableau 18 : Les espèces bactériennes identifiées

Sites de prélèvements	Germes
Service de médecine interne	
Table de nuit	<i>Leclercia adecarboxylata</i> ; <i>Staphylocoque aureus</i> .
Chariot de soins	<i>Enterobacter cloecae</i> ; <i>Staphylocoque aureus</i> .
Air de la salle d'isolement	<i>Aeromonas salmonicida</i> ; <i>Staphylocoque aureus</i> .
Cathéter veineux	<i>Aeromonas hydrophila</i> ; <i>Staphylocoque aureus</i> .
Potence à sérum	<i>Serratia plymuthica</i> .
Gants du personnel soignant	<i>Aeromonas hydrophila</i> ; <i>Staphylocoque aureus</i> .
Service de pédiatrie	
Lit du patient	<i>Providencia alcalifaciens</i> ; <i>Staphylocoque epidermidis</i> .
Pèse bébé	<i>Escherichia blattae</i> .
Le mur de la salle	<i>Burkholderia cepacia</i> ; <i>Staphylocoque epidermidis</i> .
L'urine d'enfant	<i>Enterobacter cloecae</i> ; <i>Staphylococcus epidermidis</i> .

1-2-1) Résultats des tests biochimiques classiques

Nous avons effectué douze tests classiques selon la disponibilité des milieux et des moyens. Les résultats de ces différents tests sont représentés par le tableau 19 et la figure 38 ci-dessous.

Tableau 19 : Résultats des caractères biochimiques des germes identifiés.

Caractères biochimiques Germes	Sucres	H ₂ S	gaz	Mannitol / Mobilité	Citrate de Simmons	Uréase	INDOL	ONPG	ADH	LDC	ODC
<i>Leclercia adecarboxylata</i>	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-
<i>Enterobacter cloecae</i>	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+
<i>Aeromonas salmonicida</i>	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-
<i>Serratia plymuthica</i>	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-
<i>Providencia alcalifaciens</i>	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-
<i>Escherichia blattae</i>	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+
<i>Burkholderia cepacia</i>	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-

(+) : réponse positive ; (-) : réponse négative.

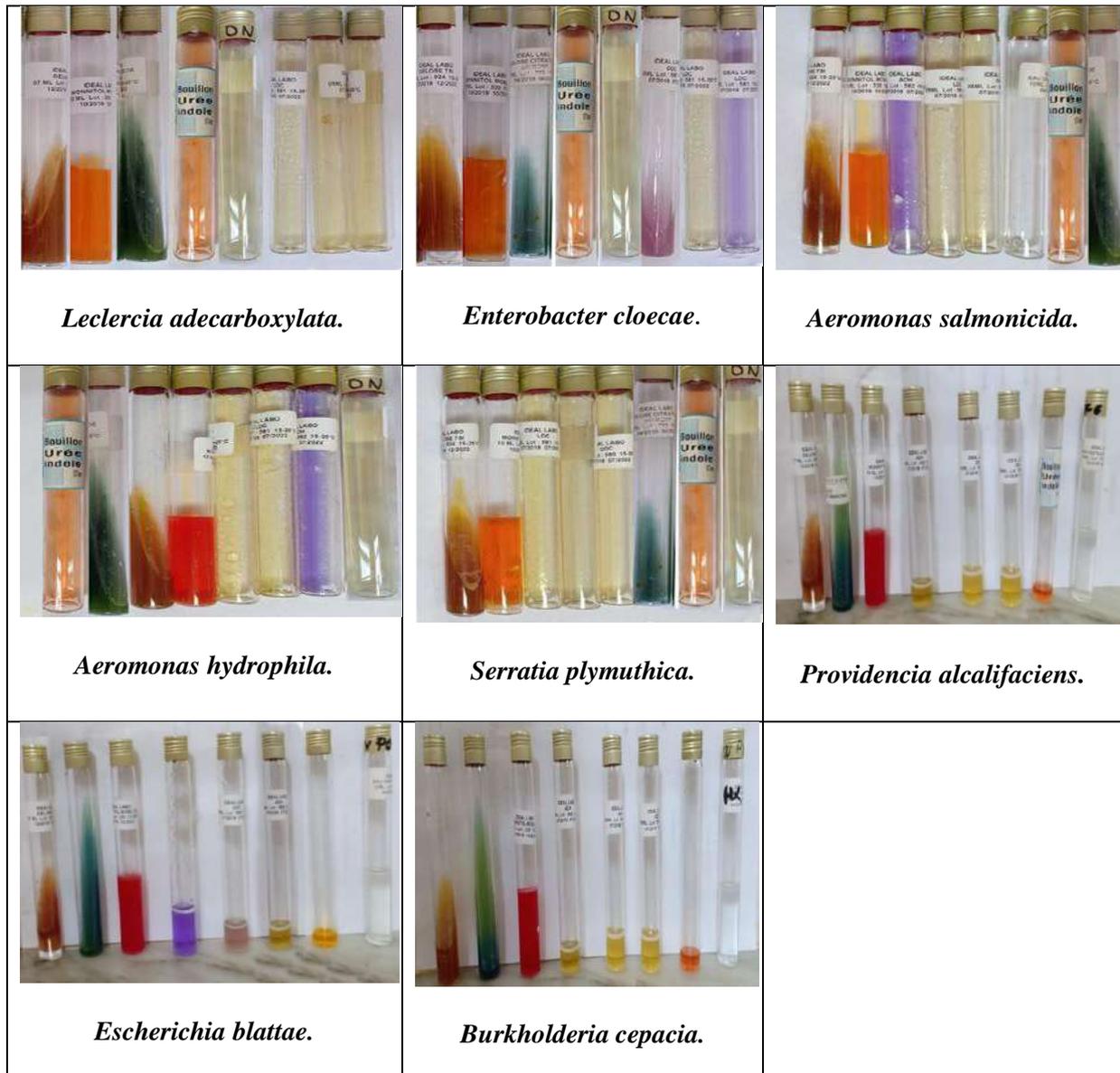


Figure 38 : Résultats des caractères biochimiques des germes identifiés.

1-2-2) Résultats de la galerie API 20 E

Pour le prélèvement numéro 11 (l'urine) on a réalisé le système API 20E. Les résultats sont présentés dans les tableaux 20 -21 et les figures 39-40.

Tableau 20 : Résultat de la galerie biochimique API 20 E (urine).

ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
3			3			0			5			5			7			3	

Tableau 21 : Le code du germe identifié.

Numéro de prélèvement	Code de l'API 20E	Germe identifié
11 (urine)	3305573	<i>Enterobacter cloecae</i>



Figure 39 : Galerie API 20 E après incubation et addition des réactifs.

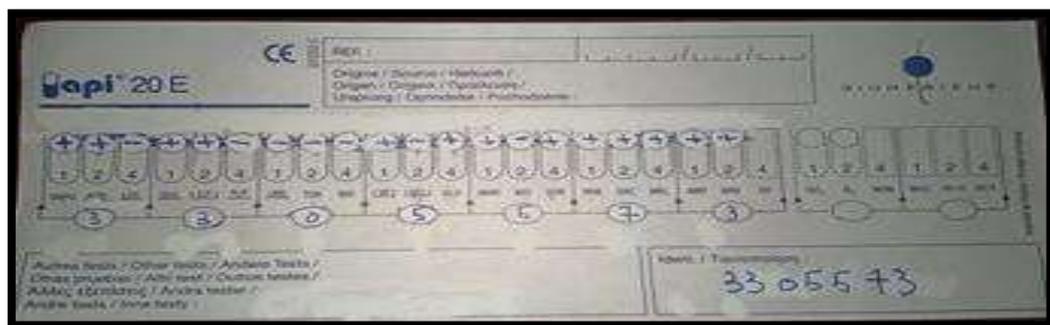


Figure 40 : Fiche des résultats de la galerie API 20E.

En se basant sur les résultats de l'examen macroscopique et microscopiques ainsi que les caractères biochimiques des bactéries isolées, nous pouvons rattacher les germes aux genres *Leclercia adecarboxylata*, *Enterobacter cloecae*, *Aeromonas salmonicida*, *Aeromonas hydrophila*, *Serratia plymuthica*, *Providencia alcalifaciens*, *Escherichia blattae* et *Burkholderia cepacia*.

1-2-3) Identification des Staphylocoques pathogènes

Les Staphylocoques appartiennent à la famille des micrococcaceae et se caractérisent par une morphologie en Cocci, ce sont des bactéries Gram positives, se présentent souvent en grappes, sont aéro-anaérobies facultatives. On divise le genre *Staphylococcus* en trois espèces : *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* et *S. saprophyticus*.

S. aureus étant caractérisée par la possession d'une enzyme, la coagulase qui transforme le fibrinogène du plasma en fibrine. Cette espèce possède aussi le pouvoir de sécréter des entérotoxines provoquant des toxi-infections.

➤ Résultats des tests enzymatiques des Staphylocoques

Les résultats des tests enzymatiques sont présentés dans le tableau 22 et les figures 41-42.

Tableau 22 : Résultats des tests enzymatiques des Staphylocoque les plus fréquemment isolées.

Les tests Les germes	Test catalase	Test coagulase
<i>Staphylocoque aureus</i>	+	+
<i>Staphylocoque epidermidis</i>	+	-



Figure 41: Test catalase Positif.



Figure 42 : Test coagulase positif et négatif.

1-3) Résultats de l'Antibiogramme

L'antibiogramme est une méthode visant à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou de plusieurs antibiotiques. Le principe consiste à cultiver une espèce bactérienne en présence d'un ou des antibiotiques et observer les conséquences de l'antibiotique sur le développement et la survie bactérienne. L'antibiogramme permet de bien choisir l'antibiotique efficace contre le germe bactérien responsable d'une infection.

Les résultats de l'antibiogramme effectués sur les 10 espèces bactériennes identifiées sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 23 : Résultats de l'antibiogramme des souches isolées.

ATB Les germes identifiés	GEN	AMC	RP	CZ	CFM	AML
<i>Leclercia adecarboxylata</i>	S	R	I	S	S	R
<i>Enterobacter cloecae</i> (Surface Sèche)	S	S	R	S	S	R
<i>Enterobacter cloecae</i> (l'urine)	S	R	I	I	S	R
<i>Aeromonas salmonicida</i>	S	R	I	S	R	S
<i>Aeromonas hydrophila</i>	I	R	S	R	R	R
<i>Serratia plymuthica</i>	S	R	I	I	S	R
<i>Providencia alcalifaciens</i>	S	R	S	R	I	R
<i>Escherichia blattae</i>	S	R	S	R	I	R
<i>Burkholderia cepacia</i>	S	R	S	S	R	S
<i>Staphylocoque aureus</i>	S	I	S	S	R	S
<i>Staphylocoque epidermidis</i>	S	R	S	S	R	S

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

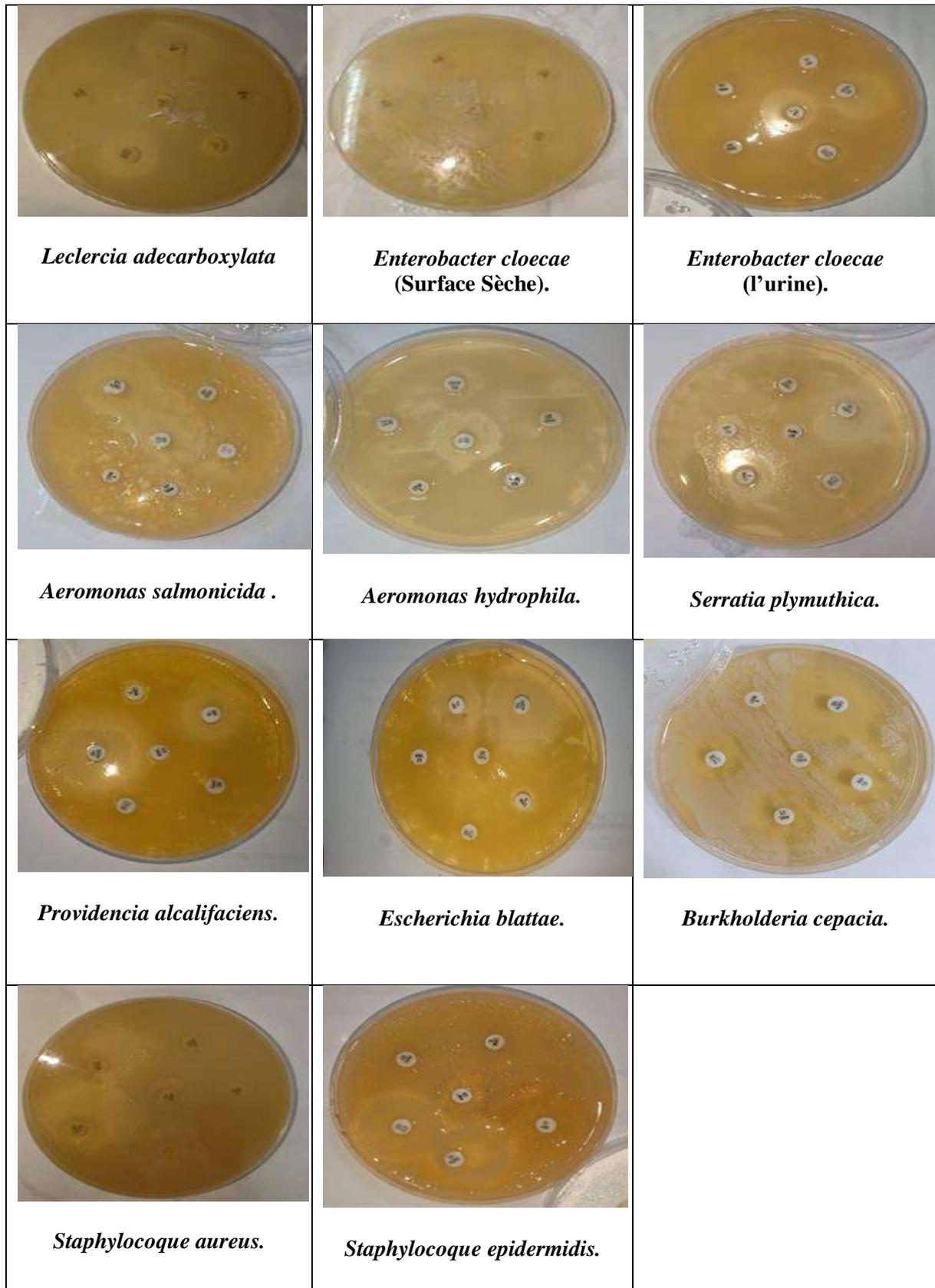


Figure 43 : Résultats de l'antibiogramme des souches isolées.

Un antibiotique exerce une activité antibactérienne sur diverses espèces plus ou moins nombreuses ; plus le nombre de bactéries sur lesquelles agira l'antibiotique sera grand, plus large sera son spectre d'activité et inversement.

Les espèces bactériennes insensibles, donc en dehors du spectre, représentent la résistance naturelle.

Si des résistances apparaissent au sein d'espèces incluses dans le spectre d'activité, ces résistances seront dites acquises.

La résistance naturelle se manifeste soit par une tolérance à certains antibiotiques, soit par destruction de l'antibiotique par des enzymes comme les bêta-lactamases. Ces deux formes de résistances sont fréquentes chez des 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 plasmidique, où elle se manifeste par une multi résistance à des antibiotiques d'une même famille ou de familles différentes.

Plusieurs mécanismes peuvent être utilisés par une bactérie pour résister à un antibiotique :

- Modification de la pénétration de l'antibiotique,
- Modification de la molécule qui constitue la cible de l'antibiotique,
- Production d'une enzyme capable d'inactiver l'antibiotique.

II. Discussion

Notre travail a pour but d'isoler et d'identifier des bactéries responsables des infections nosocomiales à partir de 11 prélèvements effectués au niveau de deux services (médecine interne et pédiatrie) à l'hôpital BERREBI Abdelkader, daïra de Hammam Bouhadjar, wilaya d'Ain-Témouchent. Nos analyses bactériologiques ont permis d'identifier plusieurs espèces bactériennes pathogènes. Au total 10 espèces bactériennes ont été isolées, purifiées et identifiées.

Les micro-organismes isolés se sont révélés soit des Cocci Gram positive (CGP), soit des Bacilles Gram négatif (BGN) (**Tableau 18**). Ces dernières se sont montrées les plus fréquentes et représentent environ 56 % des micro-organismes isolés, avec 34 % d'Entérobactéries telles que *Leclercia adecarboxylata*, *Enterobacter cloecae*, *Serratia plymuthica*, *Providencia alcalifaciens* et *Escherichia blattae* et 22 % représentés par d'autres bacilles Gram négatives telles que *Aeromonas salmonicida*, *Aeromonas hydrophila* et *Burkholderia cepacia*.

En revanche, les Cocci Gram Positives (CGP), représentent 44 % des micro-organismes isolés avec 28 % d'espèces de *Staphylocoques aureus*, qui sont les plus dominantes au niveau du service de médecine interne et 16 % d'espèces de *Staphylocoques epidermidis* qui semble être les plus dominantes dans le service de pédiatrie. D'ailleurs, dans une étude menée au CHU de Tizi-Ouzou (2012), les auteurs ont montré qu'environ 94.11 % des germes isolés sont des Bacilles Gram négatifs, plus particulièrement *E. coli* et *Pseudomonas aeruginosa* (CHU Tizi-Ouzou, 2012).

Des résultats semblables ont été trouvés dans les travaux de Bounab, Chekakla et Saci, (2011) montre aussi cette prédominance des Gram négatif sur les Gram positif ; Enterobactries 70,6% : *E. coli* 30%, *Proteus* 15%, *Providencia* 10%, *Citrobacter* 9% *Shigilla* 6,6% et les Staphylocoques par un pourcentage 29,4% : *S.epidermidis* 16%, *S.aureus* 7,4% et *S.saprophyticus* 5.6% (Bounab et al., 2011).

Par contre dans les travaux de Lakikza et Slimani, (2018) ont signalé la présence des Cocci Gram positives avec un pourcentage de 67% et les bacilles Gram négative avec 33%, avec une prédominance du genre *Staphylococcus aureus* (Lakikza et Slimani, 2018).

Les diverses souches forment des colonies de morphologie différentes (Tableaux 6 et 13). Certaines colonies sont bombées, opaques et ont une consistance grumeleuse et sèches, d'autre sont des colonies plates, transparentes, lisses et crémeuses, alors que d'autres sont pigmentés, filamenteuses ou dispersées.

Suite à une étude effectuée en 2017 par le SEMEP (Service d'Epidémiologie et de Médecine Préventive) en collaboration avec les services de médecine du travail et le laboratoire d'unité de bactériologie au niveau de l'hôpital BERREBI Abdelkader, les résultats obtenus ont objectivés la présence de microorganismes appartenant aux : *E. coli*, *Staphylocoque aureus*, *Staphylocoque epidermidis*, *Salmonelle paratyphie A* et *Pseudomonas spp*.

Le test de sensibilité aux antibiotiques par la méthode de diffusion classique de disques d'antibiotiques sur gélose a montré une multi-sensibilité de la plupart des souches de Bacilles Gram négatives 57,14%. Il s'agit de *Leclercia adecarboxylata* (sensible aux antibiotiques, GEN, CZ, CFM) ; *Enterobacter cloecae* (sensible aux GEN, AMC, CZ, CFM) ; *Aeromonas salmonicida* (sensible aux GEN, CZ, AML) et *Burkholderia cepacia* (sensible aux GEN, RP, CZ, AML). Le reste des souches se sont montrées résistantes 42,86%, telles que *Aeromonas hydrophila* (résistante aux AMC, CZ, CFM, AML) ; *Providencia alcalifaciens* (résistante aux AMC, CZ, AML) et *Escherichia blattae* (résistante aux AMC, CZ, AML) (Tableau 23).

Les bactéries Cocci Gram Positive se sont révélées sensibles aux antibiotiques pour les deux bactéries (100%) *Staphylocoque aureus* et *Staphylocoque epidermidis* (sensible aux GEN, RP, CZ, AML) (Tableau 23). La présence de ce groupe d'espèces bactériennes au sein des deux services étudiés peut être expliquée en partie, par le contact direct avec le malade, mais aussi par des contaminations croisées dues au mouvement du personnel soignants et des instruments de soins entre les différents services.

Il est signalé que les staphylocoques à coagulase négative, sont actuellement considérés comme des pathogènes opportunistes.

La comparaison des résultats obtenus à partir des 2 services (Médecine interne et pédiatrie) nous permet de déduire que le service médecine interne s'avère être de mauvaise état hygiénique puisque 4 échantillons sur 5 ont montré un nombre important de bactéries appartenant au genre *Leclercia*, *Enterobacter*, *Aeromonas*, *Serratia* et *Staphylococcus*. Ceci peut être expliqué par la présence de bactéries pathogènes.

En revanche le service pédiatrie semble être le moins touché par les contaminations bactériennes responsables d'infections nosocomiales car les germes recherchés sont pratiquement absents dans les différents prélèvements effectués.

Parmi les facteurs attribués à cette contamination : une négligence des règles de l'hygiène depuis 01/03/2020 jusqu'au 19/03/2020. La présence de ce groupe de bactérie est attribuée aussi à une contamination d'origine humaine provenant du tube digestif, de la peau ou des muqueuses humaines. Cette contamination varie qualitativement et quantitativement dans le temps, en fonction des services, des patients, des soins et techniques pratiqués.

Conclusion et Perspectives

Ce mémoire présente le travail que nous avons effectué lors de notre stage au sein du laboratoire de bactériologie de l'hôpital de Hammam Bouhadjar – Ain-Témouchent. C'est une première expérience à la fois très intéressante et très enrichissante dans notre spécialité qui est la microbiologie appliquée.

Vu la fréquence élevée des infections nosocomiales dans notre pays et la multiplication des germes ainsi que l'augmentation de leur résistance aux antibiotiques, il est nécessaire de suivre un plan médical permettant d'éviter l'expansion de ces infections au sein de la population.

Les infections nosocomiales constituent un problème sanitaire majeur pour tous les établissements de soins. Elles occasionnent la morbidité et la mortalité d'un grand nombre de patients hospitalisés dans le monde. Les analyses effectuées durant notre stage ont révélées dans certains cas la présence des germes pathogènes, que ce soit à partir d'un malade ou à partir des prélèvements effectués dans l'environnement hospitalier. Les bactéries que nous avons isolées sont généralement des espèces appartenant au genre *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, les entérobactéries et les autres bacilles Gram négatives. Elles étaient localisées au niveau des instruments, des patients, les surfaces sèches et l'air. A travers ces réalités, on doit prendre toutes les précautions, afin d'éviter de telles infections, par l'application des règles d'hygiène adéquates comme le nettoyage et la désinfection des lieux de soins. La formation et l'éducation du personnel socio sanitaire dans le respect strict des règles d'hygiène et de fonctionnement des services, la propreté des mains (lavage), le port des gants et des tenues professionnelles propres, jeter le matériel souillé dans des poubelles appropriées, salles propres et bien rangées pour l'accueil des patients.

Nous souhaitons par ailleurs que l'établissement hospitalier veille et poursuive régulièrement les contrôles, afin d'améliorer une hygiène sanitaire qui met en jeu la santé publique.

L'antibiorésistance a révélé l'inefficacité de certains antibiotiques comme l'Amoxiclav, l'Amoxicilline et la Cefixime et l'efficacité de d'autres antibiotiques comme la Gentamicine, la Pristinamycine et la Cefazoline. L'origine de la multi résistance observée chez certaines souches de staphylocoques d'origine humaine serait sans doute le résultat d'une utilisation anarchique des médicaments en général et des antibiotiques en particulier par les patients.

Environ 20 à 30% des souches de Staphylocoques sont actuellement résistantes aux antibiotiques de dernière génération tel que la méthicilline (**Niculita-Hirzel, 2013**).

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

- Respect des règles d'hygiène dans les différents services,
- Suivi d'une stratégie de surveillance et de lutte contre les infections nosocomiales,
- Contrôle permanent et rigoureux des personnels soignants, des lieux de soins et des instruments médicaux par les différents laboratoires d'analyse.

Conclusion et Perspectives

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

Les perspectives de lutte contre les infections nosocomiales pour la décennie à venir sont principalement :

- Renforcer et évaluer nos structures hospitalières.
- Améliorer les pratiques en hygiène : plus spécialement :
 - Production de nouvelles recommandations nationales de bonnes pratiques avec la mise à jour du guide sur la désinfection des dispositifs médicaux et l'évaluation de guides sur la gestion du risque infectieux d'origine environnementale (prélèvements microbiologiques d'environnement et de l'eau à l'hôpital),
 - Améliorer la désinfection des mains par une utilisation étendue des solutés hydro-alcooliques,
 - Définir une politique nationale d'audits permettant l'évaluation de l'application des recommandations de bonnes pratiques,
 - Consolider la formation des personnels spécialisés en hygiène,
- Poursuivre le développement de l'information en direction du public et des usagers.
- Soutenir le programme de maîtrise de la résistance aux antibiotiques, en particulier du bon usage des antibiotiques.
- Progresser dans la connaissance épidémiologique.
- Développer la prise en compte des infections nosocomiales et du risque infectieux en général dans les soins extrahospitaliers en développant le dispositif règlementaire et les actions d'information auprès des professionnels libéraux.

Au terme de ce travail, il est souhaitable de continuer sur ce sujet, relatif aux germes responsables d'infections nosocomiales afin de mieux cadrer ce problème. Des recherches doivent être poursuivies dans ce domaine médical, en utilisant un échantillonnage représentative et des méthodes de caractérisation rigoureuses. Ces recherches devraient servir à une identification précise et à une proposition d'une thérapie efficace.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

- **Albrecht, A. (2015)**. Les infections nosocomiales d'origine bactérienne. Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. faculté de pharmacie, 10 –50.
- **Avril, J. L. et Carlet, J. (1998)**. Les infections nosocomiales et leur prévention. Ed. Ellipses/Marketing SA Paris, 687.
- **Balkan, S., Bottineau, M. C., Carreno, C., Drogoul, F., Illanes, V., Sutton, M., ... Rigal, J. (2019)**. Guide clinique et thérapeutique. Chapitre 10 : Pathologie médico-chirurgicale. Infections nécosantes de la peau et des tissus mous, 315.
- **Biomérieux, (s.d.)**. Gastrointestinal infection. Repéré à : <https://www.biomerieux-diagnostics.com/gastrointestinal-infections>.
- **Bouchard, F. (2017)**. Guide de prévention. notions de base en prévention et contrôle des infections santé et sécurité du travail ,8-10.
- **Bounab, R., Chekakla, M. et Saci, H. (2011)**. Isolement et identification des bactéries responsables d'une infection nosocomiale chez les patients - nouveaux nés-. Diplôme de master. faculté des sciences et de l'ingénierie département de biologie, 56.
- **Brenda, L. et Tesini, M. D. (2018)**. University of Rochester School of Medicine and Dentistry.
- **Butreau, L. M. et Botto, H. (1997)**. Infections urinaires nosocomiales.
- **CCLIN Sud-Ouest. (2005)**. Entretien des locaux des établissements de soins, pp 11.
- **CHU Tizi-Ouzou. (2012)**. Service d'Epidémiologie et Médecine Préventive. Enquête de prévalence des infections nosocomiales.
- **Cronin, W. et Tietjen, L. (1992)**. Prévention des infections .Guide à l'intention des programmes de planifications familiale. JHPIEGO corporation, Baltimore, Maryland. ch 13, 5.
- **Delarras, C. (1998)**. Microbiologie, 90 heures de travaux pratiques : enseignement commun et préparatoire à Génie de l'environnement.
- **Dider, S. (2011)**. Epidémiologie des infections liées aux soins en pédiatrie Lyon, Pl 03.
- **Dridi, E., Chetoui, A. et Zaoui, A. (2006)**. Prevalence de l'infection nosocomiale dans un hôpital regional Tunisien. Santé Publique. , 18(2) ,187–194. [PubMed] [Google Scholar]
- **Ducel, G., Fabry, J. et Nicolle, L. (2002)**. Prévention des infections nosocomiales Guide pratique 2eme Ed.
- **ECDC. (2011-2012)**. «Point prevalence survey of healthcare-associated infections and antimicrobial use in European acute care hospitals. » Stockholm.
- **ENP. (2012)**. Distribution des principaux sites infectieux.
- **Faure, E. (s.d.)**. Les infections nosocomiales. Repéré à <https://www.caducee.net/DossierSpecialises/infection/nosocomiales.asp#:~:text=%2D%20les%20infections%20exog%C3%A8nes%20qui%20sont,manque%20de%20pratiques%20d'hygi%C3%A8ne>.
- **Fong, I. W. et Drlica, K. (2008)**. Antimicrobial Resistance and Implications for the TwentyFirst Century.
- **Fournels, L. (2017)**. Les infections du site opératoire Surgical site infections. Volume 1, Revue Francophone de Cicatrisation, Issue 2, 27-30.

Références bibliographiques

- **Heart, T. et Shears, P. (2006).** Atlas de poche de microbiologie. . Médecine-Sciences-Flammarion.
- **Jacqueline, R. L. et Lyonel, R. (2017).** Infections néonatales Prévention des infections néonatales.
- **Joffin, J. N. et Leyral, G. (2006).** Microbiologie technique. Tome1 : Dictionnaire des techniques. 4e édition. Edition CRDP d'aquitaine.
- **Katlama, C., Beytout, J., Christmann, D., Dellamonica, P., Frottier, J., Girard, P. M.,... Matheron, S. (2003).** Le POPI. Maladies infectieuses ; Chapitre 29 - Infections nosocomiales, 186 -201.
- **Kernane, S. et Khanouche, M. (2013).** Contribution à l'étude du dispositif algérien de lutte contre les infections nosocomiales : Cas des C.H.U de Béjaïa et de Tizi – Ouzou [en ligne]. Mémoire de fin d'études en Sciences Economiques, Bejaïa ,27.
- **Lakikza, A. M. et Slimani, Z. (2018).** Les infections nosocomiales dans le service de dermatologie du CHU de Constantine. Mémoire de Master. Université de Constantine. 32p.
- **Mainardi, J. L. (2018).** Résistance aux antibiotiques. unité 1138 Inserm/Sorbonne Université/Université Paris.
- **Mchich, A. (2002).** Les infections nosocomiales à propos de 55 cas colligent au Maroc université Cheikh Anta Diop de Dakar faculté de médecine. de pharmacie et d'odontologie département de pharmacie.
- **Mergoud, L. (2004).** Etudes bactériologie médicale des bactéries isolées en milieu hospitalier.
- **Médecin des Hôpitaux. (2010).** Praticien Hospitalier. Urgences médico-chirurgicales et judiciaires, SMUR. Hôtel-Dieu-Cochin (Paris) ; Université Paris Descartes – AntibioGramme.
- **Michel, V., Hauwuy, A., Montel, M. C., Coulon, J. B. et Chamba, J. F. (2005).** Symposium International « Territoires et Enjeux du développement régional », Lyon, 9-11 Mars 2005
- **Niculita-Hirzel, H. (2013).** Environnement présentant un risque nouveau de contamination des travailleurs par des souches de *S. aureus* résistantes à la méthicilline. Bulletin de veille scientifique, N°21. Santé pp. 45 – 47.
- **Philippe, M., Sylvain, J. B., Enora, T. et Darko, A. (2016).** Prévention des pneumopathies nosocomiales.Département d'Anesthésie-Réanimation Chirurgicale. CHU Bichat Claude Bernard, 336-337.
- **Prescott, M. L., Harley, P. J. et Klein, A. D. (2003).** Microbiologie. 2ème édition française. De Boeck.
- **RAISIN et CCLIN. (2012).** Enquête nationale de prévalence 2012 des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé. Mai-juin 2012. Protocole-guide de l'enquêteur.
- **Samou, F. S. (2005).** Les infections nosocomiales dans le service de chirurgie « B » de l'hôpital du Point G. Bamako : Thèse de Médecine. [Google Scholar].
- **Spicer, J. W. (2002).** Pratique Ciinique En Bacteriologie .Mycologie Et Parasitologie, 190 - 191.

Références bibliographiques

- **Thiolet, J. M., Gautier, C., Jarno, P., L'Hériteau, F., Metzger, M. H., Tronel, H., Coignard B. (2006).** Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales, France, (groupe de travail Raisin ENP).
- **Vaud. (2018).** Surveillances HPCi Organisation & Mission du programme cantonal
- **Vincent, A. (2008).** Infections associées aux soins définition, fréquence et facteurs de risque, 2.
- **Vrijens, F., Gordts, B., De-Laet, C., Devriese, S., Huybrechts, M., Peeters, G.,Hulstaert, F. (2008).** Les infections nosocomiales en Belgique. volet 1 : Etude nationale de prévalence.
- **WHO. (2009).** Guidelines on Hand Hygiene in Health Care: a Summary. First Global Patient Safety Challenge Clean Care is Safer Care. Repéré à : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5267913/#:~:text=Dans%20les%20pays%20d%C3%A9velopp%C3%A9s%20des, Belgique%20%5B3%2C%204%5D>
- **Wilson, M. et Gaido, L. (2004).** Laboratory diagnosis of urinary tract infections in adult patients. *Clinical Infectious Diseases* 2004 ; 38:1150-60.
- **Yannick, A., Rajguru, M. et Bingen, E. (2003).** Infections nosocomiales en pédiatrie : problèmes et perspectives.

Annexes

Annexe 01

Les milieux de cultures

1-Gélose Nutritive

Composition :

Extrait de viande.....	1, 0g
Extrait de levure.....	2,0g
Peptone.....	5,0g
Chlorure de sodium.....	5,0g
Agar.....	15,0g

pH = 7,4

2-Gélose Hektoen

Composition :

Protéose-Peptone.....	12,0 g
Extrait de levure.....	3,0 g
Désoxycholate de sodium.....	9,0 g
Lactose.....	12, 0 g
Saccharose.....	12, 0 g
Salicine.....	2,0 g
Bleu de bromothymol	65 mg
Fuchsine acide.....	100 mg
Thiosulfate de sodium.....	5,0 g
Citrate ferrique ammoniacal.....	1,5 g
Chlorure de sodium.....	5,0 g
Agar.....	15,0 g

pH = 7,5

Eau distillée..... 1 L

3-Gélose BCP

Composition :

Peptone.....	5, 0 g
Extrait de viande.....	3,0 g
Lactose.....	10,0 g
Bromocrésol pourpre.....	0, 025 g
Agar.....	11, 0 g

pH = 6,8

Eau distillée..... 1 L

4-Gélose Mac Conkey

Composition :

Peptone20,0 g

Sels biliaires n°3.....1,0 g

Cristal violet.....0,001 g

Lactose.....10,0 g

Rouge neutre..... 0,05 g

Chlorure de sodium.....5,0 g

Agar.....15,0 g

pH = 7,1

Eau distillée..... 1 L

5-Gélose Chapman

Composition :

Peptone.....10,0 g

Extrait de viande de bœuf.....1,0 g

Chlorure de sodium.....75,0 g

Mannitol.....10,0 g

Rouge de phénol.....0,025 g

Agar.....15,0 g

pH = 7,5

Eau distillée..... 1 L

6-Gélose Mueller-Hinton

Composition :

Hydrolysate acide de caséine (peptone).....17,5 g

Extrait de viande.....2,0 g

Amidon.....1,5 g

Calcium.....20 à 25 mg

Magnésium.....10 à 12,5 mg

Agar.....15,0 g

pH = 7,4 +/- 0,2

Eau distillée..... 1 L

Bouillon Nutritif

Composition :

Extrait de viande..... 3,0 g/L

Peptone..... 5,0 g/L

pH = 6,8

Annexes 02

Les tests biochimiques classiques

Milieu TSI

-Agar 12g/L
-Extrait de l'oeuf 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

Milieu citrate de Simmons

-Chlorure de sodium5g
-Sulfate de magnésium0,2g
-Phosphate d'ammonium POH1g
-Phosphate di potassique POHK2g
-citrate trisodique2g
-Solution de bleu bromothymol %8ml
-Agar15g
-Eau distillée 1000ml
Ajuster le pH a 7,2

Milieu mannitol- mobilité

-Peptone pancreatique de viande20g/L
-Agar-agar4g/L
-Mannitol2g/L
-Nitrate de potassium1g/L
-Rouge de phénol solution à 1%4ml
-Eau distillée 1000ml
Ajuster le pH a 7,2

Milieu urée indole

-L-tryptophane3g
-phosphate monopotassique1g
-phosphate di potassique1g

-Chlorure de sodium5g
-Uree20g
-Solution rouge de phénol a 1%2,5ml
-Alcool a95°10ml
-Eau distillée 1000ml

Annexes 03

Les réactifs de la coloration de gram

Lugol

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

Violet de gentiane

Violet de gentiane	1g
-Ethanol a90%	10ml
-acide phénique neigeux	2g
-Eau distillée	100ml

fushine

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

Annexes 04

Résumé des tests biochimiques réalisés

Milieu	Caractères recherchés	Mode d'ensemencement	Résultat attendu
TSI (tri-sugar_iron)	-Utilisation des sucres : *Glucose *Saccharose *Lactose -Production H ₂ S -Production du gaz	-L'ensemencement sur la surface de la pente par des stries serrées puis par piqure centrale du culot. -Incubation à 37°C pendant 24h.	-Virage de couleur vers le jaune. -Formation des taches noires. -Observation d'espace vide dans le milieu.
Mannitol Mobilité	-Mannitol -Mobilité	-L'ensemencement par piqure centrale. - Incubation à 37°C pendant 24h.	-Mobilité : Les bactéries mobiles peuvent déplacer dans la gélose molle. -Mannitol : milieu de couleur jaune.
Citrate de Simmons	-utilisation du citrate comme seule source de carbone	- la pente est ensemencée par une strie longitudinale. -Incubation à 37°C pendant 24h.	-virage de l'indicateur de pH au couleur bleu.
Urée indole	-L'activité uréase. -Formation d'indole	-Ensemencer le milieu avec des gouttes de suspension bactérienne. -Incubation à 37°C pendant 24h. -Test indole : ajouter quelque goutte de réactif de Kovacs.	-Test urée : Apparition d'une couleur rose. -Test indole : Apparition d'un anneau rouge à la surface.
Test ONPG	-une β-galactoside-perméase membranaire. - une β-galactosidase.	-Réaliser une suspension épaisse des bactéries testées en eau distillée. -Ajouter avec une pince flambée mais refroidie un disque imprégné d'ONPG. -Incubation à 37°C pendant 24h.	- Milieu jaune : ONPG +. - Milieu sans couleur : ONPG -.
la lysine décarboxylase (LDC), l'ornithine décarboxylase (ODC) et l'arginine dihydrolase (ADH).	La présence des décarboxylases et dihydrolase bactériennes par la mise en évidence de l'acidification du milieu et son ré alcalinisation.	-Ensemencer le milieu avec des gouttes de suspension bactérienne. -Agiter le tube et le recouvrir avec l'huile de vaseline.- Fermer le tube entièrement afin de créer une anaérobiose relative. -Incubation à 37°C pendant 24h.	-Milieu jaune (virage de couleur) acide : LDC-, ODC-, ADH-. -Milieu sans virage de couleur (alcalin) : LDC+, ODC+, ADH+.

Résumé

Les infections nosocomiales sont l'une des causes principales de la morbidité et la mortalité chez les patients hospitalisés. Ces infections constituent un problème de santé publique réel qui génère un cout économique et humain considérable. Notre étude s'est intéressée aux bactéries responsables de ces infections. Nous avons ainsi isolé et purifié dix (10) isolats. Ces derniers ont été pré-identifiés par les méthodes phénotypiques classiques et des tests biochimiques. Les résultats de cette étude effectués dans deux services médicaux (médecine interne et pédiatrie) ont montré qu'ils appartiennent essentiellement aux *Staphylococcus* (44 %), *Aeromonas* (17 %), *Burkholderia* (5%) et les Entérobactéries (34%). L'antibiogramme a montré que les germes bactériens réagissent différemment aux antibiotiques testés, principalement aux antibiotiques : Gentamicine, Amoxiclav, Pristinamycine, cefazolin, Cefexime, amoxicilline. Globalement, les caractères phénotypiques (cultureux et biochimiques) et les tests d'antibiogramme ont permis de rattacher nos isolats à 8 principaux genres par ordre de dominance : *Staphylococcus*, *Aeromonas*, *Enterobacter*, *Leclercia*, *Serratia*, *Providencia*, *Escherichia* et *Burkholderia*.

Mots-clés : Infection nosocomiale, environnement hospitalier, germes bactériens, médecine interne, service de pédiatrie, *Staphylococcus*.

Abstract

Nosocomial infections are one of the main causes of morbidity and mortality in hospital patients. These infections constitute a real public health problem, which generates a considerable economic and human cost. Our study looked at the bacteria responsible for these infections. We thus isolated and purified ten (10) isolates. These were pre-identified by conventional phenotypic methods and biochemical tests. The results of this study carried out in two medical departments (internal medicine and pediatrics) have shown that they mainly belong to *Staphylococcus* (44%), *Aeromonas* (17%), *Burkholderia* (5%) and Enterobacteriaceae (34%). The antibiogram showed that the bacterial germs react differently to the antibiotics tested, mainly antibiotics: Gentamicin, Amoxiclav, Pristinamycin, cefazolin, Cefexime, amoxicillin. Overall, the phenotypic characters (cultural and biochemical) and the antibiogram tests made it possible to link our isolates to 8 main genera in order of dominance: *Staphylococcus*, *Aeromonas*, *Enterobacter*, *Leclercia*, *Serratia*, *Providencia*, *Escherichia* et *Burkholderia*.

Keywords: Nosocomial infection, hospital environment, bacterial germs, internal medicine, pediatric service, *Staphylococcus*.

ملخص

تعد عدوى المستشفيات أحد الأسباب الرئيسية للاعتلال والوفيات عند المرضى في المستشفيات. تشكل هذه العدوى مشكلة صحية عامة حقيقية تؤدي إلى تكلفة اقتصادية وبشرية كبيرة نظرت دراستنا في البكتيريا المسؤولة عن هذه العدوى. وهكذا قمنا بعزل وتنقية عشر عزلات وقد تم تحديدها مسبقاً من خلال الأساليب المظهرية التقليدية والاختبارات البيوكيميائية. تم تنفيذ نتائج هذه الدراسة في قسمين طبيين (الطب الداخلي وطب الأطفال) أظهرت أنها تنتمي بشكل رئيسي إلى (*Staphylococcus* (44 %)، *Aeromonas* (17 %)، *Burkholderia* (5%) و les Entérobactéries (34%).

أظهر المضاد الحيوي أن الجراثيم البكتيرية تتفاعل بشكل مختلف مع المضادات الحيوية التي تم اختبارها، وبشكل رئيسي للمضادات الحيوية: جنتاميسين، أموكسيسلاف، بريستيناميسين، سيفازولين، سيفكسيم، أموكسيسيلين.

بشكل عام، جعلت السمات المظهرية (الزراعية والبيوكيميائية) واختبارات المضادات الحيوية من الممكن ربط عزلاتنا بـ 8 أجناس رئيسية على حسب الهيمنة: *Staphylococcus*، *Aeromonas*، *Enterobacter*، *Leclercia*، *Serratia*، *Providencia*، *Escherichia*، *Burkholderia*.

الكلمات المفتاحية: عدوى المستشفيات، بيئة المستشفى، الجراثيم البكتيرية، الطب الباطني، خدمة الأطفال، المكورات العنقودية