

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



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

Contribution à l'étude des germes responsables des infections nosocomiales
dans deux services (le bloc chirurgical et la dialyse) et la restauration collective à
l'hôpital de Hammam Bouhadjer, Ain-Temouchent

Présenté Par :

- 1) Melle Amara Hadjer
- 2) Melle Bekhedda Fatima Zohra

Devant le jury composé de :

Dr. Ziane Mohamed	(M C A)	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Président
Dr. Bouamra Mohamed	(M C A)	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Examineur
Dr. Belahcene Miloud	(Professeur)	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Encadrant

Année Universitaire 2020/2021

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 et notre respect vont à notre encadreur **M. BELLAHCENE** Miloud enseignant à l'Université **BELHADJ Bouchaïb**, 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 sincères remerciements 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 de ce mémoire.

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

Nos remerciements les plus sincères vont également à Monsieur le chef de service du laboratoire, **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 ».

Dédicace

A Mes Très Chers Parents Mr Medjahed Amara et Mme Malika Belaimeche,
Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous
porte la profonde gratitude que je vous témoigne pour tous les efforts et les
sacrifices que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon
bien-être. Vous êtes les meilleurs, vous avez su m'entourer d'attention,
m'inculquer les valeurs nobles de la vie, m'apprendre le sens du travail, de
l'honnêteté et de la responsabilité. J'espère avoir répondu aux espoirs que vous
avez fondés en moi et réalisé aujourd'hui l'un de vos rêves Qu'Allah vous garde et
vous procure santé, bonheur et longue vie afin que vous demeuriez le flambeau
illuminant mon chemin merci infiniment

A mes tendres, gentilles et chères sœurs Imene, Souad, Aya et Meriem.

A mon cher beau-frère Nabil que je remercie pour son soutien et mes adorables
nièces Nada et Eline.

À mes merveilleux amis Fatima Zohra, Wissem, Kawther, Zohor, Amoula et
Ahmed, Je les remercie pour le sourire qu'elles ont su toujours dessiner sur mon
visage.

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

Hadjer

Dédicace

A Mes Très Chers Parents Mr Bouhdjer et Mme Fouzia tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte la profonde gratitude que je vous témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien-être. Vous êtes les meilleurs, vous avez su m'entourer d'attention, m'inculquer les valeurs nobles de la vie, m'apprendre le sens du travail, de l'honnêteté et de la responsabilité. J'espère avoir répondu aux espoirs que vous avez fondés en moi et réalisé aujourd'hui l'un de vos rêves Qu'Allah vous garde et vous procure santé, bonheur et longue vie afin que vous demeuriez le flambeau illuminant mon chemin.

A ma tendre, gentille et adorable sœur Manel et Mes adorables frères Hichem et Ibrahim.

A mon fiancé Abde Rrahim et sa famille.

À mes merveilleux amies Hadjer, Ghozlen, Abir, Hanane et Wissem, Je les remercie pour le sourire qu'elles ont su toujours dessiner sur mon visage.

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

Fatima

Table des matières

LISTE DES ABREVIATIONS	I
LISTE DES FIGURES	II
LISTE DES TABLEAUX	IV
INTRODUCTION	1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Généralités sur les infections nosocomiales	3
1. Définition	3
2. Épidémiologie	3
3. Les origines des infections nosocomiales	4
3.1 Les infections endogènes	4
3.2 Les infections exogènes	5
4. Mode de transmission	5
4.1 La transmission par contact	5
4.2 La transmission aérienne	5
4.3 La transmission par l'eau	6
5. Les agents responsables des infections nosocomiales	6
5.1 Les bactéries	6
5.2 Les virus	7
5.3 Les parasites et les champignons	7
6. Les voies de pénétrations des germes	9
7. Les facteurs de risque d'infections nosocomiales	10
8. Localisation des infections nosocomiales	11
8.1 Infections urinaires	11
8.2 Infections du site opératoire	11
8.3 Pneumopathies nosocomiales	13
8.3 Bactériémies nosocomiales	14
8.5. Infections sur cathéter vasculaire	14
8.6. Autres infections nosocomiales	14
9. Les symptômes des infections nosocomiales	15
10. les traitements d'une infection	15
11. Les conséquences des infections nosocomiales	15

PREVENTION DES INFECTIONS NOSOCOMIALES	16
1. Les mesures générales de la prévention	16
1.1 L'antisepsie	16
1.2 La désinfection	16
1.3 La décontamination	16
1.4. La stérilisation	17
2. Principes généraux de prévention pour les hôpitaux	17
2.1. Hygiène personnelle	17
2.1.1 Vêtements de travail.....	17
2.1.2. La propriété des mains	17
2.1.3. Le port des gants	17
2.1.4. Le port du masque	17
2.2. Nettoyage de l'environnement hospitalier	17
2.2.1. Les bâtiments	18
2.2.2. Maitrise de la qualité de l'eau et de l'air	18
2-3 Surveillance et suivi des maladies nosocomiales.....	18
LUTTE CONTRE LES INFECTIONS NOSOCOMIALES	18
MATERIELS ET METHODE	
Matériel et méthodes	20
1. Echantillonnage	20
2. Phase d'enrichissement	23
3. Isolement des germes bactériens	23
3-1 Isolement à partir des surfaces solides	23
3-2 Isolement à partir de l'air	23
3-3 isolement a partir des urine, de plais et de cathéter.....	24
4. Identifications des bactéries	24
4-1 Examen macroscopique	25
4-2 Examen microscopique	25
4-3 Etude des caractères biochimiques des Staphylocoques pathogènes	27
4-4 Les tests biochimiques	28
4-5 Identification des germes bactériens à l'aide de la galerie Api 20 E	31
4-6 Etude de la sensibilité aux antibiotiques en milieu solide	34

RESULTATS ET DISCUSSION

I . RESULTATS	37
1. Résultats de l'étude macroscopique et microscopique des bactéries Matériel et méthodes	37
2. Résultats de l'isolement et de l'identification	49
2.1. Résultats des tests biochimiques classiques	50
2.2. Résultats de la galerie API 20E	52
2.3. Identification des Staphylocoques pathogènes	53
3. Résultats de profil de sensibilité des souches aux antibiotiques	54
II . DISCUSSION	56
CONCLUSION	59

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

Résumé

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 Opératoire
- 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

Liste des figures

N°de figures	Titres	N°de pages
01	Les infections d'origine endogène	4
02	Les infections d'origine exogène	5
03	Classification anatomique des infections du site opératoire	13
04	Répartition des infections nosocomiales selon le site infectieux.	15
05	Phase d'enrichissement	23
06	Les différentes méthodes d'ensemencement	24
07	Différentes étapes de préparation d'un frottis bactérien	26
08	Les étapes de coloration de Gram	27
09	Illustration des résultats du test mannitol mobilité	30
10	Préparation de la galerie API 20 E	32
11	Exemple de résultats de la Galerie API (tests positifs et tests négatifs).	33
12	Modèle de lecture et d'identification sur galerie Api 20 E.	33
13	Méthode de préparation d'un antibiogramme	35
14	Exemple de résultats de l'antibiogramme	35
15	Caractères cultureux des bactéries isolées à partir de prélèvement N°1	39
16	Aspects microscopiques des bactéries obtenues à partir de prélèvement N° 01 après coloration de Gram	39
17	Caractères cultureux des bactéries isolées à partir de prélèvement N°2	39
18	Aspects microscopiques des bactéries obtenues à partir de prélèvement N° 02 après coloration de Gram	40
19	Caractères cultureux des bactéries isolées a partir de prélèvement N°3	40
20	Aspects microscopiques des bactéries obtenues à partir de prélèvement N° 03 après coloration de Gram	40
21	Caractères cultureux des bactéries isolées à partir de prélèvement N°4	41
22	Aspects microscopiques des bactéries obtenues à partir de prélèvement N° 04 après coloration de Gram	41
23	Caractères cultureux des bactéries isolées à partir de prélèvement N°5	43
24	Aspects microscopiques des bactéries obtenues à partir de prélèvement N° 05 après coloration de Gram	43
25	Caractères cultureux des bactéries isolées à partir de prélèvement N°6	43
26	Aspects microscopiques des bactéries obtenues à partir de prélèvement N° 06 après coloration de Gram	44
27	Caractères cultureux des bactéries isolées à partir de prélèvement N°7	44
28	Aspects microscopiques des bactéries obtenues à partir de prélèvement N° 07 après coloration de Gram	44
29	Caractères cultureux des bactéries isolées à partir de prélèvement N°8	45
30	Aspects microscopiques des bactéries obtenues à partir de prélèvement N° 08 après coloration de Gram	45
31	Caractères cultureux des bactéries isolées à partir de prélèvement N°9	47
32	Aspects microscopiques des bactéries obtenues à partir de prélèvement N° 09 après coloration de Gram	47
33	Caractères cultureux des bactéries isolées à partir de prélèvement N°10	47
34	Aspects microscopiques des bactéries obtenues à partir de prélèvement N° 10 après coloration de Gram	48
35	Caractères cultureux des bactéries isolées à partir de prélèvement N°11	48
36	Aspects microscopiques des bactéries obtenues à partir de prélèvement N° 11 après coloration de Gram	48

37	Caractères cultureux des bactéries isolées à partir de prélèvement N°12	49
38	Résultats des caractères biochimiques des germes identifiés	52
39	Résultats de la galerie API20E	53
40	Test coagulase positif et négatif	54
41	Test catalase positif	54
42	Résultats de l'antibiogramme	55

Liste des tableaux

N° de tableaux	Titres	N° de pages
01	Principaux microorganismes responsables des infections nosocomiales	7
02	Tableau présentant les données relatives aux différents lieux de prélèvement	21
03	Différents aspects des cellules bactériennes après observation au microscope optique.	25
04	Résultat des isolements au niveau de service de restauration	38
05	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir de prélèvement N°01	39
06	Résultat de l'examen microscopique des bactéries à partir du prélèvement N°02	40
07	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du prélèvement N°03	41
08	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du Prélèvement N°04	41
09	Résultat des différents prélèvements au niveau de service de bloc opératoire	42
10	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du prélèvement N°05	43
11	Résultat de l'examen microscopique des bactéries à partir du prélèvement N°06	44
12	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir de prélèvement N°07	45
13	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir de prélèvement N°08	45
14	Résultat des différents prélèvements au niveau de service de service de dialyse	46
15	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir de prélèvement N°09	47
16	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir de Prélèvement N°10	48
17	Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir de Prélèvement N°11	49
18	Les espèces bactériennes identifier	50
19	Résultat des tests biochimique classique des germes identifiés	51
20	Résultats des tests enzymatiques des staphylocoques aureus et épidermidis	54
21	Résultat de l'antibiogramme des souches bactérienne	55

Introduction

Les infections nosocomiales (IN) ou infections hospitalières sont des infections contractées dans un établissement de santé. Cette définition a été complétée en novembre 2006 et elle est désormais intégrée dans l'ensemble des infections associées aux soins. Les infections nosocomiales sont reconnues comme des problèmes majeurs de santé publique de leur fréquence, leur coût et leur gravité. Le risque de contracter une infection à l'hôpital a toujours existé et ce risque s'est accru avec l'évolution des pratiques de soin et de recrutement des patients. La pratique des soins plus efficaces mais souvent plus invasifs s'est accompagnée d'une possibilité de contamination par des micro-organismes d'origine endogène ou exogène, de plus le recrutement des patients hospitalisés s'est modifié en particulier avec la prise en charge des personnes de plus en plus vulnérables à l'infection (patients immunodéprimés, interventions chirurgicales lourdes, patients présentant plusieurs pathologies graves, patients polytraumatisés en réanimation). D'après la littérature, 7 % des patients hospitalisés sont à risque de contracter une infection à l'hôpital, c'est-à-dire une infection nosocomiale.

Selon l'organisation mondiale de santé (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 réel qui génère un coût économique et humain considérable. Dans certains pays en voie de développement, le taux le plus élevé de prévalence de ces infections est estimé à environ 25 %. Plus de 1,4 millions 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 %. Parmi les services les plus touchés par ordre décroissant, le service de réanimation, le service de chirurgie et de médecine.

En Algérie, ces infections ne cessent de gagner du terrain, entraînant chaque jour une morbidité et une mortalité exponentielle, générant un surcoût considérable. Elles sont le résultat de plusieurs facteurs, telle la pression de sélection exercée par les antibiotiques, un dysfonctionnement des procédures thérapeutiques et un déséquilibre de l'hygiène hospitalière. La surveillance et surtout l'hygiène deviennent plus que jamais indispensable. D'ailleurs, des épidémiologistes dans certains services ont depuis longtemps alerté de la prévalence très élevée des infections nosocomiales dans les établissements de soins algériens.

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

Le but de cette contribution est d'isoler, purifier et identifier certains germes responsables des infections nosocomiales au sein de l'hôpital de Hammam Bouhadjar – Ain Témouchent, ensuite évaluer le niveau de sensibilité de ces germes vis-à-vis de quelques antibiotiques, disponibles.

Chapitre I

Synthèse Bibliographique

I. Généralités sur les infections nosocomiales**1- Définition**

Le terme nosocomial est issu du grec nosos (maladie), komein : soigner (**Faure, s.d.**)

- Selon l'**Organisation Mondiale de Santé (OMS)**, une infection nosocomiale – ou infection hospitalière peut être définie comme suit : Infection acquise à l'hôpital par un patient admis pour une raison autre que cette infection. Infection survenant chez un patient à l'hôpital ou dans un autre établissement de santé et chez qui cette infection n'était ni présente ni en incubation au moment de l'admission. Cette définition inclut les infections contractées à l'hôpital mais qui se déclarent après la sortie, et également les infections professionnelles parmi le personnel de l'établissement (**C.E.P., 2010 - 2011**).
- Selon **National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS)**, le terme nosocomial définie comme un état localise ou systémique qui résulte de la réaction défavorable de l'organisme due à la présence d'un agent infectieux ou de sa toxine et qui n'était ni présent ni en incubation au moment de l'admission et ne se manifeste qu'au-delà de 48h d'hospitalisation (**C.E.P., 2010 – 2011**).
- Selon le **comité des ministres du Conseil de l'Europe du 25 octobre 1984**, une infection hospitalière, est toute maladie contractée à l'hôpital. Elle est due à des micro-organismes, cliniquement ou microbiologiquement reconnaissables, qui affectent soit le malade du fait de son admission à l'hôpital ou des soins qu'il y a reçus en tant que patient hospitalisé ou en traitement ambulatoire, soit le personnel hospitalier, du fait de son activité, que les symptômes de la maladie apparaissent ou non pendant que l'intéressé se trouve à l'hôpital (**C.E.P., 2010 - 2011**).

Comme définition générale une infection est dite associée aux soins, si elle survient au cours ou au décours d'une prise en charge (diagnostique, thérapeutique, palliative, préventive ou éducative) d'un patient et si elle n'était ni ne présente, ni en incubation au début de la prise en charge. 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 IAS. (**Vincent, 2008**).

Pour les infections de la plaie opératoire, on qualifie d'infections nosocomiales, celles survenues dans les 30 jours suivant l'intervention. S'il y a mise en place d'un implant ou d'une prothèse, le délai est d'une année après l'intervention (**Albercht, 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% (Samou, 2005).

Une étude réalisée au Maroc en 2006 a montré un taux d'infections nosocomiales de 17,8 %. Des études en Tunisie ont signalé un taux de 17,8 % (WHO, 2009).

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

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 Pr. SOUKEHAL A., chef de service au C.H.U de Beni Messous, déclare que le taux de ces infections est en état d'aggravation, passant de 15 à 18 % (Kernane et Khznouche, 2013).

3. Les origines des infections nosocomiales

3.1) Les infections endogènes

Les agents infectieux proviennent du patient lui-même, ils sont présents à la surface de la peau ou au niveau des muqueuses. La contamination a lieu lors de l'ouverture de la peau (pour un acte invasif comme l'introduction d'un cathéter, la pose de sondes ou de drains). Les infections endogènes représentent 50% des infections nosocomiales (Pasteur, 2011).

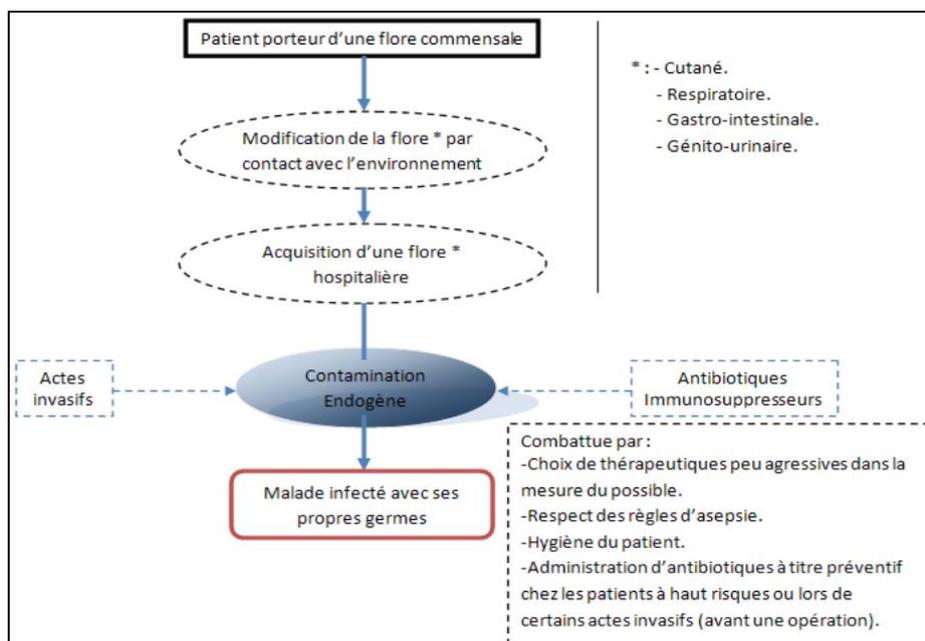


Figure 01 : Les infections d'origine endogène (Benhaddouche, 2016).

3.2) Les infections exogènes

Les infections exogènes sont soit des infections croisées transmises d'un malade à un autre, soit des infections provoquées par les germes du personnel soignant, soit des infections liées à la contamination de l'environnement hospitalier (système d'air, eau, alimentation...) (Faure, s.d).

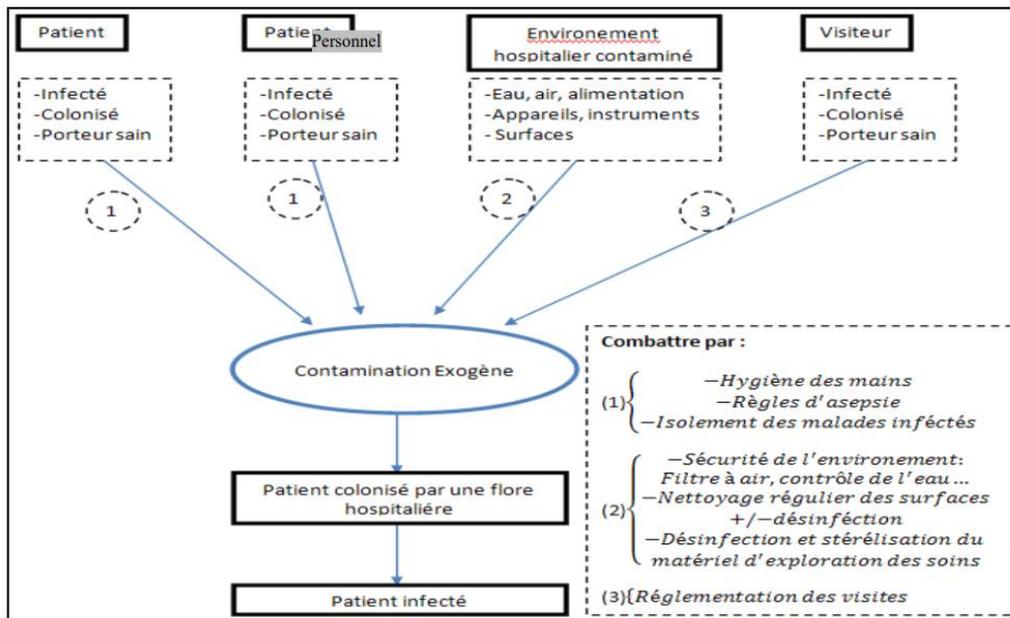


Figure 02 : Les infections d'origine exogène (Benhaddouche, 2016).

4. Mode de transmission

La transmission d'un germe de son réservoir à une personne indemne se fait à l'aide d'un vecteur, et selon différentes voies :

4.1) La transmission par contact

Cette transmission consiste en un transfert des micro-organismes à partir d'un contact physique direct entre deux surfaces corporelles (les infections transmises par les mains) les agents infectieux peuvent être véhiculés par les personnels de santé et provenir d'une première contamination provoquée par les soins à d'autres patients ou par toute personne travaillant à l'hôpital. Tout le personnel hospitalier est concerné, ainsi que les visiteurs et la famille, qui représentent aussi une population à risque pour le patient. Les plis, les espaces interdigitaux les ongles constituent autant de gîte bactérien moins aisément accessible (Tabib et Toumi, 2009).

4.2) La transmission aérienne

La densité des germes dans l'air diffère suivant les lieux, l'horaire et saison. L'origine des germes de l'air est essentiellement humaine et extrahumaine. Le nuage de germes infectieux humain provient de la respiration, la parole, les germes d'origines extrahumaines proviennent du matériel hospitalier, des vêtements, la literie et notamment des poussières des locaux mises en mouvement (Tabib et Toumi, 2009).

4.3) La transmission par l'eau

La contamination des réseaux de distribution de l'eau à l'hôpital est une source potentielle de nombreuses maladies hydriques hospitalière d'origine bactériennes (fièvre typhoïde, paratyphoïde et autre salmonelloses, choléra et dysenteries) ou virales (poliomyélite aiguë, hépatites virales,) ou bien parasitaire (Tabib et Toumi, 2009).

5. Les agents responsables des infections nosocomiales

Des agents pathogènes très divers peuvent être à l'origine d'infections nosocomiales. Les agents infectieux varient selon les populations de patients et les types d'établissements de santé, d'un établissement à l'autre et d'un pays à l'autre (Tableau 01).

5.1 Les bactéries

Ces microorganismes sont des minuscules organismes vivants que l'on rencontre dans tout le monde habité, ce sont les plus courants des agents pathogènes responsables d'infections nosocomiales et se présentent sous diverses formes :

- 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 microorganismes pathogènes. Certaines bactéries commensales peuvent provoquer une infection si les défenses immunitaires de l'hôte sont affaiblies. Par exemple, les Staphylocoques cutanés coagulase-négatifs provoquent des infections sur cathéter vasculaire et les *Escherichia coli* présentes dans l'intestin sont la cause la plus courante d'infections urinaires (Bouras et Belarbi.,2016).

- Les bactéries pathogènes : Ces bactéries ont une virulence plus élevée et provoquent des infections quel que soit l'état immunitaire de l'hôte. Par exemple :

- Les bacilles anaérobies à Gram positif (ex. *Clostridium*) provoquent la gangrène.

- Bactéries à Gram positif : *Staphylococcus aureus* (bactérie cutanée qui colonise la peau et le nez du personnel hospitalier et des patients) provoque une grande variété d'infections pulmonaires, osseuses, cardiaques et sanguines et résiste fréquemment aux antibiotiques. Les Streptocoques bêta-hémolytiques sont également des agents pathogènes importants.

- Bactéries à Gram négatif : les entérobactéries (ex. *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Enterobacter* spp. Et *Serratia marcescens*) peuvent coloniser certains sites lorsque les défenses immunitaires de l'hôte sont affaiblies (site d'insertion d'un cathéter, d'une canule, sonde urinaire) en provoquant des infections graves (infection du site opératoire, infection pulmonaire, bactériémie, infection du péritoine). Elles peuvent également être hautement résistantes.

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

- Plusieurs autres bactéries représentent un risque spécifiquement hospitalier. Par exemple, les diverses espèces de *Legionella* peuvent provoquer des pneumopathies (sporadiques ou

endémiques) par inhalation d'aérosols impliquant de l'eau contaminée (climatisation, douches, aérosols à visée thérapeutique) (Ducel *et al.*, 2012).

5.2 Les virus

Le virus est un agent infectieux nécessitant un hôte, souvent une cellule, dont les constituants et le métabolisme déclenchant la réplication. Parmi ces virus, on distingue : Les virus de l'hépatite, notamment l'hépatite B et C ; le virus de l'herpès ; le virus de la grippe ; le virus de l'immunodéficience (VIH) ; le virus des fièvres hémorragiques (virus EBOLA) et le virus des gastroentérites infantiles (rota virus) (Jacque, 2013).

5.3 Les parasites et les champignons

Certains parasites (par exemple *Giardia lamblia*) se transmettent facilement chez l'adulte et l'enfant. De nombreux champignons et autres parasites sont des agents opportunistes et provoquent des infections en cas de traitement antibiotique prolongé et d'immunodépression sévère, parmi ces espèces fongiques : *Candida albicans*, *Aspergillus* spp., *Cryptococcus neoformans*, *Cryptosporidium* spp. Ces espèces sont une des causes majeures d'infection généralisée chez les patients immunodéprimés. La contamination de l'environnement par des germes aéroportés comme *Aspergillus* spp. présents dans les poussières et le sol est également préoccupante, en particulier lors de la construction d'hôpitaux. L'espèce *Sarcoptes scabies*, agent de la gale est un ectoparasite qui provoque régulièrement des flambées épidémiques dans les établissements de santé (Ducel *et al.*, 2012).

Tableau 01 : Principaux microorganismes responsables des infections nosocomiales.

COCCI GRAM POSITIF				
Micro-organismes	Espèce	Réservoir principale	Mode de transmission	Porte d'entrée principale
<i>Staphylococcus</i>	<i>Epidermidis</i>	Humain et animal Peau et muqueuses environnement	Contact direct Contact indirect Dont manuportage	Cutanéo-muqueux Percutanée
	<i>Aureus</i>	Humain naso-pharynx, environnement peau	Contact direct Contact indirect Dont manuportage	Cutanéo muqueuse Percutanée Digestive Respiratoire
<i>Streptococcus</i>		Humain	Contact direct Gouttelettes Contact indirect Dont manuportage	Cutanéo muqueuse Digestive Respiratoire Materno foetale

<i>Entérocooccus</i>	<i>Faecalis</i>	Humain et animal Tube digestif Environnement	Contact indirect Dont manuportage	Digestive
Bacilles gram positif				
<i>Bacillus cereus</i>		Environnement : germe du sol	Contact indirect	Digestive
<i>Listeria monocytogenes</i>		Environnement	Contact direct : rare Contact indirect	Digestive Respiratoire Materno fœtale
Bacilles gram négatif				
<i>Acinetobacter</i>	<i>Baumannii</i>	Humain : peau et muqueuses	Contact indirect Dont manuportage	Cutanéomuqueuse Digestive
<i>Escherichia</i>	<i>Coli</i>	Humain et animal : tube digestif	Contact indirect Dont manuportage	Digestive
<i>Klebsielle</i>	<i>Pneumoniae</i>	Humain et animal : tube digestif Environnement : sol, Eaux végétaux	Contact indirect Dont manuportage	Cutanéo muqueuse Digestive Respiratoire
Entérobactéries		Humain et animal : tube digestif Environnement : sol, Eaux, végétaux	Contact direct Contact indirect Dont manuportage	Cutanéomuqueuse Digestive Respiratoire
<i>Serratia</i>	<i>Marcescens</i>	Humain et animal : tube digestif Environnement : Sol, eaux, végétaux	Contact indirect Dont manuportage	Cutané muqueuse Digestive
<i>Protéus</i>		Humain et animal : tube digestif	Contact indirect Dont manuportage	Digestive
<i>Legionella</i>		Environnement : eau essentiellement	Aéroportée Gouttelettes	Respiratoire
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		Humain : tube digestif Environnement : sol, eaux, végétaux	Contact indirect Dont manuportage	Cutanéomuqueuse Digestive Respiratoire

Les Virus				
Virus des hépatites	A	Humain	Contact indirect Dont manuportage	Digestive
	B	Humain	Contact direct rare Contact indirect	Percutanée Sexuelle Materno fœtale Sanguine
	C	Humain	Contact direct Contact indirect	Percutanée Sexuelle Maternofoetale Sanguine
VIH		Humain	Contact direct Contact indirect	Percutanée Sexuelle Materno fœtale Sanguine
Les champignons				
<i>Candida albicans</i>		Humain Animal Environnement	Contact direct Contact indirect Dont manuportage	Digestive
<i>Aspergillus</i>	<i>fumigatus</i>	Environnement : Végétaux, matières organiques en décomposition, sol, poussières	Aéroporté	Respiratoire

6. Les voies de pénétrations des germes

Le tableau suivant représente les différentes voies de pénétration :

Voie respiratoire	Voie cutano muqueuse	Voie génitale	Voie parentérale	Voie entérique
Toux, éternuements, manœuvre instrumentale (intubation ...).	Plaie opératoire ...	Atteinte de l'arbre urinaire par cathétérisme.	Tous gestes invasifs, ponction, cathétérisme.	Tout ce qui touche au tube digestif.

--	--	--	--	--

7. Les facteurs de risque d'infections nosocomiales

Par définition, un facteur de risque agit en augmentant l'incidence de la maladie chez des sujets qui y sont exposés, mais on parle aussi de facteur lorsque l'incidence diminue avec la baisse de l'exposition. Cette notion est très importante dans la mesure où la maîtrise de l'exposition devrait permettre de baisser l'incidence de la maladie. Les facteurs de risques se classent en facteurs intrinsèques et en facteurs extrinsèques. On peut distinguer quatre familles de facteurs de risque :

a. **Les facteurs de risque liés au patient**, parmi ces facteurs de risque :

- Augmentation du nombre de patients immunodéprimés plus sensibles à l'infection ;
- Augmentation du nombre de personnes âgées (le risque d'infection nosocomiale augmente avec l'âge) ;
- Augmentation du nombre de personnels qui gravitent autour des malades (transmissions croisées) ;
- Le sexe du patient a aussi un poids sur l'infection par exemple, l'infection urinaire est plus fréquente chez les femmes que les hommes.
- La durée de séjour qui augmente l'incidence des infections (**Benhaddouche, 2016**).

b. **Les facteurs de risque liés aux soins et aux interventions**, parmi ces facteurs :

- Le manque des pratiques d'hygiène du personnel (lavage des mains, des instruments, des meubles...).

- Le mauvais usage des produits.

- Les gestes de soins non rigoureux.

- Le non-respect des protocoles et procédures.

- Un manque d'hygiène corporelle du personnel.

- Une mauvaise organisation du travail.

- Toutes les prothèses, comme les sondes urinaires, les cathéters vasculaires, les drains, les sondes digestives favorisent l'apparition de ces infections

(**Benhaddouche, 2016**).

- Les interventions chirurgicales ont un impact du premier degré sur la contraction des infections nosocomiales.

- La pression thérapeutique (antibiotiques, corticoïdes...).

c. **Les facteurs de risque liés à l'agent infectieux**, parmi ces facteurs :

- Le degré de pathogénicité des agents infectieux.
- La résistance bactérienne (l'administration de trop et de tous les antibiotiques provoque l'émergence de souches bactériennes résistantes qui ne disposent plus d'antibiotique qui permettent de les éliminer) (**Behaddouche, 2016**).

d- **Les facteurs de risque liés à l'environnement**, parmi ces facteurs :

- L'architecture mal adaptée,
- l'entassement, la promiscuité,
- l'encombrement des services,
- le manque d'isolement,
- les circuits non conformes,
- l'entretien et la désinfection des locaux non respectés,
- la contamination de l'environnement (air, eau...).

8. Localisation des infections nosocomiales

8.1) Infections urinaires

L'infection urinaire représente environ 40% des infections nosocomiales (**Riegel, 2003**). Ce sont les infections nosocomiales les plus courantes ; 80 % des infections sont liées à un sondage ou plus rarement par d'autres manœuvres instrumentales. Ces situations bouleversent les mécanismes physiologiques de défense, de telle sorte que des micro-organismes sans facteur de virulence spécifique pour l'arbre urinaire peuvent induire une infection. Les infections urinaires nosocomiales se développent surtout sur les sondes laissées à demeure, par voie ascendante, soit endoluminale, soit extra luminale péri-urétrale. Une fois acquise, l'infection devient chronique par la production de biofilm autour du corps étranger. Le micro-organisme le plus souvent isolé est *E. coli* suivi des entérocoques, *P. aeruginosa* et des entérobactéries ces germes proviennent majoritairement de la flore digestive du patient, soit native ou modifiée par les procédures de soin (**Caron, 2003**).

Les infections urinaires sont associées à une plus faible morbidité que les autres infections nosocomiales, mais peuvent dans certains cas provoquer une bactériémie potentiellement mortelle, si les bactériuries sur sonde sont le plus souvent asymptomatiques, en particulier pour les sondages de courte durée, des complications graves sont décrites à l'échelon individuel (urosepsis, infection chronique obstructive des sondages prolongés,...) et collectif (réservoir de bactéries fréquemment multirésistantes aux antibiotiques, sources d'infections croisées) (**Ducel et al., 2012**).

8.2 Infections du site opératoire

Selon les critères établis par les centres de contrôle et de prévention des maladies (CDC) en 1992 à 1999, l'infection du site chirurgicale est une manifestation clinique située dans une ou tous les canapés de tissus touchés par l'intervention (**Benedetto et al., 2013**).

L'infection de la plaie opératoire est définie comme des infections survenant dans les 30 jours après l'intervention ou dans l'année qui suit l'intervention s'il y a mise en place d'une prothèse ou d'un implant.

Elle est caractérisée par la présence de pus au niveau de l'incision chirurgicale. L'infection est en général acquise pendant l'intervention elle-même, avec une origine soit exogène (air, matériel médical, chirurgiens et autres soignants), soit endogène (flore cutanée ou flore présente sur le site opératoire ou, dans de rares cas, sang utilisé en peropératoire). Il s'agit d'un problème important qui limite le bénéfice potentiel des interventions chirurgicales. L'impact sur les coûts hospitaliers et la durée du séjour postopératoire (3 à 20 jours de plus) est considérable (**Guetarni, 2014**).

On distingue trois types (**Figure 03**) :

- Pour une infection superficielle de l'incision, doivent être réunis les éléments suivants :
 - Survenue dans les 30 jours suivant l'acte chirurgical,
 - atteint les tissus cutanés ou sous-cutanés,
 - un signe d'infection (douleur, sensibilité, rougeur, chaleur...) associé à l'ouverture délibérée de la partie superficielle de l'incision par le chirurgien.
- Pour les infections profondes de l'incision :
 - Survenue dans les 30 jours suivant l'intervention chirurgicale ou dans un délai d'un an si l'implant est en place (type prothèse).
 - drainage purulent à partir de l'incision profonde, mais pas à partir de la composante organe ou espace du site chirurgical.
 - déhiscence de la cicatrice associée à une fièvre, douleur et micro-organisme isolé sur un prélèvement.
 - diagnostic d'infection du site opératoire incisive profonde par un chirurgien ou un médecin traitant.
- Infection de l'organe ou de l'espace concerné par le site opératoire, infection survient dans les 30 jours suivant l'opération si aucun implant n'est laissé en place ou dans un délai d'un an si l'implant est en place et que l'infection semble être liée à l'opération et l'infection concerne toute partie de l'anatomie (des organes ou des espaces) (**Fournel, 2017**)

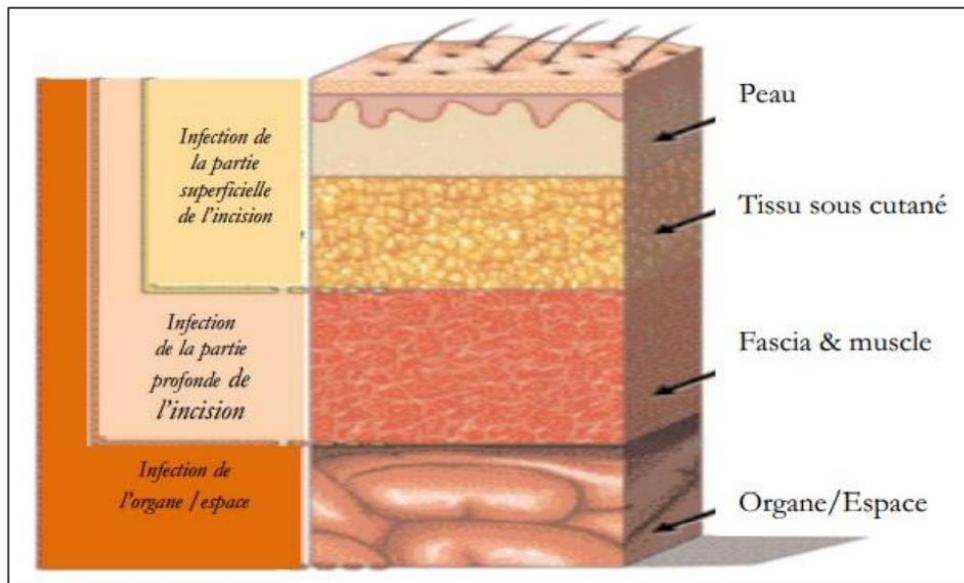


Figure 03 : Classification anatomique des infections du site opératoire selon CDC 1992/1999 (Guetarni, 2014).

8.3. Pneumopathies nosocomiales

Les infections nosocomiales pulmonaires regroupent les pneumopathies ainsi que les autres infections des voies respiratoires (bronchites, bronchiolites,..) (Albertch, 2015).

Les pneumopathies nosocomiales s'observent chez plusieurs catégories de patients, principalement les patients sous ventilation artificielle dans les unités de soins intensifs. La pneumopathie associée à la ventilation assistée possède un taux de létalité élevé, bien que le risque attribuable soit difficile à déterminer du fait de l'importance des comorbidités. Les microorganismes colonisent l'estomac, les voies respiratoires supérieures et les bronches et provoquent une infection pulmonaire (pneumopathie) ; ils sont souvent endogènes. La flore oropharyngée et les bactéries d'origine digestive mais peuvent être exogènes, souvent à partir d'un appareil respiratoire contaminé.

Parmi les facteurs de risque connus figurent le type et la durée de la ventilation, la qualité des soins respiratoires, la gravité de l'état du patient (insuffisances organiques) et les antécédents d'antibiothérapie. A part les pneumopathies associées à la ventilation, les patients atteints de convulsions ou dont le niveau de conscience est altéré sont exposés au risque d'infection nosocomiale même en l'absence d'incubation. Les bronchiolites virales (virus respiratoire syncytial) sont fréquentes dans les services de pédiatrie, la grippe et les pneumopathies par surinfection bactérienne peuvent toucher les établissements pour personnes âgées. Chez les patients gravement immunodéprimés, une pneumopathie à *Legionella* spp. et à *Aspergillus* spp. Peut survenir.

Dans les pays à forte prévalence de la tuberculose et en particulier de ses souches résistantes, la transmission dans les établissements de santé peut constituer un grave problème (Ducel *et al.*, 2012).

8.4. Bactériémies nosocomiales

Les bactériémies nosocomiales (BN) constituent la localisation la plus sévère des infections liées aux soins qui représentent une faible proportion des infections nosocomiales (environ 5 %). C'est une infection associée à une morbidité et une mortalité importante, plus de 50 % pour certains micro-organismes. Leur incidence est en augmentation, en particulier pour certains micro-organismes comme *Staphylococcus* spp. et *Candida* spp. coagulase-négatifs multirésistants. L'infection peut se développer au point d'insertion cutané d'un dispositif intravasculaire ou sur le trajet sous-cutané d'un cathéter (infection du tunnel). Les micro-organismes qui colonisent le cathéter à l'intérieur du vaisseau peuvent provoquer une bactériémie sans infection externe visible. L'infection prend sa source dans la flore cutanée résiduelle ou temporaire. Les principaux facteurs de risque sont la durée du cathétérisme, le niveau d'asepsie lors de l'insertion et les soins continus une fois le cathéter en place. Les bactériémies sont associées à une prolongation de la durée de séjour hospitalier et à un surcoût non négligeable (Ducel *et al.*, 2012).

8.5. Infections sur cathéter vasculaire

Ces infections représentent environ 20% des infections nosocomiales (Spicer, 2002). Les patients ont un ou plusieurs dispositifs intravasculaires : voie veineuse périphérique, voie veineuse centrale, cathéter artériel. Ces différentes voies permettent la réalisation rapide d'une expansion volumique, l'administration de médicaments, la nutrition parentérale, les transfusions de produits sanguins. Les dispositifs intravasculaires représentent des portes d'entrée des bactériémies primitives nosocomiales du fait de la rupture de la barrière naturelle cutanée. Le risque infectieux augmente avec la durée de maintien du cathéter et la fréquence des manipulations sur la ligne de perfusion.

L'infection sur cathéter est l'une des causes essentielles des bactériémies et des septicémies à l'hôpital (Hugard, 2003).

Bactériémie : passage bref est transitoire des bactéries dans le sang ne donnent lieu à aucune manifestation clinique.

Septicémie : infection générale due à des décharges microbiennes massives et répétées, issue d'un foyer septique (Hygie, 1988).

8.6. Autres infections nosocomiales

Les infections décrites plus haut sont les quatre types les plus fréquentes et les plus importantes d'infections nosocomiales, mais il existe de nombreux autres sites potentiels d'infection, par exemple :

- Infections de la peau et des tissus mous : les plaies ouvertes (ulcères, brûlures, escarres) favorisent la colonisation bactérienne et peuvent conduire à une infection généralisée.
- La gastro-entérite est l'infection nosocomiale la plus fréquente chez l'enfant, avec un rotavirus comme principal agent pathogène.
- Sinusites, autres infections de la sphère ORL, infections de l'œil et de la conjonctive.
- Endométrite et autres infections de l'appareil génital après l'accouchement (Ducel *et al.*, 2012).

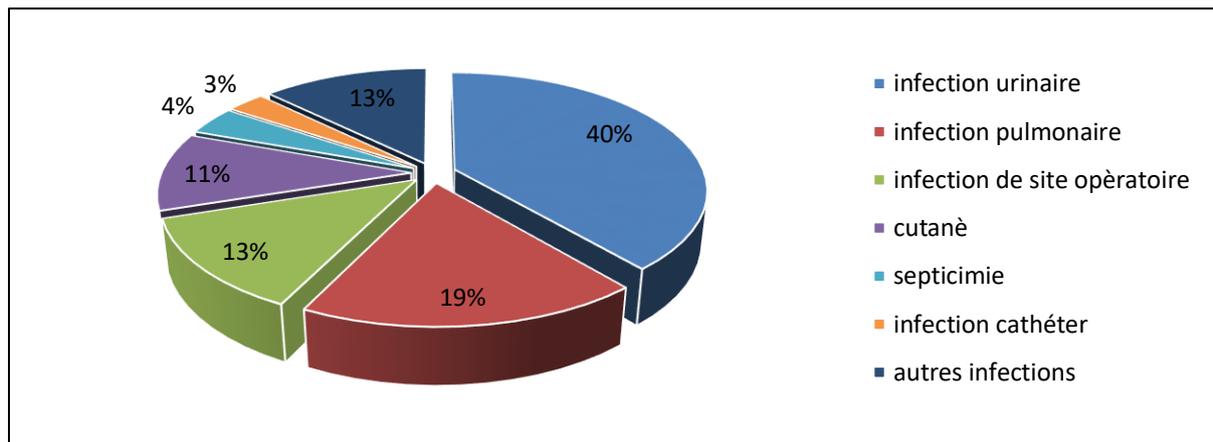


Figure 04 : Répartition des infections nosocomiales selon le site infectieux.

9. Les symptômes des infections nosocomiales

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

a. Pour une infection urinaire qu'ils surviennent après la pose d'une sonde ou une chirurgie des voies urinaires, les signes à surveiller sont : des douleurs ou brûlures au moment de la miction ; besoin d'uriner plus fréquent et/ou difficultés à uriner ; lourdeur dans le bas ventre ; urines plus troubles que d'habitude, avec parfois présence de sang.

b. Les infections qui se manifestent au niveau d'un site opératoire vont varier selon la partie du corps concerné. On peut retrouver : des signes d'inflammation (chaleur, rougeur, douleur) ; des écoulements (lymphe ou pus) ; un abcès et de la fièvre.

c. Pour les infections des voies respiratoires, les symptômes sont ceux d'une pneumonie : toux et essoufflement ; fièvre importante (supérieure à 39 degrés) ; douleurs thoraciques.

d. Les infections du sang présentent des symptômes peu spécifiques : alternance de fièvre importante (supérieure à 39 degrés) et d'hypothermie ; alternance de frissons et de sueurs ; tachycardie et fréquence cardiaque élevé [1].

10. les traitements d'une infection

Lorsque l'organisme n'a plus les capacités de se défendre, le médecin prescrit à son patient, après avoir fait son diagnostic d'infection, un traitement adapté. Parmi ce traitement, l'usage des antibiotiques s'il s'agit d'une infection bactérienne (ex. une Pneumopathie à pneumocoque), des antiviraux s'il s'agit d'une infection virale (ex. une grippe), des antimycosiques s'il s'agit d'un champignon (ex. une candidose) et des antibiotiques antiparasitaires (ex. une infection génitale à *Trichomonas*) [2].

11. Les conséquences des infections nosocomiales

L'infection nosocomiale peut être grave et parfois mortelle. Des études menées au Etats-Unis suggèrent en qu'environ 5% des malade hospitalisés souffrants d'infection nosocomiales un malade sur 1000 en meurt (**Peuchère et al., 1991**). D'une manière générale,

les infections nosocomiales sont susceptibles d'avoir pour conséquences : l'augmentation de taux de morbidité en institution hospitalière, un accroissement de la durée de séjour, secondaire au traitement de l'infection et de ses complications éventuelles, avec les conséquences économiques associées et un accroissement du risque de mortalité.

II. Prévention des infections nosocomiales

1. Les mesures générales de la prévention : Parmi les mesures de prévention :

1.1. L'asepsie : (a=sans+ sepsis=infection), l'asepsie représente un cumul de méthodes prophylactiques de préservant de la souillure microbienne dans les interventions chirurgicales ou dans tout autre acte médical invasif (**Gheram et Ciocan.s.d.**).

1.2. L'antiseptie : (anti=contre + sepsis=infection), l'antiseptie est l'utilisation d'un antiseptique choisi judicieusement pour neutraliser les micro-organismes présents sur une zone de peau ou de muqueuse, qu'elle soit saine ou lésée. Son effet est temporaire, son emploi est plus préventif que curatif (**Cronin et Titjen, 1992**). Parmi les principaux antiseptiques sont :

- La polyvidone iodée ; l'hypochlorite de sodium ; les sels de chlorhexidine et l'alcool.

1.3. La désinfection

La désinfection représente le processus par lequel on élimine une importante partie des microorganismes de l'origine d'infection sur le matériel utilisé, mais pas tous les microorganismes. C'est un processus de réduction de la contamination à un niveau ne pouvant plus causer l'infection. Les objets que l'on désinfecte sont soit des dispositifs médicaux (DM) qui ne nécessitent pas une stérilisation (DM non critiques et DM semi-critiques) ou des dispositifs médicaux qui nécessiteraient une stérilisation mais qui ne la supporteraient pas (DM critiques thermosensibles ou non autoclavables). Parmi les désinfectants couramment utilisés :

- Désinfectants Propylène glycol et triéthylène glycol : peuvent être utilisés comme aérosols ou vapeurs qui en concentration suffisante désinfectent l'air des chambres des patients.
- Les aldéhydes (formaldéhyde et glutaraldéhyde) : sont utilisés comme désinfectants, avec un puissant effet bactéricide, détruisant aussi les champignons et certaines spores.
- le chlore et l'ozone : sont des oxydants puissants, utilisés pour la désinfection des surfaces.
- Les composés quaternaires d'ammonium (chlorure de benzalkonium).
- Les polymères de biguanide (polyaminopropyl biguanide) : sont des bactéricides puissants, même en petite

1.4. La décontamination

La décontamination est l'action d'éliminer, tuer ou inhiber les microorganismes indésirables et diminuer leur nombre sur le matériel utilisé, se fait grâce à un décontaminant (**Oumous, 2007**).

1.5. La stérilisation

La stérilisation est l'ensemble des méthodes permettant de détruire les microorganismes, les virus et les parasites portés par un objet (**Oumous, 2007**).

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

La question du contrôle des infections concerne les facteurs associés à la propagation de l'infection dans les établissements de soins de santé, que ce soit d'un patient à l'autre, d'un patient au personnel hospitalier et inversement, du personnel au patient ou parmi les membres du même personnel.

Il existe un certain nombre de procédures que les prestataires de soins médicaux ainsi que les personnes doivent prendre en compte pour prévenir l'infection dans les hôpitaux notamment :

2.1. Hygiène personnelle

Tous les membres du personnel doivent observer une bonne hygiène personnelle. Les ongles seront propres et coupés court. Les cheveux devront être courts ou attachés. La barbe et la moustache seront propres et taillées court.

2.1.1 Vêtements de travail

Le personnel peut normalement porter des vêtements ordinaires et une blouse spéciale. Cette tenue de travail doit être en tissu facile à laver et à décontaminer.

2.1.2. La propriété des mains

L'objectif est de prévenir la transmission manu portée, éliminer la flore transitoire et de diminuer la flore commensale par l'utilisation des solutions hydro-alcoolique.

2.1.3. Le port des gants

Le port des gants est obligatoire, et destiné à protéger et prévenir le risque de contamination du patient par les germes présents sur la peau des mains et aussi pour prévenir le risque de contamination de l'utilisateur en cas de contact avec des substances infectées ou contaminées (sang, liquide organique, déchets).

2.1.4 Le port du masque

Les masques en papier avec un matériau synthétique filtrant constituent une barrière efficace contre les micro-organismes.

2.2. Nettoyage de l'environnement hospitalier

Le nettoyage de l'environnement hospitalier est une opération indispensable et continue. Elle doit être effectuée par un personnel qualifié. Cette opération permet l'élimination de tous les déchets d'activité des soins, afin d'éliminer les risques infectieux. Les déchets doivent être éliminés selon certaines procédures : Les sacs noirs, sont généralement utilisés pour des déchets assimilables aux ordures ménagères, par contre, les sacs jaunes sont utilisés pour les déchets d'activité de soins à risque infectieux.

2.2.1. Les bâtiments

Les bâtiments doivent être dans les normes par leurs surfaces et leur aération. Ils doivent être nettoyés matin et soirs avec des désinfectants. Le nettoyage et la désinfection sont donc des opérations complémentaires, aucune désinfection n'est possible si elle n'a procédé d'un nettoyage efficace.

2.2.2. Maitrise de la qualité de l'eau et de l'air**2-3 Surveillance et suivi des maladies nosocomiales**

Chaque établissement de santé public ou privé dispose d'un comité de lutte contre les infections nosocomiales (CLIN) qui définit la politique de prévention et veille au suivi du programme annuel de maîtrise du risque infectieux et à la communication des informations utiles. Il doit produire les données nécessaires au calcul des indicateurs liés à la lutte contre les infections nosocomiales, une équipe opérationnelle en hygiène est aussi constituée et des correspondants en hygiène sont nommés dans chaque service ils sont tenus de surveiller les nouveaux protocoles de prévention et de les diffuser auprès de leurs collègues.

III. Lutte contre les infections nosocomiales

Pour lutter efficacement contre les infections nosocomiales plusieurs recommandations sont à prendre en considération :

- Adapter les structures et faire évoluer le dispositif de lutte contre les infections nosocomiales.
- Améliorer l'organisation des soins et les pratiques des professionnelles.
- Optimiser le recueil et l'utilisation des données de surveillance et du signalement des infections nosocomiales.
- Des moyens budgétaires consacrés aux actions spécifiques d'hygiène dans les hôpitaux (formation du personnel).
- Mieux informer les patients et communiquer sur le risque infectieux lié aux soins.
- Promouvoir la recherche sur les mécanismes, l'impact, la prévention et la perception des infections nosocomiales.
- La mise en place des documents de référence sur les précautions à prendre à l'égard des patients atteints de maladies infectieuses et sur la désinfection des dispositifs médicaux.
- La surveillance épidémiologique des infections nosocomiales par des experts rendant compte de la situation de chaque service.
- Un plan d'inspection lancé dans l'ensemble des régions pour contrôler l'application des procédures et des bonnes pratique (P. N. L., 2005 - 2008).

Chapitre II

Matériel et Méthode

Matériel et méthodes

Nous avons effectué une étude sur les infections nosocomiales au sein de l'établissement hospitalier de Hammam Bouhdjar, wilaya d'Ain Témouchent (hôpital BERREBI Abdelkader). Cette étude a été réalisée sur différents individus hospitalisés. Trois environnements hospitaliers ont fait l'objet de cette étude. Il s'agit de deux services (service de dialyse et bloc chirurgicale) ainsi que la restauration collective de l'établissement. Les analyses bactériologiques ont été effectuées du 10 avril au 10 mai, 2021.

Lieu de l'étude

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

Objectif de l'étude

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

Déroulement de travail

1- Echantillonnage

Les échantillons ont été prélevés à partir de deux services de l'hôpital, service de dialyse et de bloc chirurgicale ainsi que le restaurant collective de l'hôpital. Le tableau ci-dessous présente les données des lieux de prélèvement (**Tableau 02**).

Tableau 02 : Tableau présentant les données relatives aux différents lieux de prélèvement.

Numéro de prélèvement	Site de prélèvement
Service de chirurgie	
01	Cathéter vasculaire
02	Plaie opératoire
03	Table d'opération
04	Prélèvement urinaire (l'urine)
Service de dialyse	
01	Appareil de filtration de sang (Gambro)
02	La fistule artério veineuse
03	Le lit du patient
04	L'air
Restauration collective	
01	Le Mur
02	La Payasse
03	Le Chariot
04	La Corbeille à pain

Méthode de prélèvement :

a- Prélèvement à partir de l'environnement

- **Prélèvement à partir de l'air**

La technique utilisée est celle de la sédimentation sur boîte de Petri. Elle peut être réalisée à l'aide de boîte de Pétri de gélose nutritive (GN). Les boîtes sont ouvertes dans la pièce et exposées à une hauteur supérieure à un mètre pendant 24 heures, les bactéries contenues dans l'air se déposent. Après fermeture des boîtes, ces dernières sont mises à incuber. Cette méthode est simple mais présente l'inconvénient de ne pouvoir exprimer les résultats par quantité d'air analysé, elle est donc très imprécise. Une autre méthode beaucoup plus efficace et précise, peut se faire à l'aide d'appareils « collecteurs d'air », conformes aux recommandations européennes. Ils présentent l'avantage de connaître le volume d'air analysé et donc d'exprimer les résultats par unité de volume d'air.

- **Prélèvement à partir d'une surface solide**

Les prélèvements sont effectués à l'aide d'un écouvillon stérile. Ce dernier est tout d'abord humidifié avec l'eau physiologique, ensuite frotté sur la surface délimitée en

imprimant un mouvement de l'écouvillon sur toute la surface analysée. L'écouvillon est replacé dans un tube à vis contenant de l'eau physiologique stérile.

- Les prélèvements doivent être impérativement identifiés en mentionnant l'endroit de prélèvement, le service concerné et la date et l'heure de prélèvement.

b. Prélèvement à partir des malades

- **Prélèvement urinaire :**

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

Ouvrir le flacon stérile et uriner le 1^{er} jet (un volume d'urine de 20 ml environ et pas uniquement les premières gouttes). Uriner le 2^{ème} jet dans le flacon. Le flacon est soigneusement fermé ensuite, glisser dans une pochette hermétiquement fermée. Le flacon est ramené au laboratoire dans les plus brefs délais, pour être analysé.

Dans le cas d'un nourrisson, le recueil d'urines se fait à l'aide d'un collecteur (une poche) ; il s'agit, tout d'abord de se laver les mains au savon, réalisé ensuite une toilette minutieuse de la vulve ou du prépuce et du gland de l'enfant au savon suivie d'un rinçage à l'eau et d'un séchage ou nettoyage à l'aide de la lingette désinfectante. La découpe centrale de la poche est ensuite détachée puis jetée en retirant le revêtement qui protège l'adhésif. Si le nourrisson n'a pas uriné au bout d'une heure, la poche est retirée impérativement (risque de contamination des urines) puis refaire une toilette locale et mettre en place une poche neuve. Une fois, la miction terminée on retient la poche en soulevant un coin et en détachant doucement.

- **Prélèvement à partir de plaies**

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

- **Prélèvement à partir du cathéter**

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

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

2. Phase d'enrichissement

Cette phase a pour objectif, de pouvoir élever la population bactérienne ciblée dans un milieu liquide d'enrichissement. Parmi les milieux les plus utilisés, on trouve le bouillon nutritif. Donc, à partir d'un échantillon mis en culture pendant 18 à 24 heures, la population bactérienne atteint un niveau considérable de germes recherchés. Cette phase est importante et permettra alors d'isoler des micro-organismes correspondant à ceux ciblés dans notre analyse (**Figure 05**).



Figure 05 : Phase d'enrichissement.

3. Isolement des germes bactériens

Cette étape permet de séparer les différentes bactéries obtenues à partir d'un échantillon analysé. Elle permet aussi de les distinguer sur milieu gélosé servant comme un support pour la croissance des micro-organismes (bactéries, levures et moisissures). Les milieux sont généralement fabriqués et commercialisés par l'Institut Pasteur d'ALGER. Les principaux milieux de cultures sont : la gélose nutritif (GN) ; la gélose Mac ; milieu Conkey (MC) ; la gélose Hektoen (HK) ; la gélose Bromocresol Pourpre (BCP) ; la gélose Chapman (CHAP) dont la composition est présentée en (**Annexe 01**).

3-1- Isolement à partir des surfaces solides

L'isolement des germes à partir des surfaces solides après l'enrichissement se fait essentiellement sur le milieu GN par la méthode de stries multiples serrées à l'aide d'une anse de platine stérile et sur les milieux HK et CHAP par la méthode des cadrans (**Figure 06**). Les boîtes de Pétri contenant les milieuxensemencés, sont ensuite placées dans une étuve à 37°C pendant 24h. Les boîtes sont ensuite examinées à l'œil nu et les colonies bactériennes obtenues sont observées sous microscope optique.

3-2 Isolement à partir de l'air

Les boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive (GN) ont été exposées pendant 24h à l'atmosphère sont incubées directement dans une étuve à 37°C pendant 48h. Après incubation, les colonies obtenues ont été repiquées dans les milieux HK et CHAP.

L'ensemencement des milieux a été fait par la méthode des quadrants, les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24h.

3-3 Isolement à partir des urines, de plaie et de cathéter

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

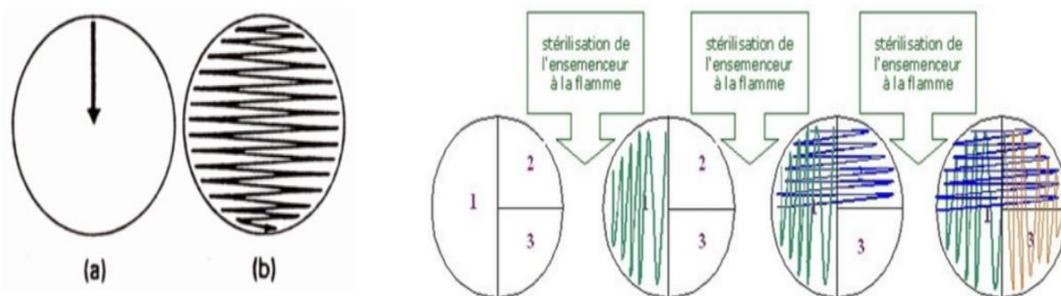


Figure 06 : Les différentes méthodes d'ensemencement.

4. Identifications des bactéries

L'identification bactérienne est essentielle dans le processus d'un examen bactériologique pour obtenir des informations importantes sur la gravité et l'origine de l'infection, ensuite proposer un traitement efficace. La raison pour laquelle, il faut utiliser des techniques à la fois rapide, fiable et précise. Ces techniques sont nombreuses car chaque groupe de bactérie exige ses propres milieux de culture.

4-1 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 (**Joffin et leyrat, 2001**). L'examen macroscopique des cultures est le premier examen effectué à partir de l'isolement après incubation. L'aspect des colonies dépend du milieu utilisé, de la durée et de la température de l'incubation. Parmi les aspects des colonies en surface sur milieu solide, nous citons :

- La taille : Elle peut être mesurée à l'aide d'une règle graduée pour les grandes colonies. Il est possible aussi d'utiliser le microscope au grossissement le plus faible pour mesurer la taille des petites colonies.
- La forme des colonies : Elle correspond à l'allure du contour (lisse, dentelé, déchiqueté, irrégulier), au relief (surface bombée, demi-bombée, plate), au centre de la colonie, parfois surélevé, parfois ombiliquée (en creux).
- L'aspect de la surface d'une colonie bactérienne : Elle peut-être lisse, rugueux ou un aspect irisé.
- L'opacité des colonies sont décrites comme : colonie opaque (ne laissent pas passer la lumière), translucide (laissent passer la lumière mais on ne voit pas les formes au

travers, comme le verre dépoli), transparente (laissent passer la lumière et voir les formes au travers, comme le verre).

- La consistance : Au moment du prélèvement, il est possible d'apprécier si les colonies sont grasses, crémeuses, sèches ou encore muqueuses.

- La couleur et/ou pigment de la colonie : Plusieurs colonies n'ont pas une couleur bien définie (blanc, gris). En revanche, certaines bactéries produisent un pigment insoluble qui donne un aspect bien caractéristique à la colonie (rose, jaune, rouge ...).

- Aspect des colonies en profondeur : Ce caractère se mesure par la présence de colonies régulières en formes de lentilles, ou colonies irrégulières de formes diffuses et floues.

-Aspect des colonies en surface sur gélose linéaire : Ce caractère correspond soit à un aspect filiforme, légèrement envahissantes avec bords ondulés, légèrement envahissantes avec bord érodé ou envahissante.

4-2 Examen microscopique

L'observation microscopique permet de faire une étude morphologique des cellules d'une espèce bactérienne. Elle peut être effectuée sans coloration de l'échantillon par observation directe entre lame et lamelle ou bien après coloration. Elle comprend :

a) L'examen à l'état frais :

C'est un examen microscopique de bactéries vivantes entre lame et lamelle sans fixation préalable en milieu liquide. Cette opération permet d'observer les activités cellulaires telles que la mobilité et la fission binaire mais aussi la taille, la forme naturelle et le mode de groupement des cellules .

Principe de la technique : Elle consiste à déposer une gouttelette de liquide (milieu liquide ou eau distillée) sur la lame propre, ensuite prélever une trace de culture bactérienne à l'aide d'une anse de platine stérile et l'émulsionner dans le liquide, recouvrir avec lamelle puis observer au microscopique. Le (tableau 03) ci-dessous illustre les différents aspects après observation et lecture des résultats.

Tableau 03 : Différents aspects des cellules bactériennes après observation au microscope optique.

Formes sphériques : coques	Formes allongées
<p>*Forme ronde : ● Ex. : <i>Staphylococcus</i></p> <p>*Forme ovale (ovoïde) : ● Ex. : <i>Streptococcus</i></p>	<p>* Formes droites :</p> <p>court ■ Long ■</p> <p>épais ■ fin ■</p> <p>Bouts ronds ■ bouts carrés ■</p> <p>Coccobaccille ● Fusiforme ●</p>
	<p>* Formes particulières</p> <p>> Forme incurvée ~ ex : <i>Vibrio</i></p> <p>> Forme spiralée ~ ex : <i>Treponema</i></p>
<p>*Mode de groupement :</p> <p>> isolé ●●</p> <p>> par deux (diplocoques) ●●</p> <p>> En flamme de bougie ●● ex. : <i>Streptococcus pneumoniae</i></p> <p>> En grain de café ●● ex. : <i>Neisseria</i></p> <p>> Par quatre : tétrade ●●●● ex. : <i>Micrococcus</i></p> <p>> En amas ●●●●</p> <p>> En chaînette ●●●●</p>	<p>* Modes de groupement :</p> <p>> isolés ■■■■</p> <p>> diplobacille ■■</p> <p>> En amas ■■■■</p> <p>> En chaînette ■■■■</p> <p>> En palissade ■■■■</p>

b) Examen après coloration

L'examen microscopique après coloration permet d'observer des bactéries détruites, fixées sur une lame et ayant subi l'action d'un ou plusieurs colorants. Selon le mode d'utilisation des colorants, on distingue deux types de colorations :

- Coloration simple (un seul colorant).
- Coloration différentielle type Gram (deux colorants).

La figure 07 ci-dessous illustre la préparation d'un frottis bactérien.

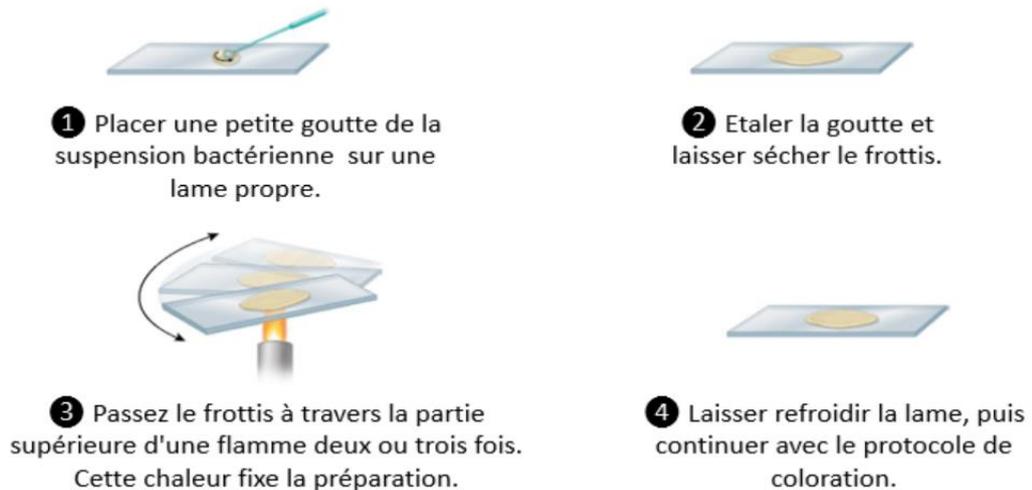


Figure 07 : Différentes étapes de préparation d'un frottis bactérien.

b.1. Coloration simple (coloration au bleu de méthylène)

La coloration au bleu de méthylène est une coloration simple et rapide. Elle peut apporter des informations concernant la morphologie des germes bactériens.

Mode opératoire de la coloration

Le principe de la méthode consiste à faire couler une solution de bleu de méthylène sur un frottis fixé et refroidi puis laisser agir pendant une minute. La lame est ensuite rincée avec de l'eau distillée ou à l'eau du robinet jusqu'à élimination des colorants en excès. La préparation est ensuite séchée à l'air et observée au microscope optique à l'objectif à immersion.

Lecture : Les cellules bactériennes sont colorées en bleu sombre.

b.2. Coloration différentielle – coloration de Gram

La coloration de Gram est la coloration différentielle la plus importante et la plus largement utilisée. Elle permet de différencier les bactéries selon 2 critères : leur forme et leur affinité pour les colorants.

- Mode opératoire de la coloration de Gram

A partir d'une culture bactérienne on réalise un frottis sur une lame propre et le laisser sécher. Le frottis est ensuite fixé à l'aide de la flamme bleue d'un bec bunsen (frottis vers le haut). Cette phase est indispensable à toute coloration : elle tue les

bactéries, rend les membranes plus perméables, fixe les structures et fait adhérer le frottis à la lame. Laisser la préparation refroidir. Recouvrir le frottis avec le violet de gentiane pendant 30 secondes, ce colorant se fixe sur les composants cytoplasmiques et les bactéries apparaissent de couleur violette. Le frottis est lavé à l'eau distillée ou à l'eau ordinaire.

Il est ensuite recouvert de Lugol durant 30 secondes. Le Lugol forme un précipité avec le violet, après lavage à l'eau distillée le frottis est recouvert d'alcool acétone durant 10 secondes. Cette étape permet de différencier entre les bactéries Gram+ et Gram-. Chez les Gram+, la paroi ne le (l'alcool) laisse pas pénétrer, donc les bactéries restent violettes. Tandis que les Gram-, la paroi des bactéries le laisse pénétrer, il entre et il dissout le complexe violet + iode, le cytoplasme se décolore. L'alcool est éliminé puis la préparation est recouverte de fuch sine durant 30 secondes (**Figure08**). La lame est lavée jusqu'à l'élimination complète du second colorant, elle est séchée avec du papier absorbant puis observer au microscope (x 100).

Chez les bactéries à Gram négatif, la paroi est riche en lipides, laisse passer l'alcool (ou le mélange alcool + acétone) qui décolore le cytoplasme et la cellule se colore avec le second colorant (couleur rose).

Chez les bactéries à Gram positif, la paroi constitue une barrière imperméable à l'alcool et le cytoplasme demeure coloré en violet. La différenciation est donc due à la différence de structure de la paroi. (**Annex 02**)

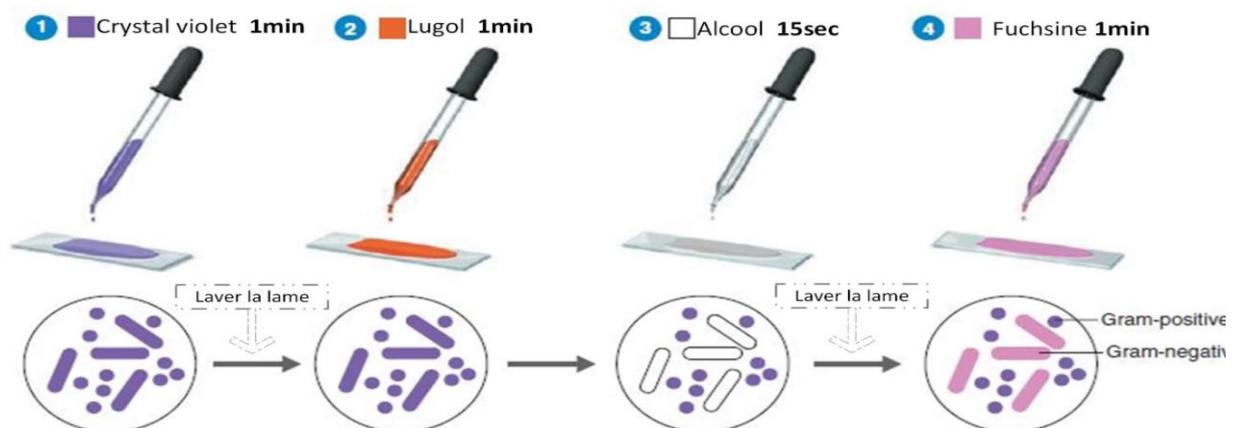


Figure 08 : Les étapes de coloration de Gram.

4-3 Etude des caractères biochimiques des Staphylocoques pathogènes

- **Test de la catalase**

La catalase est une enzyme qui sert à neutraliser les effets bactéricides du peroxyde d'hydrogène. Elle accélère la décomposition du peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée - H_2O_2) en eau et oxygène selon la réaction suivante :



- Mode opératoire : Sur une lame de verre propre on dépose une goutte d'eau oxygénée (H_2O_2), puis la mettre en contact avec une colonie bactérienne

prélevée directement à partir d'une colonie bactérienne avec une pipette pasteur boutonnée ou une anse en plastique à usage unique. Généralement ce test déconseille l'utilisation d'une anse en métal car elle serait alors oxydante. La lecture des résultats, montre soit, un test est positif (catalase+), se traduisant par une production de bulles d'air, soit une catalase-, se traduisant par une absence de production de bulles d'air.

- **Test de coagulase**

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

- Mode opératoire

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

4-4 Les tests biochimiques

Selon la disponibilité des milieux de culture, différents tests biochimiques ont été effectués. Parmi ces tests : (**Annex 03**)

- **Test de TSI (Triple Sugar Iron)**

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

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

Culture glucose positive = Culot jaune (glucose fermenté).

Culture glucose négative : culot inchangé.

Culture lactose positive : pente virant au jaune.

Culture lactose négative : pente alcalinisée (rouge groseille).

Culture saccharose positive : pente virant au jaune.

Culture saccharose négative : pente alcalinisée (rouge groseille).

Culture H₂S positive : noircissement du milieu dans la zone joignant la pente et le culot.

Production de gaz : bulle d'air, des bulles dans la masse du milieu ou contre les parois ou des poches gazeuses décollant le culot.

- **Le milieu citrate de Simmons**

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

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

➤ Technique : Les tubes contenant le milieu citrate de Simmons sont ensemencés par piqure centrale à l'aide d'un fil droit ou une pipette de pasteur fermée, chargée de culture en milieu solide ou liquide. Les tubes sont ensuite incubés à 37 °C pendant 24 heures. Après incubation,

Les bactéries "citrate positive" bleussent le milieu en donnant une culture souvent abondante.

Les bactéries "citrate négative" ne donnent ni culture, ni bleuissement du milieu, même après plusieurs jours d'incubation.

- **Test mannitol mobilité**

Principe : Le milieu Mannitol-Mobilité-Nitrate est utilisé pour l'identification présomptive des entérobactéries basée sur la fermentation du mannitol, la mobilité et la réduction des nitrates en nitrites.

➤ Mode opératoire : Le tube à essai contenant le milieu est ensemencé par une souche bactérienne pure avec une anse de platine stérile, par piqure centrale, du haut jusqu'au fond du tube. Les tubes sont incubés pendant 18 à 24 heures à 37°C. les résultats de ce test sont illustrés par la (**figure 09**) ci-dessous.

Tube A : Pas de dégradation du mannitol,

Tube B : Dégradation du mannitol,

Tube C : Dégradation du mannitol avec production de gaz,

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

Tube E : Bactérie mobile, répartition des colonies dans le milieu,

Virement du milieu au jaune : mannitol +

Milieu rouge : mannitol –

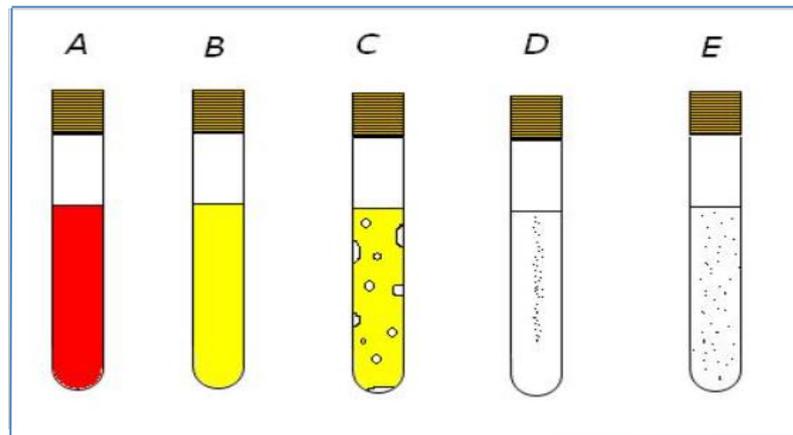


Figure 09 : Illustration des résultats du test mannitol mobilité.

- **Milieu urée indole**

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

- Mode opératoire : Le tube contenant le milieu urée indole est ensemencé à l'aide d'une anse stérile à partir d'une culture pure et fraîche prélevée sur un milieu d'isolement. Le tube est ensuite incubé dans une étuve réglée à 37 °C pendant 24h.

Les bactéries possédant une uréase transforment l'urée en carbonate d'ammonium entraînant une alcalinisation qui provoque une coloration rouge violacé du milieu en présence de rouge de phénol (indicateur de pH). La production d'indole est mise en évidence par l'addition de réactif de Kovacs (code 55313), qui agit avec l'indole en donnant une coloration rouge dans la partie supérieure du milieu en cas de réaction positive.

- **Test ONPG**

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

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

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

- Mode opératoire : Dans un tube à essai contenant 0,5 ml d'eau distillée stérile on réalise une suspension bactérienne dense avec 1 à 3 colonies pures fraîchement isolées sur un milieu lactosé. On introduit ensuite un disque

d'O.N.P.G. dans cette suspension. Le tube est incubé à 37°C pendant 24h. Le test est positif, ONPG+ si la suspension se colore en jaune citron.

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

Recherche de la lysine décarboxylase (LDC),

L'ornithine décarboxylase (ODC),

L'arginine d'hydrolase (ADH)

Principe : Les bacilles à Gram - aéro-anaérobies facultatifs à métabolisme fermentatif (Enterobacteriaceae et Vibrionaceae) fermentent le glucose ce qui entraîne une acidification du milieu et une coloration jaune du milieu en présence de pourpre de bromocrésol (indicateur de pH). A pH acide les décarboxylases et les dihydrolases présentent une activité maximale. Si les bactéries étudiées possèdent la décarboxylase ou la dihydrolase appropriée, l'activité enzymatique sera alors mise en évidence par la formation de métabolites aminés qui alcaliniseront le milieu, et entraîneront un nouveau changement de coloration du milieu en mauve.

En revanche, les bacilles à Gram- aérobies stricts à métabolisme oxydatif (*Pseudomonas* spp., *Alteromonas* spp., *Flavobacterium* spp., *Xanthomonas* spp., *Alcaligenes* spp., *Acinetobacter* spp.) dégradent les glucides par voie oxydative en ne produisant que peu de catabolites acides ; il s'ensuit que la coloration des trois milieux demeure pratiquement inchangée, mauve pâle à violet foncé après 24 à 48 heures d'incubation.

- Mode opératoire : Une suspension bactérienne est tout d'abord préparée dans de l'eau physiologique stérile. Ensuite, les trois tubes contenant les différents acides aminés sont ensemencés chacun avec 2 gouttes de cette suspension en ajoutant 3 gouttes d'huile de vaseline, en créant des conditions d'anaérobiose. Les tubes sont incubés pendant 24 heures à 37°C, si la croissance est insuffisante le test est prolongé encore pendant 24h, après incubation.

La présence d'une coloration jaunâtre, signifie une réaction négative (acidification du milieu).

La présence d'une coloration violette, signifie une réaction positive, et se traduit par :

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

4-5 Identification des germes bactériens à l'aide de la galerie Api 20 E

La galerie API 20E est un système standardisé pour l'identification des Enterobacteriaceae et autres bacilles à Gram négatifs. C'est un système de microtests prêts à l'emploi qui permet la réalisation de 23 tests biochimiques en partant d'une seule colonie prélevée sur une boîte de Pétri. Il s'agit d'une bande de plastique contenant 20 mini-chambres (Puits) de test contenant des milieux déshydratés ayant

des compositions chimiquement définies pour chaque test (ONPG, ADH, LDC, LDH, CIT, H₂S, URE, TDA, VP, GEL, GLU, MAN, INO, SOR, RHA, SAC, MEL, ARA) (**Annex 05**).

a- Préparation de l'inoculum

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

b- Préparation de la galerie

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

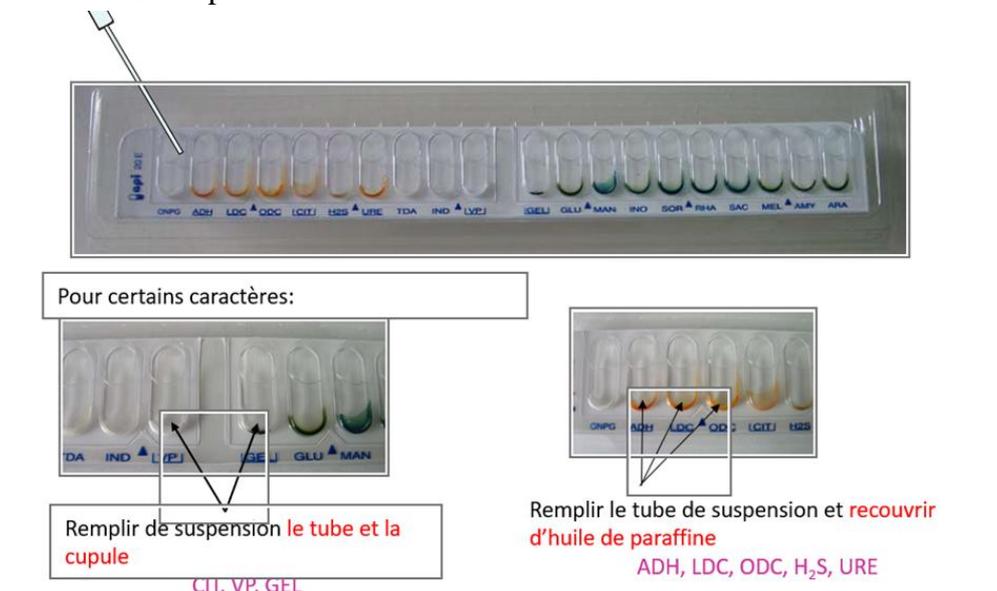


Figure 10 : Préparation de la galerie API 20 E.

c- Lecture des galeries

Après incubation, on note toutes les réactions spontanées et la détermination de la positivité et de négativité de chaque test se fait en fonction des variations de couleurs, dues au changement de pH. Cette détermination peut se faire directement (sans ajouter de réactif) ou indirectement (en ajoutant des réactifs spécifiques) (**Figure 11**).

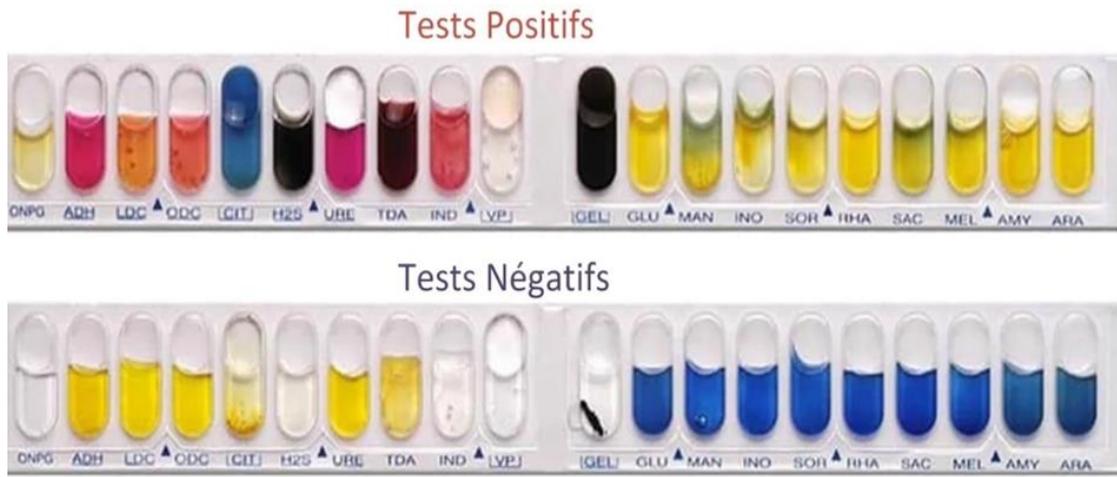


Figure 11 : Exemple de résultats (tests positifs et tests négatifs).

d- Identification

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

Pour une identification rapide des espèces bactériennes, API propose un indexe comprenant un codeur qui transforme automatiquement les 21 résultats des tests biochimiques (20 + oxydase) en un nombre de 7 chiffres appelé le « profil numérique ». Pour ce faire, les tests de la galerie sont regroupés par trois. A chaque réaction enregistrée, une valeur numérique déterminée est attribuée. A l'aide d'un catalogue analytique, on recherche le profil numérique dans la liste des profils (Figure 12).

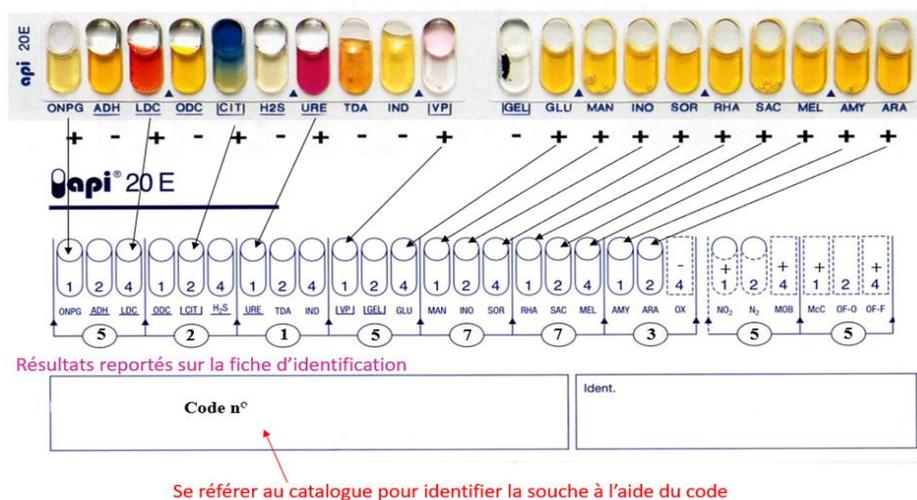


Figure 12 : Modèle de lecture et d'identification sur galerie Api 20 E.

4-6 Etude de la sensibilité aux antibiotiques en milieu solide

La détermination de la sensibilité des germes aux antibiotiques était réalisée jusqu'à présent presque exclusivement par la méthode de diffusion en gélose. Cette détermination exige cependant une standardisation rigoureuse, difficile à obtenir par cette méthode. La tendance actuelle de la plupart des laboratoires est de proposer du matériel permettant de réaliser l'antibiogramme par microméthode. Malheureusement, faute de matériel, nous nous sommes contentés d'utiliser l'ancienne méthode, malgré ses inconvénients.

L'antibiogramme est une étape très importante en bactériologie médicale. Elle suit l'étape d'identification du germe responsable d'infection. C'est un examen bactériologique ayant pour but d'apprécier la sensibilité et la résistance de la bactérie face à plusieurs antibiotiques lors d'une infection permettant de découvrir lequel, parmi l'ensemble des antibiotiques disponibles est le plus adapté à la situation du patient. Cette étude permet aussi d'adapter la posologie en vue de l'éradication du germe. (**Annex 04**)

Principe

Pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques, nous avons utilisé la méthode de diffusion classique de disque sur gélose (**Delarras, 1998**). Cette technique consiste à mettre en contact un antibiotique (disque pré imprégné d'une dose connue d'antibiotique) avec des colonies de bactéries pures précédemment obtenues par la mise en culture du prélèvement.

L'antibiotique diffuse à partir du disque en formant un gradient de concentration (les bactéries situées à proximité du disque reçoivent une dose d'antibiotique plus importante que celles qui sont plus éloignées). Lorsque la bactérie est sensible à l'antibiotique, un halo dépourvu de colonies se forme autour de l'antibiotique testé. Ce dernier peut être plus ou moins étendu selon l'efficacité de l'antibiotique sur la bactérie. La mesure du diamètre de ce halo permet d'estimer la concentration minimale inhibitrice (CMI) d'un antibiotique vis-à-vis d'une souche bactérienne, et donc le caractère sensible ou résistant de la bactérie vis à vis de l'antibiotique testé. Il est à noter que la CMI est définie comme la plus petite concentration permettant d'inhiber 50 % de la population bactérienne.

➤ Mode opératoire

A partir d'une culture de 24 ou 48 heures sur gélose en boîte, on prélève une colonie bactérienne bien isolée, et on prépare une suspension bien homogène dans 10 ml d'eau physiologique stérile. La suspension est ensuiteensemencée à l'aide d'une anse stérile dans des boîtes de Pétri contenant le milieu Mueller-Hinton (MH). Les disques imprégnés d'antibiotique sont ensuite déposés à la surface de la gélose de (MH) à l'aide d'une pince stérile en appuyant légèrement (les disques sont disposés aseptiquement à environ 10 mm du périphérique de la boîte). Les boîtes sont laissées pendant 20 à 30 minutes à la température ambiante afin de permettre une bonne diffusion de l'antibiotique. Les boîtes sont ensuite incubées dans une étuve à 37°C pendant 24 h (**Figure 13**).

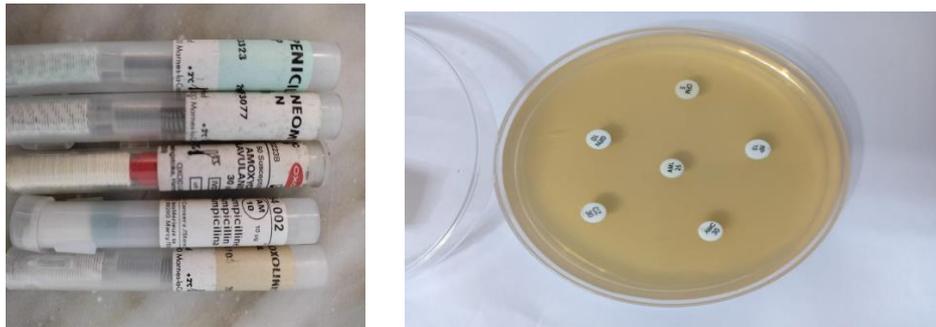


Figure 13 : Méthode de préparation d'un antibiogramme

Lecture des résultats

Après 24 à 48 heures d'incubation, on note les résultats (par la mesure de diamètre d'inhibition) et selon les résultats obtenus, l'interprétation est la suivante (**Figure 14**) :

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

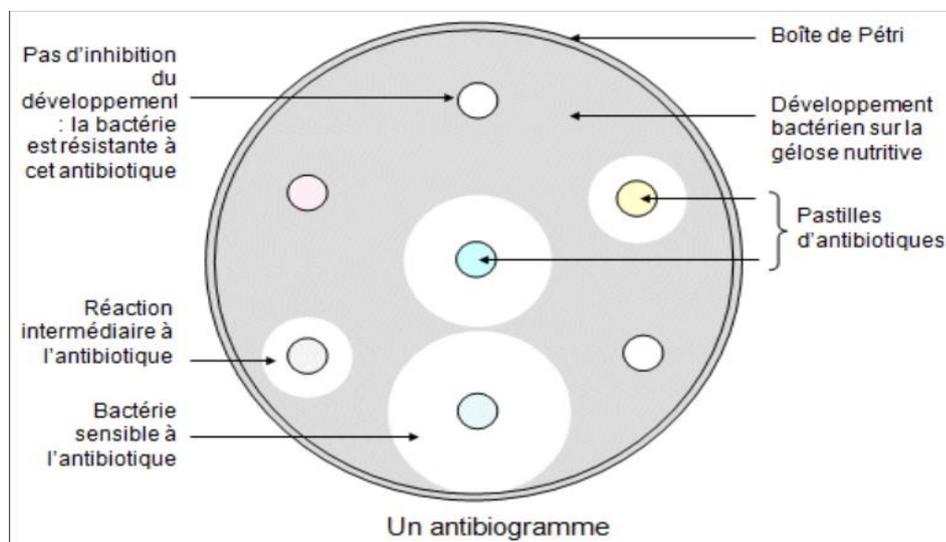


Figure 14 : Exemple de résultats de l'antibiogramme.

Chapitre III

Résultats et discussion

I. Résultats**Isolement et identification**

Le diagnostic bactériologique est un moyen permettant de confirmer telle ou telle étiologie infectieuse d'origine bactérienne. Pour identifier les bactéries, nous avons procédé à l'étude de quelques caractères et tests biochimiques :

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

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

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

Les colonies ont été tout d'abord purifiées, elles ont subi ensuite 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 restauration collective

Tableau 04 : Résultat des isolements au niveau de la restauration collective

Site de prélèvement	Caractères cultureux			Coloration	
	GN	HK	CHAP	Etat frais	Gram
1-le mure	Tapis bactérien	Petites colonies arrondis, virage de la couleur du milieu	Petites colonies jaunâtres, virage de la couleur du milieu	Cocci immobile sur CHAP Bacilles mobiles sur HK	Cocci Gram positive sur CHAP Bacilles Gram négatif sur HK
2-la paille	Tapis bactérien	Aucune croissance	Colonies volumineuse blanchâtre, sans virage de couleur du milieu	Cocci immobile sur CHAP	Cocci Gram positive sur CHAP
3-le chariot	Tapis bactérien	Petites colonies oranges, rondes, muqueuses, virage de couleur du milieu	Colonies jaunâtres pigmentés, virage de couleur du milieu	Cocci immobile sur CHAP Bacilles mobile sur HK	Bacille Gram négatif sur CHAP Bacilles Gram négatif sur HK
4-corbeil de pain	Tapis bactérien	Colonies transparentes, sèches, pas de virage de couleur du milieu	Colonies volumineuse jaunâtre, pigmenté, virage de couleur du milieu	Cocci immobile sur CHAP Bacilles mobile sur HK	Cocci Gram positive sur CHAP Bacilles Gram négatif sur HK

GN : Gélose Nutritive ; HK : Gélose Héктоen ; CHAP : Gélose Chapman

✓ Le mure

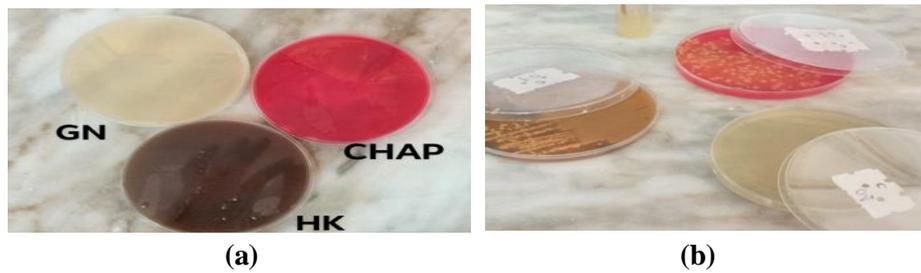
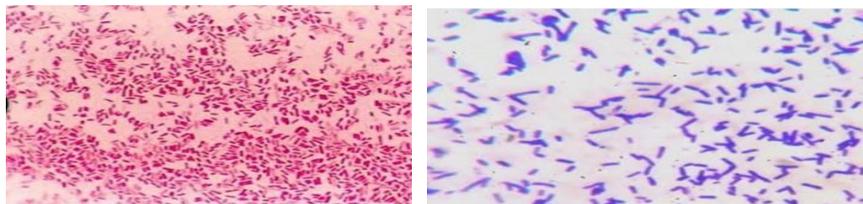


Figure 15 : a/ milieux de culture témoins ; b/ caractères cultureux des bactéries isolées à partir du 1^{er} prélèvement.



Bacilles à Gram- (G×100)

Cocci à Gram+ (G×100)

Figure 16 : Aspects microscopiques des bactéries obtenues à partir de prélèvement N° 01 après coloration de Gram.

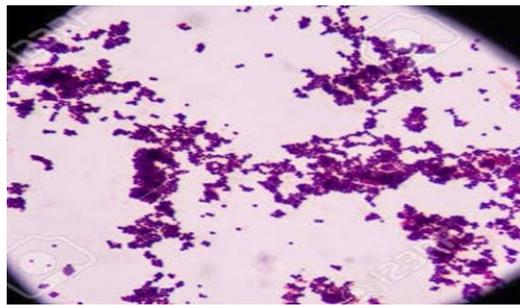
Tableau 05 : Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir de prélèvement N°01

Examen	Examen a l'état frais	Coloration de Gram
Milieu		
Milieu HK	Bacille mobile	Bacilles Gram négatif
Milieu CHAP	Cocci immobile	Cocci Gram positif

✓ La paillasse



Figure 17 : a/ milieu de culture témoin ; b/ caractères cultureux des bactéries isolées à partir du 2^{eme} prélèvement



Cocci à coloration Gram+ (G×100)

Figure 18 : Aspect microscopique des bactéries obtenues à partir de prélèvement N°02 après coloration de Gram.

Tableau 06 : Résultat de l'examen microscopique des bactéries isolées à partir du prélèvement N°02

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

✓ Le chariot

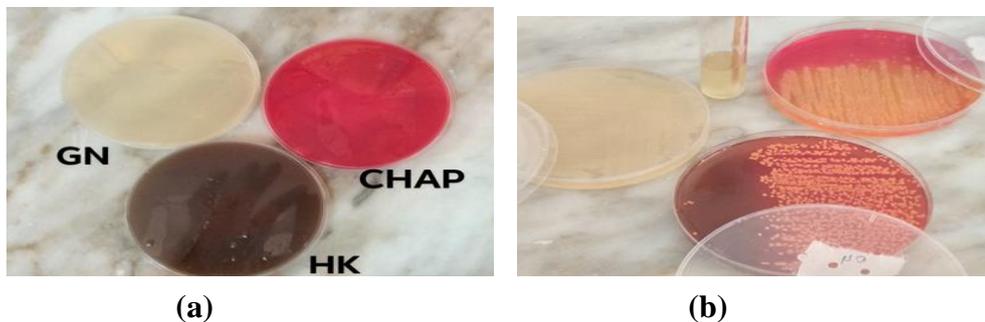
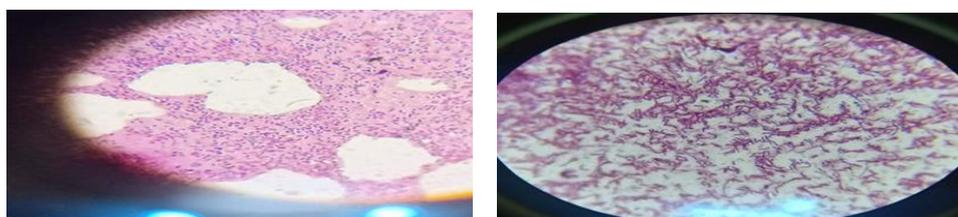


Figure 19 : a/ milieux de cultures témoin ; b/ caractères cultureux des bactéries isolées à partir du 3^{ème} prélèvement.



Bacilles Gram- (G×100)

Cocci Gram+ (G×100)

Figure 20 : Aspect microscopique des bactéries obtenues à partir du prélèvement N°03 après coloration de Gram.

Tableau 07 : résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du prélèvement N°3

Examen	Examen a l'état frais	Coloration de Gram
Milieu		
Milieu HK	Bacille mobile	Bacilles Gram négatif
Milieu CHAP	Cocci immobile	Cocci Gram positif

✓ Corbeil de pain

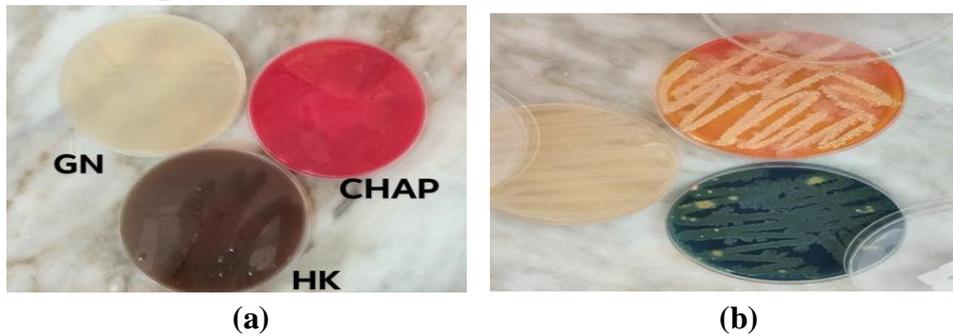


Figure 21 : a/milieu de culture témoin ; b/caractère culturaux des bactéries isolées à partir du 4^{ème} prélèvement

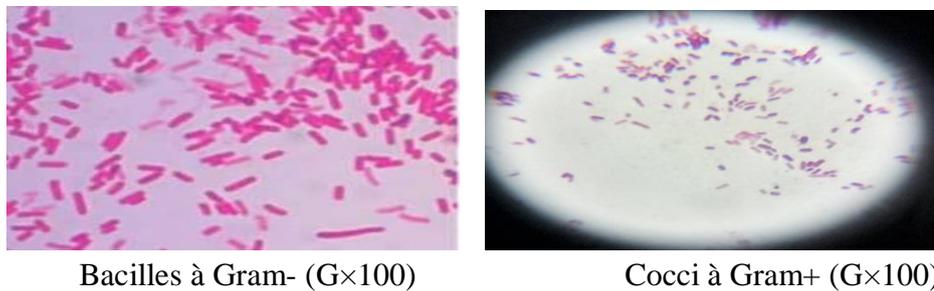


Figure 22 : Aspect microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°04 après coloration de Gram

Tableau 08 : Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du prélèvement N° 4

Examen	Examen a l'état frais	Coloration de Gram
Milieus		
Milieu HK	Bacille mobile	Bacilles Gram négatif
Milieu CHAP	Cocci immobile	Cocci Gram positif

➤ Résultats d'isolement au niveau de service bloc chirurgicale

Tableau 09 : Résultats des différents prélèvements au niveau du bloc opératoire.

Site de prélèvement	Caractères cultureux			Coloration	
	GN	HK	CHAP	Etat frais	Gram
1-cathéter vasculaire	Tapis bactérien	Colonies vertes, bombés, muqueuses, pas de virage de la couleur du milieu	Colonies jaunâtres, volumineuses, pigmentés, virage de la couleur du milieu	Bacilles immobile sur CHAP Bacilles mobiles sur HK	Cocci Gram positive sur CHAP Bacilles Gram négatif sur HK
2-plaie opératoire	Tapis bactérien	Aucune croissance	Colonies volumineuse jaunâtre, pigmenté, virage de couleur du milieu	Cocci immobile sur CHAP	Cocci Gram positive sur CHAP
3-table d'opération	Tapis bactérien	Colonies jaunâtre orangé, crémeuse, virage de couleur du milieu	Petites colonies blanchâtres, sans virage de la couleur du milieu	Cocci immobile sur CHAP Bacilles mobile sur HK	Cocci Gram positive sur CHAP Bacilles Gram négatif sur HK
4-urine d'un malade	Tapis bactérien	Colonies opaques, visqueuse, vertes avec centre noir	Aucune croissance	Bacilles mobiles sur HK	Bacilles Gram négatif sur HK

✓ Cathéter vasculaire

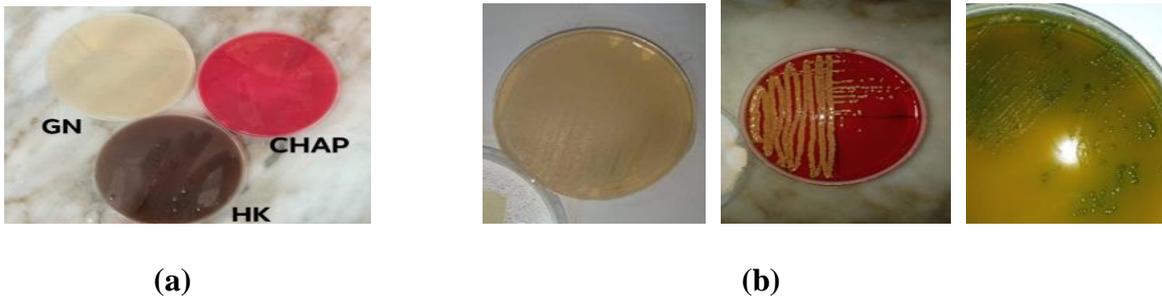


Figure 23 : a/milieus de culture témoins ; b/caractère culturaux des bactéries isolées à partir du 5^{ème} prélèvement

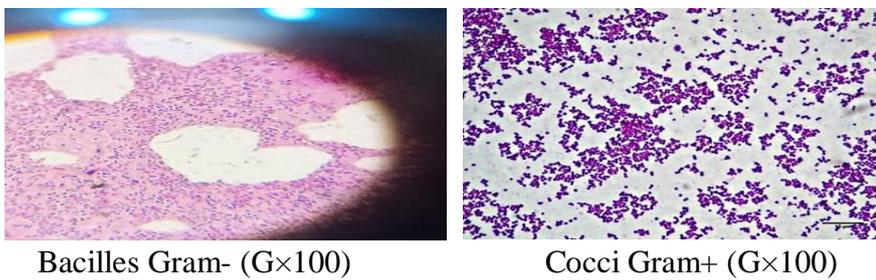


Figure 24 : Aspect microscopique des bactéries obtenues à partir de prélèvement N°05 après coloration de Gram

Tableau 10 : Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du prélèvement N°5

Examen	Examen a l'état frais	Coloration de Gram
Milieu HK	Bacille mobile	Bacilles Gram négatif
Milieu CHAP	Cocci immobile	Cocci Gram positif

✓ Plaie opératoire

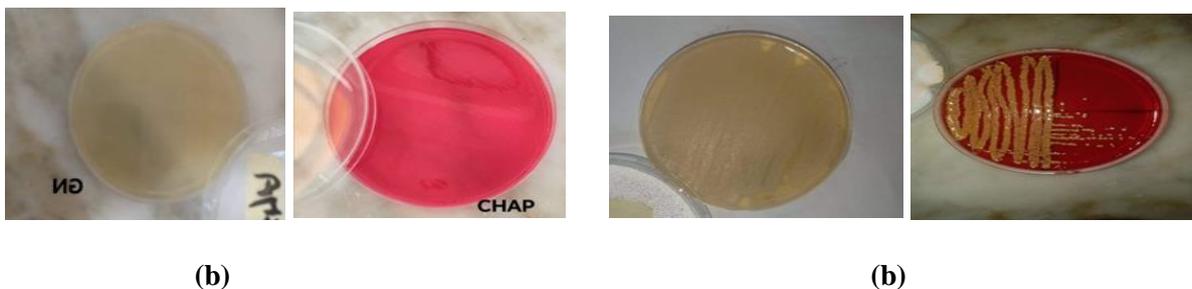
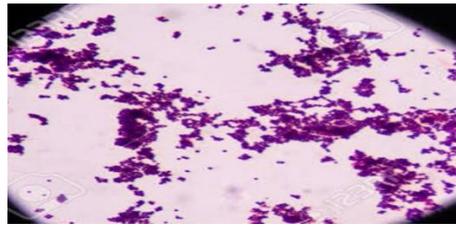


Figure 25 : a/ milieu de culture témoin ; b/ caractères culturaux des bactéries isolées à partir du 6^{ème} prélèvement.



Cocci à Gram+ (G×100)

Figure 26 : Aspect microscopique des bactéries obtenues à partir de prélèvement N°06 après coloration de Gram.

Tableau 11 : Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du prélèvement N°06

Examen	Examen a l'état frais	Coloration de Gram
Milieu		
Milieu CHAP	Cocci immobile	Cocci Gram+

✓ Table d'opération

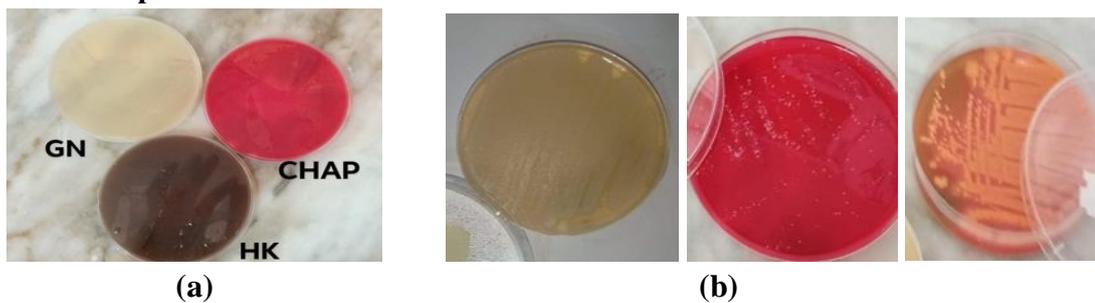
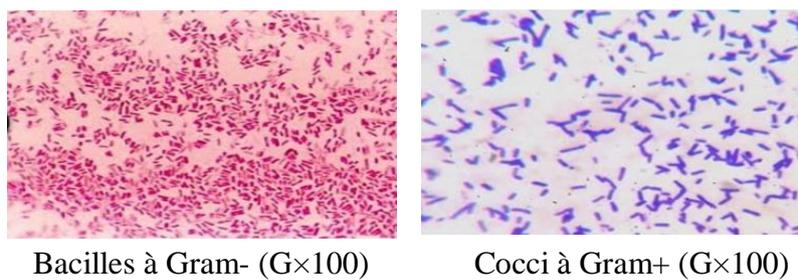


Figure 27 : a/ milieux de culture témoins ; b/ caractères cultureux des bactéries isolées à partir du 7^{ème} prélèvement.



Bacilles à Gram- (G×100)

Cocci à Gram+ (G×100)

Figure 28 : Aspects microscopiques des bactéries obtenues à partir de prélèvement N° 01 après coloration de Gram.

Tableau 12 : Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du prélèvement N°01

Examen \ Milieu	Examen a l'état frais	Coloration de Gram
Milieu HK	Bacille mobile	Bacilles Gram négatif
Milieu CHAP	Cocci immobile	Cocci Gram positif

✓ Urine d'un malade

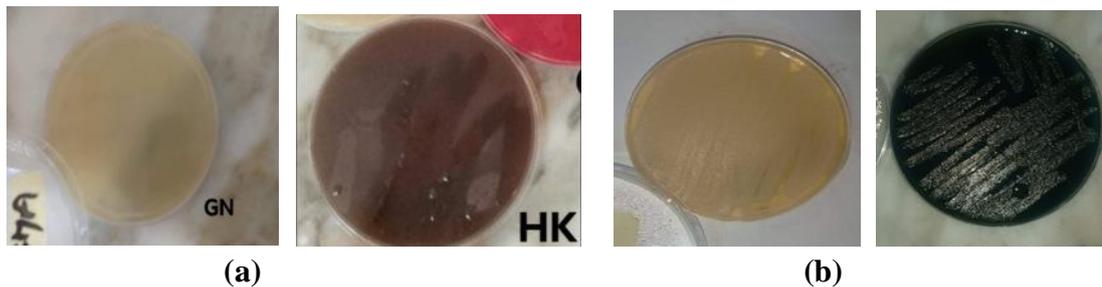
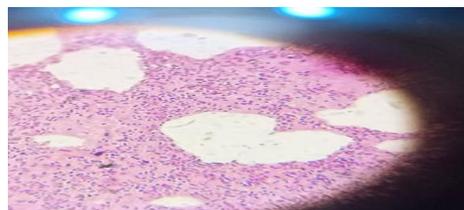


Figure 29 : a/milieus de culture témoins ; b/caractères cultureux des bactéries isolées à partir du 8^{eme} prélèvement.



Bacilles Gram- (G×100)

Figure 30 : Aspect microscopique des bactéries obtenues à partir de prélèvement N°07 après coloration de Gram.

Tableau 13 : Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir de prélèvement N°01

Examen \ Milieu	Examen a l'état frais	Coloration de Gram
Milieu HK	Bacille mobile	Bacilles Gram négatif

➤ Résultats des isolements au niveau du service de dialyse

Tableau 14 : Résultat des différents prélèvements au niveau de service de dialyse.

Site de prélèvement	Caractères culturaux			Coloration	
	GN	HK	CHAP	Etat frais	Gram
L'air	Tapis bactérien	Petites colonies blanchâtres, sèches	Colonies volumineuses, pigmentés, jaunâtres, virage de couleur de milieu	Cocci immobile sur CHAP Bacilles mobiles sur HK	Cocci Gram positive sur CHAP Bacilles Gram négatif sur HK
2-la fistule artérioveineuse	Tapis bactérien	Petites colonies jaunes orangés, lisses, pigmentés, crémeuses, virage de couleur de milieu	Colonies volumineuses, jaunâtres, pigmentés, virage de couleur de milieu	Bacilles mobiles sur HK Cocci immobile sur CHAP	Bacilles Gram négative sur HK Cocci Gram positive sur CHAP
3-le lit de patient	Tapis bactérien	Petites colonies transparentes	Petites colonies blanchâtres, sans virage de la couleur du milieu	Cocci immobile sur CHAP Bacilles mobile sur HK	Cocci Gram positive sur CHAP Bacilles Gram négatif sur HK
4-appareil de filtration du sang (Gambro)	Aucune croissance	Aucune croissance	Aucune croissance		

✓ L'air

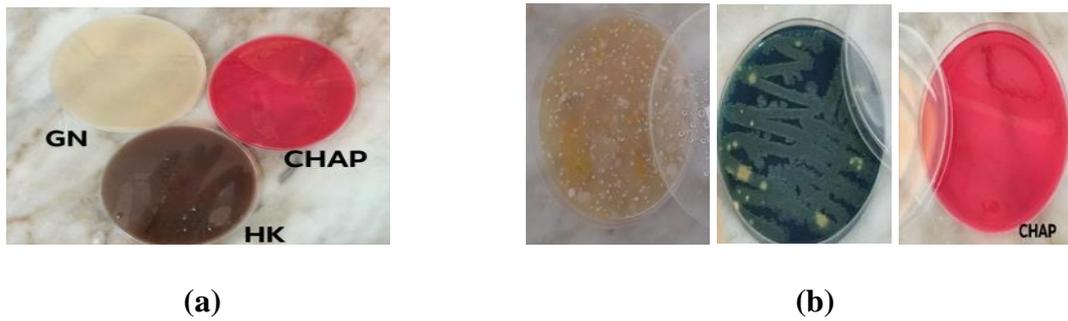
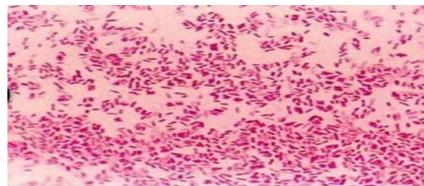


Figure 31 : a/ milieux de culture témoins ; b/ caractères cultureux des bactéries

Isolées à partir du 9^{ème} prélèvement.



Bacilles à Gram- (G×100)

Figure 32 : Aspect microscopique des bactéries obtenues à partir de prélèvement N° 09 après coloration de gram.

Tableau 15 : Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir de prélèvement N°09

Examen \ Milieu	Examen a l'état frais	Coloration de Gram
Milieu HK	Bacille mobile	Bacilles Gram négatif

✓ Fistule artériovineuse

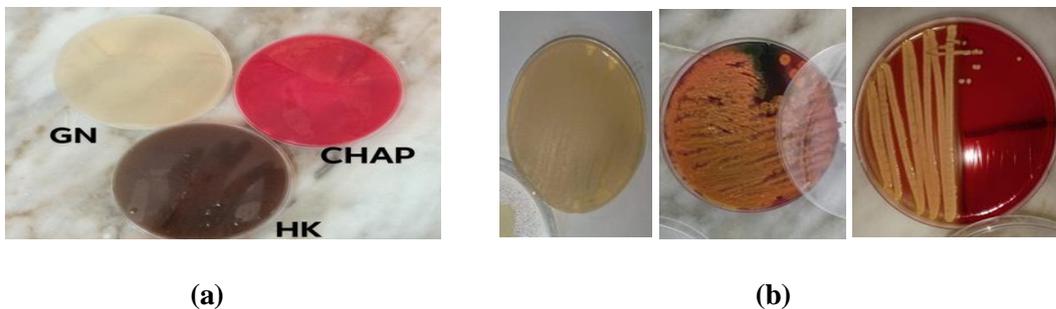
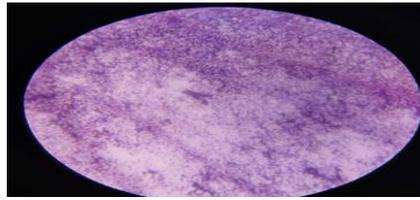


Figure 33 : a/milieu de culture témoin ; b/caractère cultureux des bactéries isolées à partir du 10^{ème} prélèvement.



Bacilles à Gram (-) G×100



Cocci à Gram (+) G×100

Figure 34 : Aspect microscopique des bactéries obtenues du prélèvement N°10 après Coloration de Gram.

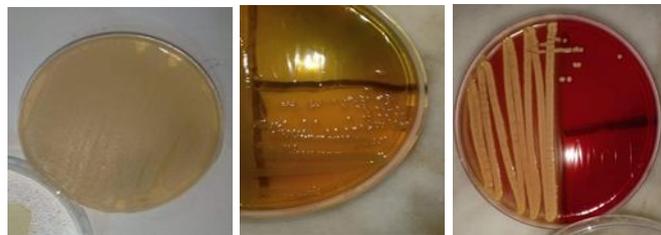
Tableau 16 : Résultat de l'examen microscopique des bactéries obtenues à partir du prélèvement N°10

Examen	Examen a l'état frais	Coloration de Gram
Milieu HK	Bacille mobile	Bacilles Gram négatif
Milieu CHAP	Cocci immobile	Cocci Gram positif

✓ Le lit

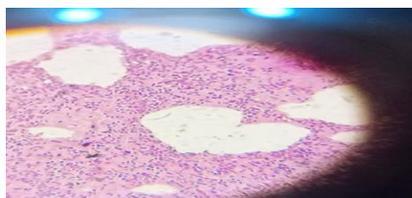


(a)

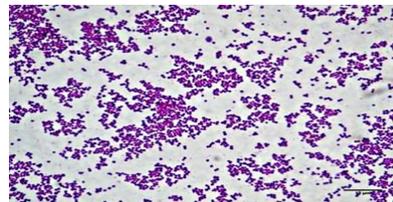


(b)

Figure 35 : a/milieux de culture témoins ; b/caractères cultureux des bactéries isolées à partir du 11^{ème} prélèvement



Bacilles Gram- (G×100)



Cocci Gram+ (G×100)

Figure 36 : Aspect microscopique des bactéries obtenues à partir de prélèvement N°11 après coloration de Gram.

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

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

✓ **Appareil de filtration de sang Gambro**

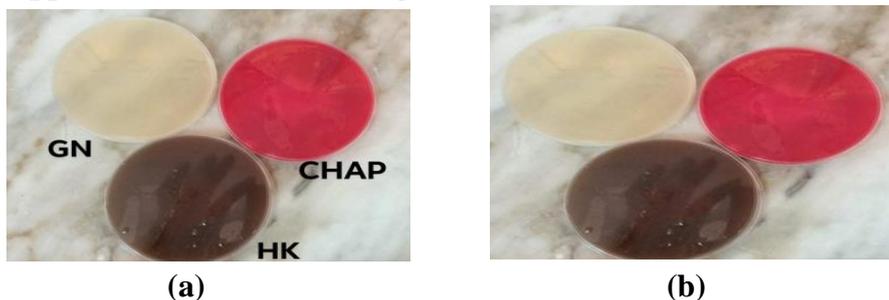


Figure 37 : a/milieus de culture témoins ; b/caractères cultureux des bactéries isolées à partir du 12^{ème} prélèvement.

2- Résultats des isolements et de l'identification

A travers cette étude, trois sites hospitaliers ont été analysés, il s'agit du bloc chirurgical, service de dialyse et la restauration collective. Douze (12) lieux de prélèvement ont été choisis parmi ces sites, pour être analysé. Les résultats bactériologiques ont montré une importante biodiversité d'espèces. Au total, 11 espèces bactériennes ont été isolées, purifiées et identifiées. Ces espèces présentent des aspects morphologiques très différents. Le tableau 18, illustre les lieux de prélèvement et les résultats de l'identification. Sans surprise, l'espèce *Staphylococcus aureus* était présente dans presque tous les isolements, elle s'est avérée l'espèce la plus dominante parmi les autres germes bactériens. Les résultats ont révélé aussi la présence d'autres espèces bactériennes : *Enterobacter cloecae*, *E. coli*, *P. aerogenosa*, (**Tableau 18**).

L'identification de ces germes bactériens a été basée tout d'abord, sur l'aspect phénotypique et microscopique. Cette première étape du diagnostic est essentielle et permet dans certains cas de connaître facilement le genre de la bactérie. Parmi, les isolats obtenus de nombreuses souches sont mobiles suite à l'examen frais, montrant ainsi que les germes sont purifiés et présentent des formes bacilles et d'autres Cocci. Inversement d'autres sont immobiles. La coloration de Gram révèle la présence de deux groupes de bactéries : les Bacilles à Gram négatif (**Figure 36/(a)**) et les Cocci à Gram positif (**Figure 36/(b)**).

Tableau 18 : Sites de prélèvements et espèces bactériennes identifiées.

Site de prélèvement	Germes identifiés
Restauration collective	
1- mure	<i>Enterobacter cloecae</i> <i>Staphylococcus aureus</i>
2- paillasse	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
3- chariot	<i>E.coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i>
4- Corbeil de pain	<i>Klebseilla pneumonia</i> <i>Staphylococcus aureus</i>
Service de chirurgie (bloc opératoire)	
5- cathéter vasculaire	<i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Staphylococcus aureus</i>
6- plaie opératoire	<i>Staphylococcus aureus</i>
7- table d'opération	<i>Pseudomonas aerogenosa</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>
8- urine de malade	<i>Proteus mirabilis</i>
Service de dialyse	
9- l'air	<i>Aeromonas salmonicida</i> Champignon
10- la fistule artérioveineuse	<i>Entérobacter agglomens</i> <i>Staphylococcus aureus</i>
11- le lit	<i>Escherichia blattae</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>
12- appareil de filtration du sang (Gambro)	Absence de croissance

2-1 Résultats des tests biochimiques classiques

Nous avons réalisé 12 tests biochimiques classiques, selon la disponibilité des milieux de culture. Les résultats de deux services (bloc chirurgicale et dialyse) sont représentés dans le tableau 19 et la (**figure 38**). Les résultats obtenus ont montré que la majorité des espèces bactériennes ont un profil glucidique positif. En revanche, ces espèces sont dans la plupart des cas, H₂S négatif, ONPG négatif, Uréase négatif et ne dégradent pas les trois acides aminés. Le reste des tests ont montré que chez certaines espèces, les résultats sont positifs, alors chez d'autres bactéries, ses tests sont négatifs. Par ailleurs, l'identification des germes bactériens n'est pas toujours facile à résoudre, car elle repose sur un choix judicieux des tests, selon le germe, l'infection et les symptômes observés.

Tableau 19 : Résultats des tests biochimiques classiques.

Bactéries	Sucres	H ₂ S	Gaz	Mannitol mobilité	Citrate de Simmons	Urée	INDOL	ONPG	ADH	LDC	ODC
<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-
<i>Pseudomonas auerogenosa</i>	-	-	-	-	+	+/-	-	+/-	-	-	-
<i>Proteus mirabilis</i>	+	+	+	-	+/-	+	-	-	-	-	+
<i>Enterobacter agglomerans</i>	+	-	-	+	+/-	-	-	+	-	-	-
<i>E. blattae</i>	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+
<i>Aeromonas salmonicida</i>	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-

(+) test positif ; (-) test négatif



Figure 38 : Résultats des caractères biochimiques des germes identifiés.

2-2 Résultats d'identification sur Galerie API 20 E

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

Les métabolites produits après ensemencement sont mis en évidence par des réactions colorées ou par addition de réactifs après 24 à 48 heures d'incubation à 35-37°C. Le profil

numérique obtenu permet l'identification de trois souches : *Enterobacter cloacea*, *E. coli* et *Klebsella pneumonia* (Figure 39). Des tests biochimiques complémentaires sont parfois nécessaires pour parfaire l'identification.

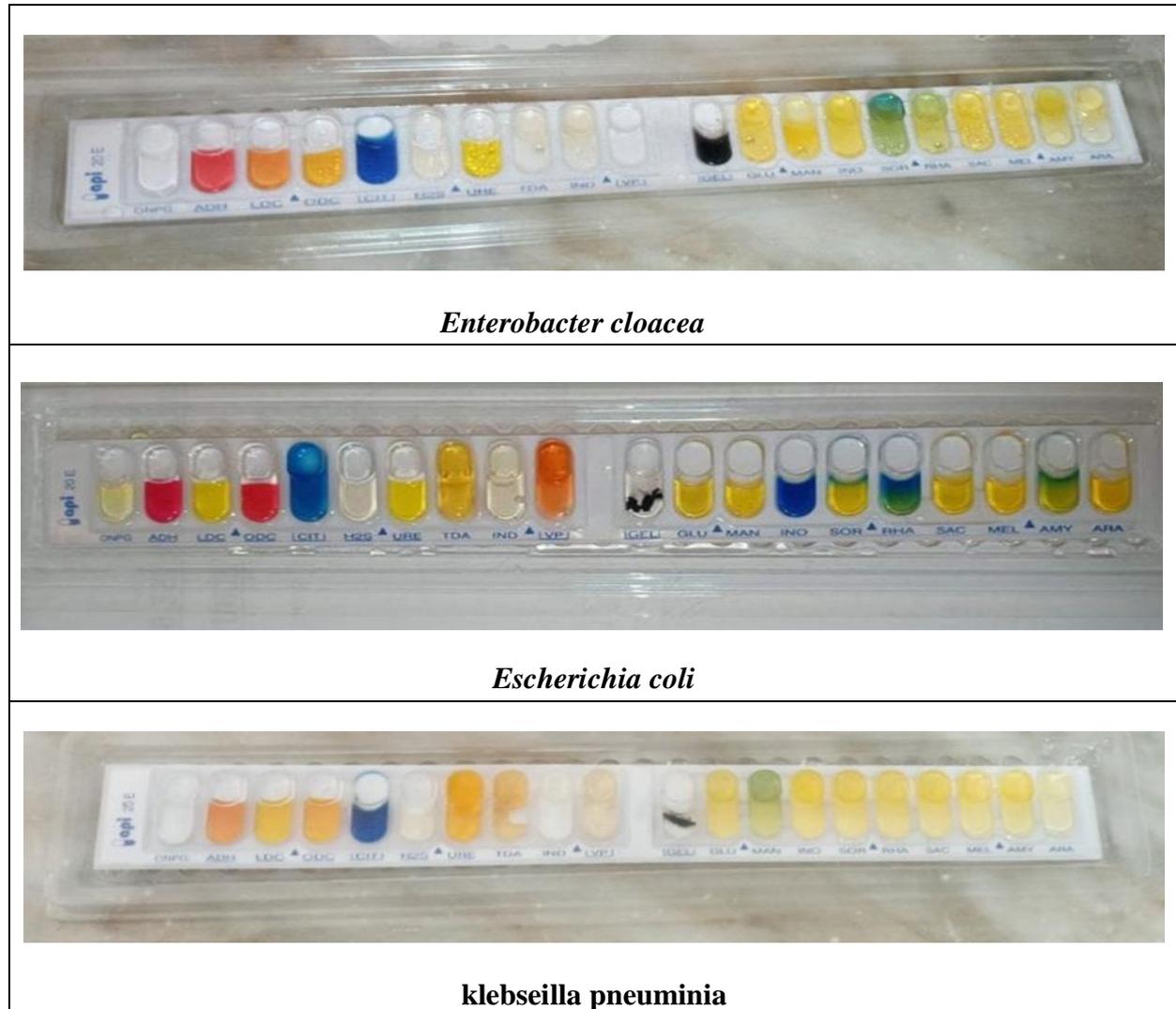


Figure 39 : Résultat de la galerie API 20E

2-3 Identification des Staphylocoques pathogènes

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

Selon l'aspect phénotypique et les tests enzymatiques et biochimiques, deux espèces de *Staphylococcus* ont été identifiées, il s'agit de *St. aureus* et *St. epidermidis*. Le (tableau 20),

et les figures 40 et 41 présentent les résultats des tests enzymatiques. La présence d'une coagulase témoigne l'appartenance de la bactérie à l'espèce *St. aureus*. En revanche, les souches testées pour la production d'une catalase ont décomposé l'eau oxygénée en eau et oxygène, donc sont catalase+. Les résultats ont montré une large domination des *St. aureus* par rapport au *St. epidermidis*. Cette Staphylocoque dorée semble être le germe le plus fréquent.

Tableau 20 : Résultats des tests enzymatiques de *Staphylocoques aureus* et *St. epidermidis*

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



Figure 18 : test coagulase positif et négatif

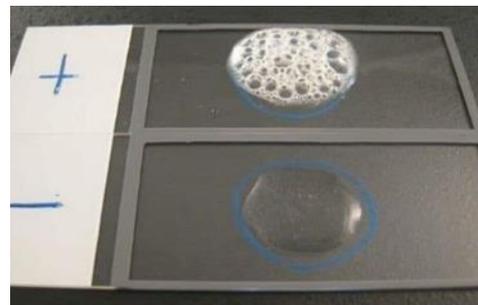


Figure 19 : test catalase positif

3- Résultats de profil de sensibilité des souches aux antibiotiques

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

Au cours de cette étude, nous avons réalisé un antibiogramme sur 3 germes isolés du service de dialyse. La sensibilité et la résistance des isolats ont été évaluées selon les critères suivants :

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

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

- Une bactérie est dite résistante (si le diamètre est \leq à 10 mm), l'antibiotique est inefficace. En effet, la dose nécessaire pour inhiber les bactéries est beaucoup trop élevée. Les résultats de cette étude sont présentés dans le (tableau 21) et illustrés par (la figure 42).

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

Il ressort de cette étude que les germes testés présentent des réponses différentes vis-à-vis des antibiotiques testés. Ces résultats montrent que la gentamycine (GEN) et le PRISTINAMYCINE (RP), dont les diamètres sont 17 mm et 19 mm respectivement, semblent être les plus efficaces vis-à-vis des trois germes bactériens testés. Par ailleurs, chez le reste des antibiotiques, on a constaté au moins une sensibilité chez une des souches bactériennes testées.

Tableau 21 : Résultats de l'antibiogramme des souches bactériennes testées.

ATB Bactérie	GEN	CZ	CFM	AML	AMC	RP
<i>Staphylococcus aureus</i>	S	S	R	S	I	S
<i>enterobacter agglomens</i>	S	I	S	S	R	S
<i>E. blattae</i>	S	R	I	R	R	S

S : sensible ; R : résistant ; I : intermédiaire



Staphylocoque aureus

Staphylocoque epidermidis

enterobacter agglomens

Figure 46 : : Résultats de l'antibiogramme des souches isolées

La résistance bactérienne aux antibiotiques est apparue rapidement après leur introduction dans le traitement des maladies infectieuses. Cette résistance est un facteur majeur compliquant le traitement des infections bactériennes et facilitant la dissémination des souches multi-résistantes. La résistance bactérienne aux antibiotiques se caractérise par son caractère naturel ou acquis, son mécanisme et son support génétique. La résistance naturelle

se manifeste soit par une tolérance à certains antibiotiques, soit par destruction de l'antibiotique par des enzymes comme les bêta-lactamases. Ces deux formes de résistances sont fréquentes chez de nombreuses bactéries telles que les Entérobactéries (**Philippon, 2008**).

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

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

II. Discussion

Les infections nosocomiales présentes dans nos structures de soins constituent un problème majeur de santé publique. Durant la période de notre stage au sien de l'hôpital de BERREBI Abedlkader, Daïra de Hammam Bouhdjar, Wilaya de Ain Témouchent, nous avons isolé et identifié quelques bactéries responsables des infections nosocomiales. Au total, 11 germes bactériens ont été isolés et purifiés à partir de 12 prélèvements au niveau de trois services (restauration collective, bloc opératoire et dialyse).

L'analyse bactériologique a montré que les Cocci à Gram positives étaient les germes les plus fréquents, retrouvés comme agents responsables d'infections nosocomiales. Ce groupe représente environ 51% des germes isolées, avec une prédominance de *Staphylococcus aureus* suivi de *Staphylococcus epidermidis*. Ces deux espèces représentent un pourcentage de 36% et 15 % respectivement.

En revanche, les bacilles à Gram négatives représentent 48% des microorganismes isolés avec 32% d'entérobactéries telles que, *Anterobacter cloacea*, *E.coli*, *Klebsella pneumonia*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter agglomens* et *E. belattae*, le reste des bacilles à Gram négatives, représentent 16 %, et sont représentés par, *Aeromonas selmonicida*, *Aeromonas hydrophila* et *Pseudomonas aerogenosa*. Des résultats analogues sont signalés dans les travaux de **Lakikza et Slimani, (2018)**. Ces auteurs ont obtenus 67 % de Cocci Gram positives et 33 % de Bacilles Gram négatives avec 33%, avec une prédominance de l'espèce *Staphylococcus aureus*. Une autre étude représentée par **CHEBBAH BOUJAHAM (2014)** montre que *S. aureus* occupe la 1^{er} position des germes isolés, avec un pourcentage de 68%, suivie par *E. coli* avec un pourcentage de 31%.

Par contre, les résultats des travaux menés par **Boukridimi et Bouyahia (2020)** au niveau de la même structure hospitalière - BERREBI Abedlkader – Hammam Bouhadjar, ont montré une importante présence des Bacilles Gram négatives 56 % avec 34 % d'Entérobactéries telles que *Leclercia adecarboxylata* et 22 % représentés par d'autres bacilles Gram négatives telles que *Aeromonas salmonicida*. Et les Cocci Gram positifs

représentent 35%, avec un pourcentage de 30% de *S. aureus* et 10% de *S. epidermidis*. (Boukridimi et Bouyahia, 2020)

Une autre étude réalisée par Bounab a montré une prédominance des Gram négatifs, avec 70,6 % d'Entérobactéries ; 30 % d'*E. coli*, 15 % de *Proteus* spp., 10 % de *Providencia* spp., 9 % de *Citrobacter* spp., 6,6 % de *Shigella* spp., et 29,4 % de Staphylocoques ; ce dernier pourcentage est réparti sur trois espèces : *S. epidermidis* (16%), *S. aureus* (7,4%) et *S. saprophyticus* (5.6%) (Bounab et al., 2011).

Les résultats de l'antibiogramme sur les germes bactériens révèle une multi-sensibilité pour la souche Cocci Gram positive, il s'agit de *Staphylococcus aureus* qui s'est révélée sensible aux trois antibiotiques (GEL, CZ, AML). La souche bacille Gram négative représentée par *Enterobacter agglomerans* s'est montrée aussi sensible aux antibiotiques (GEL, CZ, AML). Par contre, la souche *E. blattae* a révélé une résistance aux antibiotiques (AMC, AML, CZ).

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

A travers ces résultats, nous pouvons conclure que, la restauration collective s'avère être le site le plus contaminé et présente un mauvais état hygiénique, car à lui seul, 5 germes bactériens ont été isolés, il s'agit de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter cloacea*, *E. coli* et *Klebsiella pneumoniae*. En revanche, le service de dialyse semble être le moins touché par les contaminations bactériennes responsables des infections nosocomiales car les germes recherchés sont pratiquement absents dans les différents prélèvements réalisés. L'influence du manque d'hygiène et du rapport entre l'être humain et son environnement a été nettement remarquée dans cette étude.

Conclusion

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

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

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

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

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

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

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.
- **Benedetto, C. (2013).** Infection du site chirurgical : facteurs de risqué, prévention, diagnostic et traitement. Maladies infectieuses. Volume (401). Session N ° 34. P (1832- 1839).
- **Benhaddouche, D. (2016).** Le datta minning en milieu hospitalier application au domaine médicale : outils d'aide ou suivi des patients en réanimation. Diplôme de doctorat en science, université des sciences et de la technologie, Mohamed Boudiaf, Oran. [Microsoft Word - Garde Doctorat En Sciences .doc \(univ-usto.dz\)](#)
- **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.
- **Bouras N., Belarbi A.Y. (2016).** Etude de quelques germes responsables des infections nosocomiales au niveau des services de la maternité et de la médecine interne (CHU D'ORAN). Mémoire de Master. Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem. P (83).
- **Boukridimi, W et Bouyahi, N. (2020).** Recherche des germes bactériens responsables des infections nosocomiales au niveau de deux services (médecine et pédiatrie) de l'hôpital de Hammam-Bouhadjar, Ain –Témouchent. Diplôme de master. Université Belhadj Bouchaib, 55.
- **Caron, F. (2003).** Physiopathologie des infections urinaires nosocomiales. Médecine et maladies infectieuses, 33(9) doi : 10.1016/s0399-077x (03)00148-3.
- **C.E.P., (2010-2011).** Comité éditorial pédagogique. (2010,2011). [Cours \(cerimes.fr\)](#)
- **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.
- **Ducel, G., Fabru, J. et Nicolle, L. (2012).** Prévention des infections nosocomiales (2èd). Repère [WHO CDS CSR EPH 2002.12 fre.pdf](#)
- **Faure, E. (s.d.).** Les infections nosocomiales. Repéré à <https://www.caducee.net/DossierSpecialises/infection/nosocomiales.asp>

Références bibliographiques

- **Fournels, L. (2017).** Les infections du site opératoire Shurgical site infections. Volume 1, Revue Francophone de Cicatrisation, Issue 2, 27-30.
- **Jacque, B. (2013).** le technicien d'analyse biologique.
- **Joffin, J. N. et Leyral, G. (2000).** Microbiologie technique, centre régional de documentation pédagogique d'Aquitaine.
- **Hugard, L. (2003).** Hygiène et soins infirmiers, ; Ammar, France, 2eme Ed, 153p.
- **Hygie, V. (1988).** Ethnopharmacologie : sources, méthodes, objectifs, société-française d'Ethnopharmacologie.
- **Guertarni, N. (2014).** Les infections du site opératoire (ISO) au CHU d'Oran. Thèse de Doctorat en Science Médicales. Faculté de Médecine d'Oran. P (192).
- **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.
- **Nacer, A. et Zemiri, K. (2009/2012).** La prédominance des bactéries en cas d'une infection urinaire nosocomiale (institut National de formation supérieur paramédical, Biskra. Repère a [223 La prédominance des bactéries en cas d'une infection urinaire nosocomiale.pdf - Google Drive](#).
- **Oumous, S. (2006/2007).** Infections nosocomiales en milieu de réanimation au CHU Gabriel Toure : profil épidémiologique, clinique et bactériologique (Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie-FMPOS, Mali) https://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/programme_2005_2008.pdf
- **P. N. L., (2005 – 2008).** Programme nationale de lutte contre les infections nosocomiales 2005-2008. https://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/programme_2005_2008.pdf.
- **Pasteur. (2011).** La lettre de l'institut pasteur.
- **Philippon, A. (2008).** *Résistance bactérienne : définitions, mécanismes, évolution.* EMC - Maladies Infectieuses, 5(3), 1–13. Doi :10.1016/s1166-8598(08)26016-3
- **Riegel, P. (2003).** Aspects bactériologiques des infections urinaires nosocomiales. Médecine et Maladies Infectieuses, 33, 255–265. Doi : 10.1016/s0399-077x(03)00178-1.
- **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].

Références bibliographiques

- **Spicer, J. W. (2002).** Pratique Clinique En Bactériologie. Mycologie Et Parasitologie, 190 - 191.
- **Tabib, S. et Toumi, W. (2009).** Les mesures de prévention des infections nosocomiales(institut National de formation supérieur paramédical, Biskra. <https://paramedz.com/infirmier-memoire/les-mesures-de-prevention-des-infections-nosocomiales/>
- **Togo, A., Coulibaly, Y., Keita, M., Traore, A., Kante, L., Diakite, I., ... Diallo, G. (2009).** Infections nosocomiales en chirurgie pédiatrique au Mali. Journal de Pédiatrie et de Puériculture, 22(6), 273–277. doi:10.1016/j.jpp.2009.06.007
- **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 : http://whqlibdoc.who.int/hq/2009/WHO_IER_PSP_2009.07_eng.pdf.
- **Wilson, M. et Gaido, L. (2004).** Laboratory diagnosis of urinary tract infections in adult patients. Clinical Infectious Diseases 2004 ; 38:1150-60.

➤ Site internet

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

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

Annexes

Annexe 01 :

Les milieux de cultures

1-Composition du Gélose Nutritive :

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

pH = 7,4

2- Composition de la Gélose Hektoen :

Peptone.....	12,0 g
Extrait de levure.....	3,0 g
Désoxycholatesodium.....	9,0g
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
Eau distillée.....	1 L

pH = 7,5

3-Composition de la Gélose BCP :

Peptone.....	5, 0 g
Extrait de viande.....	3,0 g
Lactose.....	10,0 g
Bromocrésol pourpre.....	0, 25 g
Agar.....	11, 0 g
Eau distillée.....	1 L

pH = 6

4- Composition de la Gélose Mac Conkey :

Peptone	20,0 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
Eau distillée.....	1 L

pH = 7,1

5- Composition de la Gélose Chapman :

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
Eau distillée.....	1 L

pH = 7,5

6- Composition de la Gélose Mueller-Hinton :

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
Eau distillée.....	1L

pH = 7,4 +/- 0,2

7- Composition du Bouillon Nutritif :

Extrait de viande.....	3,0 g/L
Peptone.....	5,0 g/L

pH = 6,8

Annexe 02 : 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	10 ml
Eau distillé.....	100 ml

Annexe 03

Les tests biochimiques classiques Milieu

TSI -Agar	12g/L
Extrait de l'œuf	3g/L
Extrait de levure	3g/L
Peptone	20g/L
Lactose	10g/L
L - Saccharose	10g/L
NaCl	5g/L
Glucose	1g/L
Citrate ferrique	3g/L
Thiosulfate de sodium	3g/L
Rouge de phénol	0,025g/L
Eau distillée	1000ml

Ajuster le pH à 7,4.

Milieu citrate de Simmons

Chlorure de sodium	5g
Sulfate de magnésium	0,2g
phosphate d'ammonium POH	1g

Phosphate di potassique POHK2g
 Citrate trisodique2g
 Solution de bleu bromothymol %8ml
 Agar15g
 Eau distillée 1000 ml
 Ajuster à pH 7,2.

Milieu mannitol- mobilité

Peptone pancréatique de viande20g/
 Agar-agar4g/L
 Mannitol2g/L
 Nitrate de potassium 1g/L
 Rouge de phénol solution à 1%4ml
 Eau distillée 1000ml
 Ajuster à pH 7,2.

Milieu urée indole

L-tryptophane3g
 Phosphate monopotassique1g
 Phosphate di potassique1g
 Chlorure de sodium5g
 Urée20g
 Solution rouge de phénol a 1%2,5ml
 Alcool à 95°10ml
 Eau distillée 1000ml

Annexe 04 :

	CHARGE DU DISQUE	SYMBOLE	CONDITIONNEMENT	CODE PRODUIT
Amoxicillin + Clavulanic Acid	20 + 10 µg	AMC	4 x 50 Disques	66178
Ampicillin	2 µg 10 µg	AMN 2 AM	4 x 50 Disques 4 x 50 Disques	67288 66128
Bacitracin	130 µg / 10 UI	B	4 x 50 Disques	66158
canamycine	30 µg	K	4 x 50 Disques	66618
Cefalexin	30 µg	CN	4 x 50 Disques	66208
Streptomycin (high load)	10 µg	S	4 x 50 Disques	67418
Neomycin	30 UI	N	4 x 50 Disques	66748

Annexe 05 :

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (MG/CUP)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
ONPG	2-nitrophényl- β D-galactopyranoside	0,223	β -galactosidast(Ortho LnitroPhenyl- β D-Galactopyranosidase)	Incolore	Jaune (1)
ADH	L-arginine	1,9	Arginine DiHydrolase	Jaune	Rouge /orangé(2)
LDC	L-lysine	1,9	Lysine DiHydrolase	Jaune	Rouge /orangé(2)
ODC	L-ornithine	1,9	Ornithine DéCarboxylase	Jaune	Rouge/orangé(2)
CIT	Trisodium citrate	0,756	Etulisation du CiTrate	Vert pale/jaune	Bleu-vert/bleu(3)
H2S	Sodium thlosuffat	0,075	Production d'H2S	Incolore/ Grisatre	Dépôt noir/fin liseré
URE	Urée	0,76	UREase	Jaune	Rouge/orangé(2)
TDA	L-triptophane	0,38	Triptophane DésAminase	TDA/immédiat Jaune / marron-rougeatre	
IND	L-triptophane	0,19	Production d'INDole	JAMES/immédiat Incolore / rose Vert pale/jaune	
VP	Sodium pyruvate	1,9	Production d'acétoine (Voges Proskauer)	VP1+VP2/10MIN Incolore rose/rouge(5) /rose pale	
GEL	Gélatine(rogine bovine)	0,6	Gélatinase(GELatine)	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	1,9	Fermentation /oxydation (GLUcose)(4)	Bleu/bleu vert	Jaune/jaune gris
MAN	D-mannitol	1,9	Fermentation /oxudation (MANitole)(4)	Bleu/bleu vert	Jaune
INO	inositol	1,9	Fermentation /oxydation(INOsitol)(4)	Bleu/bleu vert	Jaune
SOR	D-sarbitol	1,9	Fermentation /oxydation(SORbitol)(4)	Bleu/bleu vert	Jaune
RHA	L-rhamnose	1,9	Fermentation /oxydation (RHAamnose)(4)	Bleu/bleu vert	Jaune
SAC	D-sacchrose	1,9	Fermentation /oxydation(SACarose)(4)	Bleu/bleu vert	Jaune
MEL	D-melibiose	1,9	Fermentation /oxydation (MELibiose)(4)	Bleu/bleu vert	Jaune
AMY	Amygdaline	0,57	Fermentation /oxydation (AMYgdaline)(4)	Bleu/bleu vert	Jaune
ARA	L-arabinose	1,9	Fermentation /oxudatio (ARAbinose)(4)	Bleu/bleu vert	Jaune
OX	(voir notice du test oxydase)		Cytochrome-oxydase	(voir notice du test oxydase)	

Résumé

Les infections nosocomiales sont connues dans le monde entier, et sont contractées en milieu hospitalier. Elles sont parmi les causes majeures de décès et de morbidité accrue parmi les patients hospitalisés.

Notre étude s'intéresse à la recherche des bactéries responsables de ses infections nosocomiales ; elles sont isolées à partir de différents instruments, patients et de l'air au niveau de deux services hospitalier (bloc opératoire et service de dialyse) ainsi que la restauration collective de l'hôpital de Hammam Bouhdjar. Nous avons isolé, purifié et pré-identifier les germes par différentes méthodes, caractères phénotypiques, tests biochimiques classiques et Galerie API.

Les résultats de cette étude a permis d'obtenir 11 isolats bactériens, appartenant essentiellement aux Cocci à Gram positives (51%) et aux bacilles à coloration Gram négatives (48%). L'espèce *Staphylococcus aureus* s'avère, l'isolat le plus répandu. Les résultats de l'antibiogramme ont montré que certains isolats se sont révélés sensibles alors que d'autres se sont montrés résistants. Les caractères phénotypiques, tests biochimiques classiques et galerie API des isolats bactériens ont permis de rattacher les bactéries à 05 principaux genres par ordre de dominance : *Staphylococcus*, *Enterobacter*, *Aeromonas*, *Escherichia* et *Klebseilla*.

Mots clés : Infections nosocomiales, antibiogramme, Galerie API, *Staphylococcus*, *Enterobacter*, *Aeromonas*, *Escherichia* et *Klebseilla*.

Abstract :

Nosocomial infections are known the world over, and are contracted in hospitals. They are among the leading causes of death and increased morbidity among hospitalized patients.

Our study focuses on the search for bacteria responsible for nosocomial infections; they are isolated from different instruments, patients and air at two hospital departments (operating theater and dialysis department) and the collective catering of the Hammam Bouhdjar hospital. We have isolated, purified and pre-identified the germs by different methods, phenotypic characters, classical biochemical tests and API Gallery.

The results of this study yielded 11 bacterial isolates, mainly belonging to Gram positive Cocci (51%) and Gram-negative staining bacilli (48%). The most common isolate is *Staphylococcus aureus*. The results of the DST showed that some isolates were susceptible while others were resistant. The phenotypic characters, classical biochemical tests and API gallery of bacterial isolates made it possible to attach the bacteria to 05 main genera in order of dominance: *Staphylococcus*, *Enterobacter*, *Aeromonas*, *Escherichia* and *Klebseilla*.

Keywords: Nosocomial infections, antibiogram, API gallery, *Staphylococcus*, *Enterobacter*, *Aeromonas*, *Escherichia* and *Klebseilla*.

ملخص

التهابات المستشفيات معروفة في جميع أنحاء العالم، وتنتقل في المستشفيات. وهي من بين الأسباب الرئيسية للوفاة وزيادة زيادة المراضة بين المرضى.

تهتم دراستنا بإيجاد البكتيريا المسؤولة عن التهابات المستشفيات التي تم عزلهم من الأجهزة المختلفة والمرضى والهواء على مستوى قسمين بالمستشفى (غرفة العمليات وقسم غسل الكلى) وكذلك المطعم الجماعي بمستشفى حمام بوحجر. وهكذا قمنا بعزل وتنقية وتحديد البكتيريا بطرق مختلفة وخصائص نمطية واختبارات بيوكيميائية كلاسيكية ومعرض API.

أظهرت نتائج هذه الدراسة عن 11 عزلة بكتيرية تنتمي بشكل رئيسي إلى عصيات كوخ موجبة الجرام (51%) وعصيات كوخ سالبة الجرام (48%). العزلة الأكثر شيوعًا هي المكورات العنقودية الذهبية.

أظهر المضاد الحيوي أن الجراثيم البكتيرية تتفاعل بشكل مختلف مع المضادات الحيوية التي تم اختبارها بشكل عام، جعلت السمات المظهرية (الزراعية والبيوكيميائية) واختبارات المضادات الحيوية من الممكن ربط عزلتنا بـ 8 أجناس رئيسية بترتيب الهيمنة Staphylococcus و Enterobacter و Aeromonas و Esherichia و Klebseilla.