

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET
DE L'UNIVERS
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité/Option : biologie moléculaire cellulaire et biologie moléculaire des procaryotes

Thème : Isolement des bactéries responsables de l'infection nosocomiale à partir un milieu hospitalier

Présenté par :

Kelaiaia Hadjer

Zoufoul Aicha

Devant le jury composé de :

Président (e) : Mme Khallel Messaouda M.A.A Université de Guelma

Examineur : Mme bedoui Soraya M.A.A Université de Guelma

Encadreur : Mme abdaoui Wissem M.A.A Université de Guelma

Juin 2014

Remerciement

Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer nos remerciement et notre profonde gratitude, avant tous à dieu le tout puissant qui nous a donné le courage et la force pour mener ce modeste travail jusqu'au bout.

Nos sincères remerciements et notre respect vont à notre encadreur Mme Abdaoui Wissem qui nous a donné l'opportunité de réaliser ce travail, nous la remercions de tous cœur pour la patience et la confiance quelle nous a toujours accordé durant ces mois de travail nous la remercions également pour sa disponibilité sans fail, ces précieux conseils scientifiques et ces encouragements qui nous ont indiscutablement permis d'évoluer.

Nous tenons à adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui ont accepté de juger ce travail. Nous remercions le président de jury Mme khallel et l'examinatrice Mme Bediouï.

Nos remerciements vont également à tous les professeurs et les enseignants de la faculté qui nous ont beaucoup encouragé et soutenu depuis notre premier cycle d'étude jusqu'à à la fin de l'année universitaire

Nous sincères gratitude vont également à tous nos collègues et amis(es) de la promotion 2013/2014.

A tous ce qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

DEDICACE

Je dédie ce mémoire à ma mère ma source d'énergie et mon père, qui ont tant veillé sur mon parcours éducatif de ma première année primaire jusqu'à maintenant.

A mon frère Raouf et sa femme Sihem, et mon frère Housseem, Alaedin et Aarbi.

A mes sœurs Chaïma et Choubaila

Et mon mari Amar et sa famille

Et à toute ma famille surtout mes tantes Monira et Kamila et Bariza

Et à ma grande mère

A mes amies : Sousouet Nasima. et mon binôme Aïcha

Et à tous ceux qui m'ont aidé

A ma promotion et tous ce qui connaisse Hadjer.

DEDICACE

Je dédie ce mémoire à ma mère ma source d'énergie et mon père, qui ont tant veillé sur mon parcours éducatif de ma première année primaire jusqu'à maintenant.

A mon frère BOUDJEMA.

A mes sœurs IMANE, SOULAF, LOUBNA

Et mon mari ABD EL GHANI et sa famille

*Et à toute ma famille surtout mes tantes warda, najima,
soussou*

Et à ma grande mère

A mes amies : FATIHA, KARIMA, zouzou

Et à tous ceux qui m'ont aidé

A ma promotion et tous ce qui connaisse Aïcha.

Sommaire

Remerciement	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction	- 1 -

I. Parti bibliographique

Chapitre I-Les infections nosocomiales	- 2 -
1-Définition	- 2 -
2- Les différents types d'infections nosocomiales	- 3 -
3- Epidémiologie	- 3 -
4-chaîne d'infection	- 4 -
4-1-réservoirs des germes	- 4 -
4-2- modes de contamination	- 6 -
5-les principaux facteurs de risques des infections nosocomiales	- 9 -
5-1- L'environnement	- 9 -
5-2- L'acte de soins	- 9 -
5-3-Le patient lui-même.....	-8-
6-Les types d'infection nosocomiaux	- 11 -
6-1- Les Infections urinaires	- 11 -
6-2-Infection de site opératoire (ISO)	- 11 -
6-3- Infections des voies respiratoires et pneumopathie	- 11 -
6-4- Les infections sur cathéter	- 12 -
6-5-Infections sur KT vasculaire.....	- 12 -
6-6-Bactériémies / septicémies	- 13 -
6- 7 -Autres infections	- 13 -
Chapitre II-les agents responsables d'infections nosocomiales	- 14 -
1- Bactéries	- 14 -
1-1-bactéries pathogènes	- 14 -

1-2 -Les bactéries opportunistes	- 15 -
1-3 -Bactéries à Gram négatif	- 15 -
1-4 -Bactéries à Gram positif	- 17 -
1-5- Les bactéries multi résistantes (BMR)	- 19 -
1-5-1-Définition	- 19 -
1-5-2-Les principaux BMR	- 19 -
1-5-3-Mode de transmission des BMR	- 20 -
2- Les virus	- 21 -
3- Les champignons	- 21 -
4- Les parasites	- 21 -
Chapitre III-La prévention des infections nosocomiales	- 23 -
1-Surveillance des infections nosocomiales	- 23 -
2-les moyens de base pour la prévention des infections nosocomiales.....	- 24 -

II. Partie pratique

chapitre I: matériel et méthodes

1-Cadre d'étude	- 27 -
2-Prélèvement et enrichissement	- 27 -
2-1-Prélèvement à partir des surfaces	- 27 -
2-2-Prelevement à partir de l'atmosphère hospitalière	- 27 -
3 -Enrichissement.....	- 28 -
4- Isolement	- 28 -
5-Recherche et identification des germes	- 31 -
6- Méthode d'identification	- 32 -
6-1- Identification macroscopique	- 32 -
6-2- Identification microscopique	- 32 -
6-3- Etudes des caractères biochimiques	- 34 -
6-4- Identification des Pseudomonas	- 35 -
6-5- Identification des Staphylocoques	- 37 -
7-Antibiogramme	- 38 -
7-1- Intérêt de l'examen.....	- 38 -
7-2 - Principe général	- 38 -
7-3- Milieu pour antibiogramme	- 38 -
7-4- Ensemencement	- 38 -

7-5- Application des disques d'antibiotiques	- 39 -
7-6- Conditions d'incubation	- 39 -
7-7- Lecture	- 39 -

Chapitre II: Résultats et Discussion

1-Résultats de l'enrichissement	- 40 -
2-Aspect macroscopique des colonies après l'isolement	- 40 -
3-Examen microscopique	- 43 -
4-Pour les Pseudomonas	- 45 -
5-Antibiogramme des germes isolés	- 45 -
Discussion	- 46 -
Conclusion.....	- 47 -

Référence Bibliographique

Annexe

Résumé

Liste des abréviations :

AES : Accidente avec exposition au sang.

B8 :Bacitracine.

BMR: bactéries multi résistantes

CLIN : Comité de lutte contre les Infections Nosocomiales.

EBLSE : Entérobactéries productrices de β -lactames à spectre étendu

E.coli : Escherichia coli.

ERV : Entérocoque résistant à la vancomycine.

FC10 :Acide fusidique.

GN : Gélose nutritive

GC : Gélose Chapman

GMC : Gélose Mac Conkey.

GMH : Gélose Mueller Hinton.

Gram(-): Gram négatif.

Gram(+): Gram positifs.

IMP10 :Imipénème.

IN : Infection Nosocomiale.

InVS : institut de veille sanitaire.

ISO : Infection de site opératoire.

Mg : Milligramme.

Min : minute.

NIT 300 :Nitrofurantoine.

OMS :Organisation Mondiale de la Santé.

pH : potentiel hydrogène.

T175 :Ticarcilline.

T : température.

TSI : Tri-sugar-iron.UV : Ultraviolet

VHB : virus de l'hépatite B

VHC : virus de l'hépatite C

VRS : Virus respiratoire syncitial

Liste des tableaux

Nombre	Titre des tableaux	Page
N°01	Mode de transmission des microbes et règles d'hygiène hospitalière	5
N°02	La contamination est la souillure par des germes pathogènes	6
N°03	Les facteurs peuvent augmenter les risques de contracter une infection nosocomiale .	11
N°04	numéro des sites et les services des prélèvements effectués	28
N°05	Le but et les méthodes d'examen microscopiques.	33
N° 6	Les caractéristiques de la galerie biochimique classique	34
N°07	Les caractères différentiels des Entérobactéries	35
N°8	Résultats de test Staphylocoagulase	37
N°9	résultats de l'isolement des différents prélèvements effectués	40
N°10	Résultat de l'examen microscopique à l'état frais et après coloration	43
N°11	identification de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	45
N°12	résultat de l'antibiogramme	45

Liste des figures

Nombre	Titre de la figure	Page
N°01	répartition d'IN selon les types d'infection.	4
N°02	chaîne d'infection	8
N°03	Schéma représentant les sites et les modes de prélèvements	30
N°04	Schéma explicative du Protocol de travail	31
N°05	lecture des milieux sélectifs de Pseudomonas après l'incubation	36 40
N°6	résultat de l'enrichissement	42
N°7	culture sur Gélose à partir de l'échantillon(1)	42
N°8	culture sur Mac Conkey à partir de l'échantillon(3)	42
N°9	culture sur Chapman à partir de l'échantillon(8)	42
N°10	Culture sur Chapman à partir de l'échantillon(4)	42
N°11	Culture sur Mac Conkey à partir de l'échantillon(3)	42
N°12	Galerie biochimique classique pour Staphylococcus epidermidis à partir de l'échantillon (3)	43
N°13	Galerie biochimique classique pour E.colie à partir de l'échantillon(5)	44
N°14	Galerie biochimique classique pour Proteus vulgaris à partir de l'échantillon (4)	44

Introduction

Introduction :

N'importe quel malade, quelque soit son statut immunitaire peut être infecté dans le milieu hospitalier, même si le risque d'infection varie d'un établissement à l'autre, mais il reste toujours possible et effroyable.

Une infection nosocomiale (IN) est un «accident médical» encore appelé «évènement indésirable» associé à la pratique des soins de santé. Ce n'est jamais une complication de la maladie à l'origine des soins (Garner et al., 1988).

Par leurs conséquences humaines, sociales et économiques, les infections nosocomiales sont devenues un problème de santé majeur dans le monde entier et une priorité de santé publique pour tous les systèmes de santé. Non seulement l'infection nosocomiale font chaque année des centaines de millions de victimes dans le monde (OMS), mais elles ont aussi des conséquences souvent tragiques pour les malades et leurs familles (OMS, 2002).

Pour les agents responsables de l'infection nosocomiale, on y trouve donc une grande diversité de microbes. Celle-ci est constituée de bactéries, virus, champignons et parasites qui peuvent se transmettre soit par l'intermédiaire de vecteurs divers (surfaces, matériel, linge, eau, aliments) soit directement d'un patient à un autre ou d'un soignant ou inversement.[6]

Nous pense que les maladies nosocomiales constituent un objet intéressant pour l'étude de l'image de l'hôpital est maintenant véhiculée dans notre société et de manière plus générale, de la perception et des attentes des individus face au système de santé.

L'objectif principal de notre travail est l'isolement et l'identification des bactéries responsable à l'infection nosocomiale, dans un environnement hospitalier bien choisi et l'étude des sensibilités des souches identifiées aux antibiotiques.

Chapitre 1

Les infections nosocomiales

I- Les infections nosocomiales :

1-Définition :

Le Conseil supérieur d'hygiène publique propose la définition suivante : « Une infection est dite nosocomiale si elle était absente à l'admission à l'hôpital. Nosocomiale vient du grec Noso Maladies et Komien soigner. Ce critère est applicable à toutes les infections. Lorsque la situation précise à l'admission n'est pas connue, un délai d'au moins 48 heures après l'admission (ou un délai supérieur à la période d'incubation lorsque celle-ci est connue) est communément accepté pour séparer une infection d'acquisition communautaire d'une infection nosocomiale. Toutefois, il est recommandé d'apprécier dans chaque cas douteux la plausibilité du lien causal entre hospitalisation et infection (Garner et al., 1988).

Pour les infections de plaie opératoire, on accepte comme nosocomiales les infections survenues dans les 30 jours suivant l'intervention, ou - s'il y a mise en place d'une prothèse ou d'un implant - dans l'année qui suit l'intervention.[1]

Les infections nosocomiales peuvent être liées aux soins dispensés ou simplement survenir lors de l'hospitalisation, indépendamment de tout acte médical. Leur origine peut être endogène quand le patient s'infecte avec ses propres germes ou exogène lorsque les germes proviennent d'autres malades – on parle d'infection croisée du personnel ou de l'environnement hospitalier (eau, air, équipement, alimentation)[1]

L'apparition d'une infection nosocomiale est favorisée par la situation médicale du patient. Autrement dit, les infections sont plus fréquentes dans des services de réanimation où les patients ont souvent subi des actes invasifs et sont particulièrement fragilisés que dans des services de médecine interne.[6]

Les trois bactéries les plus fréquemment responsables d'infections nosocomiales se nomment *Escherichia coli* (24,7 %), *Staphylococcus aureus* (18,99 %) et *Pseudomonas aeruginosa* (10 %).[3]

La plupart des infections allongent la durée de séjour et entraînent un surcoût lié au traitement antibiotique. Les infections urinaires, qui représentent les plus fréquentes des infections nosocomiales, ne sont quant à elles, pour la plupart, pas très graves, elles augmentent peu la durée de séjour et nécessitent un traitement court.[3]

2- Les différents types d'infections nosocomiales :

Chaque établissement doit utiliser pour la surveillance épidémiologique, les critères de définition standards des infections nosocomiales publiés en juin 1988 par le Center for Disease Control (Atlanta, Géorgie, USA). A ceux-ci, peuvent éventuellement s'ajouter d'autres critères en complément de ceux cités ci-dessus, dans le souci de standardisation internationale.[3]

C'est ainsi que 80% des infections nosocomiales les plus fréquentes peuvent être caractérisées de la façon suivante :

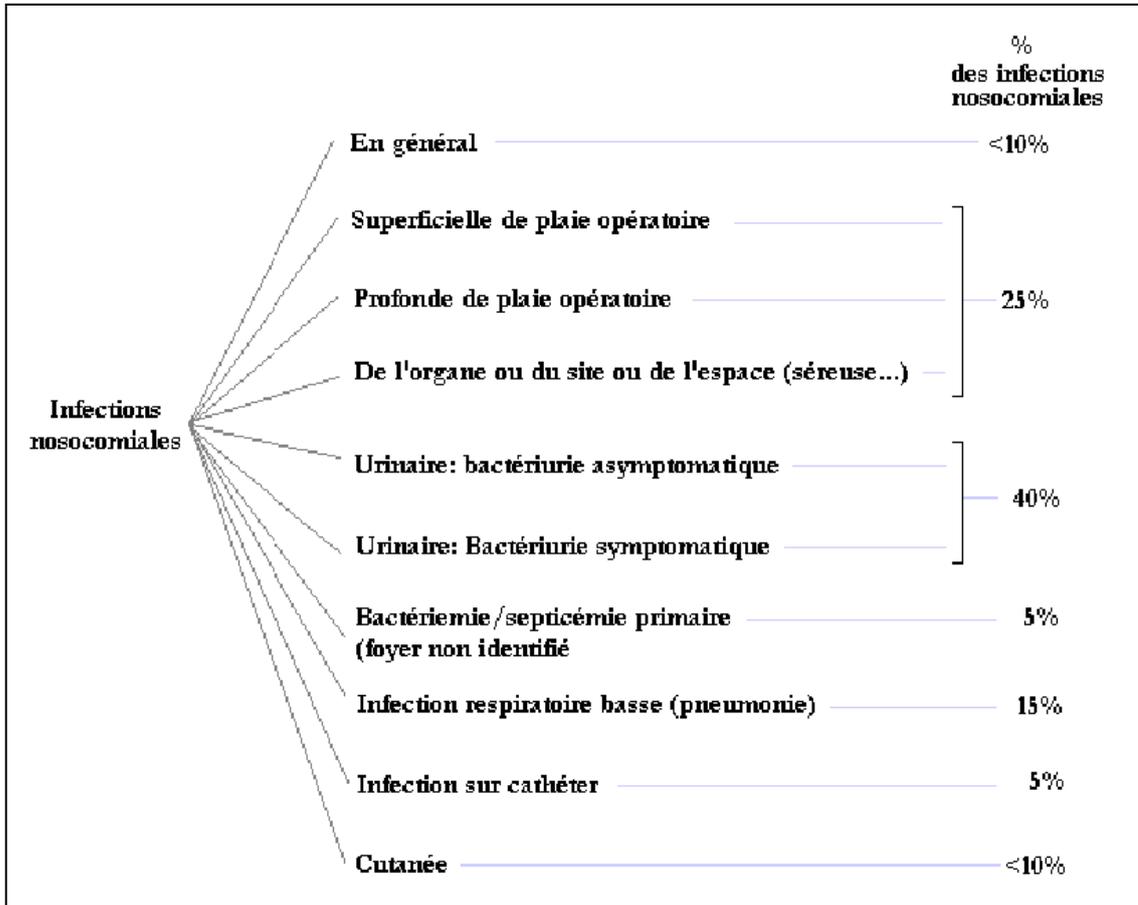


Figure N°01 : répartition d'infection nosocomiale selon les types d'infection. [3]

3- Epidémiologie :

Selon la dernière enquête menée par l'Institut de veille sanitaire (InVS) en 2006, 4,97 % des patients pris en charge dans 2 337 établissements de santé (soit environ 95 % des lits d'hospitalisation) présentaient une voire plusieurs infections nosocomiales, soit 1 patient sur 20. Par rapport à 2001, ce taux a diminué de 8 %.[9]

Les infections urinaires (30,3 %) sont les plus fréquentes devant les pneumopathies infectieuses (14,7 %) et les infections du site opératoire (14,2 %). Sont ensuite touchées la peau et les tissus mous (10,2 %), puis les voies respiratoires supérieures (6,4%).[9]

La majorité des infections nosocomiales se développe après environ 48 heures d'hospitalisation. On considère également comme infection nosocomiale une maladie secondaire à un germe acquis à l'hôpital avant la sortie du malade. Le meilleur exemple est sans doute celui des infections survenant après l'intervention chirurgicale et qui se développent des jours voire des semaines après la sortie du malade.

Différentes enquêtes effectuées aux États-Unis ont montré que 5 % des patients admis dans une unité de soins intensifs acquièrent une nouvelle infection. Ceci a des répercussions financières et de santé publique au point que l'on estime que le taux de décès a doublé chez les patients qui développent une infection nosocomiale. Il n'est pas nécessaire que le patient présente une diminution de ses capacités de défense immunitaire pour contracter une maladie nosocomiale (Raymond J and Aujard Y, 2000).

4-chaine d'infection :

4-1-réservoirs des germes :

Tableau N°01 : Mode de transmission des microbes et règles d'hygiène hospitalière

[3]

Réservoir de germes	Argumentation	Prévention et rôle de l'aide-soignant
-Hommes (patients, soignants et visiteurs) : le plus grand réservoir et disséminateur sain, malade, en incubation ou porteur asymptomatique.	-Naturellement colonisé par une quantité de micro-organismes commensaux et parfois pathogènes, chaque zone du corps possédant sa propre flore.	- Hygiène corporelle quotidienne soigneuse du patient. -Hygiène des mains. - Respect des règles élémentaires d'hygiène lors des soins.
Air et poussières	- L'homme dissémine de nombreux microbes lors de ses déplacements, ceux-ci étant dans les cellules mortes de l'épiderme qui constituent la poussière. - des microbes peuvent se trouver en suspension dans l'air ou dans les gouttelettes de salive.	- Aération régulière des pièces. - Balayage humide pour ne pas disséminer les poussières contenant des microbes. - Respect des protocoles --- d'isolement respiratoire.
Surfaces : sanitaires, locaux, sols, tables,lits, linge.	À l'hôpital, elles sont contaminées par la flore hospitalière.	- Respect des protocoles de nettoyage des locaux, - Utilisation correcte des produits (dilution, temps de contact, stockage).
Matériel	- Tout le matériel	- Respect des protocoles de

	<p>réutilisable peut être contaminé par des microbes.</p> <p>- Faire attention dès qu'il est en contact avec le sang ou des liquides biologiques.</p>	<p>nettoyage, désinfection, stérilisation.</p> <p>- Utilisation préférentielle du matériel à usage unique.</p>
Alimentation	<p>Peuvent être colonisés par des bactéries et provoquer des intoxications alimentaires.</p>	<p>Respect des liaisons chaudes et froides et hygiène rigoureuse lors de la distribution des repas.</p>
Eau	<p>- L'eau des circuits d'eau chaude inutilisée pendant plus de 48 h peut contenir des <i>légiennelles</i>.</p> <p>- L'eau stagnante dans les vases est colonisée par des bactéries.</p>	<p>- Vidange de ces circuits avant utilisation.</p> <p>- Détartrage des siphons et des pommeaux de douche.</p> <p>- Pas d'élimination de l'eau des vases dans les lavabos et utilisation d'eau de javel diluée dans l'eau des fleurs (les fleurs sont interdites dans certains services de soins).</p>
Terre	<p>Elle est porteuse de nombreux microbes car milieu préférentiel de certains microbes.</p>	<p>Les plantes sont interdites ou limitées dans certains services (réanimations, chirurgie.)</p>
Animaux	<p>Peuvent être vecteurs de maladies (paludisme par le moustique, peste par les rats, la rage par morsure d'un animal infecté...).</p>	

4-2- modes de contamination:

Réservoir De Germes :

A) contamination exogène ou croisée: Les germes responsables sont extérieurs au patient

1) direct:

Les micro-organismes sont transmis d'un sujet à un autre. transmission directe :

- Voie cutanée.
- Voie manu portée.
- Voie respiratoire : toux, salive. - Voie cutanée.
- Voie respiratoire : toux, salive.
- Voie génitale. rapports sexuels.
- Voie parentérale ou sanguine.

2) indirecte:

Les micro-organismes sont transmis par l'intermédiaire de vecteurs transmission indirecte : Matériel, Environnement : locaux, surfaces.

- Eau.
- Air.
- Aliments.
- Animaux .

B) contamination endogène:

Auto contamination du patient avec ses propres germes soit à l'occasion de gestes invasifs, soit s'il est immunodéprimé ou soit par manque d'hygiène.

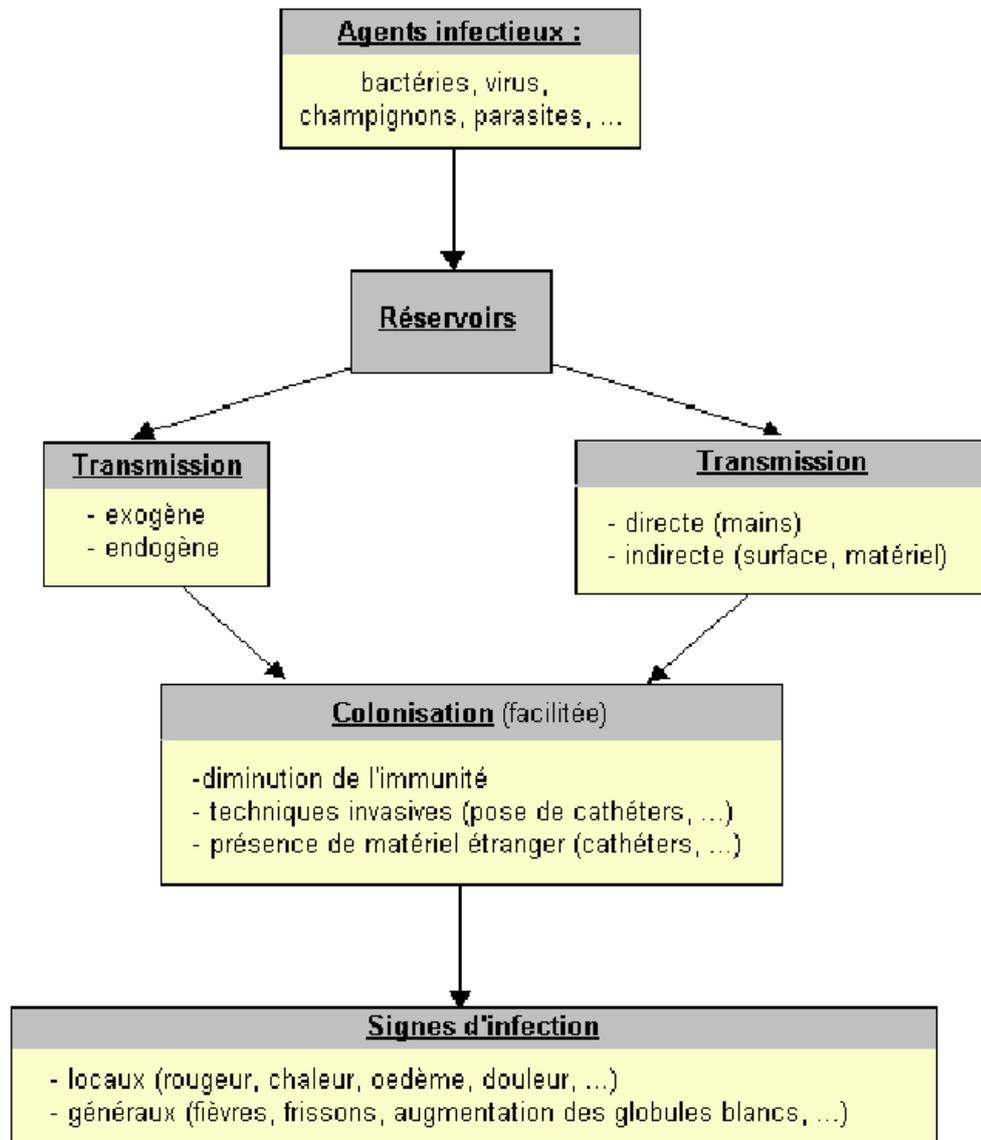


Figure N°02 : chaine d'infection[10]

-L'auto-infection :

Le malade s'infecte avec ses propres germes, les « portes d'entrée » sont les lésions des muqueuses, les lésions cutanées (plaies, brûlures, maladies de peau). Les germes seront ceux de la peau, des muqueuses, du tractus digestif, etc. Ce mécanisme est favorisé par différents facteurs, la dissémination des germes du patient dans son environnement, par l'utilisation de traitement pouvant altérer l'immunocompétence (corticostéroïdes, immunosuppresseurs...), par l'administration de traitements sélectionnant certaines bactéries (antibiothérapie à spectre large...). Enfin, les patients immunodéprimés (sida, aplasiques...) sont les personnes les plus à risque du fait du défaut de vigilance immunitaire de leur organisme, développant ainsi des pathologies strictement endogènes(Mergoud, 2004).

-L'hétéro-infection :

Dans ce cas, le germe responsable de l'infection nosocomiale provient d'un autre malade, la transmission étant le plus souvent manu portée, par le personnel soignant intervenant auprès de plusieurs patients, disséminant ainsi les germes d'une personne à l'autre. Ces infections sont dites « croisées ». C'est le mode de décontamination le plus fréquemment retrouvé lors d'épidémies. Cependant certains germes, comme celui de la tuberculose, sont transmis par voie aérienne. Il peut en outre arriver plus rarement que les germes soient transmis par contact direct entre deux patients(Mergoud, 2004).

-La xéno-infection :

Ce mode de transmission est un peu à part, dans ce cas les agents pathogènes sont transmis par des personnes venant de l'extérieur (personnel soignant, visiteurs, sous-traitants), et présentant eux-mêmes une pathologie infectieuse, déclarée ou en cours d'incubation. Ce mode de transmission n'est cependant pas à négliger, car il peut être dévastateur pour les patients particulièrement fragiles. Ainsi, les professionnels de santé sont de plus en plus encouragés à se faire vacciner contre la grippe (Mergoud, 2004).

-L'Exo-infection :

Ce mode de transmission inclut soit à un dysfonctionnement technique d'un matériel (filtre à air, autoclave...) destiné à la protection des patients qui, ne remplissant plus son office, les laisse en contact avec des germes qui ne devraient, en principe, pas faire l'objet d'une infection, au vu des mesures prises pour les prévenir (aspergillose,

lésionnelle, etc.), soit à une erreur commise dans l'exécution des procédures de traitement du matériel médico-chirurgical(Mergoud, 2004).

5-les principaux facteurs de risques des infections nosocomiales :

Les principaux facteurs de risques sont les suivants :

5-1- L'environnement :

Le séjour dans un centre de soins est un facteur de risques pour les patients, le personnel comme les visiteurs. L'Hôpital, de par sa fonction, a toujours été et reste de plus en plus une structure à haut risque d'infection. Une chambre où est hospitalisé un patient colonisé ou infecté par un germe pathogène, est largement contaminé dans les 24 heures. Un patient hospitalisé dans une chambre contaminée est colonisé ou infecté en quelques jours.

Parce qu'il doit utiliser largement les antibiotiques, l'hôpital est un lieu privilégié pour le développement des résistances bactériennes. Il héberge ainsi de nombreuses bactéries multi résistantes qui survit dans cet environnement des semaines et parfois des mois. Elles ont une grande capacité de résistance aux agressions chimiques et résistent à de nombreux détergents. On les retrouve partout, sur les surfaces planes, la literie, le mobilier, les poignées de porte, les téléphones, les commandes de télévision, les claviers d'ordinateurs, les stéthoscopes, les brassards de tensiomètres. Elles sont dans l'air ambiant, les canalisations d'eau où elles forment des bios films résistants à la plupart des détergents(Harley E and Klein J, 2010).

Le nettoyage et la désinfection de l'environnement hospitalier sont un élément clef de la prévention des infections nosocomiales. Une chambre de patient doit être nettoyée, si besoin désinfectée chaque jour, et chaque fois que nécessaire dans la journée en cas de souillure. Les patients infectés ou seulement colonisés sont une des principales sources de contamination de l'environnement hospitalier par l'intermédiaire de leurs mains qui se contaminent à leur tour au contact de l'environnement.

.Les mains et les vêtements du personnel sont aussi un des principaux vecteurs de contamination des patients et de l'environnement. Après un contact avec un patient colonisé ou infecté ou son environnement, 70% d'entre eux contaminent leurs mains ou leurs gants, et 52% après contact avec le seul environnement.63% des vêtements du personnel soignant sont contaminés après un contact avec un patient colonisé ou infecté et / ou son environnement(Harley E and Klein J, 2010).

5-2- L'acte de soins :

Qu'il soit pratiqué dans un établissement de santé ou en dehors

Qu'il soit à finalité diagnostique, thérapeutique, de dépistage ou de prévention.[4]

5-3-Le patient lui-même :

Un patient doit être considéré à risque à son admission en raison :

- De son âge : contrairement à l'idée généralement reçue, les personnes âgées (65 ans et plus) ne sont pas seules à être plus sensibles aux infections en raison de leur système immunitaire affaibli. Les jeunes enfants, les nouveau-nés, les prématurés dont le système immunitaire est encore immature, sont aussi particulièrement fragiles. Aux Etats-Unis, on relève 14% d'infection nosocomiale en néo natalité, entre 7% et 20% en Europe, 30% au Brésil.
- De sa colonisation par un germe pathogène.
- De sa pathologie et / ou du traitement suivi : cancer, diabète, dialyse, chimiothérapie, radiothérapie.
- Tous ces facteurs de risque, le fait pour un établissement ou un professionnel, quels qu'ils soient, d'accepter de prendre en charge un patient entraîne l'obligation de mettre en œuvre tous les moyens de prévention des IN conformes aux normes internationales. En cas d'infection nosocomiale, ils doivent être reconnus responsables et imputables, sauf à apporter la preuve d'une cause extérieure (Boyce et al., 1997).

Tableau N°03 :les facteurs peuvent augmenter les risques de contracter une infection nosocomiale [2]

Les facteurs de risque liés au patient :	Les facteurs de risque liés aux soins et aux interventions :	Les facteurs de risque liés à l'agent infectieux
-Sexe masculin - Age avancé \geq 65 ans et Très jeune âge - Terrain défavorable (indice de gravité de McCabe élevé) -Immunodépression (séroposivité au VIH, chimiothérapie, ...) -Diabète -Obésité, dénutrition	-Antécédent d'intervention chirurgicale - Exposition à un dispositif invasif (sondage urinaire ou cathéter vasculaire) - Intubation oro-trachéale ou trachéotomie -Endoscopie	-Virulence -Résistance aux antibiotiques

6-Les types d'infection nosocomiaux :

6-1- Les Infections urinaires :

Les simples colonisations urinaires (ou bactériuries asymptomatiques) ne sont pas des infections associées aux soins. Pour les formes symptomatiques, les signes classiques sont les suivants :

- fièvre.
- douleur.
- envies impérieuses.
- pollakiurie.
- brûlures mictionnelles ou douleurs sus pubiennes.

La preuve est toujours microbiologique. L'Examen Cytobactériologique des Urines (ECBU) est considéré comme positif en fonction de valeurs seuils :

- sans sondage vésical ni autre abord de l'arbre urinaire: leucocytaire (≥ 104 leucocytes/ml) et uro culture positive ($\geq 10^3$ micro-organismes/ml) et au plus 2 espèces microbiennes isolées, avec sondage vésical ou autre abord de l'arbre urinaire, en cours ou dans les 7 jours précédents : uro culture positive ($\geq 10^5$ micro-organismes/ml) avec au plus 2 espèces microbiennes isolées. Il existe des spécificités gériatriques (Stammn E, 1986).

6-2-Infection de site opératoire (ISO) :

L'ISO se définit par la présence de pus provenant d'une des localisations suivantes :

- partie superficielle de l'incision chirurgicale (peau et tissus sous cutanés).
- partie profonde de l'incision chirurgicale (tissus mous profonds en dessous de l'aponévrose).

- cavité ou organe à proximité ou à distance du site opératoire mais lié(e) à l'intervention. Une ISO est considérée comme une IAS quand elle n'est ni présente ni en incubation à l'entrée et si elle survient dans les 30 jours qui suivent l'intervention ; cette période est étendue à un an en cas de mise en place de matériel prothétique artificiel (Amiar M et Bendjama I, 2011).

6-3- Infections des voies respiratoires et pneumopathie :

La fréquence des infections respiratoires nosocomiales est environ de 10 à 15%. Dans les services de réanimation, elles sont très fréquentes, représentant en moyenne 30% des infections nosocomiales.

La source principale d'infection est la flore oropharyngée et les bactéries d'origine digestive qui colonisent les voies respiratoires par voie ascendante et rétrograde. Les facteurs posturaux tel que le décubitus qui favorise les micro-inhalations par reflux, l'existence d'une sonde gastrique et les antiacides qui altèrent la barrière gastrique, favorisent cette colonisation. La ventilation artificielle représente le facteur de risque principal d'infection.

La sonde d'intubation et la canule de trachéotomie sont des corps étrangers qui entraînent nécessairement un processus inflammatoire de la muqueuse laryngée et/ou trachéale à leur contact. Par ailleurs, les moyens de défense locaux du patient placé sous ventilation mécanique sont notablement moins efficaces :

- le rôle de filtre, représenté par les fosses nasales et le pharynx, est complètement court-circuité.
- les réflexes de toux et d'éternuements ne peuvent plus jouer leur rôle.
- la qualité du mucus et les structures ciliaires sont altérées.

Les sécrétions bronchiques sont plus abondantes et moins bien évacuées ; ceci est favorisé par l'immobilité. L'intubation multiplie le risque de pneumopathie nosocomiale par plus de 20. Les aspirations trachéales par la sonde d'intubation ou la trachéotomie peuvent également être source d'infections, notamment quand elles ne sont pas réalisées dans les règles d'hygiène et d'asepsie (Stammn E, 1986).

6-4- Les infections sur cathéter :

Le cathéter peut être contaminé par des bactéries qui migrent le long de la surface externe des tubulures, par contamination manuportée par le personnel médical et paramédical ou par voie hématogène c'est-à-dire par des germes présents dans la circulation sanguine qui viennent « s'accrocher » au cathéter. Les seuls signes cliniques peuvent être l'aspect inflammatoire du point de ponction (point où le cathéter entre dans la peau) et écoulement purulent. Mais le risque est que l'infection du cathéter entraîne une bactériémie, c'est-à-dire la circulation des bactéries dans le sang qui peut donner une infection généralisée. Le traitement consiste en général, à enlever le cathéter en cause si c'est possible et à un traitement antibiotique (Stammn E, 1986).

6-5- Infections sur KT vasculaire :

Elles représentent environ 4% des infections nosocomiales. En réanimation, les patients ont un ou plusieurs dispositifs intra vasculaires : voie veineuse périphérique, voie veineuse centrale, KT 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 intra vasculaires représentent des portes d'entrée aux infections du fait de la rupture de la barrière naturelle cutanée. Le risque infectieux augmente avec la durée de maintien du KT et la fréquence des manipulations sur la ligne de perfusion (Stammn E, 1986)

6-6-Bactériémies et septicémies :

Elles représentent environ 6% des infections nosocomiales. Les bactériémies sont la première cause de mortalité attribuable à l'infection nosocomiale, bien que la létalité par bactériémie ait diminuée au cours des dernières années.

Les dispositifs intra vasculaires sont la source principale, représentant environ 1/3 des bactériémies nosocomiales. Un foyer infectieux à distance peut également être associé à une bactériémie nosocomiale, en particulier un foyer urinaire, pulmonaire et digestif(Amiar M et Bendjama I, 2011).

6- 7 -Autres infections : Elles représentent 10à30 des IN parmi les quelles :

- Infection cutanées (peau, tissus).
- Infections des voies génitales.
- Infections ophtalmiques. Infections gastro-intestinales.

Infections (AES) « Accidente avec exposition au sang »(Amiar M et Bendjama I, 2011).

Chapitre 2

Les agents responsables de
l'infection nosocomiale

II-les agents responsables d'infections nosocomiales :

1- Bactéries :

Ce sont les plus courants des agents pathogènes responsables d'infections nosocomiales. On peut distinguer deux types de bactéries peuvent être retrouvés dans l'environnement des patients :

- des bactéries d'origine humaine : (peau, muqueuses) parmi lesquelles des bactéries multi résistantes aux antibiotiques comme *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline, les entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre élargi ou les *Enterococcus* résistants à la vancomycine.

- des bactéries d'origine environnementale dont certaines ont de fréquentes Résistances naturelles aux antibiotiques, notamment les bacilles à Gram négatif Comme *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderiacepacia*, *Legionella pneumophila* ou les mycobactérie *satyiques*(Harold C N,1992).

Les bactéries commensales :Présentes dans la flore normale des sujets en bonne sante. Elles jouent un rôle protecteur significatif en empêchant la colonisation par des micro-organismes pathogènes. Certaines bactéries commensales peuvent provoquer une infection si les défenses immunitaires de l'hôte sont affaiblies. Par exemple, les *staphylocoques 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 (Harold C N, 1992).

1-1-bactéries pathogènes :

Les bactéries pathogènes sont des bactéries responsables d'une maladie même chez le sujet " sain " (ex typhoïde, choléra, tuberculose, méningite...). Le pouvoir pathogène conditionne le type de maladie et va dépendre de l'espèce bactérienne responsable de l'infection. Par exemple, le choléra dont l'agent est *Vibrio cholera* est une maladie complètement différente de la méningite à méningocoque. **18]**

Ces bactéries pathogènes peuvent (*pneumocoque*, *Haemophilus*, *méningocoque*..) ou non (*Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio cholerae*..) appartenir à la flore humaine commensale. Pour certaines bactéries, comme le méningocoque (agent de la méningite cérébrospinale), le portage sain dans le nasopharynx est la situation de loin la plus fréquente, la maladie est l'exception puisqu'elle ne touche qu'un porteur sain sur 10 000. Ce point souligne que pour ces bactéries qui en réalité appartiennent à la flore commensale de l'homme bien que "pathogènes", il existe une susceptibilité individuelle qui peut être l'âge (plus fréquentes chez les jeunes enfants) ou propre à certains individus, de nature encore indéterminée.[18]

La virulence est une notion quantitative alors que le pouvoir pathogène est une notion qualitative. Ainsi pour un même pouvoir pathogène, il peut y avoir des souches plus ou moins virulentes.

Exemple : *Shigella dysenteriae* et *Shigella flexneri* sont toutes les deux responsables d'une dysenterie bacillaire, mais pas avec les mêmes doses. Quelques bactéries suffisent pour développer une infection avec *S.dysenteriae* alors que plusieurs milliers sont nécessaires avec *S. flexneri*. Cette espèce est donc considérée comme moins virulente que *S.dysenteriae*.**[18]**

1-2 -Les bactéries opportunistes :

Les bactéries opportunistes ne donnent habituellement pas de maladie chez les sujets sains. En revanche, elles peuvent devenir pathogènes chez les sujets aux défenses immunitaires altérées. Ces bactéries sont souvent des bactéries commensales qui vivent à la surface de la peau et des muqueuses de l'homme. Chez le sujet normal, elles ne donnent pas d'infections, mais à la faveur d'une immunodépression ou d'une antibiothérapie, elles vont être contre-sélectionnées et proliférer leur donnant ainsi un avantage sélectif.

Le type de maladie (et donc le pouvoir pathogène) dont ces bactéries sont responsables est en général, monomorphe : colonisation de la porte d'entrée avec développement d'une inflammation non spécifique à ce niveau (pneumonie, infection urinaire, infection sur cathéter,..), éventuellement suivie d'une généralisation, septicémie avec des localisations secondaires possibles (endocardite, abcès profond, ostéites, méningites...).

1-3 -Bactéries à Gram négatif :

A- Les bactéries du genre *Pseudomonas* :

Le genre *Pseudomonas* de la famille des *Pseudomonaceae* comprend une soixantaine d'espèces pouvant répondre à la définition suivante :

Sont des bactéries ubiquitaires que l'on rencontre dans les sols, sur les végétaux et surtout dans les eaux douces et marines. De nombreuses souches pouvant se développer à basse température (souches psychrophiles) contaminent les denrées alimentaires ou produits pharmaceutiques conservés au réfrigérateur. On peut occasionnellement les isoler de la flore intestinale de l'homme ou de l'animal mais leur capacité à résister à de nombreux antibiotiques et antiseptiques explique leur présence de plus en plus fréquente en milieu hospitalier. Ils se comportent comme des pathogènes opportunistes souvent à l'origine d'infections nosocomiales.**[19]**

Ce sont des Bactéries multi-résistantes par excellence, du fait de leur résistance Naturelle à plusieurs familles d'antibiotiques à la fois.**[19]**

B- Escherichia coli :

Escherichia coli est l'une des espèces bactérienne les plus souvent rencontrées en pathologie humaine. Elle est responsable de 60 à 80 pour 100 des infections des voies urinaires. Certains sérotypes sont capables d'induire des septicémies néonatales compliquées ou non de méningites.[5]

Escherichia coli est une entérobactérie, comme toutes les entérobactéries elle présente une résistance naturelle aux glycopeptides et à la pénicilline G. 3 principaux types d'enzymes doivent être connues :(Castanheira et al.,2011)

Les pénicillinases qui sont plasmidiques. Elles peuvent être de bas niveau et donc responsables d'une résistance aux aminopénicillines ,aux carboxypénicillines et aux uréidopénicillines, ou de haut niveau et donc responsables d'une résistance non seulement aux 3 antibiotiques cités mais aussi aux molécules possédant des inhibiteurs de β lactamases ainsi qu'au céphalosporines de première et deuxième génération.

Une enzyme dite TRI : (pour TEM résitant inhibiteur) qui hydrolyse non seulement le cycle β lactams mais aussi l'inhibiteur des β lactamases et qui sera donc responsable d'une résistance aux aminopénicillines, aux uréidopénicillines, aux carboxypénicillines et aux inhibiteurs de β .lactamases.

Les céphalosporinases: Escherichia coli possède une céphalosporinase chromosomique qui contrairement aux Enterobacter est rarement dérégulée. Toutefois comme toutes les entérobactéries Escherichia coli peut acquérir une céphalosporinase plasmidique appelée β les (β lactamase à spectre étendu) qui est responsable d'une résistance à toutes les β lactamines à l'exception de l'imipenem.

Les risques liés à la bactérie E.coli résistante en milieu hospitalier? Dans les hôpitaux, E. coli peut passer des intestins dans le sang ou dans les tissus lors de procédures invasives telles que les interventions chirurgicales ou les injections. Elle peut également se transmettre d'une personne à une autre par contact direct. Elle peut alors provoquer diverses infections telles qu'une infection des voies urinaires, une pneumonie, une septicémie ou une infection du site opératoire.

Pour limiter ce risque, les hôpitaux mettent en place des actions préventives utilisation prudente des antibiotiques, mesures d'antisepsie avant toute intervention chirurgicale, procédures d'asepsie pour éviter les infections urinaires, hygiène des mains et tri des patients susceptibles d'être porteurs de bactéries résistantes(Castanheira et al.,2011).

C-Acinetobacter :

Le genre *acinetobacter* est souvent rattaché aux « pseudomonas et apparentés », regroupant des bacilles gram négatifs aérobies stricts (non fermentatifs). Selon la classification de bergey de 2002, il appartient en fait à l'ordre des *pseudomonadales* qui contient deux familles distinctes [11].

Les *pseudomonadaceae* et les *moraxellaceae* trois genres font partie de cette seconde famille : *moraxella*, *Acinetobacter*, *Psychrobacter*. Ces genres sont aussi parfois rapprochés des *Neisseria* en raison de leur morphologie *coccoïde*. Comme *Neisseria*, *Moraxella* est de culture difficile et oxydase positive, tandis qu'*Acinetobacter* n'est pas exigeant et présente une réaction négative au test de l'oxydase. [11]

Le genre *Acinetobacter* comporte les espèces suivantes : Bactéries du genre *Acinetobacter* sont retrouvées dans de nombreux milieux naturels (le sol, les eaux, les végétaux...) et font partie la flore cutanée normale de l'homme et des animaux. comme les *Pseudomonas* les *Acinetobacter* sont principalement responsables d'infections nosocomiales surtout chez les patients affaiblis (immunodépression). Les pathologies sont des *septicémies* méningites, des endocardites, des abcès, des surinfections des plaies, des pneumopathies, des infections urinaires... L'espèce majoritairement en cause est *Acinetobacter baumannii*. [11]

D- D'autres bacilles à Gram négatif fréquemment rencontré :

Legionella qui se niche dans les circuits d'aération et les eaux stagnantes. Au niveau des voies aériennes supérieures, il existe des bactéries commensales pouvant être à l'origine d'infections; les plus connues et les plus répandues sont les streptocoques du groupe A, *Haemophilus* (Harold et al., 1992).

1-4 -Bactéries à Gram positif :

A- Les staphylocoques :

Sont *des cocci* à Gram positifs on peut les trouver sur la peau sans qu'il y ait infection, ils sont très résistants en milieux extérieurs, et sont ubiquitaires. Ils sont souvent en cause dans les infections nosocomiales sur cathéter, les pneumonies, les infections des sites opératoires (Boyce et al., 1997).

Les principales sont *Staphylococcus aureus*, *S.epidermidis* et *S.saprophyticus*. L'espèce *S.aureus* sera prise comme type de description .Le nombre d'infections à staphylocoques, notamment à coagulase négative ou résistant à la méticilline, est en augmentation constante depuis ces 10 dernières années. Leur transmission dorée

résistant à la méticilline d'un patient à l'autre est manuportée par le personnel. La plupart des infections à staphylocoques sont des infections graves, soit du fait de leur localisation, soit du terrain sur lequel elles surviennent :

On a : Les infections cutanées à staphylocoques sont les plus fréquentes. Elles concernent essentiellement *S. aureus*. Les bactériémies elles sont communautaires à partir d'un foyer profond dans 70 % des cas pour *S. aureus* et nosocomiales pour 30 % des cas Les endocardites bactériennes à *staphylocoques*, Les *pneumopathies* à *staphylocoques* sont exceptionnellement communautaires, mais le plus souvent nosocomiales. Les médiastinites complication rare, mais majeure de la chirurgie cardiaque, cette infection nosocomiale reste grevée d'une morbidité et d'une mortalité importante Infections neuro-méningées

Infections sur cathéter Infections ostéo-articulaires et Autres infections.

Les staphylocoques sont en cause dans la grande majorité des infections postopératoires en chirurgie vasculaire avec une prothèse en place. *S. aureus* est plutôt responsable d'infections prothétiques précoces. Le traitement de référence est l'oxacilline pour les staphylocoques sensibles à la méticilline et la vancomycine pour ceux qui sont résistants à la méticilline. L'apport du laboratoire de microbiologie est fondamental pour l'adaptation du traitement antibiotique, surtout s'il est de longue durée et qu'un relais per os est nécessaire (Harold c, 1992).

B-Streptocoques :

Est un terme qui désigne un ensemble de bactéries du genre *Streptococcus*. Parmi celles-ci, on retrouve notamment les entérocoques et le pneumocoque. Certaines de ces bactéries sont naturellement présentes dans le corps humain, les entérocoques au niveau du tube digestif notamment. [13]

Les *streptocoques* sont responsables de très nombreuses infections dont font partie les maladies suivantes : angine bactérienne, scarlatine, infections cutanées notamment impétigo ou érysipèle, infections des voies respiratoires comme les pneumopathies, certaines méningites, des infections généralisées. Les streptocoques sont généralement sensibles aux antibiotiques, dont les plus utilisés à son encontre sont les pénicillines. [13]

1-5- Les bactéries multi résistantes (BMR):

1-5-1-Définition :

La résistance aux antibiotiques est aujourd'hui un phénomène planétaire et l'émergence de bactéries multi résistantes est préoccupante, pas uniquement dans les établissements de soins mais aussi dans la vie courante, où ces bactérie émigrent rapidement et deviennent ainsi une source encore plus importante de risque infectieux grave.

Les bactéries sont dites multi résistantes aux antibiotiques lorsque du fait de l'accumulation de résistances acquises à plusieurs familles d'antibiotiques, elles ne sont plus sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotiques utilisables en thérapeutique (résistance à plus de 3 familles différentes). La multi résistance est ainsi une étape vers l'impasse thérapeutique. Elle concerne les bactéries des infections communautaires (ex : pneumocoque, bacilles de la tuberculose) et les bactéries des Infections Nosocomiales (Savey A et Troadec M. .2001).

1-5-2-Les principaux BMR :

A- SARM :

Le Staphylococcus aureus est une bactérie couramment répandue, présente sur la peau et les muqueuses chez 20 à 30 % des personnes en bonne santé. Si elle pénètre dans l'organisme, elle peut provoquer des infections. Il s'agit le plus souvent d'infections qui se développent sur la peau ou des plaies, mais cette bactérie peut également occasionner des infections plus invasives touchant notamment le cœur, les poumons, les os, le sang. Ces infections peuvent également se situer au niveau du site opératoire. Lorsque ce staphylocoque est résistant à la méthicilline (ou à l'oxacilline, un type de pénicilline), on l'appelle SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline). Le SARM présent dans les hôpitaux est souvent résistant à de nombreux autres antibiotiques. Le SARM se transmet principalement par contact direct d'une personne à une autre ou via des équipements ou des dispositifs médicaux contaminés. La prise d'antibiotiques est également associée à un risque plus élevé de contamination par le SARM (Boyce J et al., 1997).

Les risques liés au SARM en milieu hospitalier : Dans les hôpitaux, le SARM peut pénétrer dans le sang ou dans les tissus à diverses occasions, notamment lors de procédures invasives telles que les interventions chirurgicales, les injections, la ventilation. Il peut alors provoquer une infection cutanée locale ou des pathologies bien plus graves telles qu'une pneumonie, une septicémie ou une infection du site

d'opérateur. Pour limiter ce risque, les hôpitaux mettent en place des actions préventives: lavage ou désinfection des mains avec une solution hydro alcoolique, mesures d'antisepsie avant toute intervention chirurgicale, tri et isolement des patients susceptibles d'être porteurs de bactéries résistantes, et utilisation prudente des antibiotiques(Boyce et al., 1997).

B- Entérobactéries productrices de β -lactamase à spectre étendu (EBLSE) :

Les entérobactéries dans leur ensemble représentent 35 à 40% des bactéries responsables d'infection nosocomiale. Les EBLSE représentent environ 1% des bactéries isolées des infections nosocomiales. Les infections à Entérobactéries productrices de β -lactamase à spectre étendu s'observent sous la forme de cas apparemment isolés, de cas groupés, ou de véritables épidémies. La tendance à la diffusion clonale est bien démontrée.

Sont principalement impliquées dans les infections urinaires (plus de 50%), symptomatiques ou non, les bactériémies (5 à 20%) et les infections de plaies ou de site opératoire (10 à 20%). Les souches (principalement *K. pneumoniae*, mais aussi *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter sp.*) Sont résistantes à l'ensemble des β -lactamines (sauf les céphamycines et l'imipénème), aux aminosides et très souvent aux fluoro quinolones(Harold C.,1992).

C-Entérocoque résistant à la vancomycine (ERV) :

Les entérocoques représentent 5 à 8% des bactéries responsables d'infection nosocomiale. le plus souvent de l'espèce *E. faecium*, sont encore rarement isolés: elles représentent environ 1% des souches d'entérocoques isolées à l'hôpital et il y a environ 1% de porteurs dans la population générale (Harlod C,1992).

1-5-3-Mode de transmission des BMR:

La transmission des bactéries multi résistantes à partir des patients porteurs est, dans la majorité des cas, manu portée par le personnel médical ou paramédical. Cependant, la transmission peut se faire par des supports inertes contaminés. Le risque de transmission est directement lié à la fréquence des contacts avec les patients porteurs de bactéries multi résistantes.

Des travaux récents suggèrent qu'une charge en soins élevée dans l'unité (patients dépendants...) et/ou un ratio inadéquat personnel/patients admis joueraient un rôle important dans la transmission des bactéries multi résistantes alors qu'une organisation adaptée permettrait de contrôler des situations épidémiques. Les résultats de

l'enquête Hôpital Propre II indiquent que les interruptions de soins sont la cause principale de rupture des mesures d'isolement. La prise en compte de ces facteurs impose une réflexion collective, associant les équipes médicales et paramédicales, les hygiénistes et l'administration (Savey A et Troadec M. .2001).

2- Les virus :

Peuvent être transmis par les autres malades.

- Rotavirus : de transmission féco – orale par aliments et eaux souillés, et par contact humain, responsables de diarrhées infantiles.

-Virus respiratoire syncytial (VRS) : de Transmission aérienne ce virus entraîne des atteintes ORL et pulmonaires chez l'enfant.

- Le Virus de la grippe : atteint surtout les Sujets âgés dans les centres Médicalisés ; il se transmet par voie aérienne et entraîne des atteintes du rhinopharynx, de la trachée et des bronches.

- Les Virus de l'hépatite : B (VHB), de l'hépatite C (VHC), de l'immunodéficience humaine (VIH), des fièvres hémorragiques, sont incriminées dans les services d'hémodialyse, lors des transfusions sanguines et greffes d'organes.

- Autres : varicelle, rougeole sont aussi incriminés.[24]

3- Les champignons :

Sont souvent impliqués chez les patients immunodéprimés; parmi eux, outre *Candida albicans* de siège ubiquitaire, il faut citer *Aspergillus*, très répandu dans les circuits d'aération et transmissible par l'air, dont la diffusion est favorisée par les travaux de bâtiments.[16]

Ces derniers micro-organismes sont particuliers à certains terrains tels que ceux existant chez des malades fortement immunodéprimés par une thérapie ayant provoqué cet état : chimiothérapie, médicaments contre le rejet chez les transplantés, donnés parfois à des doses moins fortes chez ceux ayant des maladies inflammatoires évolutives (rhumatismales ou autres).[16]

4- Les parasites :

Les parasites sont de petits êtres vivants, appartenant au règne animal, végétal, bactérien ou mycosique (champignons), qui vivent ou se développent au sein d'un organisme hôte pour survivre : ils s'y nourrissent et s'y reproduisent, ce qui peut créer des troubles plus ou moins graves chez leur hôte.

-L'amibe qui est responsable de l'amibiase (dysenterie).

-Le ténia ou les helminthes qui sont des vers intestinaux.

- Le sarcopte qui est responsable de la gale.
- Les ectoparasites comme les poux responsables de pédiculose.
- Le plasmodium responsable du paludisme (piqûres de moustiques)(Duck S, 2004).

Chapitre 3

La prévention des infections nosocomiales

III-La prévention des infections nosocomiales :

La prévention des infections nosocomiales passe par l'ensemble des personnes et des services impliqués dans les soins de santé. Chacun doit contribuer à réduire le risque d'infection à la fois pour les patients et pour le personnel. Le concept de prévention englobe le personnel soignant, la direction, l'implantation de l'établissement, la fourniture du matériel et des produits, et la formation des agents de sante. Pour être efficaces, les programmes de lutte contre les infections nosocomiales doivent être très complets et porter aussi bien sur les activités de surveillance et de prévention que sur la formation du personnel. Ils doivent aussi bénéficier d'un soutien effectif au niveau national et régional(Harley et al.,2010).

1-Surveillance des infections nosocomiales :

La surveillance des infections nosocomiales est une activité essentielle car elle permet de produire les informations épidémiologiques indispensables pour :

- ✓ mesurer le niveau des risques infectieux dans un établissement de soins.
- ✓ définir la politique de prévention à mener par le Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales et l'équipe opérationnelle d'hygiène hospitalière.
- ✓ évaluer l'efficacité de cette politique de prévention : les données issues de la surveillance peuvent constituer un indicateur utilisable pour mesurer l'impact d'un programme de prévention. Pour être efficace, un programme de surveillance doit permettre de(GAMBOTTI et al., 2001).
 - détecter les tendances et les changements dans la fréquence de survenue des cas.
 - détecter les épidémies ou tout autre phénomène nouveau ou inhabituel.
 - évaluer et améliorer les pratiques des professionnels hospitaliers (équipes médicales et paramédicales).
 - stimuler la recherche épidémiologique sur les facteurs de risque ainsi que sur les moyens de contrôle et de prévention. Un retour d'information régulier et rapide joue un rôle important dans la motivation des professionnels hospitaliers. Il est important d'utiliser des méthodes de surveillance standardisées susceptibles de produire des données comparables dans le temps et dans l'espace, avec des données de référence interrégionales, nationales, voire internationales, produites par des réseaux de surveillance. Les principaux facteurs de risque des patients

étudiés sont à considérer lors de l'interprétation des comparaisons(Ducel et al., 2008).

Deux méthodes générales de travail peuvent être utilisées pour la surveillance (ou pour la réalisation d'enquêtes) :

a)Etude de la prévalence : (ponctuelle ou transversale)

Elle repose sur la surveillance de l'ensemble de patients hospitalisés, à un moment donné, dans le ou les services surveillés. La situation de chaque patient, au regard de l'infection, n'est évaluée qu'une seule fois.

Cette méthode peut être utilisée à intervalle régulier, par exemple chaque année à la même époque(Kim et al., 2000).

b) Etude de l'incidence : (longitudinale)

Elle repose sur la surveillance continue dans le temps d'un ensemble de patients, avec enregistrement des nouveaux cas d'infections survenant pendant l'hospitalisation et si possible, après la sortie du patient (notamment en chirurgie). La situation de chaque patient, au regard de l'infection, est évaluée pour l'ensemble de son séjour hospitalier et au terme de l'étude(Kim et al., 2000).

2-les moyens de base pour la prévention des infections nosocomiales :

La prévention des infections hospitalières consiste d'une part à poser un certain nombre de « barrière » dans le but est d'empêcher la transmission des germes d'un à un autre, du personnel au patient du patient au personnel, ou du matériel au patient. D'autre part à traiter le malade infecté avec un antibiotique adéquat pour réduire le réservoir.

Il faut distinguer les six mesures de base applicables dans tous les établissements et qui devraient être connues par l'ensemble des usagers. Les mesures additionnelles pour chaque type d'infection qui s'adressent essentiellement aux professionnels(OMS, 2002).

a)Dépistage des patients à risque à l'admission : et isolement de ces patients à risque en chambre privée pour éviter la contamination des autres patients. L'isolement «en cohorte» dans une unité de soins dédiée est préférable à l'absence d'isolement mais n'est pas la solution optimale. On ne peut isoler dans une même unité de soins les patients colonisés ou infectés par des bactéries différentes sous peine de contaminations croisées entre les uns et les autres. On ne peut exiger des médecins et infirmiers qu'ils isolent les patients à risque dans des chambres privées s'ils n'en ont pas à la leur disposition. Ces précautions d'isolement ne sont nécessaires que pour 2% des malades admis à l'hôpital. De nos jours, dans la plupart des hôpitaux, on utilise un système d'isolement par

catégories, ce système est basé sur la classification des maladies selon leur mode probable de dissémination et comprend un ensemble de procédures bien codifié.

b) Hygiène des mains avant et après tout contact avec un patient : Le respect rigoureux de cette mesure par le personnel et les usagers permet à lui seul de diminuer de 50% le nombre d'infection nosocomiale en quelques mois(OMS, 2002).

c)Mesures barrières : blouse, gants, masque - pour tout contact avec un patient colonisé ou infecté(OMS, 2002).

d) Hygiène rigoureuse des locaux et du matériel : literie, mobilier, téléphone, commande de télévision, poignées de porte, claviers d'ordinateurs, brassards de tensiomètres, stéthoscopes, sont autant de foyers permanents de contamination. Une chambre d'hôpital doit être nettoyée, et si nécessaire désinfectée, au moins une fois par jour. Le personnel d'entretien doit être considéré comme faisant partie de l'équipe de soins. Rechercher l'équilibre budgétaire en diminuant le personnel d'entretien c'est ouvrir la porte aux éclosions d'infection nosocomiale(OMS, 2002).

e)Contrôle de l'utilisation des antibiotiques et notion d'antbio prophylaxie :

Les antibiotiques ne sont nécessaires qu'en cas d'infections bactériennes et non pas virales. Leur utilisation inadéquate favorise le développement des résistances bactériennes et par conséquent l'aggravation des d'infectionsnosocomiales. En Europe et aux Etats-Unis, au moins 30% des prescriptions d'antibiotiques sont inutiles ou inadéquates(OMS, 2002).

Tous les établissements de santé doivent avoir un programme d'utilisation des antibiotiques. Le but est d'assurer une prescription économique et efficace de façon à réduire au minimum la sélection de micro-organismes résistants. Cette politique doit être mise en œuvre par le comité hospitalier sur l'utilisation des antibiotiques.

Tout traitement anti-infectieux empirique doit être basé sur une évaluation clinique soigneuse et sur les données épidémiologiques locales concernant les agents pathogènes potentiels et leur sensibilité aux antibiotiques. Des échantillons appropriés pour la coloration de Gram, la culture et, si possible, l'antibiogramme, doivent être prélevés avant le début du traitement. Le traitement choisi doit être efficace, peu toxique, et avoir le spectre d'activité le plus étroit possible.

❖ **Chimio prophylaxie :**

On n'utilise une prophylaxie par antibiotiques que lorsqu'il est établi que ses bénéfices l'emporteront sur ses risques. Parmi les indications approuvées figurent :

-la prophylaxie lors de certaines interventions chirurgicales.

-la prophylaxie de l'endocardite.

Lorsqu'une chimio prophylaxie est indiquée, les antibiotiques doivent être administrés par voie intraveineuse dans l'heure qui précède l'intervention. Le plus judicieux est souvent d'administrer le traitement au moment de l'arrivée en salle d'opération ou de l'induction de l'anesthésie(WHO, 2001).

Partie pratique

Chapitre I : Matériel et Méthodes

1-Cadre d'étude :

Notre travail a pour but l'isolement et l'identification des micro-organismes responsables d'une infection nosocomiale à partir de l'environnement hospitalier et des patients hospitalisés au niveau de deux services d'infectiologie et de pneumologie de l'hôpital Ibn-Zohr Guelma. Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de la microbiologie du département de biologie de l'université de Guelma.

2-Prélèvement et enrichissement:

❖ Matériel de prélèvement:

- .Ecouillons Stériles.
- Eau distillée stérile.
- Boites de Pétri.
- Gélose nutritive.
- Glacière.
- Etiquettes.

❖ Matériel d'enrichissement:

- Tubes à essai.
- Bouillon nutritif.
- Etuve.

2-1-Prélèvement à partir des surfaces:

Les prélèvements ont été réalisés à l'aide des écouillons stériles préalablement humidifiés avec l'eau distillée stérile que l'on frottait au niveau du Drap, poignée de la porte, toilette, réfrigérateur, Sonde nasal, masque d'oxygène ,Lit de malade, Paillasse, chariot ,main d'une infirmière ,l'air.

2-2-Prélèvement à partir de l'atmosphère hospitalière:

Une boîte de Pétri Contenant de la Gélose Nutritive (GN) a été placée ouverte dans la salle de soin pendant 24 heures avant d'être acheminé au laboratoire pour l'incubation à 37°C pendant 24 heures .

Tableau N°0 4 : Numéro des sites et les services des prélèvements effectués

numéro de prélèvement	Sites de prélèvement	service
(1)	Drap	Service d'infectieuse femme
(2)	poignée de la porte	service de phtisiologie Homme
(3)	toilette	service de phtisiologie Homme
(4)	réfrigérateur	Service d'infectieuse femme
(5)	Sonde nasal	Service de phtisiologie Homme
(6)	masque d'oxygène	Service de phtisiologie Homme
(7)	Lit de malade	Service d'infectieuse femme
(8)	Paillasse	Service d'infectieuse femme
(9)	chariot	Service d'infectieuse femme
(10)	main d'une infirmière	Service d'infectieuse femme
(11)	l'air	

3-Enrichissement:

Après avoir effectuer les différents prélèvements, les écouvillonssont introduits dans des tubes de bouillon nutritif. Les tubes sont ensuite acheminés au laboratoire où ils seront incubés à 3C° pendant 24 à 48 heures jusqu'à l'apparition d'un trouble dans le milieu.

4- Isolement:

Matériel d'isolement:

- Anse de platine.
- Gélose Chapman.-
- Gélose Mac- Conkey.
- Gélose nutritive.
- Boites de pétri.
- Bec Bunsen.

a) Les milieux gélosés utilisés sont les suivant :

Gélose nutritive : ce milieu est utilisé pour la culture d'une grande variété des microorganismes, l'utilisation de ce milieu doit conduire à l'obtention de colonies bien isolées(GUEZLAN et al., 2008).

Gélose Chapman: milieu sélective pour l'isolement et la numération des Staphylocoques. Il permet également de différencier les espèces fermentant le mannitol de celle qui ne le fermentent pas .S'il y a fermentation, cela induit une acidification qui entraîne une coloration jaune du milieu en présence de phénol (indicateur de PH)[19]

Gélose Mac Conkey: La gélose de Mac Conkey est utilisée pour l'isolement des entérobactéries, ainsi que la différenciation entre les bactéries qui fermentent le lactose (Lac+) et celle qui ne le fermentent pas (Lac-). Ce milieu est caractérisé par:

- La fermentation du lactose en acide est révélée en présence de rouge neutre par la formation de colonies rose ou rouges.

Les microorganismes lactose- négative présentent des colonies incolores.[19]

Gélose Müller Hinton: La gélose de Müller Hinton a été formulée à l'origine comme un milieu gélosé transparent simple sert à la culture des *Nessiseria* pathogènes et à la réalisation de l'antibiogramme(Guezlan et al., 2008).

b) Méthodes d'ensemencement sur gélose:

L'ensemencement se fait par des stries sur des boites de Pétri contenant les géloses Chapman, Mac Conkey, Gélose Nutritive. L'inoculum est prélevé avec l'anse de platine dans les conditions d'asepsie rigoureuses à partir des milieux d'enrichissement et des colonies a partir de la boite de Pétri (prélèvement de l'air) est déposé sur un point périphérique de la gélose puis disséminé par des stries sur toute la surface, les boite sont marquées puis incubées à 37C° pendant 24heures.

-Isolement à partir de la Gélose Nutritive :

A partir des milieux d'enrichissements présentant une croissance bactérienne (trouble) nous avons ensemencé plusieurs milieu de culture gélosés coulés préalablement dans des boites de pétri, afin d'isoler le maximum des microorganismes présents dans nos échantillon.

Les sites et les modes de prélevèrent sont résumés comme suit:

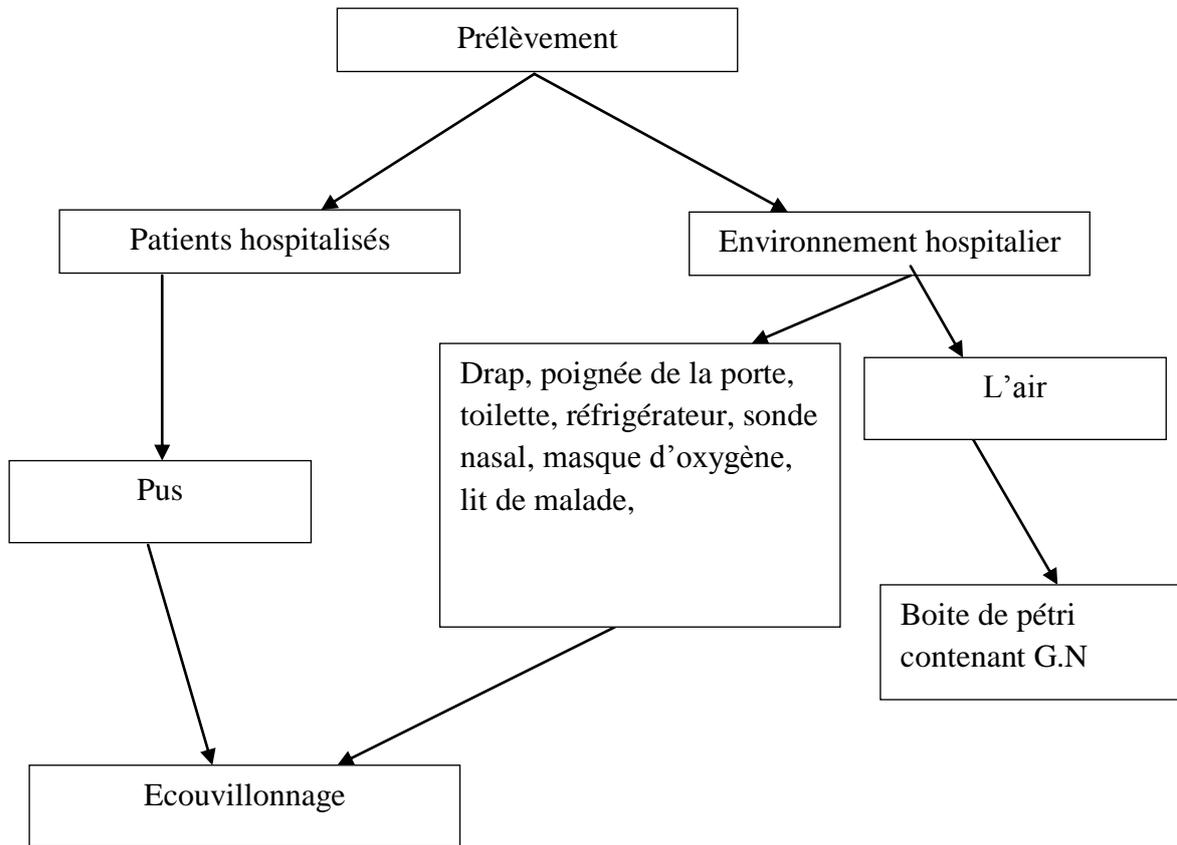


Figure N°03:Schéma représentant les sites et les modes de prélèvements.

5-Recherche et identification des germes :

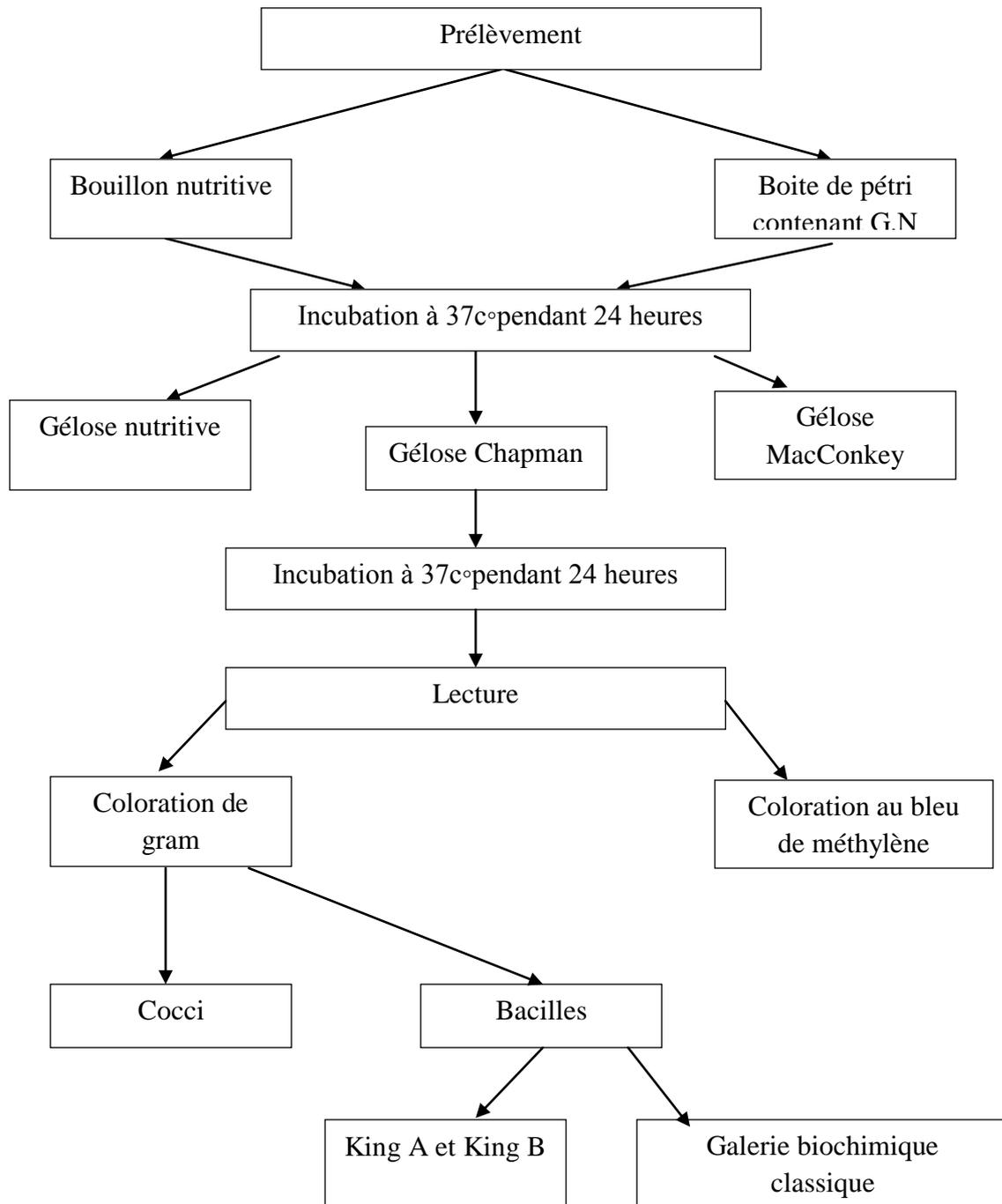


Figure N°04: Schéma explicative du Protocol de travail

6- Méthode d'identification :

6-1- Identification macroscopique :

L'identification macroscopique des germes basée sur l'observation à l'œil nue, l'aspect des colonies obtenues à partir des différents milieux d'isolement. Cette observation servira de moyen d'orientation pour une identification plus approfondie.

6-2- Identification microscopique :

❖ Matériel :

- Microscope optique.
- Lames porte objet bien propre et lamelles.
- Bec bunsen.

❖ Les réactifs consommables :

- Violet de Gentiane.
- solution de Lugol.
- Bleu de Méthylène.
- Alcool –acétine.
- Eau stérile (eau distillée).
- Fuchsine.
- Huile de cèdre.

A partir des colonies suspectes sur les milieux précédents on réalise un examen direct à l'état frais et après coloration. Le but et les méthodes d'examen microscopiques peuvent être résumés dans le tableau suivant.[18]

Tableau N°05 : Le but et les méthodes d'examen microscopique(Guizlane et al , 2008).

	Examen direct a l'état frais	Examen direct après coloration	
Le but d'examen	-une préparation à l'état frais permet d'examiner la mobilité et la formes des bactéries ainsi que leur mode de groupement.	Coloration au bleu de méthylène	Coloration de Gram
		-pour observer la cytologie de prélèvements (présence des polynucléaires) ainsi que la présence éventuelle des germes (forme et groupement).	Permet de diviser les germes en deux parties les bactéries à Gram positif colorées en violet foncé Et les bactéries à Gram négatif colorées en rose. On peut aussi observer la disposition des germes et leur morphologie (cocci, bacilles, coccobacille).
La méthode	-déposer une petite goutte d'eau stérile sur une lame propre. -prélever une fraction de colonies sur gélose (ou prélever une petite goutte de bouillon). -faire une suspension dans la goutte d'eau. -recouvrir d'une lamelle en évitant d'enfermer des bulles d'air -observer rapidement. (X40).	-avant tout coloration il faut réaliser un frottis. -Déposer sur une lame propre une goutte d'eau stérile. -prélever à l'aide de l'anse de platine une colonie bactérienne. -Mélanger à fin d'obtenir une suspension homogène. -Réaliser le frottis en partant du centre de la lame en décrivant avec l'anse des mouvements circulaires de façon à obtenir un étalement. -Sécher et fixer le frottis au dessus de la flamme du bec bunsen.	
		-Après la préparation d'un frottis. -traiter par le bleu de méthyle pendant une minute. -laver abondamment à 1 minute par l'eau de robinet -sécher entre deux papiers buvard. -observer au microscope (X100). L'alcool	-Réaliser un frottis et le fixer -Recouvrir le frottis de violet de gentiane pendant 1 minute . -Rincer à l'eau courante. -acétone jusqu' a la disparition du reflet bleu. -Rincer à l'eau courante -Recouvrir le frottis par la Fuchsines pendant 30secondes -Rincer à l'eau courante, égoutter puis sécher la lame -observer au microscope à (X100). immersion après avoir déposer une goutte de l'huile de cèdre au centre de lame.

6-3- Etudes des caractères biochimiques :

❖ Les entérobactéries :

Galerie biochimique classique :

Dans ce travail nous avons utilisé la galerie biochimique classique dont les caractéristiques sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau N°06 : Les caractéristiques de la galerie biochimique classique :

Milieux	Ensemencement	Caractères recherchés	Résultats attendus
TSI	Ensemencer abondamment la surface par des stries serrées, puis le culot par simple piqure. Mettre à l'étuve à 37C° pendant 24h.(Harley et al.,2010).	-utilisation du glucose. - utilisation du sa saccharose. - utilisation du lactose. -production H2S. - production du gaz.	-virage de la couleur vers le jaune : glucose, saccharose et lactose positif. -formation des taches noires : production d'H2S. -la présence des bulles de gaz dans le culot, parfois même une surélévation de la gélose signifie la production de gaz.
Citrate de Simmons	-l'ensemencement de la pente se fait par une strie longitudinal au fil droit, à partir d'une suspension bactérienne. -ne pas visser le bouchon à fond afin de permettre les échanges gazeux. -Incuber à 37C° pendant 24h.(Harley et al. ,2010).	-Utilisation de citrate comme unique source de carbone et se traduit par une alcalinisation de milieu.	-virage de la couleur du milieu vers le bleu 
Mannitol mobilité	-Ensemencer le milieu par piqure d'un fil droit. -Incuber à T°optimal Pd 24h.[20]	-mannitol. -Mobilité.	- <u>caractère mannitol</u> : Apparition de couleur jaune. - <u>la mobilité</u> : Les bactéries très mobiles peuvent se déplacer dans la gélose molle (formation d'un voile autour de la piqure). 

<p>Urée indole</p>	<p>- Ensemencer largement. -incuber à 37 C° Pd 24h. -Test Indole : Après incubation on ajoute à la culture le réactif de Kovacks. [20]</p>	<p><u>Urèase :</u> -Enzyme hydrolysant l'urée, activité détectable par le suivi de l'alcalinisation. <u>-Indole :</u> Les tryptophanes ; après addition du réactif deKovacks., le diméthyle amino-4-benzaldéhyde contenu dans le réactif deKovacks. réagit avec l'indole produit par l'activité des tryptophanes et forme un composé coloré en rouge.</p>	<p><u>-Urèase(+)</u> : Apparition de couleur rose.</p>  <p><u>-Indole (+)</u> : Apparition d'un anneau rouge à la surface.</p> 
--------------------	--	---	---

Tableau N°07: Les caractères différentiels des Entérobactéries.

	Mobilité	Mannitol	H 2S	Urée	Citrate de Simmons	Indole	Saccharose
<i>E. coli</i>	+	+	-	-	-	+	D
<i>Klebsiellapneumoniae</i>	-	+	-	+	+	-	+
<i>Proteuxvulgaris</i>	+	-	+	+	D	+	+

(+):positif (-) Négatif D : Variable

6-4- Identification des Pseudomonas:

-Ensemencement de milieux sélectif King A et King B:

Le milieu de King (milieu King A et milieu King B) permettent de différencier entre les différences espèces du genre *Pseudomonas*, par la mise en évidence de la production de pigments spécifiques (Arlet G, 2009).

➤ **Principe :**

L'élaboration des pigments est influencée par la composition du milieu, ce qui justifie l'utilisation de deux milieux différents : King A et King B.

-la production de pyocanine, due spécifiquement à *Pseudomonas aeruginosa*, est favorisée par la présence d'ions inorganiques. La recherche de la production de *pyocanine* est effectuée sur milieu King A. la production de pyoverdine est favorisée par une teneur élevée en phosphate. La recherche de la production de pyoverdine est effectuée sur milieu King B (Arlet G, 2009).

➤ **Technique :**

A partir d'une culture sur gélose, ensemercer les milieux King A et KingB en faisant une strie à la surface de la gélose avec l'anse. L'incubation à 37C° pendant 24 heures. La présence des pigments diffusibles se traduit par l'apparition d'une couleur qui peut diffuser sur toute la pente :

-couleur bleue sur le milieu King A (présence de pyocyanine).

-couleur jaune-vert fluorescent sur le milieu King B (présence de pyoverdine) sous UV (Arlet G, 2009).

Aspect du milieu après utilisation	
	
King B	King A
Pyoverdine(+)	Pyocyanine (+)

(+) : la production de pigment est positive ;(-) : la production de pigment est négative.

Figure N°05 : lecture des milieux sélectifs de *Pseudomonas* après l'incubation

6-5- Identification des Staphylocoques :

***Test Coagulase :**

➤ **Principe :**

La coagulase libre est une enzyme libérée dans le milieu au cours de la culture par *Staphylococcus aureus*. Sa mise en évidence permet seule, d'affirmer la présence de *S.aureus*. Cette enzyme est capable in vitro de coaguler le plasma.(Andre et al., 2008).

➤ **Technique :**

Ce test réalisé selon les étapes suivantes :

-Ensemencer le milieu cœur cerveau (milieu liquide) avec les colonies de Staphylocoque pathogène (colonies jaunes).

-Dans un tube à hémolyse stérile introduire 10 gouttes du plasma et 10 gouttes d'une culture de 24 heures en bouillon cœur cervelle.

-considérer que la réaction à la coagulase est positive quand le coagulum occupe plus des trois quart du volume initialement occupé par le liquide (Andre et al., 2008).

➤ **Lecture :**

La lecture de ce test est représentée dans le tableau suivant :

Tableau N°8 : Résultats de test Staphylocoagulase.

	
<p>Coagulation du plasma → Coagulase (+)</p> <p>→ <i>Staphylococcus aureus</i></p>	<p>Pas de Coagulation du plasma →</p> <p>Coagulase(-) → ininterprétable →</p> <p>faire d'autres tests (ADN ase thermostable, recherche protéine A, recherche récepteur au fibrinogène.</p>

7-Antibiogramme :

7-1- Intérêt de l'examen :

L'antibiogramme permet d'étudier la sensibilité et la résistance des germes aux antibiotiques.

Dans notre étude, l'antibiogramme à été réalisé par la méthode de diffusion sur gélose, la technique est appliquée sur deux souches (*Staphylocoque*, *E. Coli*) par 5 disques d'antibiotiques (NIT300, B8, FC10, IMP10, TI75).[15]

7-2 - Principe général :

Pour réaliser l'antibiogramme par la méthode des disques, la culture bactérienne est effectuée à la surface d'une gélose spécialement étudiée, la gélose de Muller – Hinton.

Des disques pré imprégnés d'une dose connue d'antibiotique sont déposés à la surface de la gélose. L'antibiotique diffuse à partir du disque en créant un gradient de concentration minimale inhibitrice. Les caractères de sensibilité ou de résistance de la souche bactérienne en seront déduits.(**Bingen e.et al.2011**).

7-3- Milieu pour antibiogramme :

-Doit être coulé en boites de pétri sur une épaisseur de 4 mm

-les géloses doivent être séchées avant l'emploi. .(**Bingen e.et al.2011**).

Préparation de l'inoculum :

-A partir d'une culture pure de 18 à24 h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolée et parfaitement identiques, utiliser un écouvillon pour prélever plus facilement les colonies bactériennes.

-Bien décharger l'anse ou l'écouvillon dans 5 à10 ml d'eau physiologique stérile.

-Bien homogénéiser la suspension bactérienne.[21]

7-4- Ensemencement :

-Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.

-l'essorer en le pressant fermement (et en le tournant)contre la paroi interne du tube, afin de décharge au maximum.

-Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.

-Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boite de 60°a chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même et on finit l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

-Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.[21]

7-5- Application des disques d'antibiotiques :

-Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotique sur une boîte de 90mm.

-Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces bactériologiques stériles et ne pas déplacer les disques après application.[22]

7-6- Conditions d'incubation : Respecter la température, l'atmosphère et la durée d'incubation recommandée pour chaque bactérie.[22]

7-7- Lecture :

-Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition en millimètre .

-pour les bactéries testées sur Müller –Hinton simple, les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de pétri fermée.

-pour les bactéries testées sur Muller –Hinton simple, les mesures de diamètres de zones d'inhibition seront prises, boîte de pétri ouverte et bien éclairée.

-Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes. Classer la bactérie dans l'une des catégories S, R ou I.[23]

Résultat

Chapitre II : Résultats et Discussion

1. Résultats de l'enrichissement :

Les résultats de l'enrichissement apparaissent après une culture de 24 heures. Ou on a constaté un trouble au niveau de tous les tubes à l'exception le tube de l'enrichissement des instruments médicaux stériles.



Figure N°6 : résultat de l'enrichissement.

2-Aspect macroscopique des colonies après l'isolement :

Après un temps d'incubation de 24 heures à 37°C, l'examen macroscopique sur les milieux utilisés Gélose Nutritive (GN), Chapman (Chap) et Mac Conkey (MC) à montré les différents caractères cultureux des colonies obtenus. Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau N°9 : Résultats de l'isolement des différents prélèvements effectués

Milieu N° De prélèvement	GN	MC	Chapman
(1)	-Petite colonies blanchâtres	×	petite colonies blanchâtres
(2)	-colonies de taille moyenne blanchâtres. -Petites colonies jaunes	×	-Petites colonies jaunes. -Virage du milieu au jaune.
(3)	-Petites colonies jaunes.	-Petites colonies jaunes. -Virage du milieu aux vert.-	-Petites colonies jaunes. -Virage du milieu aux vert.-
(4)	-Petites	-Petites colonies	-Petites colonies

	colonies blanchâtres. Petites colonies jaunes.	roses.	jaunes. -Virage de milieu aux jaunes.
(5)	-Petites colonies blanches. -Virage du milieu aux bleu-vert.	×	-Petites colonies blanches
(6)	-Petites colonies blanches.	-	-Petites colonies blanches.
(7)	-Grandes colonies blanchâtres. -Petites colonies jaunes. -Petites colonies blanches.	-Grandes colonies blanchâtres.	-Petites colonies blanches.
(8)	-Petites colonies jaunes et blanchâtres.	×	-Petites colonies blanches.
(9)	-	×	-
(10)	-	×	-
(11)	-Petites colonies blanches et des colonies jaunes	×	-

(×) : absence de culture.

(-) : résultat négatif



Figure N°7: culture sur Gélose à partir de l'échantillon(1)



figure N°8: culture sur Mac Conkey à partir de l'échantillon(3)



Figure N°9: culture sur Chapman a partir de l'échantillon(8)



Figure N°10 : culture sur Chapman à partir de l'échantillon(4)



Figure N°11 : culture sur Mac Conkey à partir de l'échantillon(3)

3-Examen microscopique :

Pour toutes les cultures positives, nous avons réalisés des examens directs à l'état frais et après coloration .les résultats de la coloration de gram et l'état frais résumés dans le tableau suivant :

Tableau N°10 : Résultat de l'examen microscopique à l'état frais et après coloration

N° de prélèvement	Coloration de gram
(1)	Bacilles à gram (+)
(2)	Bacilles à gram (+) Cocci à gram (+)
(3)	Cocci à gram(+)
(4)	Bacilles à gram (+) Cocci à gram (+)
(5)	Bacilles à gram (+)
(6)	Cocci à gram(+) Bacilles à gram (+)
(7)	Cocci à gram(+) Bacilles à gram (+)
(8)	Cocci à gram(+)

Nous avons distingué trois types de cellules bactériennes à partir de toutes les colonies prélevées. (Figure N°12, 13,14)



Figure N°12 : Galerie biochimique classique pour *Staphylococcus epidermidis* partir de l'échantillon(3)



Figure N°13 : galerie biochimique classique pour *E.coli* à partir de l'échantillon (5)

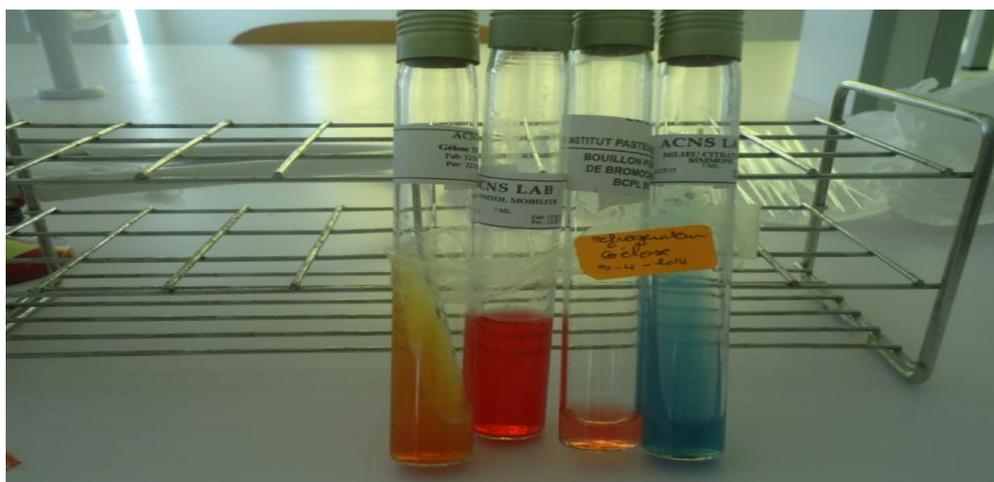


Figure N°14: galerie biochimique classique pour *Proteus vulgaris* à partir de l'échantillon (4)

4-Pour les Pseudomonas :

Tableau N°11 : identification de *Pseudomonasaeruginosa*

test prélèvement	King A	King B
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+

Après l'incubation du milieu King A à 37C° pendant 24 heures nous avons observé la présence de pyocyanine qui se traduit par la couleur.

5-Antibiogramme des germes isolés :

Les résultats d'antibiogrammes effectués sur deux souches bactériennes et 5antibiotiques 2annexes permis d'obtenir les résultats mentionnés dans le tableau ci-dessous :

Tableau N°12: résultat de l'antibiogramme

Antibiotique Souches	Nitrofurantoin	Bacitracine	Acide fusidique	Imipenème	Ticarcilline
<i>E. Coli</i>	S	R	R	S	R
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	S	S	S	S	S

R : Résistant

S : Sensible

Discussion :

Notre travail a pour but l'isolement et l'identification des bactéries responsables des infections nosocomiales à partir de 11 prélèvements effectués au niveau de deux services d'infectiologie et de pneumologie à l'hôpital Ibn-Zohr Guelma.

Nos analyses bactériologiques ont permis d'identifier plusieurs espèces bactériennes pathogènes tels que *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *E.coli*, *pseudomonas aerogenosa*, *Staphylococcus epidermidis* et *staphylococcus saprophyticus*.

Les résultats des aspects macroscopiques obtenue montrent la présence des colonies sur tous les milieux utilisés Gélose nutritif, Mac Conkey et Chapman. La coloration de Gram a permis de distinguer deux types de cellules bactériennes à partir des colonies prélevées (cocci et bacilles).

L'étude de la galerie biochimique des souches isolées a montré les espèces suivantes :

Dans les prélèvements des draps et poignées de porte : présence de *Klebsiella pneumoniae*.

Dans le prélèvement des toilettes : présence de *Staphylococcus epidermidis* .

Dans le prélèvement de paillasse, lit de malade et réfrigérateur du service : présence de *Proteus vulgaris* et *E.coli*.

Dans le prélèvement issue des sondes nasales et masques d'oxygène : présence de *E.coli* et de *Pseudomonas aeruginosa*.. Ces deux bactéries sont principalement présent dans la flore nasale des malades d'où la probable contamination par les malades lors de l'utilisation de ces masques.

L'absence de germes au niveau de prélèvements suivants : les mains d'une infirmière, le chariot et l'air.

Nos résultats d'identification ont montrés une prédominance des entérobactéries suivie par les staphylocoque ont montré la prédominance staphylococcus, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* par rapport aux entérobactéries.

L'existence de cette variété d'espèces bactériennes au niveau de plusieurs sites plus ou moins en contact directe avec le malade, peut être expliqué par des contaminations croisées dues au mouvement du personnel et au des instruments entre ces différents services.

Conclusion

Conclusion :

Dans l'intérêt de notre travail qui se base sur l'isolement et l'identification des germes responsables des infections nosocomiales au niveau de deux services d'infectiologie et de pneumologie de l'hôpital Ibn-Zohr Guelma, plusieurs souches bactériennes ont été identifiées.

L'étude de l'antibiogramme sur les germes isolés a montré que certaines d'entre eux sont résistantes aux antibiotiques et de ce fait il est indispensable de faire un choix judicieux avant l'utilisation des antibiotiques bien sur en fonction du germe identifié.

Enfin, nous recommandons à ce que la prévention de ces infection passe par un contrôle de l'hygiène , et en plus la connaissance de l'épidémiologie des principaux facteurs de risque infectieux et l'écologie bactérienne doit permettre un diagnostic rationnelle de la prophylaxie des infection .

« Au lieu de s'ingénier à tuer les microbes dans les plaies ne serait il pas plus raisonnable de ne pas les introduire? » .

Louis Pasteur

Références

Bibliographiques

AHOYO TA, BANKOLE HS, ADEOTI FM, GBOHOUN AA, ASSAVEDO S, AMOUSSOU-GUENOU M, KINDE-GAZARD DA, PITTETD.(2014) Prevalence of nosocomial infections and anti-infective therapy in Benin: results of the first nationwide survey in 2012. *antimicrobresist infect control*. 2014 May 14; 3:17.

AMERICAN SOCIETY OF HEALTH SYSTEM PHARMACISTSASHP.(1986) Statement on the pharmacist's role in infection control *Am J HospPharm*, 1986, 43: 2006 –2008.

AMIAR manel, BENDJAMA ibtissem,(2011) les infections nosocomiales, département d'écologie et génie de l'environnement, université de Guelma, 49p (consulté le 13/01/2014).

ANDRE J, KATSANIS G, BOIRIER. J; CTALA M. (2007-2008).*Histologie : organes*, . Université Bière et Marie Curie :11,15.

ARLET G, CHAMPS C. (2009).*Annales du Contrôle Nationale de Qualité des Analyses de Biologie Médicale* .p:4, 5,6.

BEUCAIRE G.(1997) Infections nosocomiales. *Epidémiologie, critères du diagnostic, prévention, principes de traitement*. *La revue du praticien*; 47: 201-209.

BINGEN E., P COURVALIN, R LECLERCQ. (2011) *L'Antibiogramme*. Editions ESKA, BARRISSE.266

BOYCE JM, POTTER-BYNOE G, CHENEVERT C, KING T.(1997) Environnemental contamination due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* : possible infection control implications. *Infect Control HospEpidemiol* ; 18 : 622-9.

CASTANHEIRA M, MENDES RE, WOOSLEY LN, . (2011) Trends in carbapenemase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella spp.* from Europe and the Americas: report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme (2007-09). *Journal of antimicrobial chemotherapy*;66(6): 1409-1411.

CELINE DROLET CLAUDE MARCIL GEORGES BENDAVID RICHARD MARCHAND ROBERT PRUD'HOMMELUCIE BEAUDREAU.(2007)Principe généraux d'aménagement en prevention et en contrôle d'infection nosocomiale 2° edition.340

DUCKI, S ; FRANCINI N ; LANCE P ; BERHAILI H ; SETTA K.(2004) Zone à environnement maîtrisé : comparaison de six méthodes de mesure du taux de renouvellement d'air ; Techniques hospitalières; (683) : 34-38.

GAMBOTTI L, RAPHAËLE G, FABRY J.(2001)Etablir un programme de surveillance des infections en hospitalisation à domicile. HygièneS; IX, 1: 31-37.

GARNER JS, JARVISWR, EMORITG, . (1988)CDC definitions of nosocomial infections. Am J Infect Control 1988; 16: 128-140.

G. DUCEL, FONDATION HYGIE, GENEVE, SUISSEJ. FABRY, (2008)Université Claude-Bernard, Lyon, France Prévention des infections nosocomiales Guide pratique 2 édition

GUEZLANE-TEBIBEL N, KAHLOUCHE B, ATHMANI-GUEMOURI S.(2008) Microbiologie. Edn 1, Office des publications universitaires, Alger, 2008, 99-100.

HARLEY E, KLEIN J.(2010)Microbiologie.3ème édition .de Boeck,Bruxelles.P : 543, 578,580.

KIM JM .(2000)Multicentresurveillance study for nosocomial infections in major hospitals in Korea. Am J Infect Control, 28:454–458

KAMALELDIN B S, AL-JARBOU A N, ALROUJI M, ET AL-HARBI H O. (2014)Surveillance of antimicrobial resistance among clinical isolates recovered from a tertiary care hospital in Al Qassim, Saudi Arabia. Int J HealthSci (Qassim). Jan 2014; 8(1): 3–12.

Référence Bibliographique

MERGOUD.LILIA (2004) Etudes bactériologique des bactéries isolées en milieu hospitaliers.Mémoire de magistère en Microbiologie appliquée. université de Badji Mokhtar Annaba pp 2-17(consulté le 15/02/2014)

RAYMOND J, AUJARD Y, (2000)EuropeanStudy Group. Nosocomial Infections in Pediatric Patients: A European, Multicenter Prospective Study. Infect Control HospEpidemiol, 21:260–263.

SAVEY A, TROADEC M.(2001) Le Manuel du CLIN, un outil pour une demande de qualité — Coordination C.CLIN Sud-Est. Hygiènes, IX:73–162.

STAMMN E.(1986)Nosocomial urinary tract infection Bennt.Rachman.P.S hospital infection.p:347-384.

TALON D, LALLEMAND DE CONTO S, THOUVEREZ M, BERTRAND X. (2004) résistance aux fluoroquinolones et aux B-lactamines des souches cliniques isolées en Franche-Comté. PathologieBiologie2004 ; 52 : 76-81.

WALSH TR, WEEKS J, LIVERMORE DM, ET AL. (2011)Dissemination of NDM-1positive bacteria in the New Delhi environment and its implications for human health: an environmental point prevalence study. The Lancet infectiousdiseases; 11(5): 355-362.

Les sites Internet:

- [1] http://www.utc.fr/~farges%20/dess_tbh/99-00/Projets/Infections_Nosocomiales/Rapport_IN/Rapport_1.html(consulté le 24/12/2013)
- [2] <http://www.advin.org/documentation-generale/les-principaux-facteurs-de-risques-des-infections-nosocomiales.html>(consulté le 30 /12/2013)
- [3] <http://www.hopital.fr/Hopitaux/Vos-dossiers-sante/Infections-nosocomiales>(consulté le 06/01/2014)
- [4] http://microcsb.net/IMG/pdf/Boye_Agents_d_Infections_nosocom_texte_EPU.pdf(consulté le 15/01/2014)
- [5] www.outcomerea.org/.../178-Escherichia-coli-definition-epidemiologie(consulté le 24/01/2014)
- [6] <http://www.vulgaris-medical.com/encyclopedie-medicale/infections-nosocomiales-definition>(consulté le 01/02/2014)
- [7] <http://www.who.int/gpschttp://www.who.int/gpsc/background/fr//background/fr/>(consulté le 07/02/2014)
- [8] <http://www.advin.org/documentation-generale/les-principaux-facteurs-de-risques-des-infections-nosocomiales.html>(consulté le 13/02/2014)
- [9] http://whqlibdoc.who.int/hq/2008/WHO_CDS_CSR_EPH_2002.12_fre.pdf 2002(consulté le 20/02/2014)
- [10] http://microcsb.net/IMG/pdf/Boye_Agents_d_Infections_nosocom_texte_EPU.pdf(consulté le 20/02/2014) (consulté le 1/03/2014)
- [11] http://microbia.free.fr/TS2ABM/Fiches_EOT-TS1/EOT-Acinetobacter-Stenotrophomonas.pdf(consulté le 18/03/2014)

Référence Bibliographique

- [12] http://www.sfar.org/acta/dossier/archives/ca00/html/ca00_29/00_29.html(consulté le 26/02/2014)
- [13] <http://sante-medecine.commentcamarche.net/faq/14225-streptocoque-definition>(consulté le 27/02/2014)
- [14] <http://www.cclinparisnord.org/Guides/DepliantBMR.pdf>(consulté le 28/02/2014)
- [15] <http://ecdc.europa.eu/fr/eaad/antibiotics/Pages/facts.aspx?MasterPage=1> (consulté le 6/04/2014)
- [16] <http://www.microbiologie-medicale.fr/mycologie/identificationchampignons.html> (Brigitte VERON - Collectif Photo-Reims) (consulté le 09/04/2014)
- [17] <http://www.chu-rouen.fr/page/mesh-descripteur/acinetobacter>
<http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/POLY.Chp.3.html>(consulté le 11/04/2014)
- [18] <http://anne.decoستر.free.fr/bgn/pseudo.html>(consulté le 20/04/2014)
- [19] <http://www.biocar-diagnostics.fr> tout les géloses(consulté le 29/04/2013)
- [20] <http://www.microbiologie-medicale.fr/examenmicroscopique/gram.html> (consulté le 07/05/2014)
- [21] <http://www.microbiologie-medicale.fr/examenmicroscopique/gram.html> (consulté le 15/05/2014)
- [22] <http://www2.ac-lyon.fr/enseigne-biotech/microbio/test-microbiologie2.html> (consulté le 22/05/2014)
- [23] <http://www2.ac-lyon.fr/enseigne/biotech/microbio/milieux.html> (consulté le 30/05/2014)
- [24] Décret n° 88-657 du 6 mai 1988 relatif à l'organisation de la surveillance et de la prévention des infections nosocomiales dans les établissements d'hospitalisation publics et privés participant au service public hospitalier :
<http://www.legifrance.com/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000000504841>(consulté le 02/06/2014)

Annexe

Annexe:

Les milieux de culture

1-Milieu de Chapman

Composition

-Peptone tryptique de caséin	2gr
-Extrait de viande.....	1gr
-Proteose peptone N3.....	9gr
-Na Cl.....	75gr
-Mannitol	10gr
-Agar	15gr
-Rouge de phénol	0,025gr
-Eau distillée	1000ml

Préparation

Après dissolution tous les ingrédients dans l'eau distillée ajuster le pH à 7,5 et stériliser à 121°C pendant 20 m.

2_ Milieu gélose de MacConkey:

Composition:

-bio- gelytose.....	17gr
-bio-Polytose	3gr
-Agar	12gr
-lactose	10gr
-Sel biliaires	5gr
-NaCl.....	5gr
-Rouge neutre.....	0,04gr
-eau distillé.....	1000gr

-Préparation:

Après dissolution tous les ingrédients dans l'eau distillée ajuster le PH à 7,4 et stériliser à 121°C pendant 20 mn.

3-Gélose nutritive:

Composition:

-extrait de viande de l'oeuf.....	1g
-Agar	15g
--peptone	5g

Annexe

- Chlorure de sodium15g
- extrait de levure2g

Préparation :

Verser 28g dans un litre d'eau distillée. Ajuster le PH à 4. Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

-Gélose Müller-Hinton

Composition:

- Hydrolysate acide de caséine17,5g
- Infusion de viande2g
- Amidon soluble1,5g
- Agar agar bactériologique17g
- Eau distillée1000ml

Préparation

- Mettre en suspension 38g de milieu déshydraté (BK048) dans 1 litre d'eau distillée.
- porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Stériliser à l'autoclave à 115°C pendant 15 minutes.
- PH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,3±0,2.

Milieu King A:

- Bacto-peptone20g
- Agar15g
- Glycérol C.P10g
- K₂H₂SO₄ anhydre15g
- MgCl₂ anhydre1,4 g
- Eau distillée 1000ml

Milieu King B:

- Proteose peptone (Difco)20g
- Agar15g
- Glycerol C.P10g
- K₂H₂SO₄ anhydre15g
- MgCl₂ anhydre1,4g
- Eau distillée 1000ml

Milieu TSI:

- Agar 12g/L

Annexe

-Extrait de l'œuf	3g/L
-Extrait de levure	3g/L
-Peptone	20g/L
-Lactose.....	10g/L
- Saccharose	10g/L
-NaCl.....	5g/L
-Glucose	1g/l
-Citrate ferrique.....	3g/L
-Thiosulfate de sodium	3g/L
-Rouge de phénol	0,025g/L
-Eau distillée	1000ml
-Ajuster le PH a.....	7,4

Milieu citrate de Simmons:

-Chlorure de sodium	5g
-Sulfate de magnésium.....	0,2g
-Phosphate d'ammnim POH.....	1g
-Phosphate di potassique POHK.....	2g
-citrate trisodique	2g
-Solution de bleu bromothymol %	8ml
-Agar	15g
-Eau distillée	1000ml

Ajuster le PH a7_7,2

Milieu mannitol- mobilité:

-Peptone pancreatique de viande	20g/L
-Agar-agar	4g/L
-Mannitol	2g/L
-Nitrate de potassium	1g/L
-Rouge de phénol solution a 1%	4ml
-Eau distillée	1000ml

Ajuster le PH a 7,2

Milieu urée indole:

-L-tryptophane	3g
-phosphate monopotassique	1g
-phosphate di potassique	1g

Annexe

-Chlorure de sodium	5g
-Uree	20g
-Solution rouge de phénol a 1%	2,5ml
-Alcool a95°	10ml
-Eau distillée	1000ml
Rouge de méthyle:	
-Rouge de méthyle	0,5g
-Alcool ethliquea 60°	100ml
Colorants	
Lugol: Elle. Est utilisée sur la coloration de Gram pour fixer le colorant	
- Iode	1g
-Iodure de potassium.....	2g
-Eau distillée	3g
violet de gentiane: Elle est utilisée pour colorer les bactéries.	
-Violet de gentiane.....	1g
Ethanol a90%	1ml
-Phénol	2g
-Eau distillée	100ml

Résumé :

Contractées dans un établissement de santé, les infections nosocomiales constituent un problème de santé publique majeur ces dernières années. L'augmentation des infections nosocomiales est en partie liée aux progrès diagnostiques et thérapeutiques de la médecine.

L'objectif de notre étude est d'isoler et de diagnostiquer certains types de bactéries qui circulent en abondance à l'hôpital en effectuant des différents prélèvements au niveau de deux services médicaux : Pneumologie et Maladies infectieuses. Les tests de sensibilité aux antibiotiques ont été réalisés pour les souches bactériennes isolées.

La lutte contre les infections nosocomiales est difficile car elle se doit d'agir sur plusieurs facteurs : qualité des soins, sécurité de l'environnement hospitalier, hygiène des mains, port des gants... sont autant de domaines qui doivent faire l'objet d'une vigilance renforcée et d'actions de prévention.

Les mots clés : infection nosocomial, isolement, identification, sensibilité et résistances aux antibiotiques.

Abstract:

Contracted in a health facility, hospital-acquired infections are a major public health problem in recent years. The increase of nosocomial infections is partly related to diagnostic and therapeutic advances in medicine.

The aim of our study was to isolate and diagnose some types of bacteria that are circulating in the hospital by performing different samples at two medical services: Pulmonary and Infectious Diseases. The antibiotic susceptibility tests were performed for bacterial isolates.

The fight against nosocomial infections is difficult because it must act on several factors: quality of care, safety of the hospital environment, hygiene, wearing gloves ... are all areas that should be of heightened vigilance and preventive measures.

Key words: nosocomial infection, isolation, identification, sensitivity and resistance to antibiotics.

المخلص:

العدوى المكتسبة من المستشفيات هي مشكلة صحية عامة رئيسية في السنوات الأخيرة. زيادة عدوى المستشفيات يرتبط جزئياً إلى التطورات التشخيصية والعلاجية في مجال الطب.

كان الهدف من دراستنا هو عزل وتشخيص بعض أنواع البكتيريا التي تنتشر في المستشفى عن طريق إجراء عينات مختلفة في اثنين من أقسام الخدمات الطبية: أمراض الرئة والأمراض المعدية. وأجريت اختبارات الحساسية للمضادات الحيوية لعزلات بكتيرية.

من الصعب مكافحة عدوى المستشفيات لأنه يجب أن العمل على عدة عوامل: جودة الرعاية، وسلامة البيئة الاستشفائية، والنظافة، وارتداء القفازات في كل هذه المجالات ينبغي أن تكون هناك يقظة شديدة واتخاذ تدابير وقائية.

الكلمات المفتاح: الوسط الاستشفائي-عزل-تشخيص الحساسية والمقاومة للمضادات الحيوية