

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



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

**Domaine :** Sciences de la Nature et de la Vie

**Filière :** Sciences Biologiques

**Spécialité/Option :** Biologie Moléculaire et Cellulaire

**Département :** Biologie

### Thème

---

## Infections nosocomiales (Isolement et identification des bactéries en milieu hospitalier et évaluation de leur résistance aux antibiotiques)

---

Présenté par :

-GASMI ACHOUAK

-MAHBOUBI HIBA

Devant le jury composé de :

President:	Mme MESSIAD R.	M.C.B	Université de Guelma
Examineur :	Mr YOUNSI M.	M.C.B	Université de Guelma
Encadreur :	Mme TABET M.	M.C.B	Université de Guelma

Juin 2024



## *Remerciements*

*Nous souhaitons tout d'abord remercier **Mme MESSIAD R.** Pour avoir accepté de présider le Jury de notre mémoire. Nous remercions vivement **Mr YOUNSIM.** de bien vouloir accepter d'examiner notre travail.*

*Nous tenons remercier notre encadrant de mémoire **Mme TABETM.** qui a dirigé ce travail, ça ne sera jamais suffisant pour lui exprimer notre grande reconnaissance pour la confiance qu'elle nous a accordée pour faire avancer ce travail, pour sa patience, sa gentillesse, et son esprit responsable, critique et rigoureux.*

*Nous remercions très spécialement **Mr TOUATI H.** (chef de département de biologie) pour son extrême serviabilité et son aide.*

***Mme Sabrapour** sa gentillesse et ses conseils.*

*Nous remercions vivement :*

***Mme Mnidjel Nadia,** chef du laboratoire de Bactériologie à l'hôpital Ibn Zohr, et leur équipe **Imen, Meriem et Naima** pour donner la chance de réaliser la partie pratique de ce mémoire,*

*Les Techniciennes De Laboratoire De L'Université **Houda et Hassiba** pour leurs gentilleses et leur aide durant ce travail.*

*Tous les personnels du laboratoire de biochimie du **Dr Tabet A.***

*Le personnel du laboratoire de l'hôpital **BERKANI BOULAARAS –AIN ARBI-***

*Pour leur accueil bras ouvert et son aide.*

## DÉDICACE

*Merci d'abord à Dieu Tout-Puissant, qui nous a aidé et nous a permis d'atteindre ce succès.*

*Avec un énorme plaisir je dédie ce modeste travail*

*A ma chère mère Noura, affable, honorable, aimable. Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance.*

*Je dédie ce travail en témoignage de mon profond cœur. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.*

*A mon cher Père Abd el Rahman, aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.*

*A mes très chers frères Ismail, Fakher el islam, les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous. Mes anges gardiens et mes fidèles compagnons dans les moments les plus sensibles de cette vie mystérieuse.*

*A mes chères sœurs Selsabil et Khadija, vous avez toujours été présentes pour les bons conseils. Votre affection et votre soutien m'ont été d'un grand secours au long de ma vie professionnelle et personnelle.*

*AUX enfants de ma sœur, Lilyan, Abd el Mouhaymen et Farah, ils sont comme une énergie et leur présence m'encourage.*

*A ma chère Ferial, je ne peux trouver les mots justes et sincères pour exprimer mon affection et mes pensées, tu es pour moi sœur et amie sur qui je compte.*

*A mon binôme Heba, je la remercie pour le courage qu'elle m'a donné et tous les moments qu'on a passé ensemble.*



**ACHOUAK**

## DÉDICACE

*A l'aide du Dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce modeste et sérieux travail que je dédie à mes plus chers êtres au monde:*

*Mon cher papa **Riad** qui a sacrifié toute sa vie à fin de me voir devenir ce que je suis, le symbole de la tendresse, du courage, je vous dis infiniment merci Que Dieu vous garde, vous comble de santé, et vous donne longue vie.*

*A ma chère maman, **Dalila** la lumière de ma vie, le bonheur de mon existence qui m'a toujours soutenu en toutes circonstances et qui me donnent de la force et la volonté d'avancer En témoignage de ses prières, sa bénédiction, sa patience et ses sacrifices.*

*A mon petit frère **Djawad** mon bras droite.*

*A mes tendres, gentilles et adorables sœurs **Rayane, Loudjain, Aridj, Zahra et Sadjida** qui je souhaite réussites et persévérance dans tous ce qu'ils empreindront.*

*A mon oncle **arbi saadan** et sa femme Très grand merci Pour l'effondrement et encouragements.*

*À toute mes amies en particulier : **silya .Souhila**. Pour notre amitié et tous les bons moments passés et à venir, pour votre Présence, Vos précieux conseils. Merci à tous et à toutes.*

*A mon binôme **Achouak** que je remercie pour le courage qu'elles M'ont donné et pour tous les moments que nous avons passés ensemble.*



## Sommaire

Dédicace.....	
Liste des figures .....	
Liste des tableaux.....	
Liste des abréviations.....	
Introduction.....	1

## Partie bibliographique

### Chapitre I: Généralités sur les infections nosocomiales

1. Définition.....	5
2. Epidémiologie .....	5
1.1.Infection urinaires (IU) .....	5
3.2. Pneumopathies nosocomiales.....	6
3.3. Infections du site opératoire(ISO).....	6
3.4. Bactériémies nosocomiales .....	6
3.5. Autres infections nosocomiales.....	6
4. Mode de transmission .....	7
4.1. Origines de transmission des IN.....	7
4.1.1. Infections Nosocomiales d'Origine Exogène .....	7
4.1.2. Infections Nosocomiales d'Origine Endogène .....	7
4.2. Types de transmission.....	7
4.2.1. Auto-infection .....	7
4.2.2. Hétéro-infection .....	7
4.2.3. Xéno-infection .....	7
4.2.4. Exo-infection.....	8
5. Agents pathogènes .....	8
5.1. Champignon.....	8
5.2. Virus.....	8
5.3. Bactéries.....	8
5.3.1. Bactéries commensales .....	8
5.3.2. BACTERIES PATHOGENES .....	8
6. Les facteurs favorisant les infections nosocomiales .....	9
7. Préventions et la lutte contre les infections nosocomiales .....	9

### Chapitre II: La résistance bactérienne

1. Définition .....	11
2. Différents types de résistances .....	11
2.1. Résistance naturelle.....	11
2.2. Résistance acquise.....	11
2.3. Résistance croisée .....	11
2.4. Co-résistance.....	12
3. Bactéries multi-résistantes .....	12

4. Mécanisme de la résistance bactérienne aux ATB .....	12
4.1. Inactivation enzymatique de l'ATB .....	12
4.2. Modification de la cible .....	13
4.3. Pompes à efflux .....	13
4.4. Impossibilité d'atteindre la cible (imperméabilité, absence de transport effectif) .....	13

## Partie expérimentale

### Chapitre III: Matériel et méthodes

1. Cadre d'étude .....	16
2. Prélèvement .....	16
2.1. Prélèvement à partir des surfaces sèches .....	16
2.2. Prélèvement à partir des surfaces humides .....	16
3. Isolement des bactéries .....	18
3.1. Gélose nutritive (GN) .....	18
3.2. Gélose Chapman .....	18
3.3. Gélose Mac-Conkey .....	18
3.4. Gélose au cétrimide .....	18
4. Purification des bactéries .....	19
5. Identification .....	19
5.1. Observation macroscopique .....	19
5.2. L'observation microscopique .....	20
6. Identification biochimique .....	22
6.1. Test de catalase .....	22
6.2. Test d'oxydase .....	22
6.3. Galeries biochimiques .....	23
6.3.1. Galerie Api20 E .....	23
6.3.2. Galerie Api 20 NE .....	24
6.3.3. Galerie Api 20 Strep .....	25
6.3.4. Galerie Api staph .....	26
7. Antibiogramme .....	28
7.1. Principe général .....	28
7.2. Milieu pour antibiogramme .....	28
7.3. Préparation de l'inoculum .....	29
7.4. Inoculation des géloses .....	29
7.5. Lecture .....	30

### Chapitre IV: Résultats et discussion

1. Résultats d'enrichissement .....	32
2. Résultats d'isolement et d'Identification .....	33
2.1. Résultats d'examen macroscopique .....	33
2.2. Résultats d'examen microscopique .....	35
2.2.1. Etat frais .....	35

2.2.2. Coloration de Gram.....	35
3. Résultats d'identification biochimique.....	36
3.1. Résultats des tests oxydase et catalase .....	36
4. Résultats des galeries biochimiques .....	37
5. Résultats d'antibiogramme.....	39
6. Discussion .....	41
Conclusion .....	44
Références bibliographiques .....	46
Annexes .....	55
Résumé.....	60

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Méthode d'ensemencement sur les géloses .....	19
<b>Figure 2:</b> Résultats de l'enrichissement sur milieu BN.....	32
<b>Figure 3:</b> Répartition négatives et positives des prélèvements .....	33
<b>Figure 4:</b> Aspect macroscopique sur la Gélose Mac-Conkey .....	35
<b>Figure 5:</b> Aspect macroscopique sur la Gélose Chapman.....	35
<b>Figure 6:</b> Aspect macroscopique sur la Gélose GN .....	35
<b>Figure 7:</b> Aspect macroscopique sur la Gélose Cétrimide .....	35
<b>Figure 8:</b> Bacilles à Gram négatif .....	35
<b>Figure 9:</b> Cocci à Gram positif.....	36
<b>Figure 10:</b> Résultats de test oxydase .....	36
<b>Figure 11:</b> Résultats de test catalase.....	37
<b>Figure 12:</b> Galerie Api 20 NE après incubation.....	38
<b>Figure 13:</b> Galerie Api 20 STREP après incubation .....	38
<b>Figure 14:</b> Galerie Api 20 E après incubation.....	38
<b>Figure 15:</b> Galerie Api 20 STAPH après incubation .....	39
<b>Figure 16:</b> Résultat d'antibiogramme d' <i>Enterobactérie sakazaki</i> .....	40
<b>Figure 17:</b> Résultat d'antibiogramme de <i>Staphylococcus xylosus</i> .....	40
<b>Figure 18:</b> Résultat d'antibiogramme de <i>Pseudomonas putida</i> .....	40
<b>Figure 19:</b> Résultat d'antibiogramme de <i>Staphylococcus saprophyticus</i> .....	40

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Services et sites de prélèvement .....	17
<b>Tableau 2:</b> Principaux caractères d'observation macroscopique. ....	20
<b>Tableau 3:</b> Liste des ATB s utilisés. ....	30
<b>Tableau 4:</b> Résultats positifs et négatifs des prélèvements .....	32
<b>Tableau 5:</b> Caractères cultureux des colonies isolées. ....	34
<b>Tableau 6:</b> Résultats microscopiques de l'état frais et la coloration de Gram. ....	36
<b>Tableau 7:</b> Résultats obtenus des tests catalase et oxydase des bactéries isolées. ....	37
<b>Tableau 8:</b> Les différentes espèces bactériennes identifiées. ....	38
<b>Tableau 9:</b> Les résultats de l'antibiogramme des différentes espèces bactériennes. ....	39

## Liste des abréviations

**API 20E** : Analytical Profile Index 20E (E= Entérobactéries)

**API 20NE** : Analytical Profile Index 20 Non Entérobactéries

**API**: Analytical profile index

**ATB**:Antibiotique

**BMR** : Les bactéries multi résistantes

**BN** : Bouillon nutritif

**CAT**: Chloramphenicol acetyltransferase

**D** : Diamètre de référence

***E. coli*** : *Escherichia coli*

**EBLSE** : les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu

**EPH** : Etablissement Public Hospitalier.

**GN** : Gélose nutritive

**IAS** :Infections associées aux Soins de santé

**IN** : Infection Nosocomiale

**ISO** : Les infections du site opératoire

**IU**: Infection Urinaire

**MDR**: multi-drug resistant bacteria

**MH**: Mueller Hinton

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**PDR**: Pan-Drug resistant bacteria

**VIH** : Virus de l'Immunodéficience Humaine.

**XDR**: Extensively-drug resistant bacteria

# Introduction

### **Introduction**

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), les infections nosocomiales (IN) sont des infections qui surviennent chez un patient à l'intérieur d'un hôpital ou d'un autre établissement de santé. Cette définition englobe les infections contractées à l'hôpital mais qui se manifestent après la sortie du patient, ainsi que les infections professionnelles chez le personnel de l'établissement **(Ducel et al., 2002)**.

Les IN sont connus dans le monde entier et touchent aussi bien les pays développés que les pays pauvres en ressources. Les infections contractées en milieu médical figurent parmi les causes majeures de décès et de morbidité à l'échelle mondiale **(Ducel et al., 2002)**.

Une enquête de prévalence réalisée par l'OMS, dans 55 hôpitaux de 14 pays différents, a montré qu'en moyenne 8,7 % des patients hospitalisés sont touchés par une IN. A tout moment, plus de 1,4 million de personnes à travers le monde souffrent de complications infectieuses acquises à l'hôpital **(Saidoune, 2020)**.

Les antibiotiques (ATB) ont constitué une découverte thérapeutique importante pour la santé humaine. Leur utilisation a permis de diminuer le taux de mortalité et de morbidité mondiale depuis longtemps. Cependant, l'apparition et la dissémination rapide des résistances bactériennes aux ATB sont probablement l'un des problèmes de santé publique les plus inquiétants de ces dernières années **(Goossens et al., 2005)**.

A cet effet, l'instauration d'un système de surveillance des infections nosocomiales résistantes aux ATB s'impose comme une priorité incontestable. Ce dispositif permettra d'évaluer l'efficacité des mesures préventives mises en place en surveillant l'évolution de la fréquence de ces infections **(Dali, 2015)**.

Dans cette optique, notre étude a porté sur l'isolement, l'identification et l'étude de la résistance aux ATB des bactéries isolées à partir de différents services de l'établissement public hospitalier (EPH) Ibn Zohr de la ville de Guelma.

## **Introduction**

---

Ce travail comporte deux parties principales :

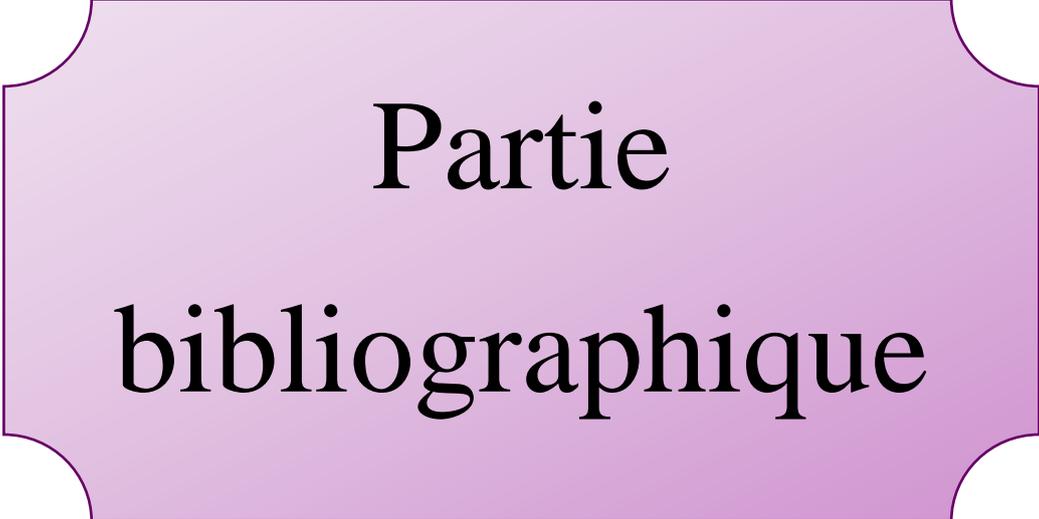
I. La partie bibliographique avec deux chapitres qui traitent les IN et la résistance bactérienne.

II. La partie expérimentale avec deux chapitres :

- Le premier chapitre porte sur la description du matériel et les méthodes d'analyse utilisées.

-Le deuxième chapitre sera consacré à la présentation des résultats obtenus ainsi que leur discussion.

Une conclusion clôturera ce travail où sont récapitulés les principaux résultats.



Partie  
bibliographique

**Chapitre I**  
Généralités sur les  
infections  
nosocomiales

### 1. Définition

Les infections nosocomiales, ou infections associées aux soins (IAS), comme définies par le Centre de Lutte contre les Infections Nosocomiales (CLIN), sont celles contractées pendant un séjour hospitalier et qui n'étaient ni présentes ni en incubation lors de l'admission du patient (Amouso, 2009).

Une IN se développe au moins 48 heures après l'admission à l'hôpital et résulte de l'invasion de l'organisme par des micro-organismes pathogènes (Boulahouat et Aliziane, 2020).

Les infections nosocomiales peuvent affecter diverses personnes en contact avec l'hôpital, y compris les infirmières, les médecins, les aides-soignants, les visiteurs, les livreurs, les gardiens, et d'autres. Cette propagation souligne l'importance de mesures de prévention et de contrôle rigoureuses dans les établissements de santé (Lansinget al., 2003).

### 2. Epidémiologie

L'OMS estime que chaque année, 190 millions de personnes sont hospitalisées dans le monde, et 9 millions contractent une IN, entraînant environ 1 million de décès (Benfreha et Temmouri, 2013).

Les services les plus touchés sont ceux de réanimation, d'hématologie, la chirurgie, et des brûlés (Alfandari, 1997).

En Algérie, de 2004 à 2010, 437 IN ont été signalées. Le taux de morbidité a diminué de 0,43 % en 2005 à 0,24 % en 2010, tandis que le taux de prévalence est passé de 12,6 % en 2003 à 7,7 % en 2010. Cependant, les taux de mortalité et de létalité ont augmenté en raison de bactéries multi résistantes (Toudeft et al., 2012).

### 3. Les types des infections nosocomiales

#### 1.1. Infection urinaires (IU)

Sont les IN les plus courantes, avec 80 % des cas liés à l'utilisation de sondes vésicales à demeure. Bien qu'elles présentent une morbidité moindre par rapport à d'autres IN, elles peuvent parfois causer des bactériémies potentiellement mortelles, et les bactéries en cause proviennent soit de la flore intestinale normale du patient comme *Escherichia coli* (*E.coli*), soit de souches multi résistantes acquises à l'hôpital comme *Klebsiella* (Ducel et al., 2002).

### 3.2. Pneumopathies nosocomiales

Fréquentes chez les patients en soins intensifs sous ventilation artificielle, ont un taux de létalité élevé. Les infections, causées par des microorganismes endogènes ou exogènes, sont difficiles à diagnostiquer spécifiquement sans échantillons microbiologiques. Les facteurs de risque incluent la durée et le type de ventilation, la qualité des soins, la gravité de l'état du patient et les antécédents d'antibiothérapie. Les patients avec convulsions ou altération de la conscience sont également à risque, même sans intubation (**Ducel et al., 2002**).

### 3.3. Infections du site opératoire(ISO)

Les ISO sont définies par la présence de pus provenant de l'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 à l'intervention(**Bruyère et Lafaurie, 2013**).

### 3.4. Bactériémies nosocomiales

Représentent 5 % des IN, mais avec une létalité pouvant dépasser 50 % pour certains microorganismes. Leur incidence, particulièrement pour des microorganismes comme le *Staphylococcus*, est en hausse. Elles surviennent souvent au niveau du site d'insertion ou du trajet d'un cathéter. Les infections proviennent de la flore cutanée et les risques augmentent avec la durée du cathétérisme, l'asepsie lors de l'insertion, et les soins continus du cathéter (**ducel et al.,2002**).

### 3.5. Autres infections nosocomiales

En plus des quatre types principaux, d'autres IN incluent :

- Les infections de la peau et des tissus mous (plaies, ulcères, brûlures, escarres).
- La gastro-entérite, causée principalement par le Rotavirus chez l'enfant et par *Clostridium difficile* chez l'adulte dans les pays développés.
- Les infections de la sphère ORL, de l'œil et de la conjonctive.
- Les endométrites et autres infections génitales post-accouchement (**Ducel et al., 2008**).

### 4. Mode de transmission

#### 4.1. Origines de transmission des IN

##### 4.1.1. Infections Nosocomiales d'Origine Exogène

Ces infections surviennent lorsque le patient entre en contact avec des organismes pathogènes durant son hospitalisation. Les sources possibles incluent la flore transitoire ou résidente du personnel soignant, des visiteurs, des dispositifs médicaux, ainsi que l'environnement et les locaux hospitaliers (Monnet, 2011).

##### 4.1.2. Infections Nosocomiales d'Origine Endogène

Ces infections proviennent de la flore commensale du patient. Les pathogènes étaient déjà présents chez le patient avant l'hospitalisation, notamment au niveau des voies respiratoires, de la peau, du système gastro-intestinal ou génital (Monnet, 2011).

#### 4.2. Types de transmission

##### 4.2.1. Auto-infection

L'auto-infection se produit lorsque le malade s'infecte avec ses propres germes ou ceux de son environnement immédiat. Ces infections, souvent dues à des germes saprophytes devenus pathogènes après des traitements des antibiotiques ou immunosuppresseurs (Hamel, 2005).

##### 4.2.2. Hétéro-infection

L'hétéro-infection survient lorsqu'un agent infectieux est transmis d'un malade à un autre, principalement via le personnel soignant et leurs instruments. Ce type d'infection, courant lors des épidémies, est particulièrement sensible aux mesures prophylactiques (Hamel, 2005).

##### 4.2.3. Xéno-infection

Dans un environnement hospitalier, des infections endémiques ou épidémiques sont introduites par les patients, le personnel soignant et les visiteurs, se propageant par voie aérienne ou par contact direct/indirect. Les conditions hospitalières facilitent leur transmission. Des mesures d'isolement sont souvent nécessaires lorsque l'infection est la principale raison d'hospitalisation, mais elle peut également survenir indépendamment du motif initial de soins (Hamel, 2005).

### 4.2.4. Exo-infection

Se produit en raison de problèmes techniques tels que la stérilisation inefficace, l'utilisation de filtres à air non stériles ou la contamination de l'eau. Les équipements médicaux ou domestiques utilisés près des patients peuvent être contaminés, ce qui peut entraîner des IN, parfois épidémiques (Hamel, 2005).

## 5. Agents pathogènes

### 5.1. Champignon

Les champignons pathogènes sont souvent responsables d'infections opportunistes chez les patients immunodéprimés et ceux qui ont des dispositifs médicaux implantés comme des cathéters centraux ou urinaires. Les espèces de *Candida*, telles que *C. albicans*, *C. parapsilosis* et *C. glabrata*, sont les agents pathogènes fongiques les plus couramment associés aux IAS (Magill et al., 2018).

### 5.2. Virus

Les infections virales représentent 1 à 5 % des IAS (Aitken et Jeffries, 2001). Les hépatites B, C et le Virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH) sont souvent liés à des pratiques dangereuses avec les aiguilles. Environ 5,4 % des infections à VIH sont associées aux soins de santé, principalement dans les pays en développement (Ganczak et Bars, 2008).

### 5.3. Bactéries

Sont les agents pathogènes les plus courants responsables des IN, se divisant en deux catégories.

#### 5.3.1. Bactéries commensales

Normalement présentes dans la flore humaine saine, elles protègent contre les pathogènes mais peuvent causer des infections si les défenses immunitaires sont affaiblies, comme les staphylocoques cutanés à coagulase négative et *E. coli*.

#### 5.3.2. Bactéries pathogènes

Ces bactéries, indépendamment de l'état immunitaire de l'hôte, provoquent des infections graves. Les *Staphylococcus aureus* (Gram positif) causent diverses infections et résistent souvent aux ATB. Les bactéries à Gram négatif, responsables de plus de 50 % des IN,

incluent *E.coli* et *Klebsiella spp*, qui colonisent des sites vulnérables et provoquent des infections sévères (Olivieret Claudine, 2013 ; Ducel et al., 2002).

### 6. Les facteurs favorisant les infections nosocomiales

Les IN sont influencés par plusieurs facteurs :

**Âge des patients :** Les personnes âgées et les nourrissons sont particulièrement vulnérables.

**État de santé :** Les patients souffrant de pathologies spécifiques, comme les déficits immunitaires, sont plus à risque.

**Type de services hospitaliers :** Les services de réanimation et les interventions chirurgicales présentent des risques accrus.

**Durée de l'hospitalisation :** Plus la durée est longue, plus le risque augmente.

**Traitements médicaux :** Certains traitements, tels que les ATB, peuvent diminué la capacité du corps à lutter contre les IN(Koumedjina, 2019).

### 7. Préventions et la lutte contre les infections nosocomiales

La lutte contre les infections associées aux soins est une priorité majeure en santé publique, impliquant une surveillance étroite dans les services à haut risque, une stricte observance des mesures d'hygiène, une gestion prudente des antibiotiques, et des précautions adaptées selon le contexte de l'infection. Bien que le risque zéro soit impossible, des actions préventives peuvent réduire significativement leur incidence et leur gravité. Cela comprend des mesures telles que l'isolement des patients, le renforcement des pratiques d'hygiène, et l'utilisation d'équipements de protection appropriés(Barbut, 2016).



**Chapitre II**  
La résistance  
bactérienne

## 1. Définition

Une souche est considérée comme résistante lorsqu'elle peut supporter une concentration d'ATB significativement supérieure à celle qui inhibe le développement de la plupart des autres souches de la même espèce (**El abdani, 2016**).

Il existe de nombreuses bactéries présentant des résistances multiples dues à l'accumulation de résistances acquises à partir d'une souche bactérienne, à commencer par sa sensibilité initiale aux ATB s. Ainsi, cette souche reste sensible à un nombre limité d'ATB s utilisables en thérapeutique (**Cattoen, 2015**).

## 2. Différents types des résistances

### 2.1. Résistance naturelle

La résistance naturelle, également connue sous le nom de résistance intrinsèque, est une caractéristique propre à une espèce bactérienne et partagée par toutes les souches de cette espèce. Elle peut être attribuée à la présence d'un gène chromosomique commun à toutes les bactéries de l'espèce. Pour chaque classe d'ATB, il existe des espèces bactériennes pour lesquelles l'ATB est inactif en raison d'un défaut de cible ou d'accès à la cible (**Mehdi, 2008**).

### 2.2. Résistance acquise

La résistance acquise est causée par des modifications dans le profil d'expression génique dues à des mutations ponctuelles ou acquises. Ces processus permettent aux bactéries de partager des informations génétiques entre elles, ce qui leur donne un fort pouvoir d'adaptation aux environnements qu'elles habitent (**Springman et al., 2009**).

### 2.3. Résistance croisée

La résistance croisée survient lorsque l'un des ATB présente une résistance à un autre, résultant d'un mécanisme biochimique spécifique. Par ailleurs, la résistance croisée peut se manifester chez tous les membres d'une classe d'ATB, comme c'est le cas pour les 120 sulfamides, ou peut être limitée à quelques membres d'un groupe, comme pour les aminoglycosides, ou peut être liée à des antimicrobiens de classes différentes (**El abdani, 2016**).

## 2.4. Co-résistance

La Co-résistance est définie comme la présence au sein d'une bactérie de différents mécanismes qui lui confèrent une résistance à différentes familles d'ATB s.

Par conséquent, les gènes associés sont fréquemment proches (physiquement liés) et exprimés de manière coordonnée, à l'instar des intégrons (El abdani,2016).

## 3. Bactéries multi-résistantes

BMR sont des microorganismes qui ont développé des résistances à plusieurs familles d'ATB s [01]. Cette multi résistance est une phase critique qui précède l'impasse thérapeutique, affectant à la fois les infections nosocomiales et communautaires, telles que les entérobactéries productrices de bêta-lactamas à spectre étendu (EBLSE). Les BMR peuvent être identifiées à la fois dans les établissements de santé et dans la communauté. Leur prévalence est devenue un indicateur essentiel de l'activité et de la qualité des soins, ainsi qu'un critère d'évaluation dans les processus d'accréditation des établissements de santé [02].

À l'échelle européenne, un consensus récent a établi trois niveaux de résistance aux ATB s :

- Bactéries résistantes à plusieurs médicaments (MDR) : elles présentent une résistance à plus de trois familles différentes d'ATB s.
- Bactéries résistantes à de nombreux médicaments (XDR) : elles conservent leur sensibilité uniquement à une ou deux classes d'ATB s.
- Bactéries résistantes à tous les médicaments (PDR) : elles sont résistantes à tous les ATB s disponibles (Magiorakos et al., 2012).

## 4. Mécanisme de la résistance bactérienne aux ATB

Il existe quatre mécanismes de résistance fréquents retrouvés chez les bactéries Gram négatives et Gram positives.

### 4.1. Inactivation enzymatique de l'ATB

La résistance bactérienne par inactivation enzymatique des ATB s est courante et implique la modification de la structure de l'ATB par des enzymes. Ces enzymes peuvent être produites par la bactérie elle-même ou introduites par des gènes extrinsèques portés par des plasmides ou des transposons. Elles altèrent le site actif de l'ATB, empêchant son interaction avec sa cible et entraînant une perte d'efficacité. Les types de réactions catalysées comprennent

l'hydrolyse, l'acétylation, la phosphorylation, la nucléotidylation, l'estérification, la réduction et l'addition de groupements comme le glutathion. Par exemple, l'enzyme CAT rend le chloramphénicol inactif en l'acétylant, l'empêchant de se lier au ribosome. En résumé, l'inactivation enzymatique est un mécanisme crucial de résistance bactérienne qui favorise la survie des bactéries en présence d'ATB s (Muylaert et Mainil, 2012).

#### 4.2. Modification de la cible

Ce type de résistance est d'origine chromosomique ; résultant de mutations spontanées qui, lors de substitutions d'acides aminés ou de nucléotides au niveau de leurs cibles moléculaires, confèrent une perte d'affinité des ATB s pour leur cible. Elle peut, parfois, être d'origine plasmidique (Allen et al., 2010 et Muylaert et Mainil, 2012).

#### 4.3. Pompes à efflux

Il s'agit d'un mécanisme utilisé pour expulser, dans le milieu extracellulaire, des métabolites et des composés toxiques étrangers. Ces pompes à efflux ont, généralement, une spécificité de substrats assez large. De fait, seulement certaines d'entre elles confèrent une résistance aux ATB s. La résistance provient de la réduction de la concentration en antimicrobien dans le cytoplasme de la bactérie, ce qui prévient et limite l'accès de l'ATB à sa cible. On classe ces pompes à efflux selon leur spécificité de substrats et la source d'énergie employée (Poole, 2001).

#### 4.4. Impossibilité d'atteindre la cible (imperméabilité, absence de transport effectif)

L'imperméabilité peut résulter de mutations dans les gènes codant pour les porines, qui sont des protéines de transport transmembranaires. Ces mutations peuvent réduire la taille des porines ou diminuer leur expression, ce qui entraîne une diminution de la capacité des ATB s hydrophiles à pénétrer dans la bactérie. Ce mécanisme est particulièrement important chez les bactéries Gram négatives telles que *Pseudomonas aeruginosa* et les *Enterobacteriaceae*, ainsi que chez certaines bactéries Gram positives (Tang et al., 2014).

Le transport inefficace des ATB s peut également contribuer à la résistance. Par exemple, certains ATB s comme les aminoglycosides pénètrent à l'intérieur des cellules bactériennes via la chaîne respiratoire pour s'y accumuler. Si ce processus est compromis, soit par des mutations génétiques ou d'autres mécanismes, cela peut conduire à une résistance à ces ATB s (Garneau-Tsodikova et Labby, 2016 ; Liwa et Jaka, 2015).



**Partie  
expérimentale**

# **Chapitre III**

## **Matériel et méthodes**

## **1. Cadre d'étude**

L'objectif de notre travail est l'isolement et l'identification des bactéries responsables des INet l'étude de leur résistance aux ATB s. Cette étude a été réalisée au niveau de l'EPH Ibn Zohr dans la wilaya de Guelma. La partie pratique de ce travail été effectuée au sein du laboratoire de bactériologie de l'hôpital et le laboratoire pédagogique de notre faculté.

## **2. Prélèvement**

Soixante prélèvements ont été effectués au niveau des trois services : Pneumologie, les urgences et les maladies infectieuses (coté Homme) de l'hôpital Ibn Zohr. Les sites de prélèvements sont présentés dans le tableau 01.

### **2.1. Prélèvement à partir des surfaces sèches**

A l'aide des écouvillons stériles préalablement humidifiés avec de l'eau distillée stérile, frotter les surfaces sèches (draps, lits, interrupteurs .....), mettez-les dans des tubes contenant le bouillon nutritif (BN), puis les incubent à 37° pendant 24h -48h.

### **2.2. Prélèvement à partir des surfaces humides**

Frotter directement des écouvillons stériles sur les surfaces humides (robinet, lavabo, porte savon.... etc.), puis les introduire dans des tubes contenant le BN et les incubent à 37°C pendant 24h-48h.

Tableau 1: Services et sites de prélèvement

Pneumologie		Les urgences		Maladies infectieuses	
Sites de prélèvement					
1	Poignée de la chambre des infirmières	21	Fenêtre de la salle de soins	41	Chaise de malade
2	Robinet de la chambre des infirmières	22	Tiroir de la chambre de garde	42	Support de sérum
3	Chariot de soins	23	Lit n° :1	43	Paravent de salle de réanimation
4	Poignée de vestiaire de chambre d'infirmières	24	Lit n° : 2	44	Armoire de la salle de soins
5	Interrupteur	25	Table lit n° : 1	45	Drap lit n° : 03
6	Distributeur de savon de cuisine	26	Main de patient	46	Table de nuit, lit n° : 03
7	Réfrigérateur personnel	27	Télécommande de climatiseur	47	Table à manger lit n° :03
8	Chariot de cuisine	28	Source d'O2 de lit n° : 1	48	Interrupteur
9	Lavabo de cuisine	29	Interrupteur du bureau de réception	49	Mur de couloir
10	Appareil d'O2 salle n° :1	30	Plateau médical	50	Bouteille d'eau de malade salle n° : 04
11	Lit salle n° : 1	31	Bureau de réception	51	Poignée de la porte de salle d'isolement
12	Table de nuit salle n° : 1	32	Chaise roulante	52	Salle sanitaire : Interrupteur
13	Appareil d'O2 salle n° :2	33	Drap lit n° :1	53	Salle sanitaire : fenêtre
14	Rideau salle n° : 2	34	Robinet de chambre de garde	54	Salle sanitaire ; robinet
15	Interrupteur	35	Lit n° : 1 coté homme	55	Salle sanitaire : pailleasse
16	Poignée des sanitaires (femme)	36	Lit n° : 3	56	Salle sanitaire : tasse
17	Porte savon des sanitaires (femme)	37	Fenêtre de chambre coté homme	57	Salle sanitaire ; poignée de la porte
18	Drap salle n° : 5	38	Poignée bureau de Consultation	58	Lit n° : 03
19	Poignée de l'armoire	39	Paillasse	59	Porte poubelle
20	Fenêtre	40	Main d'infirmière	60	Main d'infirmière

### 3. Isolement des bactéries

Après incubation, l'isolement a été fait à partir des tubes de BN présentant un trouble. Prélever une goutte de BN et ensemercer des boîtes Pétri contenant des milieux gélosés (Fig. 01). Les boîtes ont été ensuite incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures jusqu'à l'apparition des colonies, les milieux de culture utilisés sont :

#### 3.1. Gélose nutritive (GN)

La GN est un milieu à usage général adapté à la culture d'une grande variété de micro-organismes non exigeants.

Ce milieu nutritif, de composition relativement simplifiée, est utilisé pour repiquer des micro-organismes à des fins d'entretien ou pour vérifier la pureté des repiquages et pour le dénombrement des organismes dans l'eau, les eaux usées, l'urine, les matières fécales et autres matières[03].

#### 3.2. Gélose Chapman

La gélose Chapman, utilisée pour les souches S1 à S5, est un milieu qui contient un inhibiteur sous forme de fortes concentrations de chlorure de sodium (75 g/L). Cette caractéristique permet un isolement sélectif des staphylocoques tolérants aux concentrations élevées de NaCl. (Rodier et al., 2005).

#### 3.3. Gélose Mac-Conkey

La gélose mac-conkey est un milieu de culture solide, sélectif et différentiel, spécifiquement conçu pour favoriser la croissance des bactéries Gram-négatives. De plus, elle permet de mieux distinguer les micro-organismes Gram-négatifs en évaluant leur capacité à métaboliser le lactose : Bactéries fermentatrices de lactose, les colonies deviennent rouges ou roses sur gélose Mac-Conkey, les non-fermenteurs ne changent pas de couleur [04].

#### 3.4. Gélose au cétrimide

La gélose au cétrimide est un milieu sélectif utilisé pour l'isolement et l'identification présomptive de *Pseudomonas aeruginosa*.

Le pouvoir sélectif repose sur le cétrimide, un ammonium quaternaire capable d'inhiber un très grand nombre de bactéries[05].



**Figure 1:** Méthode d'ensemencement sur les géloses.

#### **4. Purification des bactéries**

Après incubation, la purification des colonies suspectes a été effectuée par repiquages successifs sur les mêmes milieux de culture afin d'obtenir des cultures pures. L'opération est renouvelée en prenant chaque fois au hasard une colonie isolée. Jusqu'à l'obtention de colonies de même taille, même forme et même couleur renseignant sur la pureté des souches (Idoui et al., 2009).

#### **5. Identification**

L'identification des souches a été réalisée par :

##### **5.1 .Observation macroscopique**

L'identification macroscopique des bactéries est basée sur l'observation à l'œil nu, l'aspect des colonies obtenues à partir des différents milieux d'isolement. Cette observation permet d'enregistrer les caractères cultureux cités dans le tableau 02.

**Tableau 2:** Principaux caractères d'observation macroscopique(Delarras, 2007).

Caractère	Lecture
<b>La forme</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Circulaire</li> <li>• Irrégulière</li> <li>• Filamenteuse</li> <li>• Rhizoïde</li> </ul>
<b>Le relief=élévation</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Convexe</li> <li>• Bombée</li> <li>• Plate</li> <li>• Bossue</li> <li>• En forme de cratère</li> </ul>
<b>La taille</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Colonies ponctiformes</li> <li>• Petites colonies (entre 1 et 2 mm)</li> <li>• Colonies moyennes (entre 3 et 5 mm)</li> <li>• Grosses colonies (supérieur à 5)</li> </ul>
<b>La consistance</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sèches</li> <li>• crémeuses</li> <li>• muqueuses</li> </ul>
<b>Odeur</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Présence ou absence</li> </ul>
<b>La couleur</b>	↪ Blanc, jaune, violet

## 5.2. L'observation microscopique

Permet de faire une étude des cellules d'une espèce microbienne. Elle comprend l'examen à l'état frais et l'examen après coloration (Francias, 2002).

### 5.2.1. Examen direct à l'Etat frais

#### ➤ But d'examen

Permet d'apprécier à la fois la forme, le mode de regroupement et la mobilité des bactéries isolées (Francias, 2002).

➤ **Méthode**

- Déposer une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame.
- Prélever à l'aide d'une anse de platine stérile une fraction de la colonie isolée sur milieu gélosé.
- Effectuer une suspension homogène dans la goutte d'eau physiologique.
- Recouvrir d'une lamelle en évitant la formation de bulles d'air.
- Observer au microscope à faible luminosité à l'objectif X40.

### 5.2.2. Examen direct après coloration de Gram

➤ **But d'examen**

- Permet de déterminer l'aspect microscopique de bactérie et la nature de sa paroi (bactéries à Gram positif colorées en violet foncé, et les bactéries à Gram négatif colorées en rose).
- Permet d'observer la disposition des bactéries et leur morphologie (Cocci, bacille, coccobacille) (**Bent Mohamed et al., 2008**).

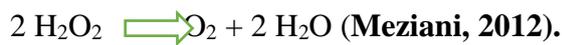
➤ **Méthode**

- Déposer une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame.
- Prélever à l'aide d'une anse de platine stérile une fraction de la colonie isolée sur milieu gélosé.
- Réaliser un frottis et le fixer à la flamme.
- Verser le Violet de Gentiane sur la lame ; laisser en contact 1 minute.
- Rincer à l'eau distillée.
- Ajouter le Lugol et laisser agir pendant 1 minute.
- Rincer à l'eau distillée et faire couler de l'alcool sur la préparation ; rincer immédiatement à l'eau distillée après 30 secondes.
- Recolorer la préparation avec la fuchsine, laisser agir pendant 1 minute ; laver abondamment.
- Sécher au-dessus de la flamme de bec Bunsen.
- Observer au microscope à l'immersion (X100).

## 6. Identification biochimique

### 6.1. Test de catalase

La catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives. La fonction principale de la catalase dans les cellules est de prévenir l'accumulation de niveaux toxiques de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) formé comme sous-produit de processus métaboliques. Elle catalyse la conversion du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène qui se dégage selon la réaction suivante :



#### ➤ Méthode

- Sur une lame propre déposer une à deux gouttes d'eau oxygénée.
- Ensuite prendre une colonie isolée avec une anse de platine et stérile et la déposer sur la lame.
- Dissocier la colonie dans la goutte.

#### ➤ Lecture immédiatement

- ✓ Catalase positive : effervescence.
- ✓ Catalase négative : absence d'effervescence.

### 6.2. Test d'oxydase

Le test de l'oxydase met en évidence la présence d'une cytochrome-oxydase qui oxyde le cytochrome « C » réduit. Ce test met en évidence la présence de cytochrome « C » dans les chaînes respiratoires grâce à des réactifs ayant le même potentiel d'oxydo-réduction que le cytochrome (Delarras, 2003).

#### ➤ Méthode

- Sur une lame, déposer le disque d'oxydase.
- Humidifier avec l'eau distillée stérile.
- Avec une pipette Pasteur, prendre une colonie isolée et la gratter sur le disque.

- **Lecture** immédiatement
- Oxydase positive : le disque prend une teinte bleu ou violette.
- Oxydase négative : le disque reste incolore.

### 6.3. Galeries biochimiques

Également appelées galeries de tests biochimiques miniaturisés, sont constituées d'une série de petits tubes, appelés tubules, chacun correspondant à un test biochimique spécifique. Chaque tubule est ouvert à son extrémité supérieure par une cupule, qui peut être remplie ou non de liquide, afin de créer des conditions spécifiques pour le test. Chaque tube contient un substrat défini (comme ONPG, ADH, GEL) auquel les micro-organismes réagissent de manière distincte[6].

#### 6.3.1. Galerie Api20 E

Analytical profile index (API) 20 E est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux, comprenant 21 tests biochimiques miniaturisés, ainsi qu'une base de données. La liste complète des bactéries qu'il est possible d'identifier avec ce système est présente dans le Tableau d'Identification en fin de notice.

##### ➤ **Préparation de l'inoculum :**

Ouvrir une ampoule d'API Na Cl 0,85 % Medium (5 ml) ou une ampoule d'APISuspension Medium (5 ml), ou utiliser un tube contenant 5 ml d'eau physiologique stérile ou d'eau distillée stérile sans additif.

- A l'aide d'une pipette, prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé.
- Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu. Cette suspension doit être utilisée extemporanément.

##### ➤ **Inoculation de la galerie**

- Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide de la même pipette pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant :
- Pour les tests CIT, VP et GEL, remplir tube et cupule.

- Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non les cupules),
- Pour les tests : ADH, LDC, ODC, H<sub>2</sub>S, URE créer une anaérobiose en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- Refermer la boîte d'incubation.
- Incuber à 37C pendant 18-24 heures.
- **lecture de la galerie**
- Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au Tableau de Lecture.

### 6.3.2. Galerie Api 20 NE

Est un système standardisé pour l'identification des bacilles à Gram négatif non *entérobactéries* et non fastidieux (Ex. *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, etc.) Combinant 8 tests conventionnels, 12 tests d'assimilation, et une base de données.

#### ➤ **Préparation de l'inoculum**

- Ouvrir une ampoule d'API NaCL 0,85% Medium (2 m) ou utiliser un tube contenant 2 m de solution saline à 0,85% sans additif.
- A l'aide d'une pipette, prélever 1 à 4 colonies de morphologie identique par aspirations ou par touches successives.
- Réaliser sera une suspension d'opacité égale à 0.5 de Macfarlane. Cette suspension doit être utilisée extemporanément.

#### ➤ **Inoculation de la Galerie**

- Remplir les tubes (et non les cupules) des tests NO<sub>3</sub> à PNPG avec la suspension précédente en utilisant la pipette ayant servi au prélèvement.
- Pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant.
- Ouvrir une ampoule d'API AUX et y transférer environ 200 µl de la suspension précédente Homogénéiser avec la pipette en évitant la formation de bulles.

- Remplir tubes et cupules des tests GLU à PAC en veillant à créer un niveau horizontal ou légèrement convexe.
- Remplir d'huile de paraffine les cupules des trois tests soulignés (GLU, ADH, URE) pour former un ménisque convexe.
- Refermer la boîte d'incubation et incuber à 29°C pendant 24 heures.

➤ **Lecture de la galerie**

- Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au Tableau de Lecture.

### 6.3.3. Galerie Api 20 Strep

Est un système standardisé associant 20 tests biochimiques qui présentent un grand pouvoir discriminant. Il permet de faire un diagnostic de groupe ou d'espèce pour la plupart des *streptocoques*, *entérocoques* et pour les germes apparentés les plus courants.

➤ **Préparation de l'inoculum**

- Ouvrir une ampoule d'API Suspension Medium (2 ml) ou utiliser un tube contenant 2 ml d'eau distillée sans additif.
- A l'aide d'un écouvillon, prélever toute la culture préalablement préparée.
- Réaliser une suspension très dense supérieure à 4 de McFarland. Cette suspension doit être utilisée extemporanément.

➤ **Inoculation de la galerie**

❖ Dans la première moitié de la galerie (tests VP à ADH).

- Répartir la suspension précédente en évitant la formation de bulles.
- Pour les tests VP à LAP environ 100 µl dans chaque cupule.
- Pour le test ADH remplir uniquement le tube.

❖ Dans la deuxième moitié de la galerie (tests RIB à GLYG).

- Ouvrir une ampoule d'API GP Medium et y transférer le reste de la suspension, soit 0,5 ml au minimum, Bien homogénéiser.
- Répartir cette nouvelle suspension dans les tubes uniquement.

- Remplir les cupules des tests soulignés ADH à GLYG avec de l'huile de paraffine en formant un ménisque convexe.
- Refermer la boîte d'incubation. Incuber à 37°C pendant 24 heures.

#### ❖ Lecture de la galerie

##### ➤ Après 4 heures d'incubation :

Ajouter les réactifs :

- Test VP : 1 goutte de VP 1 et VP 2.
- Test HIP : 2 gouttes de NIN.
- Tests PYRA, GAL, BGUR, BGAL PAL, LAP ,1 goutte de ZYM A et ZYM B.
- Il est recommandé de contrôler chaque ampoule de réactif ZYM B avant la 1<sup>ère</sup> utilisation.

##### ➤ Qualité afin d'exclure tout réactif défectueux :

Attendre 10 minutes, puis lire toutes les réactions en se référant au Tableau de Lecture. Si nécessaire, exposer la galerie à une lampe forte (1000 W) 10 secondes.

- Décolorer le réactif en excès dans les tubes PYRA à LAP.
- Une ré incubation est nécessaire dans les cas suivants :
- Faible discrimination.
- Profil inacceptable ou profil douteux.
- Identification non valide avant 24h d'incubation.

#### 6.3.4. Galerie Api staph

API Staph est un système standardisé pour l'identification des genres *Staphylococcus*, *Micrococcus* et *Kocuria* comprenant des tests biochimiques miniaturisés ainsi qu'une base de données. La liste complète des bactéries qu'il est possible d'identifier avec ce système est présente dans le Tableau d'Identification en fin de notice.

**➤ Préparation de la galerie**

- Rassembler le fond et le couvercle d'une boîte d'incubation et verser environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide, en évitant les seaux susceptibles de libérer des gaz (Ex : Cl<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> ...).
- Noter la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte, évitant le couvercle qui peut se déplacer pendant la manipulation.
- Retirer la galerie de son emballage individuel.
- Placer la galerie dans la boîte d'incubation.

**➤ Préparation de l'inoculum**

- Préparer un pré culture sur gélose Columbia au sang (ou Agar P) pendant 18-24 heures à 37°C.
- Vérifier l'identification de la souche (morphologie, Gram, catalase...) et sa pureté.
- Ouvrir une ampoule d'API Staph Medium selon les précautions d'utilisation.
- Une suspension bactérienne homogène, d'opacité égale à 0,5 de Macfarlane, en utilisant de préférence des cultures jeunes (18-24 heures). Cette suspension doit être utilisée immédiatement.

**➤ Inoculation de la galerie :**

- Remplir les tubes de la galerie avec l'API Staph Mediumensemencé à l'aide d'une pipette. Ne remplir que les tubes sans dépasser le niveau du tube. Pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, incliner légèrement la boîte d'incubation vers l'avant lors du remplissage.
- Créer une anaérobiose dans les tests ADH et URE en remplissant leur cupule d'huile de paraffine pour former un ménisque convexe.
- Fermer la boîte d'incubation.
- Incuber à 37°C pendant 18-24 heures.

**➤ Lecture de la galerie :**

Après la période d'incubation :

Interpréter les réactions selon le Tableau de Lecture en ajoutant 1 goutte de chacun des réactifs suivants :

Test VP : VP 1 et VP 2. Attendre 10 minutes. Une coloration rose franche ou violette indique une réaction positive. Une coloration rose pâle ou claire après 10 minutes doit être considérée comme négative.

Test NIT : NIT 1 et NIT 2. Attendre 10 minutes. Une coloration rouge indique une réaction positive.

Test PAL : ZYM A et ZYM B. Attendre 10 minutes. Une coloration violette indique une réaction positive. Une coloration beige-rosé ou très pâle après 10 minutes doit être considérée comme négative.

Enregistrer les résultats sur la fiche de résultats.

## **7. Antibiogramme**

L'antibiogramme correspond à l'étude de l'activité bactériostatique de plusieurs ATB's en même temps et permet aussi à la catégorisation des souches sensibles, intermédiaires, ou résistantes. En effet, ceci permet aux cliniciens de connaître les molécules efficaces et de sélectionner les mieux tolérées, les moins pourvoyeuses de résistance et si possible les moins chères pour le traitement de l'infection (**Bourgoin,2016**).

### **7.1. Principe général**

L'étude de la sensibilité des espèces bactériennes aux ATB's a été réalisée par la technique de diffusion en milieu gélosé Mueller Hinton (MH).

Cette méthode consiste à cultiver des bactéries sur une gélose MH, puis à placer des disques imprégnés d'ATB sur la surface, en fonction de la diffusion de l'ATB, on évalue la sensibilité ou la résistance de la souche bactérienne (**Bingenet al., 2011**).

### **7.2. Milieu pour antibiogramme**

La gélose de MH a été formulée à l'origine comme un milieu gélosé transparent simple servant à la culture des *Nessiseria* pathogènes et à la réalisation de l'antibiogramme (**Guezlan et al., 2008**). Le milieu doit être coulé en boîte de pétri sur une épaisseur de 4mm. La gélose doit être séchée avant l'emploi (**Bingen et al., 2011**).

### 7.3. Préparation de l'inoculum

- A partir d'une culture pure de 18 à 24 heures sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une anse de platine stérile quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Décharger bien l'anse dans 5 à 10ml d'eau physiologique stérile.
- Homogénéiser bien la suspension bactérienne (**Eucast, 2018**).

### 7.4. Inoculation des géloses

- L'inoculum bactérien doit idéalement être employé dans les 15min, qui suivent sa préparation.
- Plonger un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne et éliminer l'excès de liquide en tournant l'écouvillon sur les parois du tube.
- Il est important de rejeter l'excès de liquide pour éviter une sur-inoculation des boîtes.
- Ecouvillonner sur la totalité de la surface de la gélose dans trois directions.

#### ↳ **Disposition des disques d'ATB s**

- Déposer les disques d'ATB, il est préférable de ne pas mettre plus de 7 disques sur une boîte de 90mm, à la surface de la gélose inoculée et séchée, le contact avec la surface doit être étroit.
- Les disques une fois déposés ne peuvent être déplacés.

Les ATB utilisés dans ce travail sont présentés dans le tableau 03.

**Tableau 3:** Liste des ATB s utilisés.

<i>Pseudomonas</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Entérobactérie</i>
Amoxicilline	Pénicilline	Pénicilline	Amoxicilline
Gentamicine	Vancomycine	Vancomycine	Gentamicine
Pénicilline	Chloramphénicol	Rifampicine	Chloramphénicol
Vancomycine	Gentamicine	Amoxicilline	
Rifampicine		Chloramphénicol	
Chloramphénicol			

### 7.5. Lecture

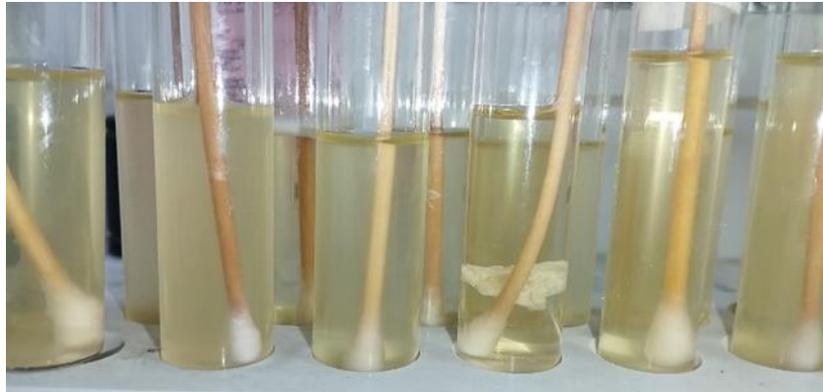
Après l'incubation de 24 heures à 37°C, nous avons mesuré les diamètres d'inhibition de chaque espèce bactérienne et nous les avons comparés avec un diamètre de référence (D). Puis nous avons comparé les résultats obtenus et classé la bactérie dans l'une des catégories S (sensibles), R (résistante) ou I (intermédiaire)(**Ca-sfm, 2016**).

# **Chapitre IV**

## **Résultats et discussion**

## 1. Résultats d'enrichissement

Après incubation de 48h des prélèvements, On a observé un trouble dans 42 tubes (18 tubes étaient négatifs). Les résultats de l'enrichissement sont présentés dans la figure02.



**Figure 2:** Résultats de l'enrichissement sur milieu BN.

**Tableau 4:** Résultats positifs et négatifs des prélèvements

Pneumologie			Les urgences			Maladies infectieuses		
Sites de prélèvement								
1	Poignée de la chambre des infirmières	-	21	Fenêtre de la salle de soins	-	41	Chaise de malade	+
2	Robinet de la chambre des infirmières	+	22	Tiroir de la chambre de garde	+	42	Support de sérum	-
3	Chariot de soins	+	23	Lit n° :1	+	43	Paravent de salle de réanimation	-
4	Poignée de vestiaire de chambre d'infirmières	+	24	Lit n° : 2	+	44	Armoire de la salle de soins	+
5	Interrupteur	+	25	Table lit n° : 1	+	45	Drap lit n° : 03	+
6	Distributeur de savon de cuisine	+	26	Main de patient	-	46	Table de nuit, lit n° : 03	-
7	Réfrigérateur personnel	-	27	Télécommande de climatiseur	+	47	Table à manger lit n° :03	+
8	Chariot de cuisine	+	28	Source d'O2 de lit n° : 1	+	48	Interrupteur	-
9	Lavabo de cuisine	+	29	Interrupteur du bureau de réception	-	49	Mur de couloir	+
10	Appareil d'O2 salle n° :1	+	30	Plateau médical	+	50	Bouteille d'eau de malade salle n° : 04	+
11	Lit salle n° : 1	+	31	Bureau de réception	+	51	Poignée de la porte de salle d'isolement	+
12	Table de nuit salle n° : 1	+	32	Chaise roulante	+	52	Salle sanitaire : Interrupteur	-
13	Appareil d'O2 salle	-	33	Drap lit n° :1	+	53	Salle sanitaire :	+

	n° :2						fenêtre	
14	Rideau salle n° : 2	-	34	Robinet de chambre de garde	+	54	Salle sanitaire ; robinet	+
15	Interrupteur	+	35	Lit n° : 1 coté homme	-	55	Salle sanitaire : paillasse	+
16	Poignée des sanitaires (femme)	+	36	Lit n° : 3	+	56	Salle sanitaire : tasse	+
17	Porte savon des sanitaires (femme)	+	37	Fenêtre de chambre coté homme	+	57	Salle sanitaire : poignée de la porte	+
18	Drap salle n° : 5	+	38	Poignée bureau de Consultation	-	58	Lit n° : 03	+
19	Poignée de l'armoire	+	39	Paillasse	-	59	Porte poubelle	+
20	Fenêtre	+	40	Main d'infirmière	+	60	Main d'infirmière	-

Les pourcentages du résultat positif et négatif sont présentés dans la figure 03.

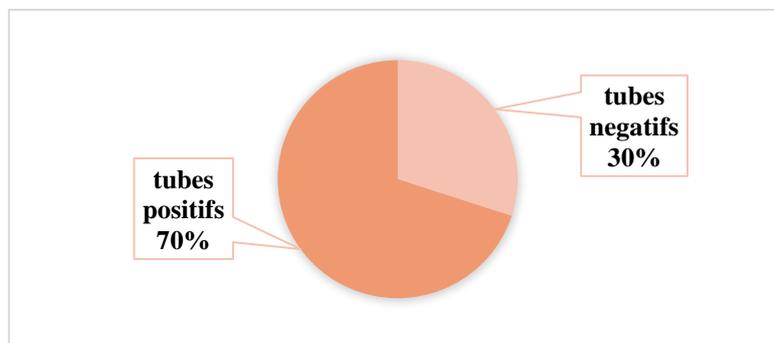


Figure 3: Répartition négatives et positives des prélèvements.

## 2. Résultats d'isolement et d'Identification

### 2.1. Résultats d'examen macroscopique

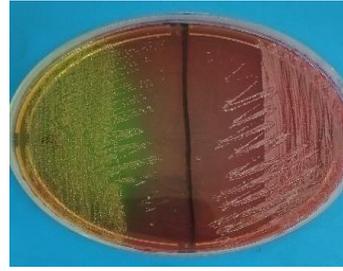
Après incubation de 48 heures à 37°C, l'observation macroscopique des colonies cultivées sur les milieux utilisés a révélé divers caractères cultureux. Les résultats sont résumés dans le tableau 04, et les figures 04 jusque 'au 07.

Tableau 5:Caractères cultureux des colonies isolées.

	Numéro des sites	aspect macroscopique
Gélose Nutritive	05.06.12.22.23.24.28.30.32. 34.37.39.40.41.45. 47.49.54.57.58.59	colonies blanches de petites tailles, circulaires, convexes, muqueuses, présence d'odeur
	08.10.11.36.50. 51.56.	Colonies blanches de grosses tailles, circulaires, convexes, muqueuses, présence d'odeur
	01.02.03.04.15.16.17. 18.19.25.27.31.33.55.01.02. 03.04.15.16.17.18.19.25.27. 31.33.55	Colonies blanches des tailles moyennes, circulaires, convexe, muqueuse, présence d'odeur.
Mac conkey	01.25.32.33.37 41.45.	Colonies violettes de grandes tailles, circulaires, convexes, muqueuses.
	08.11.15.16.25. 32.40	Colonies violettes de petites tailles, circulaires, convexes, muqueuses, présence d'odeur.
	02.03.10.17.18 19.23.24.27.30. 34.36.39.	Colonies violettes de tailles moyennes, circulaires, convexes, muqueuses, présence d'odeur.
Cétrimide	01.19.25.40	colonies blanches de petites tailles, circulaires, convexes, muqueuses, présence d'odeur
	03.08...11.12.17.18.27.3 1.33.37.23.32	Colonies blanches des tailles moyennes, circulaires, convexes, muqueuse, présence d'odeur.
	22.24.33.39	Colonie blanches des grosses tailles, convexes, circulaires, muqueuses
Chapman	22.24.25.28.27.38.34.40.1.2. 5.06.12.15.16.41.45.47.49... 54.55.56.57.58	Colonies blanches de petites tailles, circulaires, convexes, muqueuses, présence d'odeur.
	50.51.08.11.17.24.30.32.33. 43.	Colonies blanches de tailles moyennes, circulaires, convexes, muqueuses, présence d'odeur.



**Figure 4:**Aspect macroscopique sur La Gélose Mac-Conkey.



**Figure 5:**Aspect macroscopique sur la Gélose Chapman.



**Figure 6:**Aspect macroscopique sur la Gélose GN.



**Figure 7:** Aspect macroscopique sur la Gélose Cétrimide.

## 2.2. Résultats d'examen microscopique

### 2.2.1. Etat frais

L'observation directe des bactéries a permis de déterminer les caractères mentionnés dans le tableau 05.

### 2.2.2. Coloration de Gram

Après coloration différentielle de Gram, on a pu observer des Cocci et des bacilles à Gram positif et négatif. Les résultats obtenus sont présentés dans les figures 08 et 09.



**Figure 8:** Bacilles à Gram négatif.

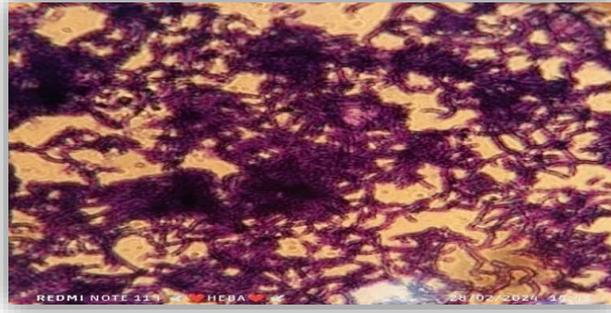


Figure 9: Cocci à Gram positif.

Tableau 6: Résultats microscopiques de l'état frais et la coloration de Gram.

Prélèvements	Etat frais	Coloration de Gram
17 .12 . 51	Bacilles immobiles	Gram+
8.12.3.10.15.18 .28.37 51.47.50.54.55	bacilles mobiles	Gram -
08.16.15.18.03.17.05.11.34.25.33.40.22.37.23.30.47.54.49.43.59.56.57.58.45.41	Cocci immobiles	Gram +
11.12.08.03.10.18.17.16.02.30.23.28.33.37.40.32.38.35 .47.58.45.41.55.49.54.50.56.59	Cocci immobiles	Gram -

### 3. Résultats d'identification biochimique

#### 3.1. Résultats des tests oxydase et catalase

Les résultats obtenus des tests oxydase et catalase des bactéries isolées sont mentionnés dans les figures 10, 11 et le tableau 06.

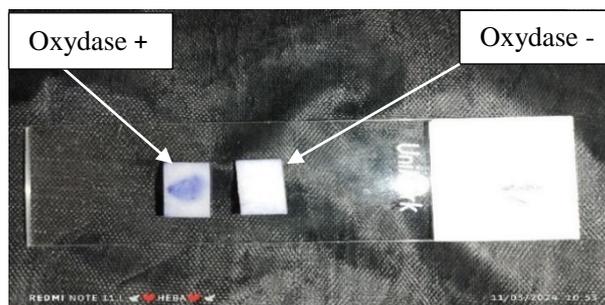
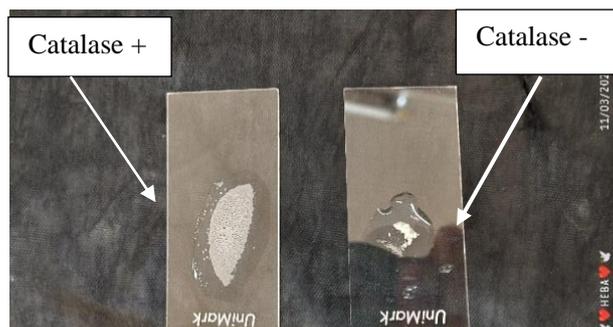


Figure 10: Résultats de test oxydase



**Figure 11:** Résultats de test catalase.

**Tableau 7:** Résultats obtenus des tests catalase et oxydase des bactéries isolées.

<b>Cocci</b>	<b>Catalase positive</b>	<b>25.22.34.33.37.23.30. 22.40.47.54.43.59.56. 54.57.58.45.41</b>
	<b>Catalase négative</b>	<b>14.49.50.</b>
<b>Bacille</b>	<b>Oxydase positive</b>	<b>3.10.15.51.47 .54.50</b>
	<b>Oxydase négative</b>	<b>8.12.37.17.8.50.51</b>

#### 4. Résultats des galeries biochimiques

Après l'incubation en galerie, on a pu identifier plusieurs espèces bactériennes à l'aide du logiciel **Api Web**. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 07 et les figures 12 jusqu'à 15.

Tableau 8: Les différentes espèces bactériennes identifiées.

Galerie Api	Numéro de prélèvement	Résultats (l'espèce)
Api20 STAPH	03	<i>Staphylococcus hominis</i>
	25	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
	15.18.22.41.57.54	<i>Staphylococcus xylosus</i>
	22.34	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
API 20 NE	03.10.60	<i>Pseudomonas luteola</i>
	15	<i>Pseudomonas putida</i>
API 20 E	18.50	<i>Enterobactersakazaki</i>
	37.51	<i>Enterobactercloacae</i>
	47	<i>Klebsiellapnomoniae</i>
	51	<i>Escherichia coli</i>
API 20 Strep	44	<i>Streptococcus porcinus</i>



Figure 12: Galerie Api 20 NE après incubation.



Figure 13: Galerie Api 20 STREP après incubation.



Figure 14: Galerie Api 20 E après incubation.



Figure 15:Galerie Api 20 STAPH après incubation.

## 5. Résultats d'antibiogramme

Les résultats de l'antibiogramme des différentes espèces bactériennes sont résumés dans le tableau 08 et les figures 16 jusqu'à figure 20.

Tableau 9: Les résultats de l'antibiogramme des différentes espèces bactériennes.

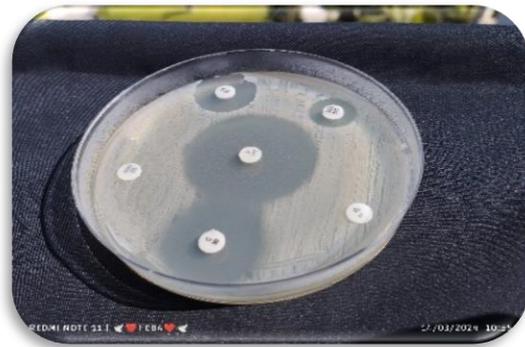
ATB Bactéries	AMX	P	GEN	C	VA	RIF
<i>Pseudomonas luteola</i>	/	/	S	S	/	/
<i>Pseudomonas putida</i>	/	/	S	R	/	/
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	R	/	S	S	/	/
<i>Enterobacter cloacae</i>	R	/	S	S	/	/
<i>Enterobacter sakazaki</i>	R	/	S	R	/	/
<i>Staphylococcus hominis</i>	/	R	S	S	R	/
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	/	R	S	S	R	/
<i>Staphylococcus xylosus</i>	/	R	I	S	/	/
<i>Escherichia coli</i>	/	/	/	/	/	/
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	/	R	S	S	R	/
<i>Streptococcus porcinus</i>	/	/	/	R	/	R

R : Résistante, S : Sensible, I : Intermédiaire, AMX : Amoxicilline, C : Chloramphénicol, P: Pénicilline,

GN : Gentamicine, RIF : Rifampicine, VA : Vancomycine.



**Figure 16:** Résultat d'antibiogramme d'*Enterobactérie sakazaki*.



**Figure 17:** Résultat d'antibiogramme de *Staphylococcus xylosum*.



**Figure 18:** Résultat d'antibiogramme de *Pseudomonas putida*.



**Figure 19:** Résultat d'antibiogramme de *Staphylococcus saprophyticus*.

## 6. Discussion

Cette étude a pour objectif l'isolement et l'identification des bactéries responsables d'IN en milieu hospitalier, et l'étude de leur résistance vis-à-vis de nombreux ATB's choisis, et ceci à partir de 60 prélèvements effectués au niveau des trois services (Pneumologie, Les urgences, Maladies infectieuses côté homme) de l'EPH Ibn Zohr de la ville de Guelma.

Durant notre étude, nous avons pu identifier plusieurs espèces au niveau des différents sites choisis: *Staphylococcus xylosus* (interrupteur, tiroir, robinet des sanitaires), *Pseudomonas luteola* (appareil d'O<sub>2</sub>), *Enterobacter cloacae* (fenêtre), *Staphylococcus saprophyticus* (lit), *Enterobacter sakazakii* (drap), *Streptococcus porcinus* (armoire de la salle de soins), *Staphylococcus hominis* (chariot), et *E. coli* (portede salle d'isolement), *Klebsiella pneumoniae* (Table à manger). Ces résultats montrent que l'environnement hospitalier est un réservoir de germes pathogènes susceptibles de provoquer des maladies chez l'homme (**Debabza, 2015**).

La majorité des espèces identifiées dans cette étude (*E. coli*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus xylosus*) sont des germes responsables des IU, ces résultats sont en accord avec ceux cités par **Tohme et al. en 1998** et **Amazian et al. en 2010**, qui ont montré que les IU sont les IN les plus courantes, représentant 25,9 % de l'ensemble des infections contractées à l'hôpital, avec une prévalence de 2,6 %. D'autres espèces telles que *Enterobacter cloacae* sont responsables de diverses IN, telles que la bactériémie et les infections des voies respiratoires et urinaires (**Fraser et al., 2010**).

La variation des espèces et leur répartition dans les sites sélectionnés peuvent être attribuées à une contamination directe ou indirecte, causée par l'utilisation de matériel non stérile et les déplacements du personnel et des visiteurs extérieurs entre les différents services sans respecter les règles de prévention (**Haouam et Boucheliga, 2020**).

Les profils de résistance les plus importants obtenus dans la présente étude sont ceux des espèces suivantes : *Enterobacter sakazakii* présenté une multi-résistance vis-à-vis l'Amoxiciline et le chloramphénicol, les trois espèces : *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus haemolyticus* ont exprimé une multi-résistance vis-à-vis la pénicilline et la vancomycine et l'espèce *Streptococcus porcinus* a acquis une résistance vis-à-vis le chloramphénicol et la rifampicine.

La résistance observée des deux espèces *Enterobacter sakazakii* et *Streptococcus porcinus* au chloramphénicol, peut être associée à des altérations de la perméabilité membranaire, des mutations sur la sous-unité 50S du ribosome bactérien, ainsi qu'à la présence du chloramphénicol acétyltransférase (**Courvalin et al., 2006**).

Une résistance à la vancomycine a été notée chez *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus haemolyticus* et *Staphylococcus hominis*, ces résultats sont similaires à ceux cités dans les travaux **d'Aouati en 2009 et Rebiahi en 2012**.

La résistance exprimée par les *entérobactéries* aux  $\beta$ -lactamines, notamment *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter sakazakii* et *Klebsiella pneumoniae*, peut être attribuée à l'usage répandu de ces ATB s en médecine humaine, comme l'ont rapporté **Moulin et al. en 2008**.

Notre étude a révélé que chaque service de l'EPH Ibn Zohr possède sa propre écologie microbienne, avec des germes affichant des degrés variables de sensibilité ou de résistance propres à chaque zone. C'est pour cette raison qu'il faut prendre toutes les mesures d'hygiène et autres pour le patient et l'environnement qui l'entoure.

# Conclusion

## **Conclusion**

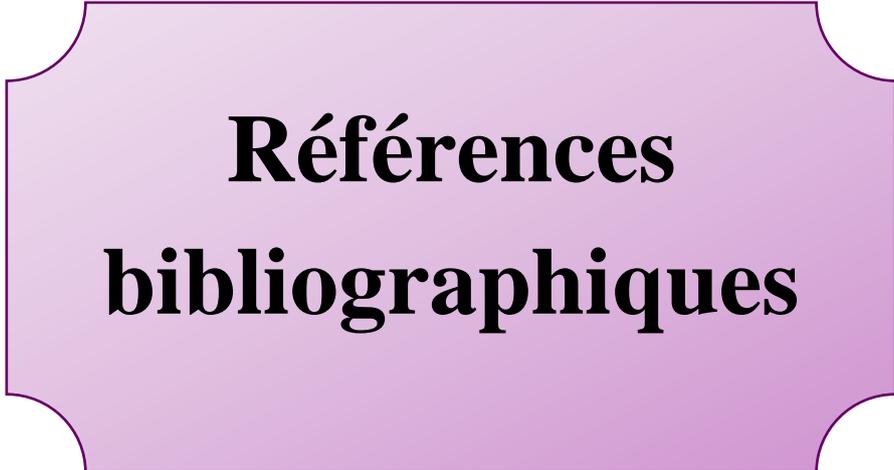
Les IN représentent un enjeu majeur de santé publique en raison de leur fréquence et de leur gravité. La surveillance des IN constitue une démarche interne d'évaluation pour une amélioration continue de la qualité et de la sécurité des soins dans les établissements de santé.

Notre travail est basé sur l'isolement et l'identification des bactéries responsables des IN et l'étude du profil de la résistance de ces germes au niveau des trois services (Pneumologie, les urgences, Maladies infectieuses côté homme) de l'EPH Ibn Zohr-Guelma.

Les résultats obtenus ont montré que la majorité des sites choisis sont contaminés par des espèces pathogènes telles que : *Staphylococcus xylosus*, *Pseudomonas luteola*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Enterobacter sakazakii*, *Streptococcus porcinus*, *Staphylococcus hominis*, *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae*. Certaines de ces espèces ont exprimé une résistance multiple vis-à-vis les ATB's utilisés. Ces résultats révèlent que les trois services de cet hôpital sont des services à haut risque.

A titre de ce problème, l'importance de la prévention et l'hygiène réglementaire au cours des procédures des soins restent le premier secours pour éviter la contamination de l'environnement hospitalier, l'étude microbiologique reste le premier pilier pour la déclaration de l'existence de ces agents infectieux et enfin un programme de lutte contre l'émergence de BMR est indispensable pour lutter contre les IN.

D'une manière générale, nous pensons que cette modeste étude doit être complétée par d'autres études plus approfondies telles, l'utilisation des outils moléculaires et génétiques (PCR) dans le but d'identifier et de caractériser plus de germes puis déterminer leurs formes de résistance.



**Références  
bibliographiques**

Références bibliographiques

*A*

- ↪ **Aitken C., Jeffries DJ. (2001).** Propagation nosocomiale des maladies virales. Clin Microbiol .p :528-46.
- ↪ **Alfandari S. (1997).** Infections nosocomiales. épidémiologie, critère du diagnostic, prevention et principe du traitement. impact internet : maladies infectieuses p : 161-168.
- ↪ **Allen H.K., Donato J., Wang H.H., Cloud-Hansen K.A., Davies J., Handelsman J. (2010).**Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments. Nat. Rev. Microbiol. 8, p:251–259.
- ↪ **Amazian K., Rossello J., Castella A., Sekkat S, Terzaki S., Dhidah L., Abdelmoumène T., Fabry J. (2010).** Prévalence des infections nosocomiales dans 27 hôpitaux de la région méditerranéenne. Eastern Mediterranean Health Journal, vol 16, N10, p:1070.
- ↪ **AMOUSSO G. (2009).** Incidence des Infections Associées Aux Soins Dans Le Service De Reanimation Et De Soins Intensifs Au Chu De Point G- Bamako .ThesePoue l’obtention Du Garde De Docteur En Médecine. Univ Bamako. Mali.p : 20.
- ↪ **Aouati H. (2009).** "Isolement des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicillines : étude de leur sensibilité aux autres familles d'ATB s". Mémoire de Magistère, Université MentouriCostantine. p : 8,9.

*B*

- ↪ **Barbut Frédéric., (2016)**Organisation de la lutte contre les infections nosocomiales.Elsevier SAS,p :-65-0155.
- ↪ **Bent mohamed A., Mint Sida baba A. (2008).** Manuel de travaux pratique microbiologie. Université de nouakchott. p : 18-22.
- ↪ **Benfreha S., TemmouriH. (2014).** Etude Epidémiologique des Bactéries responsables des Infections Nosocomiales et Mise en Place d’un Plan de Prévention et

de Lutte (Hôpital de Mascara). Thèse de doctorat, Université Mustapha Stambouli-MASCARA, p : 05.

- ↗ **Bingen E., Courvalin P., Leclercq R.(2011).** L'Antibiogramme. Editions ESKA,Barrisse.p : 266.
- ↗ **Bruyère F., Lafauri M. (2013).** Infections associées aux soins et infections nosocomiales en urologie. Elsevier Masson SAS, vol 06, N01.
- ↗ **Boulahouat M., Aliziane M.O. (2020).** Le Coût Économique et Social des Infections Nosocomiales en Algérie. partie (1), p :411-430.
- ↗ **Bourgoin G. (2016).** Etude de la sensibilité aux ATB s par méthode semi-automatisée en milieu liquide de 293 souches consécutives de *Escherichia coli* isolées d'ECBU au CHU de Rouen ; apport de la méthode E-Test® pour l'évaluation de la sensibilité à l'association amoxicilline-acide clavulanique. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Rouen; 1.Bruxelles , p : 86.

### C

- ↗ **CA-SFM, COMITE DE L'ANTIBIOGRAMME DE LA SOCIETE FRANÇAISE DE MICROBIOLOGIE. (2016).**Recommandation .p: 12-15, 18,23-25, 27,39-48,56-63.
- ↗ **Cattoen C. (2015).** Persistance du portage de bactéries multirésistantes après laréanimation.p :2. Disponible sur : [link.springer.com/content/pdf/10.1007/s13546-015-1048-4.pdf](https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s13546-015-1048-4.pdf).
- ↗ **Courvalin P., Leclercq R., Bingen E. (2006).** Antibiogramme 2eme édition. ESKA, p : 117, 141, 163, 279, 299, 341,349.

### D

- ↗ **Dali A. (2015).** Infection nosocomiale à bactéries multi résistance (BMR) en réanimation adulte a l'EHUO profil épidémiologique, facteurs de risque et facteurs pronostiques. Thèse de Doctorat en science médicale. Université d'ORAN 1 Ahmed BNBELLA. p : 161.

- ↵ **Debabza M. (2015).** Emergence en milieu hospitalier des bacilles Gram négatifs multirésistants aux ATB s : étude bactériologique et moléculaire. These de Doctoraten Microbiologie. Université Badji Mokhtar-Annaba. p :169.
- ↵ **Delarras C. (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Lavoisier. Editions TEC and DOC. 11, rue la voiser F-75008 Paris, p : 102, 103, 105, 128, 129.
- ↵ **Ducel G. (2002).** Prévention des infections nosocomiales, Guide pratique 2ème édition, Suisse, p : 5-9.
- ↵ **Ducel G., Fabry J., Nicolle L. (2002).** Prevention des infections nosocomiale. World Health Organization. p:80.
- ↵ **Ducel G. (2002).** prévention des infections nosocomiale : guide pratique. Organisation Mondiale de sante. France, p : 71.
- ↵ **Ducel G., Fabry J., et Nicolle L. (2008).** « Prévention des infections nosocomiales. Guide Pratique organisation mondiale de la santé ». 2<sup>ème</sup> édition, p : 01-07.

### E

- ↵ **El Abdani., (2016).** Evolution de la résistance bactérienne aux ATB s et conseils en anti thérapie, thèse Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie .université Mohammed v-rabat faculté de Médecine et de pharmacie –rabat .p :192

### F

- ↵ **Flamm K., Weaver K. (2004).** Factors associated with relative rates of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates tested in clinical laboratories in the United States from 1999 to 2002 .*Antimicrob Agents Chemother*.p:48- 2431-2436.
- ↵ **Francias N. (2002).** Analyses microbiologiques des aliments de l'eau : directives pour l'assurance qualité. Edition Tec et Doc. p : 87-134.
- ↵ **Fraser S.L., Arnett M. et Sinave C.P. (2010).** *Enterobacter* Infections. Medicine Specialties. Infectious Diseases. Bacterial Infections. Contributor Information and disclosures.

- ↗ **Freney J., Reanaud F., Hansen W., Bollet C. (2000).** Précis de bactériologie clinique. ESKA, p: 557,583, 597,611.

### G

- ↗ **Ganczak M., Barss P. (2008)** Infection nosocomiale au VIH : épidémiologie et prévention – une perspective mondiale. SIDA. p :47-61 .
- ↗ **Garneau-tsodikova S., Labby K.J. (2016).** Mechanisms of Resistance to AminoglycosideAntibiotics: Overview and Perspectives. Med. Chem. Commun. p:7, 11– 27.doi:10.1039/C5MD00344J.
- ↗ **Goossens H., Ferech M., Vander.Stichele R., et al (2005).**Outpatient antibiotic use in Europe and association with resistance: a cross-national database study Lancet p:365:579–87.
- ↗ **Guezlane T.N., Kahlouche B., Athmani G.S. (2008).** Microbiologie. Edn 1, Office des publications universitaires, Alger, p :100.

### H

- ↗ **Hamel S. (2005).** « Les infections nosocomiales dans le service chirurgie (B) de l'hôpital du point G » Thèse de doctorat 2004\_2005 faculté de médecine. De pharmacie et de d'odonto-stomatologie. Mali.p :26-27.

### I

- ↗ **Idoui T., Boudjerda J., Leghouchi E., et Karam N.E. (2009).** Lactic acid bacteria from "Sheep's Dhan", a traditional butter from sheep's milk: Isolation, identification and major technological traits. Gr. Y. Aceites, vol 60 n°2. p:177-183.

### K

- ↗ **Klevens RM., Edwards JR., Richards.CL Jr. (2007).**Estimating health care-associated infections and deaths in U.S. hospitals, 2002. *Public Health Rep.*, 2007, 122 .p:160-166.
- ↗ **Koumedjina, K., 2019.**Evaluation de la connaissance et l'application des mesures de prévention des infections nosocomiales dans le service de maladies infectieuses du

C.H.U de point g. Thèse de pharmacie. Université des sciences, des techniques et de technologies de Bamako, Mali. P : 112.

### L

- ↵ **Lansing M., prescott et al. (2003).** Microbiologie, 2ème édition, de boeckunivesité.
- ↵ **Leclercq M. (2006).** *Enterobactersakazakii*. Agence française de sécurité sanitaire des aliments AFSSA. p : 1-6.
- ↵ **Liwa A.C., Jaka H.(2015).** Antimicrobial resistance: Mechanisms of action of antimicrobialagents. Battle AgaintsMicrob. Pathog. Basic Sci. Technol. Adv. Educ. Programs p:876–885.
- ↵ **Lortholary O., Duvivier C. (2013).** Processus inflammatoires et infectieux, 2.5° Edition, Elsevier Masson, France, p : 130.

### M

- ↵ **Magills., O’Leary E., Janelle SJ., Thompson DL., Dumyati G., Nadle J., Wilson LE., Kainer MA., Lynfield R., Greissman S., et al(2018).** Emerging Équipe d’enquête sur la prévalence hospitalière du Programme des infections. Changements dans la prévalence des infections nosocomiales dans les hôpitaux américains. N Engl J Med. 379 (18) p : 1732-1744.
- ↵ **Magiorakos AP., Srinivasan A., Carey RB., Carmeli Y., Falagas ME., Giske CG., Harbarth S., Hindler JF., Kahlmeter G., et al (2012).** Multidrug-resistant, extensively drugresistantandpandrug-resistant bacteria: an international lexpert proposal for interim standard definitionsfor acquired resistance. *ClinMicrobiolInfect* ; p : 268-81.
- ↵ **Mehdi S. (2008).** La fréquence des bactéries multi résistante a l'hôpital Hassan ii de Settat. These [en ligne] Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie. Rabat:Universite Mohammed Vfaculte De Medecine Et De Pharmacie, p : 48-51.
- ↵ **Meziane. (2012).** Contribution du diagnostic biochimique bactérien dans l’établissement des parentésphylogénétique :Cas des Entérobactéries et Pseudomonas, Mémoire Présenté pour l’Obtention du Diplôme de Magistère Spécialité : biochimie, Université Mentouri Constantine, 96p.rsité de Guelma,p : 124.

- ↵ **Monnet T. (2011).** Les infections nosocomiales : l'importance d'un suivi épidémiologique et De l'identification rapide des bactéries en cause : exemple de quelques techniques de Diagnostic permettant cette identification précoce. Thèse de doctorat, Université JOSEPH FOURIER-France,p : 93.
- ↵ **Moulin G., Cavalie P., Pellanne I., Chevance A., Laval A., Millemann Y., Colin P., et Chauvin C. (2008).** A comparison of antimicrobial usage in human and veterinary medicine in France from 1999 to 2005. *J. Antimicrob. Chemother.*p : 29-30.
- ↵ **Muylaert A., Mainil J.G., (2012).** Résistances bactériennes aux ATB s : Les mécanismes et leur "contagiosité." *Ann. Med. Vet.* 156, p : 109–123.

### O

- ↵ **Otto M. (2008).** Staphylococcal biofilms. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* p:207- 228.

### P

- ↵ **Poole K., (2001).** Multidrug resistance in Gram-negative bacteria. *Curr. Opin. Microbiol.* 4, p:500–508.

### R

- ↵ **Rebiahi A., (2012).** Caractérisation des souches de *Staphylococcus aureus* et étude de leur antibio-résistance au niveau du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen. Thèse de Doctorat, Université de Tlemcen. p : 1-32.
- ↵ **Rodier J., Bazin C., Broutin J.P., Chambon P., Champsaur H., et Rodi L. (2005).** L'analyse de l'eau: Eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. Chimie, physico-chimie, microbiologie, biologie, interprétation des résultats. Ed. Dunod.8ème Edition. Paris

### S

- ↵ **Springman AC., Lacher DW., Milton GWN. (2009).** Selection, recombination, and virulence gene diversity among group B streptococcal genotypes. *J Bacteriol.*p: 5419–27.

### T

- ↪ **Tang S.S., Apisarnthanarak A., Hsu L.Y. (2014).** Mechanisms of  $\beta$ -lactam antimicrobial resistance and epidemiology of major community- and healthcare-associated multidrugresistant bacteria. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 78, p:3–13.
- ↪ **Tohme A., Karam-sarkis D., El Rassi R., chélala D., Ghayad E. (1998).** Agents et conséquences des infections nosocomiales dans un centre hospitalier universitaire libanais. Elsevier Masson SAS, vol 152, N02.
- ↪ **Toudeft F., Aridj B., et Bellil L. (2012).** surveillance épidémiologiques des infections Nosocomiales au sein du CHU de Tizi-Ouzou, Algérie.

### W

- ↪ **Wellington E.M.H., Boxall A.B., et Cross P. (2013).** The role of the natural environment in the emergence of antibiotic resistance in gram-negative bacteria. *Lancet. Infect. Dis.* 13. p : 155-65.

### Site web

- [1]<http://www.sante.gouv.fr/maitrise-de-la-diffusion-des-bacteries>(consulté le 04/03/2024).
- [2][http://hassante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/201106/20110610\\_elements\\_verifs\\_v2010\\_manuel\\_revise\\_2011.pdf](http://hassante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/201106/20110610_elements_verifs_v2010_manuel_revise_2011.pdf)(consulté le 04/03/2024).
- [3][https://microbiologie-clinique.com/G%C3%A9lose\\_nutritive.html#:~:text=%E2%97%89%20Composition%20de%20la%20g%C3%A9lose%20nutritive&text=0%2C5%20%25%20de%20peptone%20%3A,de%20la%20solidit%C3%A9%20au%20m%C3%A9lange](https://microbiologie-clinique.com/G%C3%A9lose_nutritive.html#:~:text=%E2%97%89%20Composition%20de%20la%20g%C3%A9lose%20nutritive&text=0%2C5%20%25%20de%20peptone%20%3A,de%20la%20solidit%C3%A9%20au%20m%C3%A9lange)(consulté le 15/02/2024).
- [4]<https://microbiologie-clinique.com/MacCONKEY.html>(consulté le 25/02/2024).
- [5]<https://microbiologiemedicale.fr/gelose-au-cetrimide/>(consulté le 27/02/2024)
- [6]<http://ephytia.inra.fr/fr/C/23587/Veg-Di-g-Galeries>(consulté le 27/02/2024).

# **Annexes**

## Annexes

### Matériel utilisé

Le matériel utilisé au laboratoire est le suivant :

• **Appareillages :**

- Autoclave
- Ecouvillons stériles
- Etuves A 37°C
- Réfrigérateur
- Spectrophotomètre

• **Verrerie :**

- Lames et lamelles
- Pipettes pasteurs
- Tubes a essai stériles

• **Autres matériel :**

- Anse de platine
- Bec bunsen
- Boite de pétrie stériles
- Système Api 20 (Api 20 E, Api 20 NE, Api STAPH, Api STREP)

## Les milieux de culture

### 1. Gélose au cétrimide

Peptone .....	20g
Chlorure de sodium .....	3.0g
Sulfate de potassium .....	10g
Monohydrogénophosphate de potassium .....	0.3g
Cétrimide (bromure de tétradonium).....	0.2g
Acide nalidixique .....	0.015g
Agar-agar .....	12g

L'eau distillée g/ litre

pH = 7.1 / autoclavage 20 min à 120°C.

### 2. Chapman

Peptone trypsique de caséine .....	10g
Extrait de viande .....	1g
Chlorure de sodium .....	75g
Mannitol .....	10g
Rouge de phénol.....	0.025g
Agar-agar.....	15g

L'eau distillée g / litre

pH = 7.6 / autoclavage 20 min à 120°C.

### 3. Gélose Mueller-Hinton

Infusion de viande de bœuf.....	3.0g
Peptone de caséine .....	17.0g
Amidon de maïs .....	1.5g
Agar-agar.....	17.0g

L'eau distillée g/ litre

pH= 6.7/ autoclavage 20 min à 120°C.

### 4. Gélose nutritive (G.N)

Peptone pepsique de viande .....	5
Extrait de viande.....	1
Extrait de levure .....	2
Chlorure de sodium .....	.5
Agar-agar.....	15

---

L'eau distillée g/ litre

pH: 7.4±0.2/ autoclavage 20 min à 120°C. Pour les vibrions ajuster le pH à 8.

### 6. Bouillon Nutritif

Peptone ..... 5.0g

Extrait de viande..... 1.0g

Extrait de levure ..... 2.0g

Chlorure de sodium ..... 5.0g

L'eau distillée g/ litre

pH=7.4 ± 0.2 à 25 °C / autoclavage à 120° C pendant 20 min

### Les réactifs et colorants

#### Violet de Gentiane

Violet de gentiane ..... 1g

Ethanol à 90% ..... 1ml

Phénol ..... 2g

Eau distillée ..... 100ml

#### 1. Lugol

Iode ..... 1g

Iodure de potassium ..... 2g

Eau distillée ..... 100ml

#### 2. Fuchsine

Fuchsine basique ..... 1g

Alcool éthylique ..... 100ml

Phénol ..... 15g

Eau distillée ..... 100ml

**3. Réactif TDA (pour la recherche de tryptophane désaminase)**

Perchlorure de fer .....	3.4g
Eau distillée .....	100ml

**4. Réactif Kovacs (pour la recherche de l'indole)**

Paradiméthylaminobenzaldéhyde.....	5.0 g
Alcoolisoamylique .....	75.0 ml
HCL 37% .....	25.0 ml

**5. Réactif VPI (pour la recherche de l'acétoïne)**

Hydroxyde de potassium .....	40g
Eau distillée .....	100ml

**6. Réactif VP II (pour la recherche de l'acétoïne)**

Alpha naphthol .....	6g
Ethanol .....	100ml

**7. Réactif NIT I (pour la recherche du nitrate réductase)**

Acide sulfamilique .....	0.8 g
Acide acétique 5N .....	100 ml

**8. Réactif NIT II (pour la recherche du nitrate réductase)**

Naphtylamine .....	0.5 g
Acide acétique 5N .....	100 ml.

# Résumés

## Résumé

L'objectif de ce travail était d'isoler et identifier des bactéries à partir de 60 prélèvements effectués au niveau de trois services (Pneumologie, les urgences, Maladies infectieuses coté homme) de l'EPH Ibn Zohr de la ville de Guelma, et évaluer leur résistance aux différents ATB's choisis. Les bactéries ont été identifiées suivant les critères bactériologiques classiques. Un antibiogramme a été réalisé par la méthode de diffusion des disques.

Les résultats obtenus ont montré que la majorité des espèces identifiées (*Staphylococcus xylosum*, *Pseudomonas luteola*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Enterobacter sakazakii*, *Streptococcus porcinus*, *Staphylococcus hominis*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*) provoquent des infections nosocomiales. L'étude de la sensibilité aux ATB s testés a révélé que certaines espèces expriment une résistance multiple aux ATB's.

**Les mots clés :** Infection nosocomiale, Bactéries pathogènes, Résistance, ATB, Hôpital.

## Abstract

---

### Abstract

The objective of this work was to isolate and identify bacteria from 60 samples taken from three departments (Pneumology, Emergency, and Infectious Diseases - Men's Section) at the EPH Ibn Zohr in the city of Guelma, and to evaluate their resistance to the selected antibiotics. The bacteria were identified according to classical bacteriological criteria. An antibiogram was performed using the disk diffusion method.

The results showed that the majority of the identified species (*Staphylococcus xylosus*, *Pseudomonas luteola*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Enterobactersakazakii*, *Streptococcus porcinus*, *Staphylococcus hominis*, *E. coli*, *Klebsiellapneumoniae*) cause nosocomial infections. The study of the sensitivity to the tested antibiotics revealed that some species exhibit multiple resistance to ATB's.

**Key words:** Nosocomial infection, Pathogenic bacteria, Resistance, ATB, Hospital.

## الملخص

كان الهدف من هذا العمل هو عزل وتحديد البكتيريا من 60 عينة تم جمعها من ثلاثة أقسام (أمراض الرئة، الطواري، الأمراض المعدية - قسم الرجال) في المؤسسة العمومية الاستشفائية ابن زهر في مدينة قالمة، وتقييم مقاومتها لمختلف المضادات الحيوية المختارة. تم تحديد البكتيريا وفقاً للمعايير البكتريولوجية الكلاسيكية. تم إجراء اختبار الحساسية للمضادات الحيوية باستخدام طريقة انتشار الأقراص.

أظهرت النتائج أن غالبية الأنواع المحددة: (*Staphylococcus xylosus*, *Pseudomonasluteola*, *Enterobactercloacae*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Enterobactersakazakii*, *Streptococcus porcinus*, *Staphylococcus hominis*, *E.coli*, *Klebsiellapneumoniae*) تسبب عدوى المستشفيات.

دراسة الحساسية للمضادات الحيوية التي تم اختبارها كشفت أن بعض الأنواع تُظهر مقاومة متعددة للمضادات الحيوية.

**الكلمات المفتاحية:** عدوى المستشفيات، بكتيريا ممرضة، مقاومة، مضاد حيوي، مستشفى.