

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة 8 ماي 1945 قالمة  
Université 8 Mai 1945 Guelma  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



## Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences Biologiques  
Département : Écologie et Génie de l'Environnement  
Spécialité/Option : Microbiologie appliquée

### Intitulé

## Isolement et identification des bactéries nosocomiales dans les instruments

### Présenté par

MelleManelBarkache  
MelleHananeBenchehida  
Melle AhlemDilmi

### Devant le membre du jury

Dr. Benhalima L.  
Dr. Amri S.  
Dr. Djemaa F.

Présidente  
Encadreur  
Examinatrice

Université de Guelma  
Université de Guelma  
Université de Guelma

Juin 2022

Nos remerciements vont en premier lieu aux membres du jury

Madame Benhalima L., docteur à l'université de 8 Mai 1945, pour l'honneur qu'elle me fait de présider le jury.

Madame Djemaa F., docteur à l'université de 8 Mai 1945, pour l'honneur qu'elle nous fait d'examiner le mémoire.

Madame Sandra Amri, docteur à l'université de 8 Mai 1945, d'avoir accepté de diriger ce mémoire. Qu'elle trouve ici, le témoignage de notre profonde reconnaissance et notre sincère gratitude.

Enfin, merci à toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

## *Dédicaces*

*Louanges à Dieu pour de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve.*

*Je dédie ce modeste travail à toute ma famille : loin et près, petit et grand.*

### *À mes parents : Ahcene et Moufida*

*Qui me donnent le courage, le soutien et l'amour et me guident dans ma vie. Particulièrement dans les moments les plus difficiles et leurs sacrifices.*

### *À mes grand-mères et pères*

*Pour toutes le soutien, l'amour, Ceux qui m'ont donné une volonté d'acier pour travailler.*

### *À mes frères : Monder et Abdelmalek*

*Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous. Je vous dédie ce travail, avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.*

### *À Mme AMRI Sandra*

*De m'avoir fait l'honneur de son encadrement tout au long de ce projet. Pour sa disponibilité et son aide, sa patience, sa gentillesse et ses précieux conseils.*

*À tous mes enseignants depuis le primaire à l'université pour l'éducation que vous m'avez donnée tout au long de mes études.*

*À tous mes tantes et oncles en particulier : Sawsen, Samiha, Nabila à qui j'exprime mes plus profonds sentiments d'amour.*

*À tous mes cousins et cousines en particulier : Asma, Khayra, Aya, Baraa, Aridje en témoignage de mes plus profondes amitiés et d'amour.*

*À toute mes amies en particulier : Hanane, Ahlem, Wafa, Rayane.*

*Pour notre amitié et tous les bons moments passés et à venir, pour votre présence, Vos précieux conseils. Un très grand merci à tous et à toutes.*

*À toute la famille Barkache sans exceptions.*

*À ma promotion et tous qui connaisse Manal.*

*À tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin lors de la réalisation de ce travail, merci à tous.*

*Manal*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail celle que dieu m'a aidée le faire et à toute ma famille : loin et près,  
petit et grand.*

### *À la mémoire de mon grand père*

*Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous  
les sacrifices que tu m'as donné depuis ma naissance, jusqu'à mon âge adulte. Tu as fait plus  
qu'une mère puisse faire pour ses enfants. Tu me manques beaucoup.*

### *À mes parents*

*Pour leur amour, leur sacrifices durant toutes les étapes de ma vie*

### *À la mémoire de mon oncle*

*Ton beaux souvenirs restent à jamais gravés dans ma mémoire.*

### *À mes frères : Amar, Mouhamed Rida*

### *À mes grand-mères*

*Mama tima et mama Toues*

*Pour toutes les bénédictions et l'amour, Ceux qui m'ont donné une volonté d'acier pour travailler*

### *À mes tantes et oncles*

*Particulièrement : Rachid et Toufik Merci profondément.*

### *À tous mes cousins et cousines*

### *À tous mes amies*

*Particulièrement : Wafa, Ahlem et Manal pour notre amitié et tous les beaux souvenirs.*

### *À tous mes collègues*

*J'espère que vous trouvez à travers ce travail ma sincère dédicace.*

*Hanane*

## *Dédicaces*

*C'est avec gratitude, respect et amour que je dédie ce modeste travail,*

*A mes très chers parents, pour l'amour, la tendresse et les sacrifices dont ils m'ont fait preuve.*

*A mes chères amies Hanane et Manal, je les remercie pour le courage qu'elles m'ont donné et tous les moments passés ensemble.*

*A toute ma famille, Grands-mères. Oncles, Tantes. Cousines et Cousins.*

*Que Dieu, le tout puissant. Vous protège et vous garde.*

*Ahlem*

# Table des matières

Table des matières

Résumés

Liste d'abréviations

Listes des figures

Liste des tableaux

<b>Introduction générale</b> .....	1
<b>I.1. Définition de l'infection nosocomiale</b> .....	3
<b>I.2. Historique</b> .....	3
<b>I.3. Épidémiologie</b> .....	4
<b>I.4. Chaîne épidémiologique</b> .....	5
<b>I.4.1. Origine des infections nosocomiales</b> .....	5
<b>I.4.1.1 Flore saprophyte du malade lui-même</b> .....	5
<b>I.4.1.2. Personnel soignant</b> .....	5
<b>I.4.1.3. Environnement</b> .....	6
<b>I.4.2. Transmission des infections nosocomiales</b> .....	6
<b>I.4.2.1. Transmission par l'air contaminé</b> .....	6
<b>I.4.2.2. Transmission par contact</b> .....	6
<b>I.4.2.3. Transmission du matériel médical</b> .....	6
<b>I.4.2.4. Transmission par les draps et la literie</b> .....	6
<b>I.4.3. Hôte réceptif</b> .....	7
<b>I.5. Types d'infection nosocomiale</b> .....	7
<b>I.5.1. Infection urinaires</b> .....	7
<b>I.5.2. Pneumopathies nosocomiale</b> .....	8
<b>I.5.3. Infection du bloc opératoire</b> .....	9
<b>I.5.4. Bactériémies nosocomiales</b> .....	9
<b>I.5.5. Autres infections nosocomiales</b> .....	10
<b>I.6. Mode de transmission</b> .....	10
<b>I.6.1. Auto-infection</b> .....	10
<b>I.6.2. Hétéro-infection</b> .....	11
<b>I.6.3. Xéno-infection</b> .....	11
<b>I.6.4. Exo-infection</b> .....	11
<b>I.6.5. Patient réceptif</b> .....	12
<b>I.7. Facteurs favorisant les infections nosocomiales</b> .....	12

I.7.1. Facteurs liés aux agents microbiens .....	12
I.7.2. Facteurs liés aux patients.....	12
I.7.3. Facteurs environnementaux .....	13
I.8. Agents responsables des infections nosocomiales.....	13
I.8.1. Champignons et parasites .....	13
I.8.2. Virus .....	13
I.8.3. Bactéries .....	14
I.8.3.1. Bactéries symbiotiques.....	14
I.8.3.2. Bactéries pathogènes .....	14
I.9. Prévention des infections nosocomiales.....	15
I.9.1. Antisepsie .....	15
I.9.2. Asepsie.....	15
I.9.3. Choix de l'antibiotique .....	15
I.10. Principes généraux de prévention pour les hôpitaux.....	16
I.10.1. Bâtiments .....	16
I.10.2. Personnel.....	16
I.10.3. Déchet .....	16
II.1. Isolement de la flore bactérienne.....	17
II.2. Purification de la flore bactérienne.....	18
II.3. Identification de la flore bactérienne .....	18
II.3.1. Examen macroscopique.....	18
II.3.2. Examen microscopique.....	18
II.3.3. Recherche de l'oxydase .....	19
II.3.4. Recherche de la catalase .....	19
II.3.5. Identification biochimique par la galerie classique.....	20
II.3.5.1. Recherche du nitrate réductase .....	20
II.3.5.2. Utilisation du citrate comme seule source de carbone .....	20
II.3.5.3. Production de l'acétoïne.....	20
II.3.5.4. Mise en évidence de la voie des fermentations des acides mixtes .....	21
II.3.5.5. Dégradation du mannitol.....	21
II.3.5.6. Production de l'uréase .....	22
II.3.5.7. Production d'indole.....	22
II.3.5.8. Production du tryptophane désaminase (TDA).....	23
II.3.5.9. Production de la $\beta$ -galactosidase .....	23
II.3.5.10. Fermentation des sucres avec ou sans gaz et production d'H <sub>2</sub> S.....	24
II.3.5.11. Identification.....	24

<b>II.3.6. Identification biochimique par la galerie miniaturisée API Staph .....</b>	<b>24</b>
<b>II.3.7. Lecture et interprétation des résultats .....</b>	<b>25</b>
<b>II.3.8. Conservation des souches bactériennes .....</b>	<b>25</b>
<b>III.1.Examens macroscopiques et microscopiques .....</b>	<b>29</b>
<b>III.2. Recherche de l'oxydase et la catalase.....</b>	<b>32</b>
<b>III.3. Identification biochimique par la galerie classique .....</b>	<b>33</b>
<b>III.4. Identification biochimique par la galerie classique .....</b>	<b>37</b>
<b>Discussion .....</b>	<b>40</b>
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>41</b>
<b>Références Bibliographiques.....</b>	<b>42</b>
<b>Annexes .....</b>	<b>46</b>

**Résumé :** Notre travail avait pour but, d'isoler et d'identifier les bactéries responsables des infections nosocomiales à partir des instruments de la salle de réception d'une polyclinique (Wilaya d'Annaba). Les résultats obtenus ont indiqué que la présence d'une microflore variée : *Aerococcusviridans*, *Staphylococcus xylosum*, *Staphylococcus hominis*, *Kocuriavarians / rosea*, composé principalement de bactéries à Gram positives. Toutefois, aucune bactérie à Gram négative n'a pu être isolée.

**Mots clés :** Infections nosocomiales, Bactérie, des instruments, isolement et Identification.

**Abstract:** Our work was aimed at isolating and identifying the bacteria responsible for nosocomial infections from the instruments of the reception room of a polyclinic (Wilaya d'Annaba). The results obtained indicated that the presence of a variant microflora : *Aerococcusviridans*, *Staphylococcus xylosum*, *Staphylococcus hominis*, *Kocuriavarians / rosea*, composed mainly of Gram-positive bacteria. However, no Gram-negative bacteria could be isolated.

**Keywords:** Nosocomial infections, Bacteria, the instruments, Isolation and Identification.

**ملخص:** كان عملنا يهدف إلى عزل وتحديد البكتيريا المسؤولة عن عدوى المستشفيات من الأدوات في العيادة المتعددة الخدمات (ولاية عنابة). أشارت النتائج التي تم الحصول عليها إلى وجود بكتيريا متغيرة: *Aerococcusviridans*،

تتكون بشكل أساسي من بكتيريا إيجابية الغرام. ومع ذلك، لا يمكن عزل أي بكتيريا سلبية الجرام.

**الكلمات المفتاحية:** عدوى المستشفيات، البكتيريا، الأدوات، العزل والتعرف

## Liste d'abréviations

**IN** : Les infections nosocomiales.

**CTIN** : Le comité technique national des infections nosocomiales.

**CTINILS** : le comité technique national des infections nosocomiales et des infections liées aux soins.

**IAS** : la notion d'infection associée aux soins.

**OMS** : l'organisation mondiale de la santé.

**VIH** : le virus de l'immunodéficience humaine.

**GN** : gélose nutritif

**TDA** : Tryptophane Désaminase

**TSI** : Tri-Suger-Iron

**VP** : Voges Proskauer

**ONPG** : Ortho-nitro phényle B-Dgalactosidase

## Listes des figures

N°	Titre	Page
1	Infection nosocomiale les plus fréquents.....	8
2	Transmission de l'infection nosocomiale.....	11
3	Aspect macroscopique et microscopique des colonies bactériennes isolées.....	31
4	Photos présent du teste l'oxydase et la catalase.....	33
5	Identification biochimique de l'espèce <i>Aerococcusviridans</i> (EN1).....	33
6	Identification biochimique de l'espèce <i>Staphylococcus xylosus</i> (EN2).....	34
7	Identification biochimique de l'espèce <i>Staphylococcus xylosus</i> (S1).....	34
8	Identification biochimique de l'espèce <i>Staphylococcus hominis</i> (S2).....	34
9	Identification biochimique de l'espèce <i>Staphylococcus Xylosus</i> (M 2).....	35
10	Identification biochimique de l'espèce <i>Kocuriavarians / rosea</i> (M 1).....	35
11	Profil biochimique de l'espèce <i>Staphylococcus xylosus</i> (EN2).....	37
12	Profil biochimique de l'espèce <i>Staphylococcus xylosus</i> (S1).....	37
13	Profil biochimique de l'espèce <i>Staphylococcus xylosus</i> (S2).....	37
14	Profil biochimique de l'espèce <i>Kocuriavarians/rosea</i> (M1).....	38
15	Profil biochimique de l'espèce <i>Staphylococcus xylosus</i> (M 2).....	38

## Liste des tableaux

<b>N°</b>	<b>Tire</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Bactéries responsables des infections nosocomiales.....	15
<b>02</b>	Aspect macroscopique et microscopique des colonies bactériennes isolées.....	29
<b>03</b>	Identification de l'oxydase et de la catalase des souches isolées.....	32
<b>04</b>	Résultats des testes biochimique classique des souches isolées.....	36
<b>05</b>	Résultat de l'identification biochimique des souches isolées par l'API stap.....	39

***Introduction***  
***générale***

### Introduction générale

L'infection hospitalière ou nosocomiale est un problème majeur de santé publique de par sa fréquence et son impact sur l'Homme et l'économie. Elle se définit comme une infection acquise dans un établissement de santé et ses manifestations cliniques apparaissent généralement 48 heures après l'hospitalisation (Zeroual, 2012). Les infections nosocomiales sont responsables d'une mortalité et d'une morbidité élevées dans les établissements de santé, Jusqu'au années 1950, les infections nosocomiales étaient essentiellement liées à des patients acquérant des bactéries de l'environnement ou d'autres patients. Cela été liés aux perturbations écologiques causées par de nombreux antibiotiques (Sanogo, 2007). Dans les hôpitaux, le risque d'infection a toujours été présent et a augmenté au fur et à mesure de l'évolution des pratiques de prise en charge des patients (Samou, 2005). Les types les plus courants d'infections nosocomiales sont la pneumonie, les infections des voies urinaires, la bactériémie et les infections du site opératoire (Aourache, 2016).

Une étude sur la prévalence des infections nosocomiales menée sous l'égide de l'OMS dans 14 pays a révélé qu'en moyenne 8,7 % des patients hospitalisés avaient acquis une infection nosocomiale. De nombreux projet ont démontré que l'application d'intervention et de stratégie pouvait réduire la charge de morbidité imputable aux infections résultant d'acte de soins, à l'aide d'un programme de prévention, le taux d'infection nosocomiales pourrait être réduit de 30 % (Ducel, 2002). De nombreux travaux ont rapporté le rôle important que joue l'environnement hospitalier dans le développement des infections nosocomiales. L'environnement hospitalier est le réservoir le plus important de microorganismes résistants. La présence de plus de 5 UFC/cm<sup>2</sup> sur une surface qui pourrait rentre en contact avec les mains, indique qu'il pourrait y avoir un risque accru d'infection pour le patient (Dancer, 2004).

En Algérie et dans la plupart des pays Maghrébins, il n'existe aucun système de mesure qui permet d'objectiver l'importance du risque dans les hôpitaux, les infections nosocomiales restent ainsi un problème méconnu et non perçu comme une priorité (Kernane et al.,2013). De ce fait, l'objectif de notre travail est : l'isolement et l'identification des germes responsables des infections nosocomiales dans le service du milieu hospitalier de la wilaya d'Annaba. Notre travail sera organisé en 3 chapitres. Le premier est purement théorique rassemble d'une part des généralités sur les infections nosocomiales et les principaux agents responsables de ces infections. Le second,

chapitre décrira le matériel et les méthodes adoptées pour réaliser ce travail, le troisième chapitre, mentionne les différents résultats obtenus au cours de notre étude avec une discussion. Enfin ce manuscrit sera clôturé par une conclusion et des perspectives pour l'ensemble du travail.

# ***Chapitre I***

*Synthèse bibliographique*

### I.1. Définition de l'infection nosocomiale

Etymologiquement, nosocomial vient de grec « nosos », qui signifie maladie, et « komien », qui signifie guérir. Puis du latin « nosocomium » qui signifie maladie hôpital. (Brucker et Bouvet, 1998). Les infections nosocomiales (IN) sont aussi appelées infections hospitalières, ce sont des infections acquises pendant un séjour à l'hôpital et qui n'étaient pas présentes au moment de l'admission du patient. Les infections survenant plus de 48 heures après l'admission sont habituellement considérées comme nosocomiales. L'évolution des pratiques médicales a entraîné une diminution de la durée des séjours à l'hôpital et une augmentation des soins ambulatoires. Il a été proposé d'englober dans le concept d'infection nosocomiale les infections survenant chez les patients recevant un traitement dans un établissement de santé quel qu'il soit. Les infections contractées par le personnel ou les visiteurs de l'hôpital ou autre établissement de santé peuvent aussi être considérées comme des infections nosocomiales (Ducel *et al.*, 2002).

### I.2. Historique

La première définition de l'infection nosocomiale a été donnée par la circulaire du ministère de la santé N° 263 du 13 octobre 1988 relative à l'organisation de la surveillance et de la prévention des infections nosocomiales. Cette circulaire est remplacée par une autre circulaire du ministère de l'emploi et de la solidarité du 29 décembre 2000 qui en application de la loi du 1<sup>er</sup> juillet 1998 relative au renforcement de la surveillance sanitaire et du contrôle de la santé et de la sécurité des produits à usage humain, impose au public et les établissements de santé privés sont tenus d'organiser en leur sein la lutte contre les infections nosocomiales et autres maladies iatrogènes et le décret du 6 décembre 1999 qui organise les moyens de lutte mis en œuvre par la commission hospitalière de lutte contre les infections de chaque établissement. Selon leurs avis, les infections nosocomiales sont des infections dans les établissements de santé. Le comité technique nationale des infections nosocomiales (CTIN), devenu comité technique nationale des infections nosocomiales et des infections liées aux soins (CTINILS) a élaboré une nouvelle définition en Mai 2007, estimant que la définition de 1999 n'était pas satisfaisante en raison de la multiplication des parcours de soins et des acteurs de l'offre de soins, la diversification des structures et des systèmes de soins [1]. Dans la dispensation des soins, de la diversification des structures et des systèmes de soins, et de la survenue parfois tardive

de l'infection après une chirurgie, en particulier avec prothèses implantées. On voit ainsi apparaître la notion d'infection associée aux soins (IAS) qui est définie comme suit : 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 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. Toutefois, il est recommandé d'apprécier dans chaque cas la plausibilité de l'association entre la prise en charge et l'infection. Pour les infections du site opératoire, on considère habituellement comme associées aux soins les infections survenant dans les 30 jours suivant l'intervention ou, s'il y a mise en place d'un implant, d'une prothèse ou d'un matériel prothétique dans l'année qui suit l'intervention. Toutefois, et quel que soit le délai de survenue, il est recommandé d'apprécier dans chaque cas la plausibilité de l'association entre l'intervention et l'infection, notamment en prenant en compte le type de germe en cause (Thierry, 2016).

### I.3. Épidémiologie

Les infections nosocomiales sont un problème de santé publique préoccupant, la prévalence de l'IN dans le monde entier varie entre 1 et 20 % et l'incidence globale de 5 à 10 % avec une variation aussi d'un pays à l'autre. Une étude sur la prévalence des IN menée sous l'égide de l'organisation mondiale de la santé (OMS) dans 55 hôpitaux de 14 pays dans 4 continents a révélé qu'en moyenne 8,7 % des patients hospitalisés avaient acquis une IN. En France, elle est estimée entre 6 et 7 % atteignant 20 % dans les services de réanimation, les services les plus touchés sont ceux de réanimation, d'hématologie, de chirurgie et brûlés. Les 5 principaux sites d'infections nosocomiales représentent 70 % de l'ensemble des IN avec par ordre d'importance, les infections urinaires (35 %), les pneumopathies (12 %), les infections du site opératoire (11 %), les bactériémies (6 %) et les infections par cathéter (4 %). Les principaux micro-organismes responsables sont l'*Escherichia coli* (21 %), *Staphylococcus aureus* (16 %), *Pseudomonas aeruginosa* (11 %), *Enterococcus* sp (8 %) et ces quatre espèces représentent 56 % des micro-organismes retrouvés dans les infections nosocomiales (Sumba, 2012).

Une étude multicentrique a été menée dans 27 hôpitaux en Algérie, en Égypte, en Italie, au Maroc et en Tunisie pour évaluer la prévalence et les caractéristiques des infections nosocomiales. La population étudiée 4634 patients était relativement jeune, avec un âge moyen de 41,1 ans. Le taux d'infection nosocomiale était de 10,5 %, il était plus élevé dans les centres non universitaires et les hôpitaux de taille moyenne. Globalement, les infections urinaires sont les plus fréquentes. La prévalence était particulièrement élevée en pédiatrie (11,3 %). Les bactéries les plus fréquemment isolées étaient *Escherichia coli* (17,2 %), *Staphylococcus aureus* (12,5 %), *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae* (9,2 %). Au jour de l'enquête, 40,7 % des patients recevaient des antibiotiques, et près de la moitié d'entre eux avaient des indications empiriques. L'incidence des infections nosocomiales était significativement associée à la ventilation mécanique, à une hospitalisation de 8 jours ou plus, aux cathéters centraux ou périphériques, aux cathéters urinaires, au diabète et à l'âge ([Amazian et al., 2010](#)).

### **I.4. Chaîne épidémiologique**

Les infections nosocomiales obéissent à la même description épidémiologique que toute pathologie infectieuse communautaire. Leur chaîne épidémiologique comporte donc trois maillons : l'origine des germes, la transmission de la maladie et l'hôte réceptif.

#### **I.4.1. Origine des infections nosocomiales**

##### **I.4.1.1 Flore saprophyte du malade lui-même**

Elle subit au cours des premiers jours de l'hospitalisation des modifications qualitatives. Les bacilles à Gram négatif et plus accessoirement les levures (*Candida*) remplacent les cocci à Gram positif. Ces flores saprophytes modifiées colonisent les sites préférentiels chez le malade entraînant une infection de l'appareil urinaire, des plaies opératoires, ou du parenchyme pulmonaire ([SamouFosto, 2005](#)).

##### **I.4.1.2. Personnel soignant**

La contamination peut se faire par le biais du personnel soignant. Il peut être le facteur décisif de la propagation de l'infection, les personnes elles-mêmes peuvent être porteuses d'infection cutanées légère aux staphylocoques ou des infections des voies respiratoires du à la propagation de virus ([Sanogo, 2007](#)).

#### **I.4.1.3. Environnement**

Il est moins déterminant dans le cadre de programme de prophylaxie que les deux précédentes origines. Il peut être contaminé par le personnel ou par le patient. Il comprend les divers appareillages d'assistance respiratoire et de monitoring par voie intra vasculaire, les lavabos, les instruments, les liquides et les tubulures, la nourriture et l'air ambiant (Zeroual, 2010).

#### **I.4.2. Transmission des infections nosocomiales**

On distingue quatre principaux modes de transmission de l'agent infectieux.

##### **I.4.2.1. Transmission par l'air contaminé**

En respirant, en parlant, en toussant, on libère toutes les particules de sécrétion qui se propage sur des distances considérables. Dans une salle d'opération ou une chambre d'hôpital, l'air peut également ramasser les squames sur la peau d'un patient. Ces particules peuvent se déposer sur les plaies chirurgicales ou contaminer le matériel médical (Figarella et al., 2007).

##### **I.4.2.2. Transmission par contact**

Les micro-organismes peuvent être transmis aux patients hospitalisés par tout contact avec des personnes et/ou des objets présents dans l'espace hospitalier. Les mains sont la principale cause de transmission microbienne, les bactéries de la flore cutanée peuvent contaminer le patient. Ces flores éphémères sont les plus dangereuses, mais faciles à nettoyer (Figarella et al., 2007).

##### **I.4.2.3. Transmission du matériel médical**

Le matériel médical utilisé pour les soins, la chirurgie ou l'exploration est stérilisé. Des défauts de stérilisation peuvent se produire anormalement, de sorte que des matériaux mal stérilisés peuvent être une source de contamination pour le patient (Figarella et al., 2007).

##### **I.4.2.4. Transmission par les draps et la literie**

Les germes des draps et de la literie des patients peuvent se propager aux blouses et aux mains des soignants pendant les soins. Cela peut les propager à d'autres patients (Figarella et al., 2007).

### I.4.3. Hôte réceptif

Les personnes sensibles aux micro-organismes pathogènes, leurs système immunitaire affaibli ou absent manque d'anticorps nécessaires pour combattre infection ou récepteurs cellulaires adapté à la procuration [2]. C'est un sujet appartenant préférentiellement à des groupes de patients particulièrement réceptif vis-à-vis du risque infectieux. Divers facteurs influent sur la réceptivité de l'hôte à l'infection (Oumar Cissé, 2014) :

- Inoculum : plus il est grand, plus probable est l'apparition d'une infection clinique.
- Diversité des germes : il est connu que moins il y a des germes de la même espèce, plus grand est leur pouvoir infectieux.
- Caractéristiques des germes : le degré de virulence et de résistance des germes aux antibiotiques influent sur la gravité de l'infection.
- Sensibilité du malade : les facteurs influençant la sensibilité du malade sont nombreux, il s'agit de l'état immunologique, le type de maladie sous-jacente, les effets des procédés de diagnostic et de traitement.

## I.5. Types d'infection nosocomiale

### I.5.1. Infection urinaires

Ce sont les infections nosocomiales les plus courantes (Fig.01), 80 % des infections sont liées à un sondage vésical à demeure. 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. Ces infections sont habituellement définies selon des critères microbiologiques : uroculture quantitative positive ( $\geq 10^5$  micro-organismes/ ml). Les bactéries responsables proviennent de la flore intestinale du patient, normale comme *Escherichia coli* ou acquise à l'hôpital comme *Klebsiella* multirésistantes (Ducelet al., 2002).

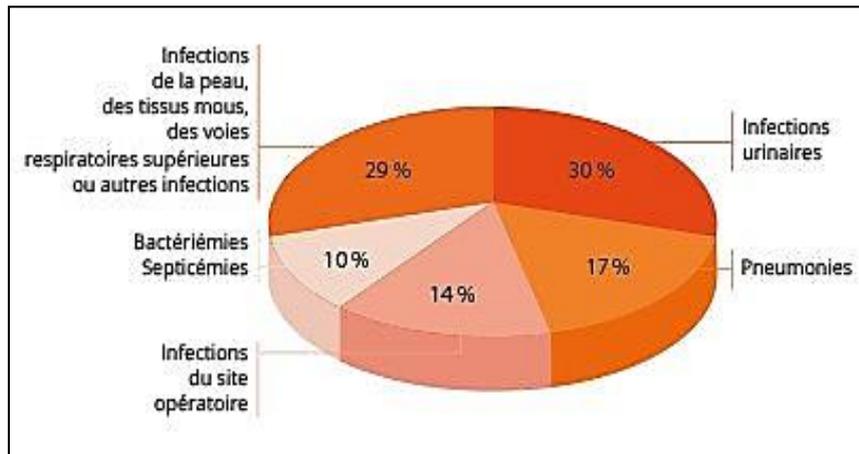


Figure 1 : Infections nosocomiales les plus fréquentes [3].

### I.5.2. Pneumopathies nosocomiale

Les pneumopathies nosocomiales s'observent chez plusieurs catégories de patients, principalement les patients sous ventilation artificielle dans les unités de soins intensifs, où leur taux atteint 3 % par jour. 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 co-morbidités. Les microorganismes colonisent l'estomac, les voies respiratoires supérieures et les bronches, et provoquent une infection pulmonaire, ils sont souvent endogènes (appareil digestif ou rhinopharynx) mais peuvent être exogènes, souvent à partir d'un appareil respiratoire contaminé. La définition de la pneumopathie peut reposer sur des critères cliniques et radiologiques faciles à établir mais non spécifiques : opacités radiologiques et progressives au niveau du parenchyme pulmonaire, expectorations purulentes et fièvre d'apparition récente. Le diagnostic est plus spécifique lorsqu'on peut obtenir des échantillons microbiologiques quantitatifs par bronchoscopie spécialisée et protégée. 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 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'intubation. Les bronchiolites virales 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* 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.*, 2002).

### I.5.3. Infection du bloc opératoire

Les infections du bloc opératoire sont également fréquentes, leur incidence va de 0,5 à 15 % selon le type d'intervention et l'état général du patient. 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 est considérable. La définition de ces infections est essentiellement clinique, écoulement purulent autour de la plaie ou du site d'insertion du drain, ou cellulite extensive à partir de la plaie. Les infections de la plaie opératoire et les infections profondes des organes ou des espaces sont identifiées séparément. 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 préopératoire). Les micro-organismes infectieux sont divers, et dépendent du type et de la localisation de l'intervention et des anti-infectieux reçus par le patient. Le principal facteur de risque est l'étendue de la contamination préopératoire, elle-même conditionnée par la durée de l'intervention et l'état général du patient. Les autres facteurs en jeu sont la qualité de la technique chirurgicale, la présence de corps étrangers, la virulence des micro-organismes, la présence d'une infection concomitante sur un autre site, la pratique du rasage préopératoire et l'expérience de l'équipe chirurgicale (Ducel *et al.*, 2002).

### I.5.4. Bactériémies nosocomiales

Les bactériémies ne représentent qu'une faible proportion des infections nosocomiales (5 %) mais possèdent un taux de létalité élevé, plus de 50 % pour certains micro-organismes. Leur incidence est en augmentation, en particulier pour certains micro-organismes comme *Staphylococcus*. 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 (Ducel *et al.*, 2002). Le diagnostic est établi lorsqu'au moins une hémoculture positive prélevée présente une fièvre avec ou sans symptômes cliniques, à l'exception des micro-organismes suivants

: *Staphylocoques*, *Corynebacterium*spp., *Propionibacterium*spp., *Microcoque*, *Alcaligenes**Xanthomonas*, *Acinetobacter*spp., *Pseudomonas* autre que *Pseudomonas aeruginosa*([Haddadi, 2013](#)).

#### **I.5.5. Autres infections nosocomiales**

Les infections décrites plus haut sont les quatre types les plus fréquents et les plus importants 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. Dans les pays développés, *Clostridium* est la cause principale des gastro-entérites nosocomiales chez l'adulte. 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 ([John et Spicer, 2002](#)).

### **I.6.Mode de transmission**

#### **I.6.1. Auto-infection**

C'est lorsque le patient est infecté par sa propre bactérie *in situ* ou par l'environnement immédiat ([Fig.02](#)). Les infections sont généralement causées par des bactéries saprophytes, qui sont après une antibiothérapie répétée ou un traitement immunosuppresseur. Cette complication des infections respiratoires associées aux escarres et leur impact sur le drainage. Les voies respiratoires peuvent s'auto-infecter. Enfin, certains patients immunodéprimés peuvent être dus à une bactériémie intestinale héberger. Ces infections strictement endogènes sont aussi des auto-infections ([SamouFasto, 2005](#)).

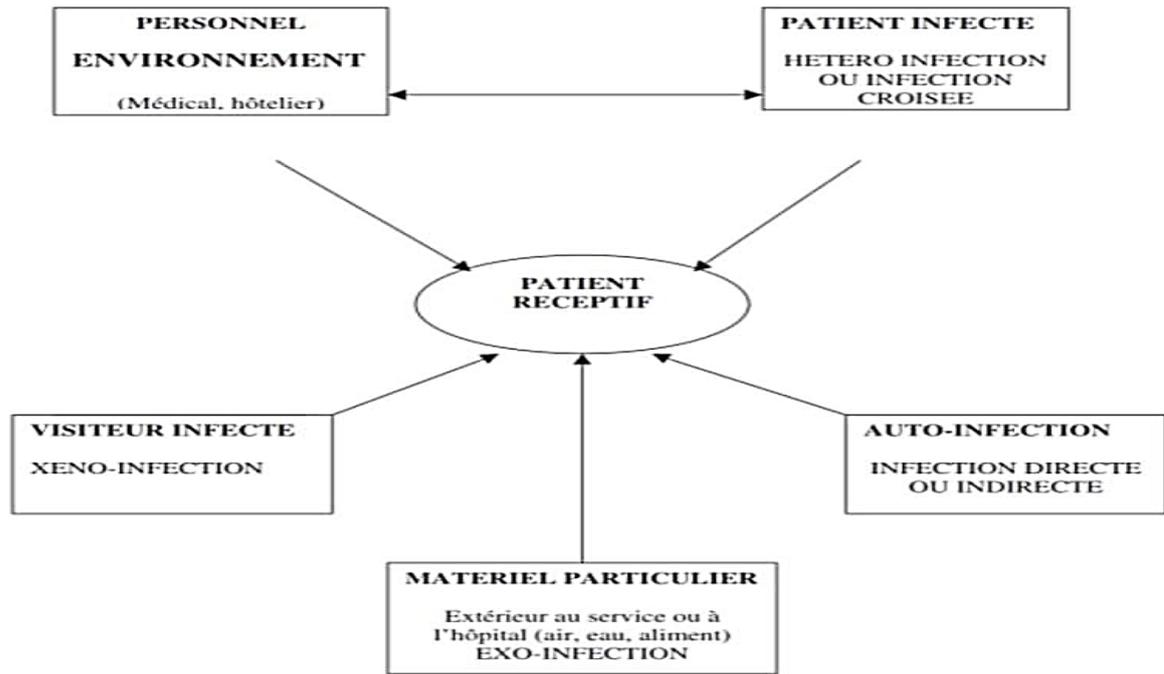


Figure 2 : Transmission de l'infection nosocomiale (SamouFasto, 2005).

### I.6.2. Hétéro-infection

Lorsqu'un agent infectieux est transmis d'un patient à un autre, on parle d'infection xénogénique. Elle provoque ce qu'on appelle une infection croisée ou une infection hétérologue. La source de l'infection est rarement propagée par contact direct ou par voie aérienne. Les vecteurs les plus courants sont les mains du personnel soignant et/ou leurs outils de travail. On parle d'infection manuelle de l'équipement d'exploration ou d'allaitement pour la propagation ou l'infection. C'est le modèle de contamination majeure lors de nombreuses épidémies (SamouFasto, 2005).

### I.6.3. Xéno-infection

Ce sont les infections qui sévissent sous forme endémique ou épidémique population non hospitalisée. Les agents pathogènes infectieux sont importés dans les hôpitaux par les patients, les ambulanciers paramédicaux ou les visiteurs qui en sont atteints ou qui sont en période d'incubation. Ils se propagent par voie aérienne, par contact direct ou indirect, et se retrouvent dans les hôpitaux. Des victimes particulièrement réceptives et des conditions de transmission commodes, lorsque les maladies infectieuses sont le seul motif d'hospitalisation, des mesures d'isolement immédiates peuvent être prises. Mais dans certains cas, l'infection n'a rien à voir avec la cause d'hospitalisation (SamouFasto, 2005).

### I.6.4. Exo-infection

Cette infection est liée à des dysfonctionnements techniques (désinfection inefficace, filtre à air/eau stérile sont contaminée), matériels à usage paramédical ou à domicile, les personnes malades ; elles sont susceptibles d'être contaminées et peuvent donc entraîner une infection souvent répandu dans les hôpitaux ([SamouFasto, 2005](#)).

### **I.6.5. Patient réceptif**

Certaines pathologies entraînent une immunosuppression légère : les patients à risque sont : brûlés, patients alités avec escarres étendues, polytraumatisés et porteurs dispositifs invasifs (aides respiratoires, cathéters urinaires, cathéters divers), les personnes âgées, en particulier les bébés prématurés, ils sont ainsi exposés à infection à l'hôpital ([SamouFasto, 2005](#)).

### **I.7. Facteurs favorisant les infections nosocomiales**

Les facteurs favorisant les infections nosocomiales peuvent être résumées comme suit :

#### **I.7.1. Facteurs liés aux agents microbiens**

Pendant l'hospitalisation, les patients sont exposés à divers agents microbiens, le contact avec les microbes ne signifie pas nécessairement que les patients développeront une maladie cliniquement, car d'autres facteurs influencent la nature et la fréquence des infections nosocomiales. La probabilité qu'une exposition cause une maladie dépend en partie des caractéristiques du micro-organisme, notamment leur résistance aux médicaments anti-infectieux, leur virulence, la quantité de l'inoculum. Aujourd'hui, la plupart des infections nosocomiales sont causées par des micro-organismes sont fréquents dans la population générale, ou ils ne produisent pas de maladie ou sont plus léger que les patients hospitalisés ([Komedjina, 2019](#)).

#### **I.7.2. Facteurs liés aux patients**

Parmi les importants facteurs personnels qui entrent en jeu dans l'acquisition de l'infection figurent l'âge, l'état immunitaire, les maladies sous-jacentes et les interventions diagnostiques et thérapeutiques. Aux extrêmes de la vie, chez le nourrisson et la personne âgée, la résistance aux infections est amoindrie. Les patients atteints de maladies chroniques telles que tumeurs malignes, leucémie, diabète, insuffisance rénale ou syndrome d'immunodéficience acquise, sont plus vulnérables aux infections opportunistes. Celles-ci sont dues à des agents normalement inoffensifs,

comme ceux qui font partie de la flore bactérienne humaine normale, mais qui peuvent devenir pathogènes lorsque les défenses immunitaires sont affaiblies. Les médicaments immunosuppresseurs ou l'irradiation peuvent abaisser la résistance aux infections. Les lésions de la peau ou des muqueuses permettent aux micro-organismes d'échapper aux mécanismes naturels de défense. La malnutrition constitue également un risque (Komeljina, 2019).

### **I.7.3. Facteurs environnementaux**

Les établissements de santé constituent un environnement dans lequel se trouvent rassemblées des personnes infectées et des personnes chez lesquelles le risque d'infection est accru. Les patients atteints d'infections ou porteurs de micro-organismes pathogènes, lorsqu'ils sont hospitalisés, sont des sources potentielles d'infection pour les autres patients et pour le personnel. Ceux qui contractent une infection à l'hôpital constituent à leur tour une source d'infection. Les hôpitaux surpeuplés, les fréquents transferts de patients d'un service à l'autre et la concentration, dans un même secteur, de patients hautement vulnérables à l'infection tels que les nouveau-nés, les brûlés ou les patients en unités de soins intensifs, sont des facteurs qui contribuent tous au développement d'infections nosocomiales. Les germes présents dans la flore microbienne peuvent contaminer des objets, des dispositifs médicaux et des substances qui entrent ensuite en contact avec des sites anatomiques vulnérables. De plus, de nouvelles infections associées à des bactéries, par exemple des bactéries véhiculées par l'eau et/ou à des virus ou des parasites sont régulièrement identifiées (Komeljina, 2019).

### **I.8. Agents responsables des infections nosocomiales**

Les infections nosocomiales impliquent tous les types de sources d'infection, les origines bactériennes la plus courante, occasionnellement fongique, virale ou parasite (Assous *et al.*, 1999).

#### **I.8.1. Champignons et parasites**

De nombreux champignons comme *Candida albicans*, *Aspergillus*, *Cryptococcus neoformans*, *Cryptosporidium* et parasites comme *Giardia*, sont des agents pathogènes opportunistes des infections, causées par une antibiothérapie prolongée et une immunosuppression sévère (Komeljina, 2019).

#### **I.8.2. Virus**

De nombreux virus ont le potentiel de se propager dans les hôpitaux, en particulier ceux de l'hépatite B et C par transfusion sanguine, dialyse, injections et endoscopie. Les virus respiratoire syncytial, *Rotavirus* et Entérovirus sont transmis par voie orale. D'autres virus tels que le cytomégalo virus, VIH, Ebola, la grippe, le virus de l'herpès et le virus varicelle-zona sont également contagieux (Komedjina, 2019).

### I.8.3. Bactéries

#### I.8.3.1. Bactéries symbiotiques

Ces bactéries sont présentes dans la flore normale chez les sujets sains (Tableau.01). Elles jouent un rôle protecteur important, certaines bactéries symbiotiques peuvent causer des infections nosocomiales si le système de défense immunitaire de l'organisme hôte est affaibli. Par exemple : *Staphylococcus* provoque une infection du cathéter vasculaire, *Escherichia coli* est la cause la plus fréquente des infections des voies urinaires (Ducel et al., 2002).

#### I.8.3.2. Bactéries pathogènes

Les bactéries pathogènes ont une virulence élevée et provoquer une infection, quel que soit le statut immunitaire. Par exemple : les bactéries anaérobies à Gram positif tel que *Clostridium* provoquent la gangrène. Les bactéries à Gram positif tel que *Staphylococcus aureus* colonisent la peau et nez du personnel hospitalier et des patients, elles provoquent diverses infections pulmonaires, os, cœur et sang et deviennent souvent résistants aux antibiotiques. Aussi le Streptocoque  $\beta$ -hémolytique un agent pathogène important. Aussi les bactéries à Gram négatif tel que *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Serratiamarcescens* peut coloniser certaines parties de l'hôte, est causé une infection grave. Les micro-organismes à Gram négatif tels que *Pseudomonas* est souvent isolé dans l'eau et les zones humides. Ils peuvent coloniser le tube digestif des patients hospitalisés (Ducel et al., 2002).

**Tableau 1 :** Bactéries responsables des infection nosocomiales (Figarella et al., 2007).

---

Bactérie responsable	Localisation	Réservoir	Transmission	Fréquence
----------------------	--------------	-----------	--------------	-----------

---

<i>Staphylococcus aureus</i>	Plaies, peau, sang	Peau, nez	Mains, air ambiant, cathéters	10 %
<i>Staphylococcus coagulase</i>	cathéters, sang	Peau, nez	Mains, air ambiant, cathéters	02 %
<i>Entérocoques</i>	Urines, Plaies	intestin	Mains, sondes urinaires	09 %
<i>Escherichia coli</i>	Urines, sang	intestin	Mains, sondes urinaires	19 %
<i>Klebsiella</i>	Appareil respiratoire	intestin	Mains, liquides	08 %
<i>Entérobacter</i>	Plaies	intestin	Mains, liquides	04 %
<i>Proteus</i>	Urines	intestin	Mains, liquides	07 %
<i>Pseudomonas</i>	Urines, sang, plaies, appareil respiratoire	Milieux humids	Materielmedical, mains	09 %

## I.9.Prévention des infections nosocomiales

### I.9.1.Antiseptie

C'est l'ensemble des méthodes et moyens destinés à prévenir l'infection en détruisant ou en inhibant la croissance des micro-organismes sur les tissus vivants ou les objets inanimés en utilisant des procédés physiques ou chimiques. Les antiseptiques sont des substances chimiques permettant d'inhiber ou de tuer les microorganismes des tissus vivants. Les mycobactéries et les spores résistent à la plupart des antiseptiques. Les principaux antiseptiques sont : l'alcool éthylique, l'iode, le peroxyde d'oxygène (Dembele, 2020).

### I.9.2.Asepsie

L'asepsie est l'absence de tout germe microbien de tout élément susceptible de produire la putréfaction ou l'infection. Elle est aussi définie comme l'ensemble des moyens visant à empêcher la contamination d'objet, de substance, d'organisme ou de locaux. La réalisation de l'asepsie nécessite un travail d'équipe et comporte la décontamination, la désinfection et la stérilisation (Diakite, 2008).

### I.9.3.Choix de l'antibiotique

L'antibiotique sélectionné doit être actif sur les bactéries les plus fréquemment responsables d'infections du site opératoire. De manière générale, des antibiotiques bien tolérés et peu coûteux seront choisis. Lors de situations particulières ou d'allergie, une consultation d'inféctiologie pour le choix d'une prophylaxie antibiotique péri-opératoire individualisée est recommandée (Dembele, 2020).

### **I.10.Principes généraux de prévention pour les hôpitaux**

#### **I.10.1. Bâtiments**

Ils doivent être dans les normes par leurs surfaces, leurs aérations. Ils doivent être nettoyés matin et soir avec des désinfectants à la serpillière sans balayage préalable. Le sol de la salle d'opération est nettoyé après chaque intervention avec de l'eau de javel diluée, l'ensemble du bloc est lavé avec une solution désinfectante à la fin de chaque semaine. (Dembele, 2015).

#### **I.10.2. Personnel**

Il faut insister sur la formation et l'éducation du personnel socio-sanitaire dans le respect strict des règles d'hygiène et de fonctionnement des services. Il est important d'établir des mises à jour concernant les effets indésirables liés à l'hospitalisation. Les principes de l'hygiène des mains permettent de diminuer la flore bactérienne présente sur les mains (Dembele, 2015).

#### **I.10.3.Déchets**

A l'hôpital, les circuits propres et sales doivent être clairement individualisés et distincts. Tous les objets piquants et tranchants doivent être jetés dans des conteneurs spéciaux. Les déchets d'activité de soins à risque infectieux sont éliminés dans des récipients spéciaux et suivent une filière spécifique de ramassage et de transport visant à une incinération ou à un enfouissement. L'emballage, le ramassage, le transport et les modalités d'incinération font l'objet d'une réglementation très précise (SamouFasto, 2005).

# ***Chapitre II***

*Matériel et Méthodes*

Les manipulations ont été réalisées au niveau du laboratoire de microbiologie de l'université de Guelma. L'ensemble des milieux de cultures, réactifs, instrument et appareillages seront cités au fur et à mesure de leurs utilisations.

### II.1. Isolement de la flore bactérienne

Les prélèvements ont été faits par passage direct d'écouvillons stériles imbibés d'un bouillon nutritif sur les instruments d'une polyclinique (Wilaya d'Annaba). Les écouvillons sont étiquetés puis transportés au laboratoire de microbiologie de l'université. Pour étudier les bactéries, il est indispensable d'isoler et d'en faire une culture pure, nous avons fait un enrichissement à partir des écouvillons dans un bouillon nutritif, l'incubation a été faite à 37 °C pendant 24 heures. Cinq milieux de culture ont été utilisés pour l'isolement de la flore bactérienne (Larpent, 1997) :

- **Gélose nutritive** : C'est un milieu largement utilisé pour la culture des microorganismes peu exigeants, elle est recommandée dans de nombreuses méthodes standardisées d'analyses des aliments, des laitages, de l'eau et d'autres produits.

- **Gélose Cétrimide** : C'est un milieu largement utilisé pour l'isolement et l'identification présomptive de *Pseudomonas aeruginosa*. Le cétrimide est un ammonium quaternaire qui inhibe la croissance de la plupart des autres espèces bactériennes, l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* colore ce milieu en bleu-vert par production de pyocyanine.

- **Gélose Chapman** : c'est un milieu caractérisé par une forte concentration de chlorure de sodium, ce qui permet de sélectionner les microorganismes halophiles parmi lesquels figurent les *Staphylococcus*, mais aussi les *Micrococcus*, les *Enterococcus* et certains *Bacillus* et levures. Les souches de *Staphylococcus* forment des colonies entourées d'un halo jaune dû à l'utilisation du mannitol.

**Remarque 1:** L'objectif principal de cette étude était l'isolement et l'identification des germes responsables des infections nosocomiales et de déterminer les mesures préventives prises par l'équipe soignante. Malheureusement notre travail n'a pas été achevé à cause de l'émergence du Corona virus et la période de confinement entre Janvier et Février 2022. Nous n'avons pas pu isoler les souches bactériennes, elles ont été apportées sur gélose inclinée.

## II.2. Purification de la flore bactérienne

Après incubation nous avons effectué la purification, qui consiste à effectuer des repiquages successifs jusqu'à l'obtention de colonies pures bien distinctes et homogènes. La purification des souches sur milieu gélosé a été faite selon la méthode des stries ([Joffin et Leyral, 2006](#)).

## II.3. Identification de la flore bactérienne

Après incubation nous avons effectué l'identification des espèces bactérienne, les étapes de l'identification sont comme suit :

### II.3.1. Examen macroscopique

Pour les examens macroscopiques des bactéries, l'observation des colonies a été faite à l'œil nu ou à l'aide d'une loupe binoculaire, chaque espèce bactérienne développe une colonie de taille, de forme, de couleur et de consistance caractéristique ([Singleton, 1999](#)). L'aspect des colonies dépend du milieu utilisé, pour chaque colonie distincte nous avons noté les caractéristiques suivantes : la taille, l'aspect de la surface et la couleur ([Rouaiguia, 2014](#)).

### II.3.2. Examen microscopique

La coloration de Gram permet de déterminer deux grands groupes bactériens (Gram positif et Gram négatif), elle nous permet aussi de reconnaître la morphologie et le mode de regroupement de bactéries, les étapes de la méthode sont comme suivant ([Joffin et Leyral, 2006](#)).

- **Préparation du frottis bactérien** : Prélever la colonie bactérienne à identifier et l'étaler sur une goutte d'eau physiologique puis le fixer par simple passage sur la flamme du bec bensen.
- **Coloration au Violet de Gentiane**: Chaque frottis fixé est coloré pendant une minute au Violet de Gentiane puis laver à l'eau courante.
- **Mordançage** : Traiter durant une minute la lame par une solution de Lugol, puis laver à l'eau courante.
- **Décoloration** : Faire couler l'éthanol durant 10 seconds sur la lame puis laver immédiatement à l'eau courante. À ce stade les cellules à Gram négatives seront incolores, les cellules à Gram positives restent violettes.
- **Recoloration** : Faire traiter la lame durant 30 secondes à une courte coloration par la fuchsine, puis rincer et sécher la lame entre deux feuilles de papier buvard propres.

- **Lecture :** Examiner le frottis au microscope optique en ajoutant une goutte de l'huile à immersion (au Gx100). Les bactéries à Gram positif sont colorées en violet alors que les bactéries à Gram négatif sont colorées en rose.

### II.3.3. Recherche de l'oxydase

Ce test est à la base de l'identification des bactéries à Gram négatif, il permet de mettre en évidence une enzyme : la phénylène diamine oxydase des bactéries à partir de leur culture en milieu gélosé. Cette enzyme est capable d'oxyder un réactif : le N-diméthylparaphénylène diamine, les étapes sont comme suit ([LFNF, 2002](#)) :

#### ❖ Technique

- Déposer un disque pré-imprégné par le réactif le N-diméthylparaphénylène diamine (disque oxydase) sur une lame propre.
- Imbiber le disque d'une goutte d'eau distillée stérile.
- Déposé au-dessus une colonie à l'aide d'une pipette Pasteur.
- Étaler la colonie sur le disque.
- Attendre 3 à 5 secondes.

#### ❖ Lecture

- Si la colonie prend une teinte rose, violette, le germe possède une oxydase (Oxydase positif).
- Si la colonie reste incolore, le germe ne possède pas d'oxydase (Oxydase négatif).

### II.3. 4. Recherche de la catalase

Cette enzyme empêche en effet l'accumulation d' $H_2O_2$  et le dégrade en  $H_2O$  et  $O_2$ , ce test est à la base de l'identification des bactéries à Gram positif les étapes sont comme suit ([Rodier, 1996](#)) :

#### ❖ Technique

- Sur une lame propre et sèche déposer une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes.
- À l'aide d'une pipette Pasteur ajouter la souche bactérienne.

#### ❖ Lecture

- Dégagement immédiat de bulles gazeuses indique un test positif.
- Absence de dégagement de bulles gazeuses indique un test négatif.

### II.3.5. Identification biochimique par la galerie classique

#### II.3.5.1. Recherche du nitrate réductase

La nitrate réductase est une enzyme qui catalyse la réduction des nitrate en nitrites, les étapes de la méthode sont comme suit ([Delarras, 2000](#)):

##### ❖ Technique

- Inoculer le bouillon nitrate avec une suspension bactérienne.
- Incuber à l'étuve à 37 °C pendant 48 heures.
- La mise en évidence de l'apparition des nitrites est réalisée par l'addition de 3 gouttes d'acide parasulfanilique (NIT I), puis 3 gouttes d'alpha naphtylamine (NIT II).

##### ❖ Lecture

- Si le milieu prend une coloration rouge : Présence de nitrites, donc la bactérie possède un nitrate réductase.
- Si le milieu reste incolore, on ajoute alors, la poudre de zinc :
- Si la coloration est rouge, cela indique que la bactérie ne possédait pas cette enzyme.
- Absence de coloration, cela indique que les nitrates ont été transformés par la bactérie au-delà des nitrites, la bactérie possède cette enzyme et en plus de nitrite réductase.

#### II.3.5.2. Utilisation du citrate comme seule source de carbone

Le milieu Citrate de Simmons est un milieu solide en pente, ne contenant aucune autre source de carbone que le citrate, les autres constituants étant les ions minéraux indispensables, les étapes de la méthode sont comme suit ([JoffinetLeyral, 2006](#)):

##### ❖ Technique

- Ensemencée la pente du milieu Citrate de Simmons par des stries longitudinales.
- Incuber à l'étuve durant 24 heures à 37 °C.

##### ❖ Lecture

- Virage de milieu vers le bleu (alcalinisation de milieu), indique que la bactérie utilise le citrate comme seule source de carbone (Citrate +).
- Le milieu reste vert, indique que la bactérie n'est pas capable d'utiliser le citrate comme seule source de carbone (Citrate -).

#### II.3.5.3. Production de l'acétoïne

On étudie la formation de l'acétyl méthyl carbinol (A.M.C. ou acétoïne) soit à partir de deux molécules d'acide pyruvique, soit à partir du glucose, les étapes de la technique sont comme suit (**Delarras, 2003**) :

❖ **Technique**

- Inoculé le bouillon Clark et Lubs avec une suspension bactérienne.
- Incuber à l'étuve à 37 °C pendant 48 heures.

❖ **Lecture**

- Après incubation, ajouter 2 à 3 gouttes de VP I (alpha naphthol) et attendre 10 min puis ajouter 2 à 3 gouttes de VP II (une solution de soude).
- Virage du milieu vers le rouge indique la présence d'acétoïne, issu de la fermentation du glucose par la voie butylène glycolique avec production (VP +).
- Le milieu reste jaune indique l'absence d'acétoïne, donc il n'a pas de fermentation du glucose par la voie butylène glycolique (VP -).

#### II.3.5.4. Mise en évidence de la voie des fermentations des acides mixtes

Le milieu de Clark et Lubs permet de différencier les bactéries avec les réactions au rouge de méthyl et de Voges-Proskauer. Le rouge de méthyl différencie le processus de fermentation, il est jaune au-dessus d'un pH de 6,3 et rouge en dessous de 4,2. La production d'acétyl méthyl carbinol se révèle par l'apparition d'une coloration rouge en surface du milieu, les étapes de la technique sont comme suit (**JoffinetLeyral 2006**):

❖ **Technique**

- Inoculer le milieu Clark et Lubs.
- Incuber à l'étuve à 37 °C pendant 48 heures.

❖ **Lecture**

- Après incubation, ajouter 2 à 3 gouttes de rouge de méthyl.
- Virage du milieu vers le rouge, indique la fermentation du glucose par la voie des acides mixtes (RM +).
- Le milieu reste jaune, indique l'absence de la fermentation du glucose par la voie des acides mixtes (RM -).

#### II.3.5.5. Dégradation du mannitol

Le milieu Mannitol-mobilité est un milieu complexe utile pour l'identification des entérobactéries, il permet d'étudier en plus de la dégradation du mannitol la mobilité. Les étapes de la technique sont comme suit (JoffinetLeyral, 2006) :

❖ **Technique**

- Ensemencer le milieu mannitol-Mobilité par piqure centrale à l'aide d'un fil droit.
- Incuber à l'étuve à 37 °C pendant 24 heures.

❖ **Lecture**

- Apparition d'une couleur rouge, indique l'absence de la fermentation du mannitol.
- Apparition d'une couleur jaune, indique la fermentation du mannitol.
- Absence de diffusion en voile, indique que la bactérie est immobile.
- Diffusion et formation d'un voile autour de la piqure, indique que la bactérie est mobile.

#### II.3.5.6. Production de l'uréase

Le milieu urée-indole est un milieu synthétique complexe fournissant un ensemble de résultats utiles à l'identification des entérobactéries et autres bactéries, les étapes de la technique sont comme suit (JoffinetLeyral 2006) :

❖ **Technique**

- Inoculé le milieu urée-indole avec une suspension bactérienne.
- Incuber à l'étuve à 37 °C pendant 24 heures.

❖ **Lecture**

- Virage de la couleur vers le rose / rouge, traduit une alcalinisation du milieu du à l'hydrolyse de l'urée (Uréase +).
- Absence de virage, indique l'absence de l'hydrolyse de l'urée (Uréase -).

#### II.3.5.7. Production d'indole

Le milieu eau peptonée exempte d'indole est un milieu synthétique complexe utile à l'identification des entérobactéries et autres bactéries, il permet de déterminer la capacité d'un organisme à produire de l'indole à partir de la dégradation de l'acide aminé tryptophane. Les étapes de la technique sont comme suit (JoffinetLeyral 2006):

❖ **Technique**

- Inoculé le milieu eau peptonée exempte d'indole avec une suspension bactérienne.
  - Incuber à l'étuve à 37 °C pendant 24 heures.
  - Ajouter 0,5 ml (5 gouttes) de réactif de Kovác et agiter doucement
  - Examiner la couche supérieure de liquide après environ 1 min.
- ❖ **Lecture**
- Apparition d'un anneau rouge traduit la présence d'indole issu de la dégradation du tryptophane par la tryptophanase (Indole +).
  - Absence d'un anneau rouge traduit l'absence de production d'indole (Indole -).

#### II.3.5.8. Production du tryptophane désaminase (TDA)

La tryptophanase est un complexe multienzymatique permettant aux micro-organismes de produire de l'indole à partir du tryptophane, les étapes de la technique sont comme suit ([Joffin et Leyral, 2006](#)):

- ❖ **Technique**
- Faire une suspension bactérienne dans le milieu urée-indole.
  - Incuber à l'étuve à 37 °C pendant 24 heures.
- ❖ **Lecture**
- Après incubation, ajouter quelque goutte du réactif de chlorure de fer III, puis lire immédiatement.
  - Apparition d'un précipité brun, indique la présence d'acide indole pyruvique issu de la désamination du tryptophane (TDA+).
  - Absence de précipité brun, indique l'absence d'acide indole pyruvique issu de la désamination du tryptophane (TDA -).

#### II.3.5.9. Production de la $\beta$ -galactosidase

La recherche de la  $\beta$ -galactosidase est un des premiers tests enzymatiques réalisés en pratique courante, il est particulièrement important pour les entérobactéries à la mesure de la place du lactose dans l'étude de ces bactéries, les étapes de la technique sont comme suit ([Joffin et Leyral 2006](#)):

- ❖ **Technique**
- Faire une suspension dense dans de l'eau distillée stérile.
  - Déposer un disque d'ONPG.
  - Placer au bain d'eau à 37 °C durant 30 minutes.
- ❖ **Lecture**

- Coloration jaune traduit l'hydrolyse de l'ONPG, du à la présence de la  $\beta$ -galactosidase.
- Absence de coloration jaune, indique l'absence d'hydrolyse de l'ONPG.

#### **II.3.5.10. Fermentation des sucres avec ou sans gaz et production d'H<sub>2</sub>S**

Le milieu TSI est utilisée pour l'identification présomptive des entérobactéries basée sur la fermentation des sucres (glucose, lactose et saccharose), la production de gaz et d'H<sub>2</sub>S, les étapes de la technique sont comme suit ([Delarras, 2000](#)):

##### **❖ Techniques**

- Ensemencement de la pente du milieu TSI par stries et le culot par une piqure centrale.
- Incuber à l'étuve à 37 °C pendant 24 heures.

##### **❖ Lecture**

- Appariation d'une pente jaune, indique la fermentation du lactose et /ou du saccharose.
- Appariation d'un culot jaune, indique la fermentation du glucose.
- Appariation d'un noircissement, indique la production d'H<sub>2</sub>S.
- Appariation de bulles gazeuses, indique la production du gaz.

#### **II.3.5.11. Identification**

L'ensemble des résultats obtenus vont servir pour l'identification des bactéries à l'aide d'une matrice de calcul réalisé par J-Noël Joffin.

#### **II.3.6. Identification biochimique par la galerie miniaturisée API Staph**

La galerie API Staph comporte 20 microtubes contenant des substrats sous forme déshydraté, les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanées ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture se fait à l'aide de la table de lecture ([Annexes](#)). Le dosage a été réalisé selon le mode opératoire proposé par l'API dont les étapes sont comme suit :

##### **❖ Préparation de la galerie**

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

##### **❖ Préparation de l'inoculum**

- Faire une suspension bactérienne dans un tube d'eau distillée stérile, d'opacité légère avec une seule colonie prélevée sur un milieu gélosé.

❖ **Inoculation de la galerie**

- Remplir les tubes avec la suspension bactérienne.
- Créer une anaérobiose dans les tests : ADH et URE en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- Refermer la boîte d'incubation et la placer à 37 °C pendant 18 à 24 heures.

❖ **Lecture**

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés, sauf certaines sont révélées par l'addition de réactifs :

- **VP** : Ajouter les réactifs (VP I + VP II) puis attendre 10 min, une couleur rose rouge indique une réaction positive.
- **NO<sub>3</sub>** : Ajouter les réactifs (NIT I + NIT II) puis attendre 2 à 3 min, une coloration rouge indique une réaction positive (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>). Une réaction négative (coloration jaune) peut être due à la production d'azote, alors ajouter 2 à 3 mg de la poudre de zinc dans la cupule du GLU. Après 5 minutes, si la couleur resté jaune, cela indique une réaction positive (N<sub>2</sub>). Si la couleur est orange-rouge, la réaction est négative, les nitrates sont encore présents.
- **PAL** : Ajouter les réactifs (ZYM A + ZYM B) puis attendre 10 minutes, une coloration rouge indique une réaction positive.

**II.3.7. Lecture et interprétation des résultats**

La lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture ([Annexes](#)), Les tests sont regroupés en groupe de 3 et une valeur de 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. Additionner à l'intérieur de chaque groupe les nombres correspondants aux tests positifs. On obtient un nombre de 7 chiffres qui sert de code d'identification ([Guiraud, 2003](#)). Le code numérique obtenu permet d'identifier la souche étudié en se référant au logiciel d'identification [API web™](#).

**II.3.8. Conservation des souches bactériennes**

Toutes les souches identifiées ont été conservés par ensemencement en stries sur la gélose Chapman incliné ([Guiraud, 2005](#)).

# ***Chapitre III***

*Résultats et discussion*

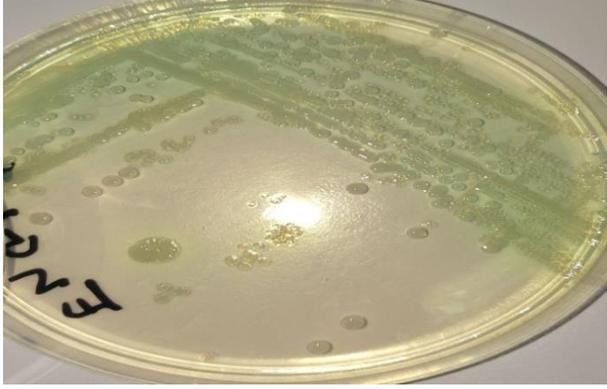
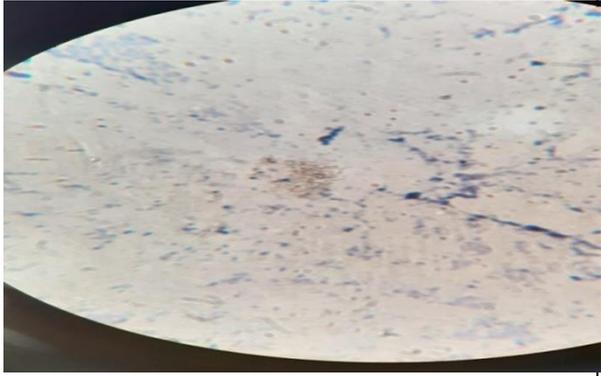
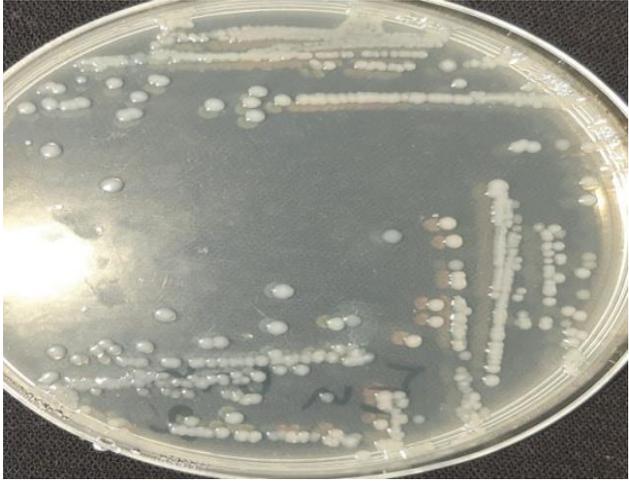
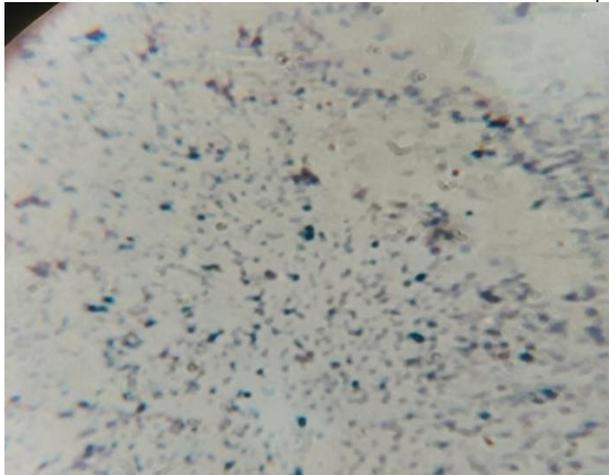
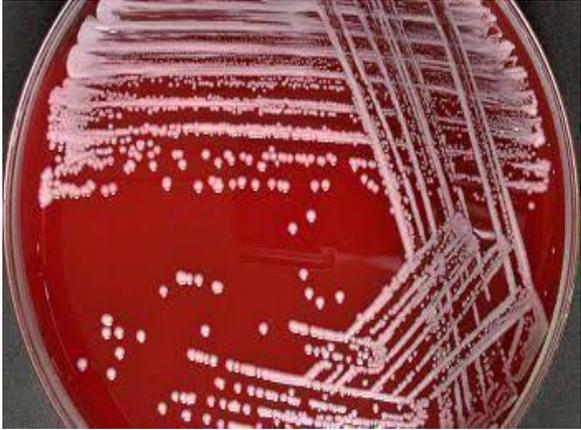
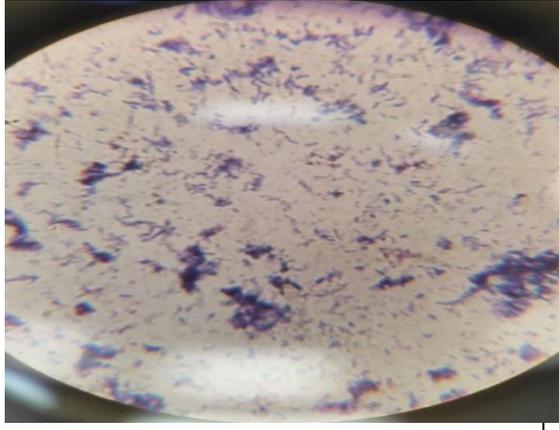
### III.1.Examens macroscopiques et microscopiques

Les aspects macroscopiques et microscopiques des colonies bactériennes qui ont été isolées et purifiées à partir des différents milieux de culture utilisés sont représentés dans le **tableau 02** et les photos présent dans la **figure 03**.

**Remarque :** Seule la gélose Chapman a indiqué une croissance, les autres milieux de culture n’ont indiqué aucune croissance bactérienne.

**Tableau 2 :** Aspect macroscopique et microscopique des colonies bactériennes isolées.

Géloses	Code	Observation	
		Macroscopique	Microscopique
Chapman	<b>S1</b>	Colonies crémeuses de couleur jaunâtre de taille moyenne, de forme arrondie.	Cocci à Gram positif
	<b>S2</b>	Colonies crémeuses de couleur jaunâtre de taille moyenne, de forme arrondie.	Cocci à Gram positif
	<b>S3</b>	Absence de colonies	/
	<b>M1</b>	Colonies crémeuses et lisses de petites tailles, de couleur jaunâtre légèrement bombées et de forme arrondie.	Cocci à Gram positif
	<b>M2</b>	Colonies crémeuses et lisses de petites tailles, de couleur jaunâtre légèrement bombées et de forme arrondie.	Cocci à Gram positif
	<b>M3</b>	Absence de colonies	
Nutritif	<b>EN1</b>	Colonies bombées de couleur blanchâtre et de taille moyenne.	Cocci à Gram positif
	<b>EN2</b>	Colonies bombées de couleur blanchâtre et de taille moyenne.	Cocci à Gram positif
	<b>EN3</b>	Absence de colonies.	/

Aspect macroscopique l'œil	Aspect microscopique Grossissement Gx100
	
<p>Souche bactérienne EN1</p>	<p>Souche bactérienne EN1</p>
	
<p>Souche bactérienne EN2</p>	<p>Souche bactérienne EN2</p>
	
<p>Souche bactérienne S1</p>	<p>Souche bactérienne S1</p>

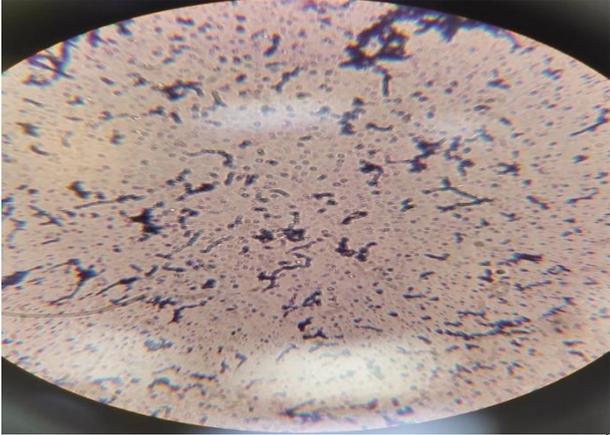
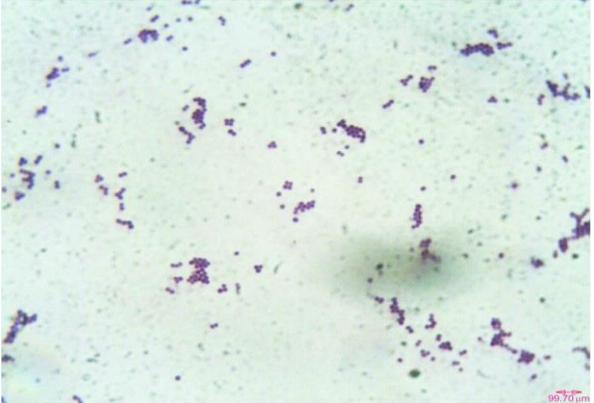
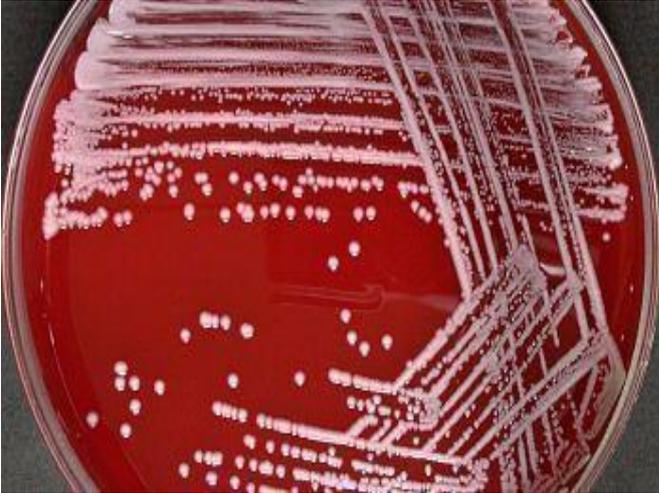
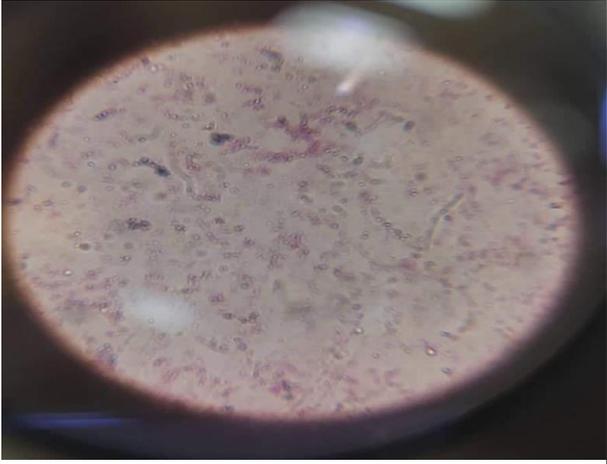
	
<p>Souche bactérienne S2</p>	<p>Souche bactérienne S2</p>
	
<p>Souche bactérienne M1</p>	<p>Souche bactérienne M1</p>
	
<p>Souche bactérienne M2</p>	<p>Souche bactérienne M2</p>

Figure03 :Aspect macroscopique et microscopique des colonies bactériennes isolées.

### III.2. Recherche de l'oxydase et la catalase

Les résultats des tests de la recherche de la catalase et de l'oxydase des souches isolées sont mentionnés dans le **tableau 03** et les photos présent dans la **figure 04**.

**Tableau 03:** Identification de l'oxydase et de la catalase des souches isolées.

Code	Oxydase	Catalase
M1	+	+
M2	+	+
S1	+	+
S2	+	+
EN1	+	+
EN2	+	+
(+): Résultat positif / (-): Résultat négatif		

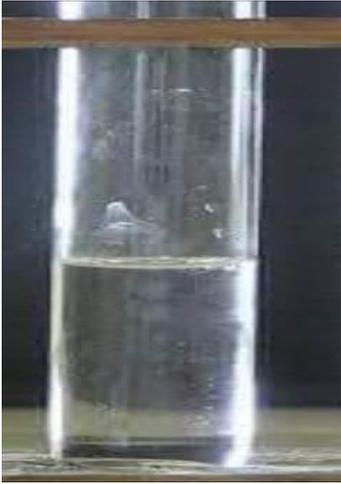
	Résultat positif	Résultat négatif
		
Catalase		

Figure 04 : Photos présent du teste l'oxydase et la catalase.

### III.3. Identification biochimique par la galerie classique

Les résultats de l'identification biochimique par la galerie classique des différentes espèces bactériennes sont représentés dans le [tableau 04](#) et les photos présent dans les [figures 05-10](#)



Figure 05: Identification biochimique de l'espèce *Aerococcus viridans* (EN1).



Figure06:Identification biochimique del'espèce *Staphylococcus xylosoy* (EN2).



Figure 07:Identification biochimique de l'espèce *Staphylococcus xylosoy*(S1).



Figure 08 :Identification biochimique de l'espèce *Staphylococcus hominis*(S2).



**Figure 09:** Identification biochimique de l'espèce *Staphylococcus xylosum* (M 2).



**Figure 10:** Identification biochimique de l'espèce *Kocuria varians / rosea* (M 1).

Tableau 04: Résultats des testes biochimique classique des souches isolées.

Code	TSI					Citrate de Simmons	Mannitol mobilité		Urée indole		Clark et Lubs		ONPG	Nitrate réductase	Nitrite réductase	Production indole	Identification
	H <sub>2</sub> S	Gaz	Glu	Sac	Lac		MAN	MOB	URE	TDA	VP	RM					
EN1	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	<i>Aerococcusviridans</i>
EN2	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	<i>Staphylococcus xylosus</i>
M1	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	<i>Kocuriavarians/ rosea</i>
M2	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	<i>Staphylococcus xylosus</i>
S1	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	<i>Staphylococcus xylosus</i>
S2	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	<i>Staphylococcus hominis</i>

### III.4. Identification biochimique par la galerie classique

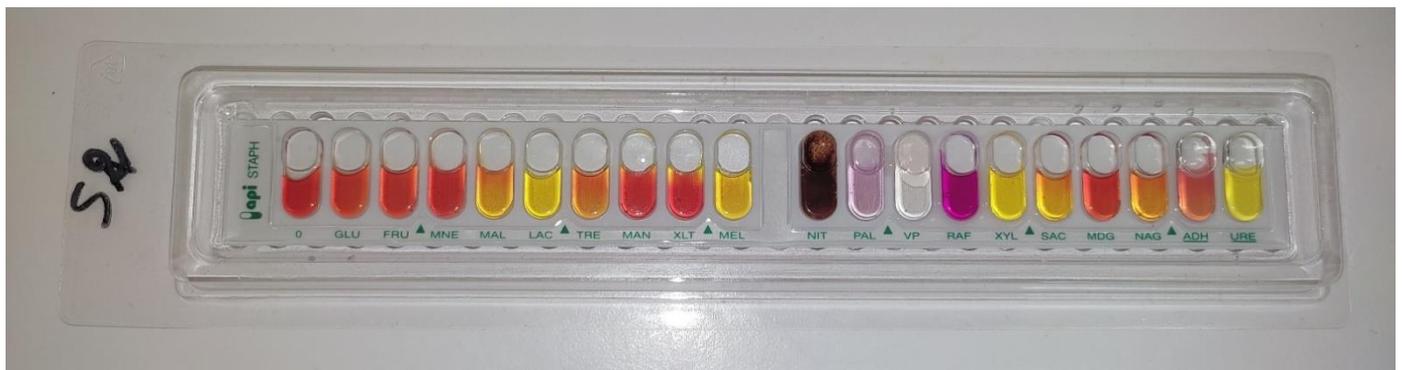
Les résultats de l'identification biochimique par les API sont représentés dans les [tableaux 05](#) et les photos présent dans les [figures 11-15](#).



**Figure 11:** Profil biochimique de l'espèce *Staphylococcus xylosus*(EN2).



**Figure 12:** Profil biochimique de l'espèce *Staphylococcus xylosus*(S1).



**Figure 13:** Profil biochimique de l'espèce *Staphylococcus hominis*(S2).

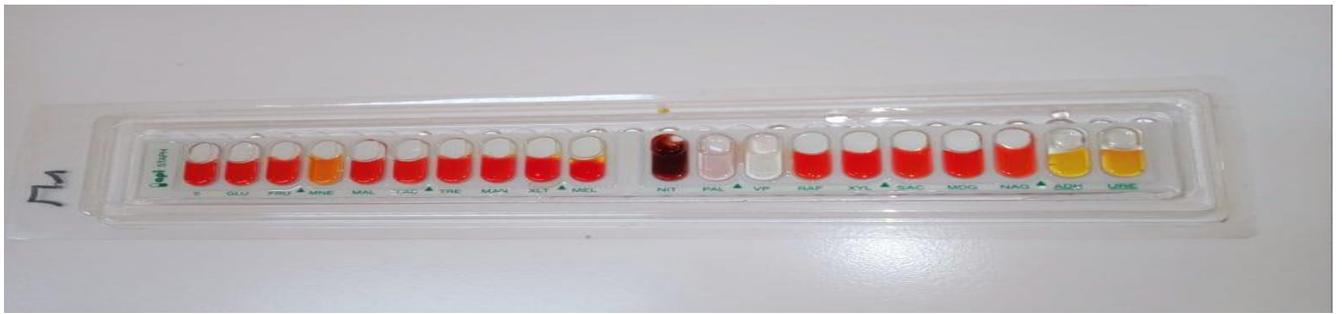


Figure 14: Profil biochimique de l'espèce *Kocuria varians/rosea* (M1).



Figure 15: Profil biochimique de l'espèce *Staphylococcus xylosus* (M2).

Tableau 05: Résultat de l'identification biochimique des souches isolées par l'API stap.

Code	O	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE	MOB	Identification
EN1	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	<i>Aerococcus viridans</i>
EN2	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	<i>Staphylococcus xylosus</i>
S1	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	<i>Staphylococcus xylosus</i>
S2	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	<i>Staphylococcus hominis</i>
M1	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	<i>Kocuriavarians/ rosea</i>
M2	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	<i>Staphylococcus xylosus</i>

**Discussion**

Sur l'ensemble des prélèvements réalisés, seul la gélose nutritive et le milieu Chapman ont indiqué une croissance bactérienne. Nous avons retrouvé des bactéries à Gram positive. Les staphylocoques sont de plus en plus reconnus comme des agents pathogènes importants, porteurs de multiples gènes de résistance aux antibiotiques et provoquant des infections nosocomiales chez les patients humains immunodéprimés. La principale source d'infection bactérienne ne peut être déterminée, mais puisque ils sont naturellement présent dans l'environnement et peuple la peau et les muqueuses de l'Homme et des animaux, la transmission environnementale et/ou l'infection ascendante sont considérées comme les plus probables (Rissi *et al.*, 2015).

Le pourcentage de Staphylocoque en Algérie est très important, il est de 36 %. Le personnel hospitalier médical et paramédical présente un taux plus important que la population générale. Certains patients ont un risque plus élevé de colonisation à staphylocoque : diabétiques insulino-dépendants, dialysés chroniques, toxicomanes, patients porteurs du sida (Chemsî *et al.*, 2014). Les infections à Staphylocoque en Algérie et en France sont prédominantes et similaires avec des pourcentages respectivement 15,55 % et 16,91 %. Ces pourcentages se rapprochent de ceux retrouvés dans une étude en Tunisie qui ont indiqués que les cocci à Gram positive dominés étaient *Staphylococcus aureus* (13,6 %) (Jaballah *et al.*, 2006). Le séjour en unité de soins intensifs et le non-respect des règles élémentaires d'asepsie et d'hygiène sont des facteurs de risque supplémentaires (Asgeirsson *et al.*, 2017).

Les infections nosocomiales causées par les Staphylocoques ont considérablement diminué au cours des 10 dernières années. Cette réduction a été observée dans les bactériémies, les infections des voies respiratoires et les infections du site opératoire. Bien que de nombreuses données aient été recueillies sur la prévalence des Staphylocoques dans les pays développés, ces statistiques sont particulièrement rares dans les pays en développement. L'Organisation mondiale de la santé a estimé la prévalence des Staphylocoques chez les patients hospitalisés dans les pays développés à environ 7,6 % (Kramer *et al.*, 2019).

***Conclusion  
et perspectives***

### Conclusion et perspectives

A cours des résultats obtenus, il ressort que :

- Les souches isolées et identifiées sont des bactéries à Gram positives.
- Aucune bactérie à Gram négative n'a pu être isolée.
- Deux espèces du genre *Staphylococcus* ont été isolées : *Staphylococcus xylosus* et *Staphylococcus hominis*.
- Aussi, nous avons isolé *Aerococcus viridans* et *Kocuriavarians/rosea*.

En perspectives, il serait judicieux de :

- Déterminer les mesures préventives pris par l'équipe soignante.
- Recherche de bactéries résistantes aux antibiotiques.
- Il est impératif de suivre des stratégies efficaces pour combattre et prévenir ce fléau et de respecter toutes les règles d'hygiène, pensez donc à la formation continue des équipes médicales et à la sensibilisation des patients et des visiteurs.

*Références  
Bibliographiques*

---

## Références Bibliographiques

- Amazian, K., Rossello, J., Castello, A., Sekkat, S., Terzaki, S., Dhidah, L., Abdelmoumene, T., Fabry, J., 2010.** Prévalence des infections nosocomiales dans 27 hôpitaux de la région méditerranéenne. La revue de la sante de la méditerranée orientale. 10 : 1070-1078.
- Aourache, S., 2016.**Infections nosocomiales a *Pseudomonas aeruginosa* au service de réanimation A1 a propres 30 cas. Thèse de doctorat en médecine. Université Sidi Mohamed Ben Abdallah. Maroc . p.91.
- Asgeirsson, H., Thalme A., Weiland, O., 2017.***Staphylococcus aureus*bacteraemia and endocarditis—epidemiology and outcome. A review *Infectious Diseases*, 50 : 175-192.
- Assous, V., Basse, L., Bourhy, H., Dhote, R., Paugam, A., 1999.** Microbiologie et Pathologie infectieuse. Edition De boechuniversite. Paris. p.993.
- Béraud, J., 2014.**Le technique d'analyses biomédicales. Edition Lavoisier. Paris. p.2200
- Brucker, G., Bouvet, E., 1998.** Infection nosocomiale et environnement hospitalier. Edition Médecine, Science Flammarion. Paris. p.217. Disponible sur : <https://www.upload4ever.com>.
- Chemsi, H., Moutaouakkil, Y., Chadli, M., Sekhsokh, Y., 2014.** Dépistage du portage nasal du *Staphylococcus aureus* lors de l'admission des patients à l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V. Journal Marocain des Sciences Médicales. 19 : 20-25.
- Delarras, C., 2000.** Micobiologie de l'environnement avec législation : travaux pratique. Gaëtan moriu éditeur. Paris. P : 231
- Delarras, C., 2014.** Pratique en microbiologie du laboratoire. Edition Lavoisier. Paris. p.772.
- Dembele , J ., 2015 .** Infections nosocomiales dans les services des maladies infectieuses du chu du point G. Thèse de doctorat, option : Médecine. Université des Sciences, des techniques et des technologies de Bamako. Mali. p.89. Disponible sur : <https://bibliosante.ml>.
- Dembele, G., 2020.**Infection du site opératoire dans le service de traumatologie a l'hôpital de Sikasso .thèse de doctorat, option : Médecine. Université Bamako. Mali. p.93.Disponible sur :<https://bibliosante.ml>.

- Diakite, S., 2008.** Utilisation des solutions d'hypochlorite de Sodium. Thèse de doctorat, option : Médecine. Université de Bamako. Mali. p.95. Disponible sur : <http://www.keneya.net>.
- Ducel, G.,** prévention des infections nosocomiales : guide pratique. Organisation mondiale de sante. France. p .71. Disponible sur : [www.apps.who.int](http://www.apps.who.int). Consulté le : 31/01/2022.
- Figurella , J., Leyral, G., Terret, M., 2007.** Microbiologie générale et appliquée. Edition Jacques Lanore. France. p.285
- Gadou, V., 2019.** Epidémiologie moléculaire des entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases a spectre élargi résistantes aux aminosides et aux fluoroquinolones dans le district d'Abidjan Côte d'ivoire. Thèse de doctorat, option : Biologie fonctionnelle et Moléculaire. Université Felix Houphouet et Boigny. Côte d'ivoire. p.218. Disponible sur : <https://tel.archives-ouvertes.fr>.
- Guiraud, J., 2003.** Microbiologie alimentaire. Edition RIA Dunod. France. P: 651.
- Haddadi, A., 2013.** Construction d'un score prédictif du risque nosocomial pour des patients de réanimation. Thèse de doctorat, option : Epidémiologie, économie de la sante et prévention. Université du droit et la sante, Lille 2. p.122. Disponible sur : [www.tel.archives-ouvertes.fr](http://www.tel.archives-ouvertes.fr).
- Jaballah, N.B., Bouziri, A., Kchaou ,W., Hamdi, A., Mnif, K., Belhadj, S., Kazdaghi, K., 2006.** Epidémiologie des infections bactériennes nosocomiales dans une unité de réanimation néonatale et pédiatrique tunisienne. Médecine et maladies infectieuses. 36 : 379-385.
- Joffin, J., Leyral, G., 2003.** Microbiologie Technique 1 : dictionnaire des techniques. 3<sup>ème</sup> éditions ; France. P : 331.
- JounSpicer, W., 2002.** Pratique clinique en bactériologie, et mycologie et parasitologie, pp 190-191. Edition Lavoisier. France. p.220
- Kayser, F., Böttger, E., Haller, O., Zinnernagel, R., Eckert, J., Deplazes, P., 2008.** Manuel de poche de microbiologie médical. Edition : Médecine- Science Flammarion. Paris. p.764.
- Kernane, W., Walter, N., 2013.** Obesity: a stubbornly obvious for stroke prevention. Stroke. 44:278-286.
- Koumedjina, K., 2019.** Evaluation de la connaissance et l'application des mesures de prévention des infections nosocomiales dans le service de maladies infectieuses du C.H.U de point g. Thèse de pharmacie. Université des sciences,

- des techniques et de technologies de Bamako, Mali. p.112. Disponible sur :<https://www.bibliosante.ml/discover>.
- Kramer, T.S., Schröder, C.,Behnke, M.,Aghdassi, S.J.,Geffers, C.,Gastmeier, P.,Remschmidt,C., 2019.**Decrease of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* in nosocomial infections in Germany—a prospective analysis over 10 years. *Journal of Infection*. 78 :215-2019.
- Larpent, J., 1997.** Microbiologie des eaux d'alimentaire : Technique de labo. Edition Tec et Doc. Paris. p.1073.
- LFNF, 2002.** Light Foot Nigel Francis. Analyses microbiologiques des aliments et de l'eau. Directives pour l'assurance qualité. Paris. p.186.
- Monnet, T., 2011.** Les infections nosocomiales l'importance d'un suivi épidémiologique et de l'identification rapide des bactéries en cause. Thèse de doctorat, option : Médecine. p.93. Disponible sur :<https://dumas.ccsd.cnrs.fr>.
- Nauciel, C., Vilde, J., 2005.** Bactériologie médical. Edition : Masson. Paris. p.272.
- Oumar Cissé, M., 2014.** Evaluation des mesures de prévention des infections nosocomiales au chu de Kati.Thèse de doctorat, option : Médecine. Université Bamako. Mali. p.124.Disponible sur :<https://bibliosante.ml>.
- Rissi, D.R., Elsmo, E.J., Sanchez, S., 2015.**Cystitis and peritonitiscaused by *Staphylococcus xylosus* infection in a calf. *Brazilian Journal of Veterinary*. 8 : 99-101.
- Rodier, J., 1996.** L'analyse de l'eau ; eaux naturelles, Eaux Résiduelles, Eaux de Mer. sième édition. Paris. p.1383.
- Rouaiguia, M., 2014.** Contribution à l'étude écologique de l'Hirondelle de fenêtre *Delichonurbica* dans le Nord-Est de l'Algérie. Thèse de Doctorat, option : Santé, Eau et Environnement. Université de Guelma. Algérie. p.239.
- Samou, F., 2005.** Les infections nosocomiales dans le service de chirurgie de l'hôpital.Thèse de doctorat, option :Médecine.Université du Mali. p.106. Disponible sur : <http://www.kenya.net>.
- Sanogo, O., 2007.** Les infections nosocomiales en milieu de réanimation au chuGabriel Toure. Thèse de doctorat,option :Médecine. Université du Mali. p.100. Disponible sur : <http://www.kenya.net>.
- Singleton, P., 1999.** Bactériologie 2<sup>ième</sup> cycle. 4<sup>ième</sup> édition. Paris. p.415.

**Sumba, H., 2012.** Cout de l'infection nosocomiale (A propos de 50 cas). Thèse de doctorat, option : Médecine. Université Sidi Mohammed Ben Abdallah. Maroc. p.105. Disponible sur :<https://cdim.fmp-usmba.ac.ma>.

**Thierry, L., 2016.** Surveillance des infections nosocomiales en réanimation : intérêt d'une approche multimodale clinico-biologique et étude d'impact. Thèse de doctorat, option : Vie et Sante, Aspects Moléculaire et Cellulaire de la Biologie. Université du Strasbourg. France. p.155. Disponible sur :<https://publication-theses.unistra.fr>.

**Zeroual, Z., 2012.** Profilépidémiologique et bactériologiques des infections nosocomiales. Thèse de doctorat, option : Médecine. Université Mohammed V. Maroc. p.171. Disponible sur : <http://ao.um5.ac.ma>.

**Sites :**

[1] :<https://www.techno-science.net>. Consulté le : 29/01/2022.

[2] :<https://www.inspq.qc.ca>. Consulté le : 20/02/2022.

[3] :<https://www.inserm.fr>. Consulté le : 20/02/2022.

# *Annexes*

## Annexes

## Milieux utilisés

Milieux	Composition
<b>GN</b>	Extrait de viande .....1,0 g
	Extrait de levure.....2,5 g
	Peptone.....5 g
	Chlorure de sodium.....5 g
	Agar-Agar.....15 g
	Eau distillée.....1000 ml
	pH=7,0
<b>Chapman</b>	Peptone trypsique de caséine.....10 g
	Extrait de viande.....1 g
	Chlorure de sodium.....75 g
	Mannitol.....10 g
	Rouge de phénol.....0,025 g
	Agar Agar.....15 g
	Eau distillée.....1000 ml
pH=7,5	
<b>TSI</b>	Extrait de l'œuf .....3 g
	Agar.....12 g
	Extrait de levure.....3 g
	Peptone.....20 g
	Lactose.....10 g
	Saccharose.....10 g
	NaCl.....5 g
	Glucose.....1 g
	Citrate ferrique.....3 g
	Thiosulfate de sodium.....3 g
	Rouge de phénol.....0,025 g
Eau distillée.....1000 ml	

	pH = 7,4	
	Chlore de sodium.....	5g
	Sulfate de magnésium.....	0,2g
	phosphate d'ammonium POH.....	1g
<b>Citrate de Simmons</b>	Phosphate di potassique.....	2g
	Citrate trisodique.....	2g
	Solution de bleu bromothymol 1%.....	8g
	Agar Agar.....	15g
	Eau distillée.....	1000ml
	pH = 7	
	Peptone pancréatique de viande.....	20 g
	Agar Agar.....	4 g
	Mannitol.....	2 g
<b>Mannitol-mobilité</b>	Nitrate de potassium.....	1 g
	Rouge de phénol solution à 1%.....	4 g
	Eau distillée.....	1000 ml
	pH = 7,2	
	Peptone trypsique de caséin.....	5 g
	Phosphate di potassique.....	5 g
<b>Clark et Lubs</b>	Glucose.....	5 g
	Eau distillée.....	1000 ml
	pH=7,5	
	L-tryptophane.....	3 g
	Phosphate monopotassique.....	1 g
	Phosphate de sodium.....	1 g
<b>Urée-indole</b>	Chlorure de sodium.....	5 g
	Urée.....	20 g
	Solution rouge de phénol à 1%.....	2,5 ml
	Alcool à 95°.....	10 ml
	Eau distillée.....	1000 ml

	pH = 6,7	
	Peptone exempte d'indole .....	10 g
<b>Eau peptonée exempte d'indole</b>	Chlorure de sodium .....	0,5 g
	Eau distillée .....	1000 ml
	pH=7,2	
	Peptone.....	20,0 g
	Glycérol.....	10,0 g
	Sulfate de potassium.....	1,4 g
<b>King A</b>	Chlorure de magnésium.....	1,4 g
	Agar-Agar.....	12,0 g
	Eau distillée .....	1000 ml
	pH=7,2	
	Peptone.....	20 g
	Glycérol.....	10,0 g
	Hydrogénophosphateheptahydraté.....	1,5 g
<b>King B</b>	Sulfate de magnésium héptahydraté.....	1,5 g
	Agar-Agar.....	12,0 g
	Eau distillée .....	1000 ml
	pH=7,2	

Table de lecture de la galerie miniaturisée API Staph.

Testes	Substrats	Caractère recherché	Résultats	
			Negative	positif
<b>O</b>	Aucun	Témoinnégatif	Rouge	-
<b>GLU</b>	D-glucose	Témoin positif	Rouge	Jaune
<b>FRE</b>	D-fructose	Acidification à partir du carbohydate		
<b>MNE</b>	D-mannose			
<b>MAL</b>	D-maltose			
<b>LAC</b>	D-lactose (origine bovine)			
<b>TRE</b>	D-tréhalose			
<b>MAN</b>	D-mannitol			
<b>XLT</b>	Xylitol			
<b>MEL</b>	D-mélibiose			
<b>NIT</b>	Nitrate de potassium	Reduction des nitrates en nitrite	<b>NIT 1 + NIT 2 / 10 min</b>	
			incolore-rose pâle	Rouge
<b>PAL</b>	B-naphtyl phosphate	Phosphatase alcaline	<b>ZYM A + ZYM B / 10 min</b>	
			Jaune	Violet
<b>VP</b>	sodium pyruvate	Production d'acétyl méthyl-carbinol (VogesProskauer)	<b>VP 1 + VP 2 / 10 min</b>	
			incolore-rose pâle	violet-rose
<b>RAF</b>	D-raffinose	Acidification à partir du carbohydate	Rouge	Jaune
<b>XYL</b>	D-xylose			
<b>SAC</b>	D-saccharose			
<b>MDG</b>	méthyl- $\alpha$ -D glucopyranoside			
<b>NAG</b>	N-acétyl-glucosamine			
<b>ADH</b>	L-arginine	Arginine dihydrolase	Orange-rouge	
<b>URE</b>	Urée	Urease	Rouge-violet	