

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)

Présenter par :

-ZIGHA Malek

-BOUBEGUIRA Roufeida

Devant le jury composé de :

Président : Mme ABDI S.

M.C.B

Université de Guelma

Examineur : Mme ABDAOUI W.

M.C.B

Université de Guelma

Encadreur : Mme ABDA A.

M.C.B

Université de Guelma

Juin 2025

Remerciements

Avant tout, nous adressons nos remerciements les plus sincères à Dieu Tout-Puissant, qui nous a accordé la force, la patience et la persévérance nécessaires pour mener à bien ce travail.

Nos plus vifs remerciements s'adressent à notre encadrante, **Mme Abda Ahlem**, pour son accompagnement précieux, son dévouement, ses conseils avisés et sa bienveillance tout au long de l'élaboration de ce mémoire.

Nous exprimons également notre profonde gratitude aux membres du jury de soutenance : la présidente du jury, **Mme Abdi Soumyia**, et l'examinatrice, **Mme Abdaoui Wissem**, pour avoir accepté de juger ce travail et pour leurs remarques et suggestions constructives qui ont contribué à son enrichissement.

Nos remerciements vont aussi à l'ensemble des **enseignants, intervenants et personnels administratifs de l'Université 08 mai 1945**, pour leur encadrement et leur soutien tout au long de notre parcours académique.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et nos sincères remerciements au **Professeur Benouareth** pour les connaissances et les conseils précieux qu'il nous a transmis au cours de la période écoulée.

Nous adressons nos remerciements particuliers à :

Mme Mnidjel Nadia, cheffe du laboratoire de Bactériologie à l'hôpital Ibn Zohr, ainsi qu'à son équipe : **Imen, Meriem, Fatima et Naima**, pour nous avoir offert l'opportunité de réaliser la partie pratique de ce mémoire.

Nous tenons également à remercier la technicienne de laboratoire de l'université, **Mme Houda**, pour sa gentillesse et son aide précieuse tout au long de ce travail.

Enfin, nous exprimons notre reconnaissance à nos camarades de promotion pour leur soutien moral, leur esprit d'équipe, et les moments partagés qui ont enrichi notre parcours universitaire.

À toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire, nous adressons nos plus sincères remerciements.

DÉDICACE

C'est avec fierté et gratitude que je dédie ce travail modeste à tous ceux qui ont été un soutien et un appui tout au long de mon parcours.

Tout d'abord, louange à Dieu, le Très-Haut, le Tout-Puissant, qui m'a accordé le succès, facilité les chemins et m'a donné la force d'atteindre cet accomplissement.

À mon cher père Ammar...

Quels mots pourraient te rendre justice ? Aucun hommage ne suffit, aucun mot ne peut exprimer l'amour, le respect et l'estime immenses que je te porte.

Tu as toujours été le soutien qui ne faiblit pas, la main tendue en silence pour écarter chaque obstacle sur mon chemin. Tu m'as offert de ton temps, de ta force, et un amour sincère sans pareil.

Chaque réussite que j'accomplis est un baiser sur ton front, chaque succès que j'atteins est le fruit de ton effort, de ta patience et de tes veilles.

Je t'offre ce travail, papa, comme un gage de fidélité et de gratitude éternelle.

À ma chère maman Rahima...

Source de tendresse, dame au cœur pur, Tu as toujours été un symbole de bonté et de générosité.

Tes prières étaient ma provision, ton sourire ma force.

Aucun mot ne saurait suffire pour exprimer ma reconnaissance pour tout l'amour et le soutien sans limite que tu m'as donnés.

Ce succès est le fruit de ta patience et de tes sacrifices.

À mes chères sœurs : Hadeel, Aseel, Ikhlil

Vous êtes le baume de mon âme, ma fierté et ma joie, Votre amour et votre soutien étaient présents à chaque moment de faiblesse et de victoire.

À mon cher fiancé Borhan Eddine...

Merci pour ta présence, ta patience, ta foi en moi même quand je doutais de moi-même.

Tu as toujours été la force sur laquelle je m'appuyais, la sérénité à laquelle je revenais,

Tu as été le soutien dans le calme, et la motivation avec douceur.

À mes merveilleuses amies : Manel, Roufeida, Oumaima

Vous avez été les fleurs qui ont embelli le chemin du savoir, les sourires qui ont allégé les difficultés, Votre amitié était l'un des plus beaux cadeaux de ce voyage.

Et à mon binôme Roufaida

Tu n'étais pas seulement une camarade, mais un refuge quand tout devenait lourd.

Dans chaque moment de faiblesse, tu étais la force. Pour chaque fatigue que tu as partagée avec moi, un merci ne suffira jamais.



MALEK

DÉDICACE

C'est avec fierté et gratitude que je dédie ce travail modeste à tous ceux qui ont été un soutien et un appui tout au long de mon parcours.

Tout d'abord, louange à Dieu, le Très-Haut, le Tout-Puissant, qui m'a accordé le succès, facilité les chemins et m'a donné la force d'atteindre cet accomplissement.

À mon cher père Ammar...

Quels mots pourraient te rendre justice ? Aucun hommage ne suffit, aucun mot ne peut exprimer l'amour, le respect et l'estime immenses que je te porte.

Tu as toujours été le soutien qui ne faiblit pas, la main tendue en silence pour écarter chaque obstacle sur mon chemin. Tu m'as offert de ton temps, de ta force, et un amour sincère sans pareil.

Chaque réussite que j'accomplis est un baiser sur ton front, chaque succès que j'atteins est le fruit de ton effort, de ta patience et de tes veilles.

Je t'offre ce travail, papa, comme un gage de fidélité et de gratitude éternelle.

À ma chère maman Rahima...

Source de tendresse, dame au cœur pur, Tu as toujours été un symbole de bonté et de générosité.

Tes prières étaient ma provision, ton sourire ma force.

Aucun mot ne saurait suffire pour exprimer ma reconnaissance pour tout l'amour et le soutien sans limite que tu m'as donnés.

Ce succès est le fruit de ta patience et de tes sacrifices.

À mes chères sœurs : Hadeel, Aseel, Ikhlil

Vous êtes le baume de mon âme, ma fierté et ma joie, Votre amour et votre soutien étaient présents à chaque moment de faiblesse et de victoire.

À mon cher fiancé Burhan Eddine...

Merci pour ta présence, ta patience, ta foi en moi même quand je doutais de moi-même.

Tu as toujours été la force sur laquelle je m'appuyais, la sérénité à laquelle je revenais,

Tu as été le soutien dans le calme, et la motivation avec douceur.

À mes merveilleuses amies : Manel, Roufeida, Oumaima

Vous avez été les fleurs qui ont embelli le chemin du savoir, les sourires qui ont allégé les difficultés, Votre amitié était l'un des plus beaux cadeaux de ce voyage.

Et à mon binôme Roufaida

Tu n'étais pas seulement une camarade, mais un refuge quand tout devenait lourd.

Dans chaque moment de faiblesse, tu étais la force. Pour chaque fatigue que tu as partagée avec moi, un merci ne suffira jamais.



MALEK

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction.....1

Partie Bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les Infections Nosocomiales

Définition de l'infection nosocomiale.....3

2. Epidémiologie.....3

3. Origines des germes.....4

3.1. Flore saprophyte du malade lui-même.....4

3.2. Personnel soignant (médical et paramédical)4

3.3. Environnement4

4. Mode de transmission4

5. Différents types des infections nosocomiales6

5.1. Infections du site opératoire (ISO)6

5.2. Infections urinaires.....6

5.3. Infections respiratoires basses (pneumonie)6

5.4. Bactériémie.....6

5.5. Infections sur le cathéter.....7

5.6. Autres infections nosocomiales.....7

6. Agents responsables des infections nosocomiales8

6.1. Bactéries.....8

6.1.1. Bacilles à Gram négatif (BGN)8

6.1.2. Bacilles à Gram négatif non fermentaires.....9

6.1.3. Cocci à Gram positif.....	10
6.2. Autres micro-organismes.....	11
6.2.1. Virus.....	11
6.2.2. Champignons.....	11
6.2.3. Parasites.....	12
7. Facteurs favorisant les infections nosocomiales	12
7.1. Facteurs liés au patient.....	12
7.2. Facteurs liés aux soins.....	12
7.3. Facteurs liés à l'environnement hospitalier.....	12

Chapitre II : Prévention de lutte contre les infections nosocomiales

1. Responsabilité de lutte contre les infections nosocomiales.....	13
2. Mesure générale de la prévention.....	13
2.1. Antisepsie.....	13
2.2. Asepsie.....	15
2.2.1. Décontamination.....	15
2.2.2. Désinfection	15
2.2.3. Stérilisation.....	15
2.3. Stockage, conditionnement et présentation du matériel.....	16
2.4. Antibioprophylaxie.....	16
2.5. Principes généraux de prévention pour les hôpitaux.....	17
2.5.1. Bâtiments hospitaliers.....	17
2.5.2. Personnel.....	17
2.5.3. Déchets.....	17
2.5.4. Port de gants.....	17

2.5.5. Tenue professionnelle.....	17
2.5.6. Lavage des mains.....	18
3. Mesures spécifique de prévention.....	18
3.1. Prévention des infections urinaires nosocomiales.....	18
3.2. Prévention des pneumonies nosocomiales.....	19
3.3. Prévention des infections des plaies opératoires.....	20
3.4. Prévention des infections liées au cathéter.....	20

Partie Expérimentale

Chapitre III : Matériel Et Méthodes

1. Cadre d'étude.....	22
2. Prélèvement.....	22
2.1. Prélèvement à partir de l'air.....	23
2.2. Prélèvement à partir des surfaces sèches	23
2.3. Prélèvement à partir des surfaces humides.....	24
3. Isolement et purification des bactéries.....	25
3.1. Isolement.....	26
3.2. Purification des souches.....	28
3.3. Méthode d'inoculation.....	28
4. Identification.....	30
4.1. Observation macroscopique	30
4.2. Observation microscopique.....	31
4.2.1. Examen à l'état frais.....	31
4.2.2. Examen après coloration.....	32
5. Test biochimique	32

5.1. Recherche de catalase (Test catalase)	32
5.2. Recherche de Oxydase (Test oxydase)	33
6. Galeries biochimiques.....	34
7. AntibioGramme.....	36
7.1. Principe générale.....	36
7.2. Milieu utilisé pour l'antibioGramme.....	37
7.3. Préparation de l'inoculum bactérien.....	37
7.4. Inoculation des milieux géloses	38
7.5. Lecture.....	39

Chapitre IV : Résultats et Discussion

I. Résultats.....	40
1. Résultats de l'enrichissement.....	40
2. Aspect macroscopique après l'isolement.....	40
3. Résultats d'examen microscopique	43
4. Identification biochimique.....	45
4.1. Test Catalase – Oxydase.....	45
4.2. Galerie biochimique.....	46
5. AntibioGramme.....	48
II. Discussion.....	50

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

Résumés

Liste des figures

Figure 1 : Protocol de travail.....	23
Figure 2 : Exemples des sites de prélèvement des surfaces hospitalières.....	24
Figure 3 : Principe et résultats de la méthode d'isolement par quadrants.....	29
Figure 4 : Réaction négative et positive à la catalase.....	33
Figure 5 : Réaction d'oxydase positive.....	33
Figure 6 : Les conseils à suivre à l'hôpital.....	37
Figure 7 : La disposition des disques d'antibiotiques	38
Figure 8 : Résultats de l'enrichissement (présence d'un trouble dans le milieu)	40
Figure 9 : Culture sur Mac Conkey à partir de prélèvement (9.10)	42
Figure 10 : Culture sur Chapman à partir de prélèvement (5.6)	42
Figure 11 : Culture sur cétrimide à partir de prélèvement (8.9)	42
Figure 12 : Culture sur cétrimide à partir de l'échantillon (15)	42
Figure 13 : Les différentes formes des cultures isolées.....	43
Figure 14 : Résultat de test Oxydase.....	45
Figure 15 : Résultat de test Catalase.....	45
Figure 16 : Galerie API 20NE avant et après incubation.....	46
Figure 17 : Galerie APIStaph avant et après incubation.....	46
Figure 18 : Galerie API 20 E avant et après incubation.....	46
Figure 19 : Lecture par API Web de serratia liquefaciens.....	47
Figure 20 : Profil numérique de serratia liquefaciens	47
Figure 21 : Résultat d'antibiogramme de la culture N° (7)	49
Figure 22 : Résultat d'antibiogramme de la culture N° (3)	49
Figure 23 : Résultat d'antibiogramme de la culture N° (6)	49

Liste des tableaux

Tableau I : Les modes de transmission des germes.....	5
Tableau II : Spectre et caractéristiques des agents utilisés pour l'hygiène des mains	14
Tableau III : Les sites de prélèvements.....	25
Tableau IV : Galeries API bio Mérieux SA et bactéries identifiables.....	36
Tableau V : Les antibiotiques pour chaque germe.....	39
Tableau VI : Résultats de l'isolement des différents prélèvements effectués.....	40
Tableau VII : Résultats de l'examen microscopique à l'état frais et après coloration.....	44
Tableau VIII : Résultats des tests Catalases et Oxydases des bactéries isolées.....	46
Tableau IX : Les résultats obtenus pendant notre étude pratique.....	47
Tableau X : Résultat de l'antibiogramme.....	48

LISTE DES ABREVIATIONS

AM10 : Ampicilline 10 µg.

AMC : Amoxicilline acide clavulanique.

AMX : Amoxicilline.

API : Analytical Profile Index.

API 20E : Analytical Profile Index 20 E (E : Entérobactéries).

API 20NE : Analytical Profile Index 20 Non Entérobactéries.

API STAPH: Analytical Profile Index Staphylococcus.

ATB : Antibiotique.

BGN : Bacilles à Gram négatif.

BN : Bouillon Nutritif.

C : Chloramphénicol.

CN : Cefalexine.

CTX : Céfotaxime.

FO : Fosfomycine.

GN : Gélose nutritive.

I : Intermédiaire.

IAS : Infection associées aux soins de santé.

IN : Infection nosocomiale.

ISO : Les infections du site opératoire.

IU : Infection urinaire.

MH : Mueller Hinton.

OMS : L'Organisation mondiale de la santé.

P : Penicillin G.

R : résistante.

RIF : Rifampicine.

S : Sensible.

VA : Vancomycine.

.

Introduction

Les infections nosocomiales (IN) représentent l'un des principaux défis auxquels sont confrontés les systèmes de soins de santé aux niveaux national et international, en raison de leur impact direct sur la santé des patients, le coût des traitements et la qualité des services de santé. Ces infections sont définies comme toute infection microbienne survenant pendant ou après le séjour du patient dans un établissement de santé, et qui n'était ni ne présente ni en incubation au moment de son admission. Elles apparaissent généralement après 48 heures d'hospitalisation, voire après la sortie dans certains cas.[10]

Les infections nosocomiales incluent divers types, tels que les infections des voies urinaires, les infections des plaies chirurgicales, les infections respiratoires et les septicémies. Elles sont souvent causées par des micro-organismes résistants aux antibiotiques, ce qui complique leur prise en charge. La gravité de ces infections réside dans leur taux élevé de morbidité et de mortalité, en particulier chez les patients atteints des maladies chroniques ou ceux soumis à des interventions médicales complexes.

Cependant, les infections nosocomiales ne sont pas le « prix à payer » du progrès médical car elles sont moins inéligibles à mesure que certains pays développent une politique de prévention. (Letreche A. N., 2012)

Ainsi :

À l'USA une politique de prévention des infections nosocomiales est en place depuis 1970. Elle a permis de démontrer qu'environ 30 % de ces infections peuvent être évitées grâce à des mesures simples et efficaces. La prévalence des infections nosocomiales y est estimée entre 3 % et 5 %, atteignant 9,2 % dans les unités de soins intensifs. (Tasseau, F., & Baron, D. 1989).

En France, le Comité de Lutte contre les infections nosocomiales (CLIN) a été créé en 1988. Il est chargé de surveiller ces infections, de formuler des recommandations, de former le personnel de santé, de valider les protocoles de soins et de participer au contrôle de la prescription des antibiotiques. La prévalence en France est estimée entre 6 % et 7 %, et peut atteindre 20 % dans les services de réanimation. (Beaucaire G., 1997)

En Afrique, la prévention des infections nosocomiales connaît également un essor depuis quelques années. Le taux de prévalence le plus élevé y est estimé à environ 25 %. (Beytout D., 1989)

Dans cette optique, notre étude a porté sur l'isolement, l'identification et l'étude de la résistance aux ATBs des bactéries isolées à partir de service de l'établissement Hospitalier Public (EPH) Ibn Zohr de la ville de Guelma.

Ce travail comporte deux parties principales :

- I. La partie bibliographique avec deux chapitres qui traitent les infections nosocomiales et leur prévention.
- 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 de l'infection nosocomiale :

Le mot nosocomiale vient du grec nosokomeion et signifie hôpital. Les infections nosocomiales, également appelées « infections acquises à l'hôpital », sont des infections contractées lors des soins hospitaliers et qui n'étaient ni présentes ni en incubation au moment de l'admission. En général, une infection survenant plus de 48 heures après l'admission est considérée comme nosocomiale.[3]

Des définitions ont été élaborées pour identifier les infections nosocomiales selon les sites infectieux spécifiques (par exemple, urinaire, pulmonaire). Ces définitions sont issues de celles publiées par les Centers for Disease Control and Prevention (CDC) aux États-Unis ou établies lors de conférences internationales, et elles sont utilisées pour la surveillance des infections nosocomiales. Elles reposent sur des critères cliniques et biologiques et couvrent environ 50 sites d'infection potentiels.[3]

Les infections nosocomiales peuvent être classées comme endémiques ou épidémiques. Les infections endémiques sont les plus fréquentes. Les infections épidémiques apparaissent lors de flambées, définies comme une augmentation inhabituelle par rapport au niveau de base d'une infection spécifique ou d'un agent pathogène.[3]

Les évolutions dans l'organisation des soins de santé ont entraîné une réduction de la durée des hospitalisations et une augmentation des soins en ambulatoire. Il a donc été suggéré que le terme « infections nosocomiales » englobe également les infections survenant chez les patients recevant un traitement dans tout type d'établissement de soins. Les infections contractées par le personnel ou les visiteurs dans un hôpital ou un autre cadre de soins peuvent aussi être considérées comme des infections nosocomiales.[3]

2. Épidémiologie

L'infection nosocomiale affecte un grand nombre de patients dans le monde, ce qui augmente considérablement le taux de mortalité et les pertes financières (Emily RM & Syndor TMP, 2011). Selon les estimations de l'OMS, environ 15% de tous les patients hospitalisés souffrent de ces infections.[9]

Ces infections sont responsables de 4 à 56 % de toutes les causes de décès chez les nouveau-nés, avec un taux d'incidence de 75 % en Asie du Sud-Est et en Afrique subsaharienne. (Emily RM & Syndor TMP, 2011)

L'incidence est suffisamment élevée dans les pays à revenu élevé, c'est-à-dire entre 3,5 % et 12 %, tandis qu'elle varie entre 5,7 % et 19,1 % dans les pays à revenu intermédiaire et faible. La fréquence des infections globales dans les pays à faible revenu est trois fois plus élevée que dans les pays à revenu élevé, tandis que cette incidence est 3 à 20 fois plus élevée chez les nouveau-nés (Nejad SB et al, 2011).

3. Origines des germes.

3.1 La flore saprophyte du malade lui-même :

Elle subit au cours des premiers jours de l'hospitalisation des modifications qualitatives.

Les bacilles gram négatif et plus accessoirement les levures (candida) remplacent les cocci gram positif ou les anaérobies.

Ces flores saprophytes modifiées colonisent les sites préférentiels chez le malade entraînant une infection de l'appareil urinaire, des plaies opératoires, ou du parenchyme pulmonaire... [12]

3.2 Le personnel soignant (médical et paramédical) :

La contamination peut se faire par le biais du personnel soignant qui transmet les germes d'un patient à l'autre avec ses instruments ou ses mains souillées. [12]

3.3 L'environnement :

Il est moins déterminant dans le cadre de programme de prophylaxie que les deux précédentes origines. Il peut être contaminé par le personnel ou par le patient. Il comprend les divers appareillages d'assistance respiratoire et de monitoring par voie intra vasculaire, les lavabos, les instruments (stéthoscope, tensiomètre ...), les liquides et les tubulures, la nourriture et l'air ambiant.[12]

4. Le mode de transmission :

On peut citer cinq mécanismes de transmission :

Tableau I : Les modes de transmission des germes (Samou F.H, 2005).

Type d'infection	Définitions	Source de l'infection	Modes de transmission	Exemples
Auto - infection	Infection causée par les propres germes du patient ou son environnement immédiat	Germes saprophytes (peau ; vêtements ; lit)	Interne favorisée par immunosuppression	Infection respiratoires liées au décubitus bactériémies chez les immunodéprimés
Hétéro-infection	Infection croisée transmise d'un malade à un autre souvent via le personnel soignant ou le matériel	Un autre patient infecté	Par les mains ou instruments médicaux	Infection manu-portées ou transmises par le matériel médical ; sensibles aux mesures d'hygiène
Xéno-infection	Infection d'origine communautaire introduite dans l'hôpital par des personnes infectées ou en incubation	Malades visiteurs ou personnel venant de l'extérieur	Voie aérienne ; contact direct ou indirect	Transmission on facilitée par les conditions hospitalières ; isolement nécessaire si l'infection est le motif
Exo-infection	Infection causée par des défaillances techniques ou matériaux contaminés utilisés auprès des patients	Matériaux médicaux ou domestique non stériles	Par dispositifs techniques ou matériels	Problèmes de stérilisation (eau ; filtres ; équipements) Infection souvent épidémiques
Patient réceptif	Patient vulnérable à cause d'une immunodépression liée à une pathologie ou un état particulier	Aucune (condition du patient)	Réceptif à tous les types d'infection	Brulés ; polytraumatisée ; patient sondés ; personnes âgées prématurés ; insuffisant respiratoire ; grabataires

5. Les différents types des infections nosocomiales :

Les recommandations de la cinquième conférence de consensus SFAR–SRLF sur la prévention des infections nosocomiales en réanimation classent ces infections selon leur localisation anatomique (SFAR et SRLF, 2009).

5.1.Les infections du site opératoire (ISO) :

Sont définies comme nosocomiales lorsqu'elles surviennent dans un délai de 30 jours après une intervention chirurgicale, ou dans l'année qui suit la pose d'un implant, d'une prothèse ou d'un dispositif prothétique. Elles se distinguent en infections superficielles, touchant les tissus cutanés ou muqueux, et en infections profondes, atteignant les tissus sous-jacents ou les organes (SFAR et SRLF, 2009).

5.2.Infections urinaires

Les infections urinaires représentent les infections nosocomiales les plus fréquentes, environ 80 % des cas étant liés à l'utilisation d'une sonde vésicale à demeure (1, 2, 3). Bien qu'elles soient généralement associées à une morbidité plus faible que d'autres infections nosocomiales, elles peuvent, dans certains cas, entraîner une bactériémie potentiellement mortelle. Le diagnostic repose généralement sur des critères microbiologiques, notamment une uro culture quantitative positive ($\geq 10^5$ micro-organismes/ml), avec l'isolement d'une ou deux espèces microbiennes au maximum. Les bactéries responsables proviennent de la flore intestinale du patient, qu'elle soit naturelle (comme *Escherichia coli*) ou acquise en milieu hospitalier (comme *Klebsiella* multirésistantes) (G. Ducel, 2002)

5.3.Les infections respiratoires basses :(pneumonie)

Ces infections sont majoritairement liées à l'utilisation de la ventilation mécanique. Elles représentent une problématique majeure en réanimation, en raison de leur fréquence élevée et de leur impact significatif sur la morbi-mortalité en unités de soins intensifs (SFAR et SRLF, 2009)

5.4.Bactériémie : Septicémie primaire :

La septicémie résulte généralement de la dissémination systémique d'une infection locale insuffisamment traitée, telle qu'une infection respiratoire ou urinaire, mais peut également avoir une origine cutanée. L'utilisation de dispositifs médicaux est impliquée dans la majorité des cas

de septicémies nosocomiales, en particulier les dispositifs intravasculaires tels que les chambres implantables de perfusion veineuse, ainsi que les cathéters centraux ou périphériques (SFAR et SRLF, 2009)

5.5. Les infections sur le cathéter :

Le cathéter peut être colonisé par des bactéries selon plusieurs mécanismes : par migration le long de la surface externe des tubulures, par contamination manuportée lors des manipulations effectuées par le personnel médical ou paramédical, ou encore par voie hématogène, c'est-à-dire par la fixation de germes circulants dans le sang sur le dispositif. Les manifestations cliniques peuvent se limiter à des signes inflammatoires au niveau du point d'insertion du cathéter, accompagnés éventuellement d'un écoulement purulent. Toutefois, une complication majeure est la survenue d'une bactériémie, représentant la diffusion des bactéries dans la circulation sanguine, pouvant évoluer vers une infection systémique. Le traitement repose généralement sur le retrait du cathéter incriminé, lorsqu'il est possible, et sur une antibiothérapie adaptée (Stammn E, 1986)

5.6. Autres infections nosocomiales :

Les infections nosocomiales évoquées précédemment constituent les quatre types les plus courants et les plus significatifs sur le plan clinique. Néanmoins, d'autres sites anatomiques peuvent également être le siège d'infections nosocomiales, tels que :

- ✓ Les lésions cutanées telles que les ulcères, les brûlures et les escarres constituent un terrain propice à la colonisation bactérienne, ce qui peut favoriser la progression vers une infection locale, voire une infection systémique en l'absence de prise en charge appropriée.
- ✓ La gastro-entérite représente l'infection nosocomiale la plus courante chez l'enfant, le rotavirus étant l'agent étiologique prédominant. Chez l'adulte, notamment dans les pays développés, *Clostridium difficile* constitue la principale cause de gastro-entérite d'origine nosocomiale.
- ✓ Ces affections regroupent des infections fréquentes des sinus, de la sphère ORL et de l'œil, nécessitant une prise en charge adaptée selon l'agent infectieux.
- ✓ Endométrite et autres infections de l'appareil génital après l'accouchement (Ducel et al, 2008)

6. Les agents responsables des infections nosocomiales :

De nombreux agents pathogènes différents peuvent être responsables des infections nosocomiales. Leur nature varie en fonction des catégories de patients, du type d'établissement de santé, ainsi que d'un établissement ou d'un pays à l'autre.[4]

6.1 Les bactéries :

Les bactéries sont responsables d'environ 90 % des infections nosocomiales.

6.1.1. Les bacilles à Gram négatif (BGN) :

Une grande partie de ces infections est causée par des bactéries multirésistantes aux antibiotiques, notamment les bacilles à Gram négatif tels que :

- La famille des Enterobacteriaceae
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Acinetobacter baumannii*
- *Serratia* (Baba Ahmed et al.,2014 ; Vasudevan et al.,2014)

a. La famille des Enterobacteriaceae :

Ces bactéries résident principalement dans le tube digestif, surtout le côlon, chez l'homme et les animaux, mais elles sont aussi présentes dans l'environnement.

Ce sont des bactéries à Gram négatif. La famille est composée d'environ 30 genres et plus de 100 espèces. Certaines sont mobiles grâce à des cils, d'autres sont immobiles.

Elles sont souvent responsables d'infections urinaires, pulmonaires, de septicémies et d'infections intra-abdominales (Baba Ahmed et al.,2014)

❖ Escherichia coli :

Escherichia coli est une bactérie en forme de bacille appartenant à la famille des Enterobacteriaceae. Elle est aéro-anaérobie facultative, fermente le glucose et le lactose, (Farmer et al.,2007). Produit de l'indole, mais n'utilise pas le citrate de sodium. Elle colonise précocement l'homme et peut provoquer principalement : des infections urinaires (80 %), des troubles digestifs, ainsi que des méningites néonatales et des septicémies (Jaureguy,2009).

❖ Klebsiella pneumoniae :

Klebsiella pneumoniae est une bactérie immobile, capsulée, à Gram négatif, fréquente dans l'environnement et les voies respiratoires supérieures. Elle est oxydase négative, uréase et nitrate réductase positives, et fermente le glucose avec production de gaz. Elle est responsable d'infections nosocomiales graves (urinaires, respiratoires, biliaires), pouvant évoluer en septicémie sévère (Janda et al ,2006).

❖ Serratia :

Le genre *Serratia* comprend huit espèces, dont *S. marcescens* et *S. liquefaciens* sont les plus fréquemment rencontrées. Certaines souches produisent un pigment rouge appelé prodigiosine. Il y a une vingtaine d'années, ce germe était peu connu des cliniciens, mais il est devenu courant en milieu hospitalier en raison de sa multirésistance aux antibiotiques.

S. marcescens est une bactérie opportuniste, responsable de nombreuses infections nosocomiales, notamment urinaires et respiratoires. Elle peut aussi être isolée dans le sang ou dans des suppurations des voies biliaires. Bien qu'elle ne soit pas entéropathogène, elle peut coloniser le tube digestif. La transmission se fait principalement par les mains du personnel soignant.

S. liquefaciens est une bactérie environnementale qui peut également être présente à l'hôpital. Les deux espèces peuvent contaminer des solutions antiseptiques. Elles sont généralement sensibles aux céphalosporines à large spectre et aux aminosides.[7]

6.1.2. Les bacilles à Gram négatif non fermentaires :

Les bacilles à Gram négatif non fermentaires sont des bactéries aérobies strictes, présentes dans l'environnement (eau, sol, air). Elles n'utilisent pas la fermentation pour produire de l'énergie. Parmi elles, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* sont des pathogènes opportunistes fréquemment isolés en milieu hospitalier, notamment en soins intensifs (Baba Ahmed et al.,2014).

❖ Acinetobacter baumannii :

Est un coccobacille à Gram négatif, non sporulé, immobile (mais parfois mobile par saccades grâce à des fimbriae polaires). Il appartient à la famille des Moraxellaceae et comprend 34 espèces, dont *A. baumannii* est la plus courante dans les infections nosocomiales. Ce germe ubiquitaire se retrouve dans le sol, l'eau potable, les aliments et l'environnement hospitalier. (Giamarellou et al., 2008).

Le réservoir principal est le patient et son entourage immédiat. Il peut coloniser la peau, les voies respiratoires et le tube digestif, et contaminer le matériel médical.

Sur le plan biochimique, ces bactéries sont catalase (+), oxydase (-), strictement aérobies, prototrophes et ne réduisent généralement pas les nitrates. Elles oxydent le glucose en acide gluconique grâce à un glucose déshydrogénase. Les tests LDC, ODC, ADH, H₂S, indole, bêta-galactosidase et DNase sont négatifs. L'hydrolyse de la gélatine est variable. Certaines souches produisent faiblement de l'uréase ou de la phénylalanine désaminase.

Acinetobacter baumannii est responsable d'infections nosocomiales graves, notamment chez les patients en réanimation : pneumonies associées à la ventilation, infections urinaires sur sonde, infections liées aux cathéters, avec risque de septicémie (O'Shea, 2012).

❖ ***Pseudomonas aeruginosa* :**

Pseudomonas aeruginosa, aussi appelée bacille pyocyanique (ou bacille du « pus bleu »), appartient à la famille des Pseudomonadaceae (Garrity et al., 2005). C'est une bactérie à Gram négatif, très mobile, asporulée, de taille 0,5–0,8 × 1,5–3,0 µm. Sa membrane externe contient des porines variables qui influencent sa perméabilité aux antibiotiques, et son lipopolysaccharide (LPS) est très hétérogène.

Bactérie environnementale, *P. aeruginosa* peut être un commensal du tube digestif ou un saprophyte des milieux humides. Elle peut survivre sur des surfaces inertes humides et même dans certaines solutions antiseptiques mal conservées.

Elle ne fermente pas les sucres mais les utilise par voie oxydative, notamment le glucose. Elle est oxydase positive. Son identification repose aussi sur d'autres caractéristiques biochimiques : indole ⁻, uréase ⁻, TDA ⁻, H₂S ⁻, gélatinase ⁺, ONPG ⁻, nitrate-réductase ⁺, LDC ⁻, ODC ⁻, ADH ⁺ (lie, 2002).

P. aeruginosa est un pathogène opportuniste majeur, responsable de nombreuses épidémies hospitalières, en particulier chez les patients immunodéprimés ou en soins intensifs. (Euzéby, 2005).

6.1.3. Les Cocci à Gram positif :

Bien qu'aucune preuve directe ne le confirme, l'environnement des patients colonisés par des bactéries à Gram positif constitue un réservoir potentiel pour la transmission croisée, ce qui favorise les infections nosocomiales. Ces Cocci sont responsables d'environ 30 % des infections nosocomiales. (Bouguenoun w, 2017)

❖ Staphylococcus aureus :

Staphylococcus aureus, ou staphylocoque doré, appartient à la famille des *Staphylococcaceae*. Ce sont des cocci réguliers de 0,5–1 µm, groupés en amas, immobiles et non sporulés. Ils survivent longtemps sur des surfaces sèches et résistent relativement bien à la chaleur. Leur habitat naturel inclut les fosses nasales et les mains des personnes saines.

Ce sont des bactéries aéro-anaérobies facultatives, catalase (+), oxydase (–), halophiles, mésophiles (37 °C), capables de croître à basses températures (6–12 °C), et neutrophiles. Leur métabolisme est fermentatif et/ou respiratoire.

Staphylococcus aureus est un pathogène majeur en milieu hospitalier, responsable d'infections cutanées, muqueuses et de septicémies. Les souches résistantes à la pénicilline (SARM) sont impliquées dans 30 à 40 % des infections nosocomiales. Ces infections sont graves en raison de leur diversité clinique et de la multirésistance des souches. (Bouguenoun w, 2017).

6.2 Autres micro-organismes :

Les bactéries ne sont pas les seuls microorganismes responsables des infections nosocomiales.

6.2.1 Les virus :

De nombreux virus peuvent être à l'origine des infections nosocomiales. Parmi les plus concernés, on trouve les virus des hépatites B et C (transmission par transfusion, dialyse, injections ou endoscopie), ainsi que le virus respiratoire syncytial, les rotavirus et les entérovirus, transmis par contact main-bouche ou voie féco-orale. (G. Duce, 2002).

D'autres virus, comme le cytomégalovirus, le VIH, le virus Ebola, les virus grippaux, de l'herpès et de la varicelle-zona, peuvent également se transmettre en milieu hospitalier.[3]

6.2.2 Les champignons :

Les champignons pathogènes provoquent principalement des infections opportunistes chez les patients immunodéprimés ou porteurs de dispositifs médicaux comme les cathéters. Les espèces les plus fréquemment impliquées dans les infections associées aux soins (IAS) sont *Candida albicans*, *C. parapsilosis* et *C. glabrata* (G. Duce, 2002).

6.2.3 Parmi les parasites

Les plus fréquemment impliqués dans les infections nosocomiales, on retrouve :

- Plasmodium, transmis lors des transfusions sanguines
- Sarcoptes scabiei, responsable de la gale
- Pneumocystis carinii, un agent opportuniste provoquant des pneumopathies nosocomiales, notamment chez les nouveau-nés et les patients immunodéprimés (G. Ducel, 2002).

7. Facteurs favorisant les infections nosocomiales :

7.1.Facteurs liés au patient [8] :

Âge extrême : Les nourrissons prématurés et les personnes âgées sont particulièrement vulnérables aux infections nosocomiales en raison de la fragilité de leur système immunitaire.

Immunodépression : Les patients ayant un système immunitaire affaibli (ex : VIH, chimiothérapie, greffe) sont plus à risque.

Comorbidités : Le diabète, l'obésité ou la dénutrition augmentent la susceptibilité aux infections.

7.2.Facteurs liés aux soins [5] :

Dispositifs médicaux invasifs : Les cathéters, sondes et ventilateurs peuvent introduire des bactéries.

Interventions chirurgicales : Toute intervention invasive comporte un risque accru d'infection.

Antibiothérapie : Un mauvais usage des antibiotiques peut entraîner une résistance bactérienne.

7.3.Facteurs liés à l'environnement hospitalier [1] :

Hygiène insuffisante : Le non-respect des règles d'hygiène favorise la propagation des germes.

Surpopulation : Une forte densité de patients augmente le risque de contamination croisée.

Équipements mal entretenus : Des dispositifs non désinfectés ou mal stérilisés peuvent transmettre des infections.

Chapitre II

Prévention de lutte
contre les infections

1. Responsabilité de lutte contre les infections nosocomiales :

La prévention des infections contractées en milieu hospitalier est une priorité majeure pour tous les établissements de santé. Elle implique l'ensemble des acteurs de la prise en charge : patients, visiteurs, médecins, infirmiers, pharmaciens, biologistes, et personnels des services d'asepsie, de restauration, de nettoyage et de maintenance technique.

Le succès des programmes de prévention repose sur la mise en œuvre des principes suivants :

- ✓ Élaborer et actualiser des directives et recommandations portant sur la surveillance, la prévention et les bonnes pratiques en matière de santé.
- ✓ Mettre en place un système national de surveillance de certaines infections et d'évaluation de l'efficacité des mesures prises.
- ✓ Harmoniser les programmes de formation, initiale et continue, destinés aux professionnels de santé.
- ✓ Faciliter l'accès aux matériels et équipements indispensables pour garantir l'hygiène et la sécurité.
- ✓ Encourager les établissements de santé à suivre les cas d'infections nosocomiales et à restituer les données aux professionnels concernés.
- ✓ Désigner une autorité sanitaire officielle (ministère ou instance compétente) chargée de superviser le programme et de planifier les activités nationales, en concertation avec un comité national d'experts, les organisations professionnelles et les universités.

[3]

2.Mesure générale de la prévention

2.1 L'antisepsie

C'est un ensemble de méthodes et de moyens visant à prévenir les infections en éliminant ou en inhibant la croissance des micro-organismes sur les tissus vivants ou les objets inanimés, en utilisant des procédés physiques tels que la filtration ou les rayonnements, ou des moyens chimiques comme des substances bactéricides, virucides ou fongicides (Cronin w & Tietjen L,1992).

Tableau II : Spectre et caractéristiques des agents utilisés pour l'hygiène des mains

(Anonyme,2001).

Groupes	Bactéries à Gram positif	Bactéries à Gram négatif	Mycobactéries	Champignons	Virus	Rapidité d' action	Commentaires
Alcools	+++	+++	+++	+++	+++	Immédiate	-Activité optimale aux concentrations de 60-90 -Aucune Activité résiduelle
Chlorhexidine	+++	++	+	+	+++	Intermédiaire	- Activité résiduelle -Réaction allergique rare
Composés iodés	+++	+++	+++	++	+++	Intermédiaire	-Induit de brulures cutanées Trop irritant pour être utilisé pour l'hygiène manuelle
Iodophores	+++	+++	+	++	++	Intermédiaire	Moins irritant que les composés iodés Tolérance variable
Dérivés phénolés	+++	+	+	+	+	Intermédiaire	Activité neutralisée par les surfactants non ioniques
Triclosan	+++	++	+	-	+++	Intermédiaire	Acceptabilité variable
Ammoniums Quaternaires	+	+++	-	-	+		Utilisées uniquement en combinaison avec un dérivé alcoolique Impact sur l'environnement

Activité : (+++) Excellente ; (++) Bonne, mais n'inclut pas la totalité du spectre microbien ; (+) insuffisant, (-) manque d'activité ou activité insuffisante.

Remarque : l'hexachlorophénone n'est pas inclus dans cette liste car elle n'est plus acceptée comme agent d'hygiène des mains

2.2 Asepsie

Selon le dictionnaire médical Larousse (1981), l'asepsie est définie comme l'absence totale de tout germe microbien ou de tout élément susceptible d'entraîner la putréfaction ou l'infection. Cette définition est élargie par le Dictionnaire français de médecine et de biologie (**Flammarion, 1970**), qui décrit l'asepsie comme l'ensemble des moyens visant à empêcher la contamination des objets, des substances, des organismes ou des locaux.

La mise en œuvre de l'asepsie nécessite un travail d'équipe coordonné et repose sur trois étapes essentielles : la décontamination, la désinfection et la stérilisation (Cronin W & Tietjen L.1992).

2.2.1. La décontamination

Elle consiste à éliminer ou inhiber les micro-organismes indésirables, afin de réduire leur nombre sur le matériel utilisé (Cronin W & Tietjen L, 1992).

2.2.2. La désinfection

Cette opération vise à éliminer la majorité des micro-organismes pathogènes présents sur les instruments, sans toutefois les éradiquer complètement. La désinfection de haut niveau permet de détruire presque tous les micro-organismes, y compris les bactéries végétatives, les levures et les virus, à l'exception de certaines spores bactériennes résistantes. Les instruments ayant subi une désinfection de haut niveau peuvent être utilisés en toute sécurité sur une peau lésée ou des muqueuses intactes (Cronin W & Tietjen L, 1992)

2.2.3. La stérilisation :

La stérilisation est un ensemble de méthodes utilisées pour tuer les micro-organismes (bactériens, viraux ou parasitaires) (Cronin W & Tietjen L, 1992)

- ❖ **Stérilisation par chaleur sèche :** Elle consiste à exposer les instruments à une température comprise entre 160°C et 200°C pendant plus d'une heure. Ce type de stérilisation est utilisé pour les instruments chirurgicaux et la verrerie, mais il est moins efficace en raison de l'isolation de l'air et de la différence de densité entre les instruments et les parois des contenants. (Cronin W & Tietjen L,1992).

- ❖ **Stérilisation par chaleur humide :** Elle est réalisée à l'aide d'un autoclave qui utilise de la vapeur d'eau sous pression. Ce procédé est plus efficace pour transférer la chaleur et tuer les micro-organismes. (Cronin W & Tietjen L1992).

- ❖ **Stérilisation par rayonnements ionisants :**

Cette méthode consiste à exposer les micro-organismes à des rayons gamma ou à un faisceau d'électrons accélérés. C'est une stérilisation à froid, sans rémanence, sûre et reproductible.

- Elle permet de traiter les objets dans leur emballage final.
- Elle est utilisée pour le caoutchouc et le métal, mais présente une limite : l'irradiation peut altérer la structure des polymères naturels et synthétiques. (Cronin W & Tietjen L1992).

- ❖ **Stérilisation Par filtration :**

Utilisée pour les liquides et les gaz sensibles à la chaleur, cette méthode n'est pas totalement fiable. C'est pourquoi il est recommandé d'ajouter un antiseptique après filtration pour assurer une meilleure efficacité. (Cronin W & Tietjen L,1992).

- ❖ **Stérilisation Par oxyde d'éthylène :**

Ce procédé emploie un gaz toxique, très soluble dans l'eau, qui agit à température modérée par alkylation des macromolécules bactériennes. Il convient aux matériaux thermolabiles. En raison de sa toxicité, des précautions strictes doivent être respectées, notamment une période de désorption dans une armoire ventilée à 55 °C pendant au moins 3 jours, pouvant aller jusqu'à 15 ou 30 jours pour certains matériaux comme le latex ou le caoutchouc. (Cronin W & Tietjen L,1992).

2.3 Stockage, conditionnement et présentation du matériel

Le matériel doit être stocké et conditionné de manière à éviter toute contamination, notamment les champs, les étuis ou les boîtes stériles. Le lieu de stockage doit être régulièrement désinfecté. Une bonne présentation du matériel lors de son utilisation permet de prévenir sa contamination, ce qui est particulièrement important pour les implants prothétiques. Cela constitue un complément essentiel aux mesures de prévention. (Cronin W & Tietjen L,1992).

2.4 L'antibioprophylaxie :

Il s'agit de l'administration préventive d'un antibiotique avant toute contamination bactérienne liée à un acte opératoire. Son but est de réduire les infections superficielles au niveau du site opératoire. Elle concerne uniquement certaines interventions des classes I (propres) et II (propres contaminées) selon la classification d'Altemeier, notamment celles à haut risque infectieux ou dont les complications, bien que rares, peuvent être graves.

Les interventions des classes III (contaminées) et IV (sales) nécessitent une antibiothérapie curative adaptée. (Cronin W & Tietjen L,1992).

L'antibioprophylaxie doit prendre en compte :

- La flore microbienne locale
- Le rapport coût/efficacité
- La bonne diffusion de l'antibiotique au site opératoire.

Elle doit être courte, idéalement limitée à 24 heures, et ne jamais dépasser 48 heures. Il est conseillé d'éviter les antibiotiques à large spectre, qui ne doivent être qu'un complément aux mesures de prévention. (Cronin W & Tietjen L, 1992).

2.5 Principes généraux de prévention pour les hôpitaux :**2.5.1. Les bâtiments hospitaliers :**

Doivent respecter les normes en termes de surface et d'aération. Ils doivent être nettoyés chaque matin et soir avec une serpillière et des désinfectants, sans balayage préalable. Le sol de la salle d'opération est nettoyé après chaque intervention avec de l'eau de Javel diluée, et l'ensemble du bloc opératoire est lavé abondamment en fin de semaine. (Samou F.H, 2005).

2.5.2. Le personnel :

Il est primordial de mettre l'accent sur la formation et l'éducation du personnel, en veillant à ce que les règles d'hygiène et les procédures de fonctionnement des services soient rigoureusement respectées. (Samou F.H, 2005).

2.5.3. Les déchets :

Dans les établissements hospitaliers, il est essentiel de séparer de manière nette les circuits propres des circuits sales. Les objets piquants ou tranchants doivent être éliminés dans des conteneurs spécifiques. Quant aux déchets d'activités de soins présentant un risque infectieux, ils doivent être collectés dans des récipients adaptés et suivre un circuit de traitement particulier, aboutissant à leur incinération ou à leur enfouissement. (Samou F.H, 2005)

2.5.4. Le port de gants :

Le port de gants est indispensable lors de tout contact avec des liquides biologiques (comme le sang, les urines, etc.) afin de prévenir les risques d'infection et de garantir la protection du personnel soignant. Toutefois, il ne remplace pas le lavage des mains, qui doit être effectué avant et après leur utilisation. Les gants doivent être changés entre chaque patient et pour chaque acte de soin. (Samou F.H, 2005)

2.5.5. La tenue professionnelle :

La tenue de travail doit être renouvelée chaque jour et dès qu'elle est souillée. Les ongles doivent être courts et non vernis, les mains et poignets dégagés, et les cheveux longs attachés. Ces mesures visent à limiter la transmission des germes, car ces zones sont particulièrement propices à leur prolifération. Lors des repas, la tenue professionnelle doit être remplacée par

une tenue civile afin de la préserver de toute contamination et de réduire les risques de transmission des micro-organismes qu'elle pourrait porter. (Samou F.H, 2005)

2.5.6. Le lavage des mains :

❖ Lavage simple :

Il vise à prévenir la transmission manu portée des micro-organismes en éliminant la flore transitoire.

Indications :

➤ Pour le malade :

- Lors des soins de confort, d'hôtellerie, et d'hygiène.
- À la prise de service.
- Avant et après chaque geste de soin non invasif. (Samou F.H, 2005)

➤ Pour le soignant :

- En début et fin de service.
- Après tout geste de la vie quotidienne. (Samou F.H, 2005)

❖ Lavage antiseptique :

Il a pour but d'éliminer la flore transitoire et de réduire la flore commensale. (Samou F.H, 2005)

Indications :

- Avant un geste invasif.
- Lors de techniques nécessitant un isolement aseptique ou septique (ex. : sondage urinaire, pose de cathéter périphérique). (Samou F.H, 2005)

3. Mesures spécifiques de prévention :

3.1 Prévention des infections urinaires nosocomiales :

La pose d'une sonde urinaire à demeure ne doit être réalisée qu'en cas de nécessité, avec des précautions strictes d'asepsie, notamment :

- Le port de gants stériles.
- Une toilette périnéale soigneuse avec des antiseptiques bactéricides.

❖ Précautions relatives au système de drainage urinaire :

- Le système doit rester fermé et stérile en permanence.
- Tout reflux doit être évité.
- La vidange du sac collecteur doit s'effectuer par le bas uniquement.

- Les prélèvements urinaires doivent être réalisés au niveau de la bague prévue à cet effet, après désinfection.

❖ **Surveillance et entretien :**

- Vérification régulière de la sonde et du méat urinaire.
- Surveillance de la température pour détecter un éventuel décalage thermique.
- Le sac collecteur ne doit jamais être posé au sol.

❖ **Recommandations complémentaires :**

- Encourager une hydratation abondante du patient.
- Le changement complet de la sonde et du système de drainage est nécessaire dans les cas suivants :
 - Écoulement urinaire défectueux.
 - Sac collecteur endommagé.
 - Infection urinaire confirmée. (POPI, 2003)

3.2 Prévention des pneumonies nosocomiales :

❖ **Malade de réanimation :**

La prévention des infections nosocomiales repose sur la maîtrise rigoureuse de la contamination liée au matériel utilisé. (POPI, 2003)

Cela implique une désinfection minutieuse et systématique des équipements médicaux tels que:

- Les couveuses
- Les nébuliseurs
- Les appareils de ventilation assistée
- Les systèmes d'aspiration.

Par ailleurs, la mise en isolement est indispensable pour tout patient présentant une dissémination de l'infection, afin de limiter le risque de transmission croisée et protéger les autres patients ainsi que le personnel soignant. (POPI, 2003)

❖ **Malade de chirurgie :**

➤ **En phase préopératoire :**

Chez les patients atteints de broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO), une prise en charge kinésithérapique respiratoire est recommandée afin d'optimiser la fonction pulmonaire et de réduire les risques postopératoires. (Sains B & Singleton P,1984)

➤ **En phase postopératoire :**

La kinésithérapie respiratoire est essentielle pour prévenir l'encombrement bronchique. Elle doit être associée à un lever précoce du patient, permettant de favoriser la récupération de l'autonomie respiratoire et de réduire les complications pulmonaires. (Sains B & Singleton P, 1984)

3.3 Prévention des infections des plaies opératoires :

Les infections des sites chirurgicaux sont l'une des complications les plus courantes après une intervention chirurgicale, entraînant une prolongation de l'hospitalisation et une augmentation des coûts médicaux. Afin de prévenir ces infections, des mesures spécifiques doivent être prises avant, pendant et après l'opération. [6]

Avant l'opération, il est nécessaire que le patient prenne une douche avec un savon antiseptique et désinfecte la zone chirurgicale. Pendant l'opération, il est crucial de stériliser les instruments chirurgicaux, de limiter le nombre de personnes dans la salle d'opération et de réduire la durée de l'intervention. [6]

Il est recommandé d'utiliser des antibiotiques peu de temps avant l'opération pour réduire les risques. Après la chirurgie, il est essentiel de surveiller régulièrement la plaie et de s'assurer d'une bonne hygiène, en changeant les pansements de manière stérile. [6]

De plus, il est important de prendre en compte des facteurs individuels tels que la gestion des maladies chroniques et l'amélioration de l'état nutritionnel du patient. [6]

3.4 Prévention des infections liées au cathéter

Les cathéters veineux centraux représentent un facteur de risque important d'infections nosocomiales, en particulier chez les patients hospitalisés en soins intensifs ou en longue durée.

La prévention de ces infections repose sur une stratégie rigoureuse, intégrant à la fois des mesures lors de la pose du dispositif et durant son utilisation. (Mimoz O & Rigaud M-P, 2019)

Tout d'abord, l'installation du cathéter doit être effectuée selon des conditions strictes d'asepsie. Cela inclut un lavage soigneux des mains, le port de gants stériles, l'utilisation d'un champ opératoire, et la désinfection du site d'insertion avec un antiseptique adapté, tel que la Chlorhexidine alcoolique. Le choix du site d'insertion est également déterminant : les veines

sous-clavières et jugulaires sont à privilégier par rapport à la veine fémorale, qui présente un risque plus élevé d'infection. (Mimoz O & Rigaud M-P,2019)

Ensuite, une vigilance continue est nécessaire pendant toute la durée d'utilisation du cathéter. Les pansements doivent être changés régulièrement dans des conditions stériles, et le site d'insertion doit être inspecté quotidiennement afin de détecter précocement tout signe d'infection (rougeur, chaleur locale, écoulement, etc.). Enfin, le retrait du cathéter doit être envisagé dès qu'il n'est plus indispensable afin de minimiser les risques infectieux. (Mimoz O & Rigaud M-P,2019)

Partie Expérimentale

Chapitre III

Matériel et Méthodes

1. Cadre d'étude :

Le but de notre travail est l'isolement et l'identification des bactéries responsables d'une infection nosocomiale et l'étude de la biorésistance. Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de la microbiologie de l'hôpital Ibn-Zohr Guelma.

Et les prélèvements ont été réalisés au niveau de :

Service de phtisiologie homme de l'hôpital Ibn-Zohr.

2. Prélèvement :**● Matériel de prélèvement :**

- Ecouvillons stériles.
- Portoir.
- Eau distillée et eau physiologique.
- Glacière.
- Marqueurs.

Le travail a été effectué selon le Protocole présenté dans la figure suivante :

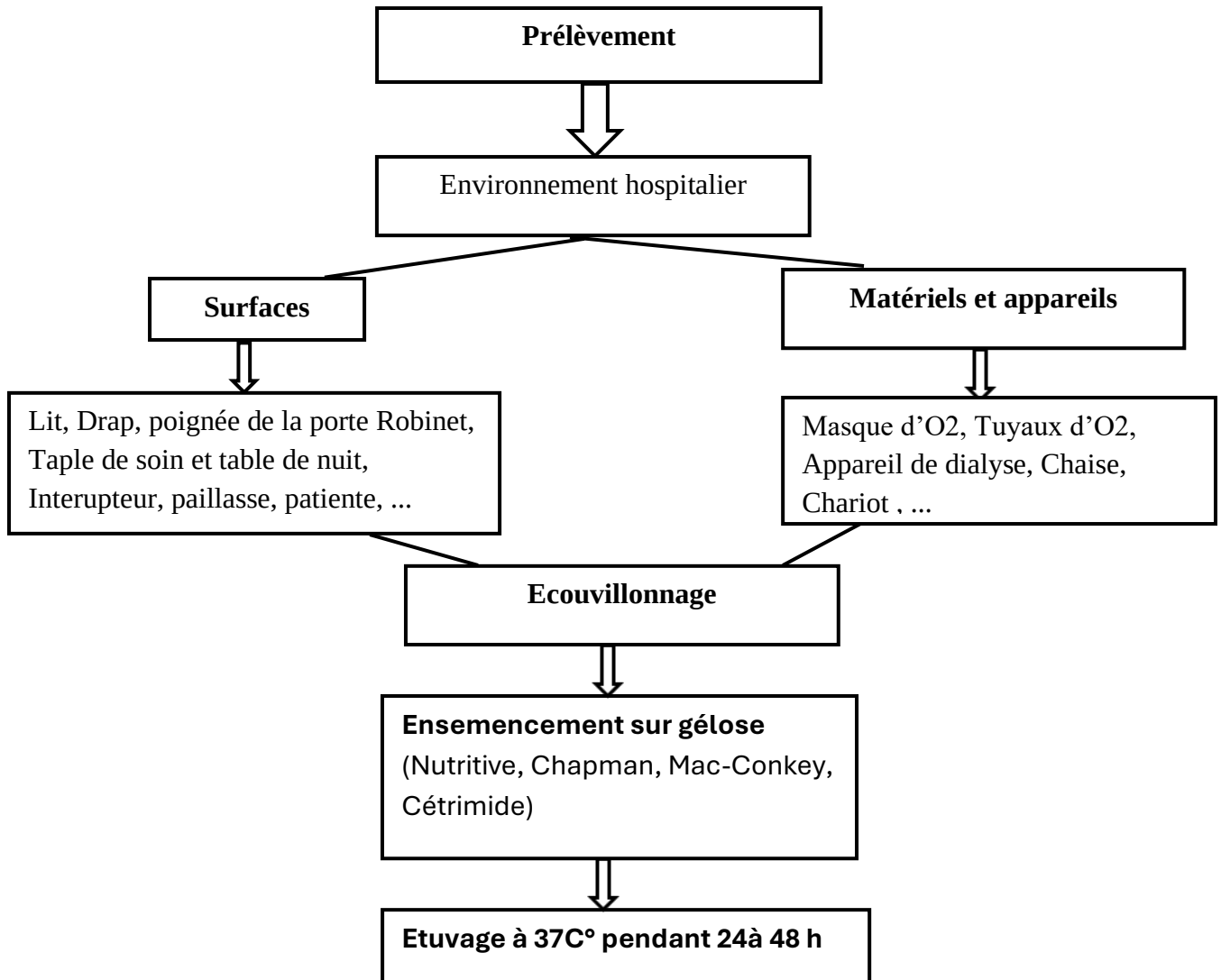


Figure 1 : Protocol de travail

2.1. Prélèvement à partir de l'air :

Nous avons exposé les boîtes de Pétrie contenant (Gélose Nutritive, Gélose Chapman, Gélose Mac Conkey, et cétrimide) pendant 12h de temps à l'air ambiant de la salle. Puis les refermer et les incuber à 37° C pendant 24h à 48h.

2.2. Prélèvement à partir des surfaces sèches :

A l'aide d'un écouvillon stérile préalablement humidifié avec de l'eau distillée ou de l'eau physiologique stérile, nous avons frotté les surfaces sèches comme : lit, drap, chariot, paillasse, chaise roulante, poignée de la porte, main d'un patient...etc., puis les introduire dans des tubes contenant du bouillon nutritif (Fig.2 et Tab.III).

2.3. Prélèvement à partir des surfaces humides :

Nous avons Frotté directement les écouvillons stériles secs sur les surfaces, puis les introduire dans des tubes contenant du bouillon nutritif (Fig.2 et Tab III).

Remarque :

- Les prélèvements sont étiquetés (date, heure, site de prélèvement, et service)
- L'utilisation des écouvillons stériles à usage unique.

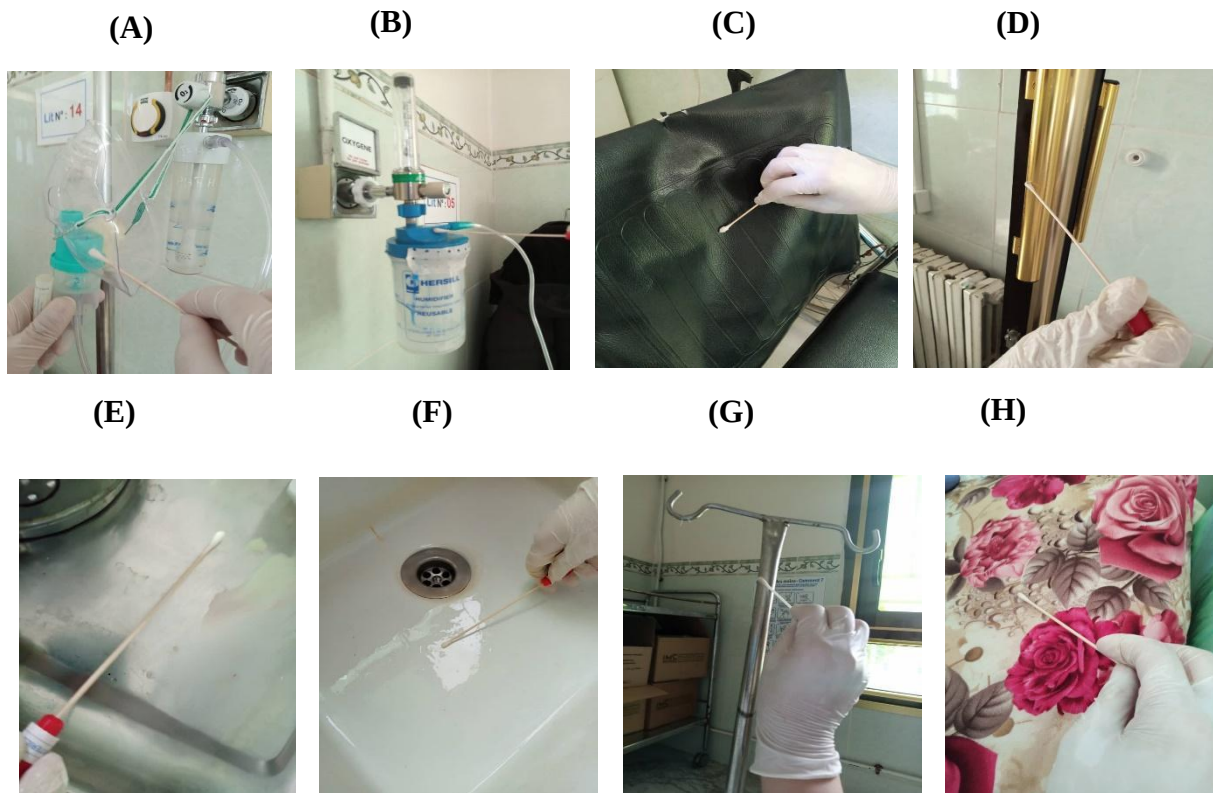


Figure 2 : Exemples des sites de prélèvement des surfaces hospitalières.

A. Masque d'oxygène ; **B.** Humidificateur d'oxygène ; **C.** Fauteuil roulant ; **D.** Le poignée ;
E. Plat de soins ; **F.** Lavabo ; **G.** Potence ; **H.** Oreiller

Tableau III : Les sites de prélèvements

Numéros des tubes	Sites de prélèvement	Services
(01)	Potence	Sale de soins de services Phtisiologie hommes
(02)	Lavabo	Sale de soins de services Phtisiologie hommes
(03)	Plat de soins	Sale de soins de services Phtisiologie hommes
(04)	Bureau	Sale de soins de services Phtisiologie hommes
(05)	Seau a déchets	Sale de soins de services Physiologie hommes
(06)	Fauteuil roulant	Services Phtisiologie hommes
(07)	Le Poignée	Services Phtisiologie hommes
(08)	Le lit	Services Phtisiologie hommes
(09)	L'appareil d'O2	Services Phtisiologie hommes
(10)	Oreiller	Services Phtisiologie hommes
(11)	La table	Services Phtisiologie hommes
(12)	Le couvre-lit	Services Phtisiologie hommes
(13)	Disjoncteur	Services Phtisiologie hommes
(14)	Chariot	Services Phtisiologie hommes
(15)	Masque à oxygen	Services Phtisiologie hommes
(16)	Chaise	Services Phtisiologie hommes
(17)	Le mur	Services Phtisiologie hommes
(18)	La Terre	Services Phtisiologie hommes
(19)	La fenêtre	Services Phtisiologie hommes
(20)	Trésorerie	Services Phtisiologie hommes

3. Isolement et purification des bactéries :

● Matériel d'isolement :

- Boites de Pétries.
- Bec Bunsen.
- Pipette Pasteur stérile.

- Ecouvillons (échantillons).
- Gélose Nutritive.
- Gélose Chapman.
- Gélose Mac-Conkey
- Gélose cétrimide
- Portoir.

3.1. Isolement :

Après l'observation macroscopique des différentes espèces bactériennes, il est nécessaire de les séparer afin de faciliter leur identification.

Nous avons prélevé une goutte du bouillon nutritif pour l'ensemencer sur des boîtes de Pétri contenant 18 ml de gélose. Cette opération se fait en utilisant la technique d'isolement par stries à la surface de la gélose, dans le but d'obtenir des colonies bactériennes bien distinctes.

Nous avons utilisé quatre milieux

Les milieux gélosés utilisés sont :

Pour l'isolement, l'utilisation des milieux gélosés enrichis en facteurs de croissance. Ils sont rendus sélectifs par l'ajout d'antibiotiques, ce qui permet de favoriser la croissance de certaines bactéries tout en inhibant celle d'autres microorganismes.

1-Gélose de cétrimide :**Caractéristiques :**

- Milieu proche du King A, favorise la production de pyocyanide.
- Milieu relativement pauvre.
- Acide nalixidique : inhibiteur des Gram –
- Cétrimide : inhibiteur des Grams + donc des Gram – par extension.
- Ensemencement en cadran.

Usage :

- Recherche des *Pseudomonas*, notamment *Pseudomonas aeruginosa*.

Lecture :

-Incubation 24h à 37°C : Développement *Pseudomonas aeruginosa* et éventuellement *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas stutzeri* et *Pseudomonas maltophilia*.

- Incubation 24h à 42°C : Développement presque exclusif de *Pseudomonas aeruginosa*.
- Pyocyanine : milieu bleu
- Pyoverdine : milieu jaune-vert
- Indicateur de la présence de *Pseudomonas*. [2]

2-Gélose de Chapman :**Caractéristiques :**

- Permet la croissance des bactéries halophiles. □ Très forte concentration en Na Cl
- Permettant l'inhibition des Gram-
- Permet l'étude de l'attaque du mannitol (si baisse du pH, alors teinte jaune)
- Ensemencer richement en stries ou cadran.
- Incubation : 24-48h

Usage :

- Isolement de *Staphylococcus aureus*.
- Numération des staphylocoques.

Lecture :

- Si *Staphylococcus aureus* : colonie jaunes avec halo clair. Mannitol + Les autres colonies sont Mannitol -. Contamination possible par *Enterococcus* et certains *Bacillus*. [2]

3-Gélose de mac Conkey :**Caractéristiques :**

- Sels biliaires : inhibiteur des Gram +
- Cristal violet : inhibiteur des Gram +
- Si la bactérie fermente le lactose, le milieu devient rouge du fait de l'acidification du milieu.
- Ensemencement en cadran.
- Incubation 18 à 24h à 37°C

Usage :

- Détermine si la bactérie fermente le lactose ou pas. Utilisé pour *Shigella* et *Salmonella*.

Lecture :

- Lactose + : colonies rouges entourées d'un halo opaque de la même couleur dû à la précipitation des sels biliaires.
- Lactose - : colonies jaunes ou incolores. [2]

4-Gélose nutritive :**Caractéristiques :**

- Est un milieu d'isolement non-sélectif.
- L'isolement est réalisé dans le but de contrôler la pureté d'une souche ou de purifier la souche bactérienne si elle est contaminée.
- Sur cette gélose nutritive on observe des colonies différentes.

Usage :

- Milieu d'isolement utilisé pour la recherche de FMAR (flore mésophile aérobie revivifiable). [13]

3.2. Purification des souches :

Après la période d'incubation, l'aspect des colonies formées sur les milieux de culture est observé. En cas de présence de plusieurs morphologies sur une même boîte, des repiquages successifs sont réalisés sur le milieu d'isolement, dans le but d'isoler des souches homogènes.

3.2. Méthode d'inoculation :

Dans la nature, les germes existent généralement sous forme de mélanges composés de plusieurs espèces. L'isolement consiste à séparer les différents micro-organismes présents dans l'échantillon initial. Cette méthode peut être utilisée dans les cas suivants :

Identifier et séparer les micro-organismes distincts présents dans un même mélange, comme c'est le cas pour certains prélèvements.

Éliminer une contamination d'une souche ou vérifier sa pureté.

Méthode des quadrants – Traduction précise :

La méthode des quadrants est une technique utilisée pour isoler les différentes espèces bactériennes présentes dans un mélange. L'échantillon, qu'il s'agisse d'une suspension

bactérienne ou de crème (chantilly), est déposé près du bord d'une boîte de Petri, généralement dans un quart de celle-ci représentant le premier quadrant. À l'aide d'une pipette Pasteur munie d'un embout ou d'une pipette stérile à usage unique, l'ensemencement est effectué selon les étapes décrites dans le schéma de référence (Fig. 3). (Denis F et al, 2009)

Cette méthode permet un isolement progressif des bactéries à travers les différents quadrants, de sorte que le dernier quadrant contient des colonies bactériennes bien isolées. Ces colonies présentent des caractéristiques morphologiques distinctes, ce qui permet d'identifier une espèce particulière, un type ou même une famille bactérienne entière. (Denis F et al, 2009)

À partir de ces colonies isolées, on peut effectuer des tests d'identification bactérienne ainsi que des tests de sensibilité aux antibiotiques ou aux anticorps. Dans certains cas, une sous-culture (repiquage) peut être nécessaire afin d'obtenir une culture pure et une quantité suffisante de micro-organismes pour les analyses requises. (Denis F et al, 2009)

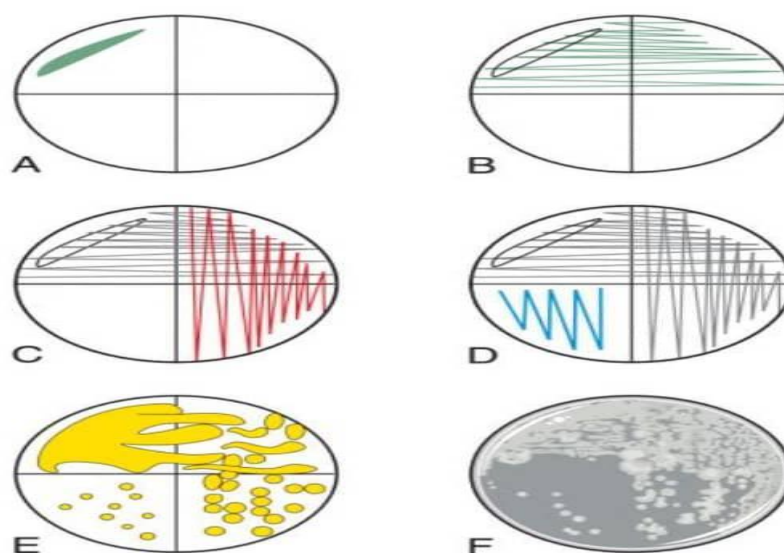


Figure 3 : Principe et résultat de la méthode d'isolement par quadrants (Denis F et al, 2009)

- A.** Dépôt de l'échantillon sur le milieu de culture. **B.** Réalisation de frappes sur la première moitié du carreau (frappes vertes). **C.** Après avoir tourné la boîte de 90°, des lignes rouges sont tracées à nouveau sur un cinquième de la boîte (lignes rouges). **D.** Le dernier quadrant est ensemencé sans entrer en contact avec les quadrants précédents. Cette technique permet d'obtenir, dans le dernier quadrant, des colonies isolées (schématisées en **E**) et pratiquement en **F**. (Denis F et al, 2009)

4. Identification :

L'identification des souches est réalisée par :

4.1. Observation macroscopique des colonies bactériennes

L'observation macroscopique constitue une étape essentielle dans l'étude des bactéries. Elle consiste à examiner à l'œil nu l'aspect des colonies qui se développent sur un milieu de culture solide.

Une colonie bactérienne est un amas visible formé par la multiplication d'une seule cellule bactérienne. À partir de cette cellule initiale, des milliards de cellules identiques se forment, donnant lieu à une masse perceptible à l'œil nu.

Chaque espèce bactérienne produit des colonies ayant des caractéristiques spécifiques, telles que :

- La taille (grande ou petite),
- La forme (ronde, irrégulière, aux bords ondulés, etc.),
- La couleur (blanche, jaunâtre, translucide, etc.),
- La consistance (lisse, rugueuse, muqueuse, sèche...),
- La transparence (transparente, opaque, semi-transparente).

L'observation se fait sous un éclairage naturel et artificiel, en lumière directe et par transparence, afin de mieux percevoir les détails morphologiques des colonies.

Cette méthode simple mais précieuse permet d'avoir une première idée sur l'identité de la bactérie avant de procéder à des examens plus approfondis comme l'observation microscopique ou les tests biochimiques. (Grosjean M & Lacoste M,1999)

Conditions d'examen

L'examen macroscopique des cultures est le premier examen effectué à partir de l'isolement après incubation. L'aspect des colonies dépend du milieu utilisé, de la durée et de la température de l'incubation. Il ne pourra être décrit convenablement qu'à partir de colonies bien isolées : les colonies sont d'autant plus petites qu'elles sont rapprochées. (Grosjean M & Lacoste M,1999)

4.2. Observation microscopique

L'observation microscopique permet de faire une étude morphologique des cellules d'une espèce microbienne, elle comprend :

2-1-L'examen à l'état frais (examen entre lame et lamelle des bactéries vivantes)

2-2-L'examen après coloration (le plus souvent sur frottis séchés et fixés).

4.2.1. Examen à l'état frais

A. Principe :

L'examen à l'état frais est une technique de laboratoire utilisée pour observer les micro-organismes vivants. En plaçant l'échantillon entre une lame et une lamelle, puis en l'observant au microscope avec l'objectif $\times 40$, on peut déterminer la morphologie des bactéries, leur mobilité, ainsi que la présence éventuelle de levures, de cristaux ou de globules sanguins. (Grosjean M & Lacoste M,1999)

B. Technique :

Cet examen s'effectue sur des échantillons liquides, tels que des produits pathologiques ou des cultures en milieu liquide, car les mouvements bactériens sont difficilement observables sur milieu solide.

1. Nous avons déposé une goutte de l'échantillon sur une lame propre à l'aide d'une pipette Pasteur ou d'une anse en platine.
2. Recouvrir la goutte avec une lamelle en évitant la formation de bulles d'air.
3. Puis, à la fin observer immédiatement l'échantillon au microscope à l'objectif $\times 40$.

(Grosjean M & Lacoste M,1999)

Conseil pratique :

Il est essentiel d'ajuster correctement l'éclairage et de limiter le temps d'observation à un maximum de 3 minutes, afin d'éviter le dessèchement de la préparation. (Grosjean M & Lacoste M,1999)

4.2.2. Examen après coloration

Coloration de Gram :

La coloration de Gram est une méthode standard permettant de différencier les bactéries à Gram positif et Gram négatif, selon la structure de leur paroi cellulaire. Le protocole se déroule comme suit :

1. Préparer un frottis à partir d'un produit pathologique ou d'une culture pure.
2. Appliquer le violet cristal oxalate pendant une minute, puis rincer à l'eau distillée.
3. Ajouter le Lugol, laisser agir une minute, puis rincer.
4. Effectuer la décoloration avec de l'alcool à 95 % durant 15 à 30 secondes, puis rincer.
5. Appliquer la fuchsine pendant une minute, puis rincer à nouveau.
6. Sécher la lame délicatement au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen.

L'observation se fait au microscope optique, avec l'objectif à immersion. (Grosjean M & Lacoste M.,1999).

Remarque :

Les bactéries Gram positif apparaissent en violet foncé, tandis que les Gram négatif se colorent en rose ou rouge. Cette technique permet également de vérifier la pureté d'une souche avant son identification. (Grosjean M & Lacoste M,1999)

5. Test biochimiques :

L'étude de quelques tests biochimiques dont : Test Oxydase, Catalase.

5.1. Recherche de catalase (Test catalase)

Certaines bactéries ont la capacité de dégrader le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). En présence d'une bactérie productrice de catalase, on observe à partir de H_2O_2 un dégagement d'oxygène gazeux résultant de la réaction : H_2O_2 donne $H_2O + 1/2 O_2$ (Fig.4). (Denis F et al, 2009)

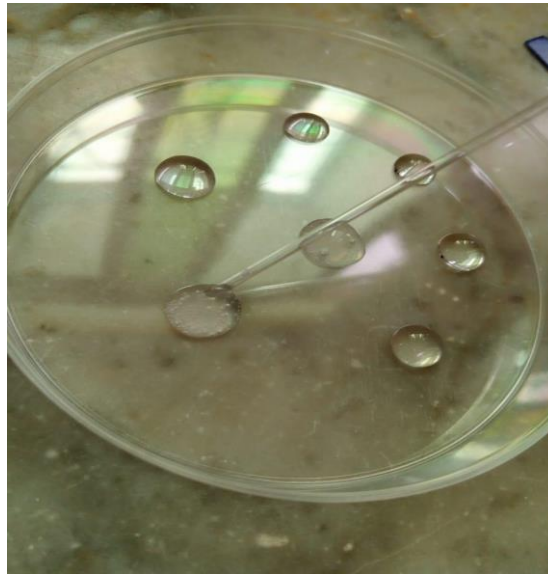


Figure 4 : Réaction négative et positive à la catalase.

5.2. Recherche de l'oxydase (Test oxydase)

Les bactéries produisant une chaîne respiratoire complète sont enrichies en cytochrome oxydase. La mise en évidence de cette oxydase est effectuée par la présence d'une solution aqueuse à 1 % de chlorure de diméthyle paraphénylènediamine, qui forme un complexe violet au contact de cette enzyme (Fig.5). Les colonies sont prélevées à l'aide d'un pasteurisateur. (Denis F et al, 2009)

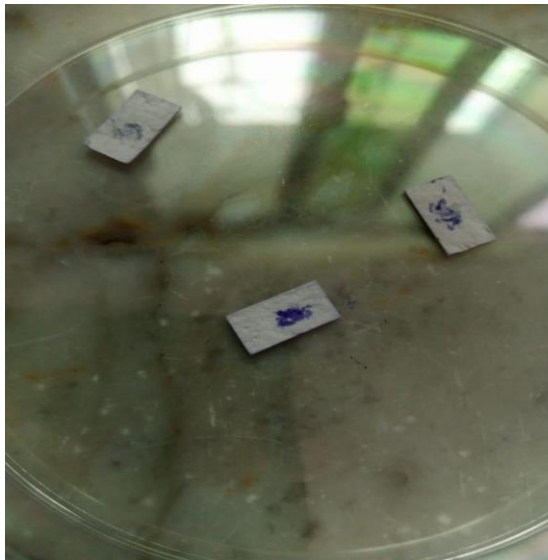


Figure 5 : Réaction d'oxydase positive

6. Les galeries biochimiques :

Les galeries biochimiques standardisées constituent des outils indispensables en microbiologie pour l'identification des bactéries, basées sur des réactions enzymatiques spécifiques mises en évidence à l'aide de tests miniaturisés. (Tab. IV)

API 20 E : Ce système est conçu pour reconnaître les membres de la famille des Enterobacteriaceae ainsi que d'autres bacilles à Gram négatif non exigeants. Il intègre 20 micro tubes renfermant des substrats déshydratés, réactivés par l'ajout d'une suspension bactérienne. Ces réactions permettent de mettre en évidence les caractéristiques métaboliques propres à chaque souche.

API 20 NE : Adapté aux bacilles à Gram négatif non entérobactéries, ce dispositif regroupe 8 tests conventionnels et 12 d'assimilation. Les premiers sont réalisés avec une suspension bactérienne dans un milieu standard, tandis que les seconds s'effectuent dans un environnement minimal, afin d'évaluer la capacité de la souche à utiliser différentes sources nutritives.

API Staph : Destiné à l'identification des genres *Staphylococcus*, *Micrococcus* et *Kocuria*, ce système contient également 20 micro tubes. L'inoculation se fait à l'aide d'une suspension préparée dans un milieu spécifique, permettant la réhydratation des substrats et la mise en route des réactions biochimiques.

Les modifications observées lors de l'incubation, qu'elles soient spontanées ou révélées par des réactifs, se traduisent par des virages colorés caractéristiques. L'analyse des résultats repose sur un tableau de lecture codifié, avec une identification finale assurée par un catalogue analytique ou un logiciel dédié tel qu'API web (bio Mérieux).

Préparation de la boîte d'incubation (galerie API) :

Assembler le fond et le couvercle d'une boîte d'incubation, puis répartir environ 5 ml d'eau distillée stérile dans les alvéoles à l'aide d'une pipette, afin de créer une atmosphère humide favorable à l'incubation.

Placer délicatement la galerie API à l'intérieur de la boîte d'incubation. (Guibert J et al, 1981)

Préparation de l'inoculum bactérien :

Ouvrir une ampoule de « Suspension Medium » ou introduire quelques millilitres d'eau distillée stérile dans un tube à vis stérile à l'aide d'une pipette Pasteur.

À l'aide de cette même pipette, prélever une colonie bactérienne bien isolée provenant d'un milieu gélosé.

Homogénéiser soigneusement la colonie dans le milieu de suspension pour obtenir une suspension bactérienne uniforme. (Guibert J et al,1981)

Préparation de l'inoculation : utilisation de la suspension bactérienne pour l'ensemencement de la galerie API 20 E.

Répartition de l'inoculum :

- Remplir les tubes et les cupules des tests CTI, VP, GEL.
- Remplir uniquement les tubes pour les autres tests.

Création d'un milieu anaérobie :

Recouvrir les cupules des tests ADH, LCD, ODC, URE, H₂S avec de l'huile de paraffine.

Incubation :

- Fermer hermétiquement la boîte d'incubation.
- Incuber à une température de 35 à 37°C pendant 18 à 24 heures.

Lecture des résultats :

- À l'aide du tableau API 20 E.
- L'identification finale est réalisée à l'aide du logiciel api web. (Guibert J et al,1981)

Tableau IV : Galeries API bio Mérieux SA et bactéries identifiables.

Galerias API	Nombre de tests biochimiques	Temps d'incubation en heures	Bactéries identifiées
Api 20 E	20	24	Enterobacteriaceae et autres bacillus à Gram- non fastidieux
Api 20 NE	20	24	Bacilles Gram- non entérobactéries et non fastidieux
Api Staph	20	24	Staphylocoques, microcoques et germes apparentés
Api 20 Strep	20	24	Streptococcaceae et germs apparentés

7. Antibiotogramme

L'antibiogramme est une méthode d'évaluation de l'activité bactériostatique de plusieurs antibiotiques (ATB) simultanément. Il permet de classer les souches bactériennes en fonction de leur sensibilité aux antibiotiques : sensibles, intermédiaires ou résistantes. Cette approche aide les cliniciens à identifier les molécules les plus efficaces, les mieux tolérées, les moins génératrices de résistances et, si possible, les plus économiques pour le traitement des infections. (Bourgoin,2016)

7.1. Principe général

La sensibilité des bactéries aux antibiotiques est généralement étudiée à l'aide de la méthode de diffusion en milieu solide, notamment sur gélose Mueller-Hinton (MH). Cette technique consiste à ensemencer uniformément une suspension bactérienne sur la surface d'une gélose MH, puis à y déposer des disques imprégnés d'antibiotiques. En fonction de la diffusion de chaque antibiotique dans le milieu et de la formation d'un halo d'inhibition autour des disques, on détermine le degré de sensibilité ou de résistance de la souche bactérienne testée (Fig.6). (Bingen et al.,2011)



Figure 6 : Les conseils à suivre à l'hôpital

7.2. Milieu utilisé pour l'antibiogramme

La gélose Mueller-Hinton (MH) a été initialement développée comme un milieu gélosé transparent et simple, destiné à la culture des *Neisseria* pathogènes ainsi qu'à la réalisation des antibiogrammes. Pour garantir des résultats reproductibles et fiables, ce milieu doit être versé dans des boîtes de Pétri avec une épaisseur uniforme de 4 mm. De plus, la gélose doit être parfaitement sèche avant son utilisation afin d'éviter toute diffusion excessive ou inégale des antibiotiques.

7.3. Préparation de l'inoculum bactérien

- À partir d'une culture pure âgée de 18 à 24 heures, cultivée sur un milieu d'isolement adapté, on prélève avec une anse de platine stérile quelques colonies bien distinctes, présentant un aspect morphologique homogène.
- Ces colonies sont ensuite transférées dans 5 à 10 mL de solution physiologique stérile.
- La suspension est soigneusement homogénéisée conformément aux directives.

Inoculation des milieux gélosés

- L'inoculum ainsi préparé doit être utilisé dans un délai de 15 minutes afin de préserver sa stabilité.

- Un écouvillon stérile est immergé dans la suspension bactérienne, puis essoré en le pressant contre la paroi interne du tube afin d'éliminer tout excès de liquide, ce qui permet de prévenir une charge bactérienne excessive sur la gélose.
- L'ensemencement s'effectue ensuite en balayant la totalité de la surface du milieu en trois passages croisés, garantissant une distribution régulière des micro-organismes.
- **Disposition des disques d'ATB**
- Les disques contenant les antibiotiques sont déposés avec précision sur la surface de la gélose sèche.
- Il est recommandé de ne pas excéder sept disques par boîte de Pétri de 90 mm afin d'éviter le chevauchement des zones d'inhibition. Chaque disque doit adhérer parfaitement à la surface.
- Une fois positionnés, ils ne doivent plus être déplacés afin d'assurer une diffusion correcte de la substance active (Tab.V), (Fig.7)



Figure 7 : La disposition des disques d'antibiotiques

Tableau V : Les antibiotiques pour chaque germe

Entérobactéries	Pseudomonas	Staphylocoque
-Amoxicillin.	-Amoxicillin.	-Rifampicine
-Fosfomycin.	-Fosfomycin.	-Vancomycin
-Cefalexine.	-Cefalexine.	-Penicillin
-Cefotaxime	-Cefotaxime	-Chloramphenicol.
-Ampicillin	-Ampicilline	-Clavulanique
-Amoxicilline+acide clavulanique	-Amoxicilline+acide clavulanique	-Fosfomycin.
-Chloramphenicol.	-Chloramphenicol.	

7.5. Lecture :

Après une incubation de 24 heures à 37°C, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés pour chaque souche bactérienne. Ces valeurs ont ensuite été comparées aux diamètres de référence (D) afin d'évaluer la sensibilité aux antibiotiques. Selon les résultats obtenus, chaque bactérie a été classée dans l'une des catégories suivantes : sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R).

Chapitre IV

Résultats et Discussion

I. Résultats

1. Résultats de l'enrichissement :

Après incubation pendant 24h les résultats de l'enrichissement apparaissent, un trouble a été observé dans 19 tubes inoculés sauf le tube numéro17. (Voir Fig. 8)



Figure. 8 : Résultats de l'enrichissement (présence d'un trouble dans le milieu).

2. Aspect macroscopique après l'isolement :

Après isolement et purification des souches bactériennes sur les différents milieux utilisés les principaux caractères cultureux sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau VI : Résultats de l'isolement des différents prélèvements effectués.

Milieu Prélèvement	Mac-Conkey	Chapman	cétrimide
(1)	1 type : colonies rosés claires de taille moyenne bombées sèches. Lac (+)	1 type : fines colonies jaune mannitol (+)	(-)
(2)	1 type : colonies muqueuses roses taille moyenne. Lac (+)	1 type = fines colonies Blanches mannitol (-)	1 type : colonies de taille moyenne Verdâtres
(3) +(4)	1 type : fines colonies de taille petites muqueuses. Lac (-)	(-)	(-)
(5)	(-)	Colonies rondes blanchâtres Mannitol(-)	(-)
(6)	2 types : fines et Grosses	Colonies taille moyenne	Colonies grosses

	colonies roses claires	mannitol (+)	légèrement verdâtres
(7)	colonies roses foncées de taille moyenne. Lac (+)	Colonies Blanchâtres petites tailles	(-)
(8)	3 types : 1- Lac (+) rose foncé (+) Grosse taille 2- Lac (+) fines colonies 3- Lac (-) taille moyenne	2 types : fines colonies moyennes colonies	1 type : bombé légèrement verdâtre
(9)	2 types : Colonies de taille moyenne Lac (+) lac (-)	2 types : -Moyenne taille -Petit taille Mannitol (+)	1type : Colonies verdâtres
(10)	2 types : -grosses colonies - colonies moyennes Lac (+)	1 type : Fines Colonies blanchâtres	(-)
(11)	(-)	1 type : Colonies de taille moyenne Mannitol (+)	1 type : Fines colonies verdâtre
(12)	2 types : Lac (-), lac (+)	1 type : Colonies moyennes Mannitol (+)	(-)
(13)	1 type : Colonies grosses muqueuses. Lac (+)	(-)	(-)
(14)	2 types : Colonies bombées Colonies grosses Lac (-)	1 type : Colonies Blanches. Mannitol (-)	(-)
(15)	1 type : Colonies bombées rose. Lac (+)	1 type : Colonies Blanches de taille très petite	2 types : Grosses colonies Muqueuses Colonies bombées
(16)	2 types : Colonies muqueuses Bombée rose Lac (+)	1 type : fines colonies Mannitol (+)	(-)
(17)	(-)	(-)	(-)
(18)	2 types : Fines colonies Colonies Muqueuses de taille moyenne Lac (-) + odeur	(-)	1type : Colonies bombées blanches de taille moyenne
(19)	(-)	2 types :	

		Grosses colonies Colonies Muqueuses petites blanches	(-)
(20)	1 type : fines colonies muqueuses. Lac (-)	1 type : colonies Blanches	(-)

Remarque : La majorité des échantillons prélevés présentent une flore polymicrobienne. Plusieurs types de colonies ont été observés sur les trois milieux de culture. De plus, une même boîte de Pétri peut contenir différentes colonies bactériennes.

Les figures suivantes montrent quelques aspects des colonies isolées sur les milieux de culture.



Figure 9 : Culture sur Mac Conkey à partir de prélèvement (9.10)



Figure 10 : Culture sur Chapman à partir de prélèvement (5.6)



Figure 11 : Culture sur cétrimide à partir de prélèvement (8.9)

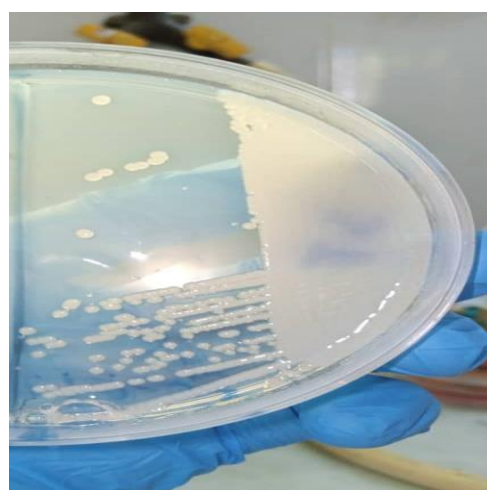


Figure 12 : Culture sur GN à partir de l'échantillon (15)

3. Résultats d'examen microscopique

Après la coloration différentielle de Gram, différentes formes bactériennes ont été isolées, notamment des cocci, des bacilles ainsi que des cocco-bacilles. Les images microscopiques ci-après illustrent l'aspect de certaines bactéries isolées sur les milieux de culture utilisés. (Fig.13)

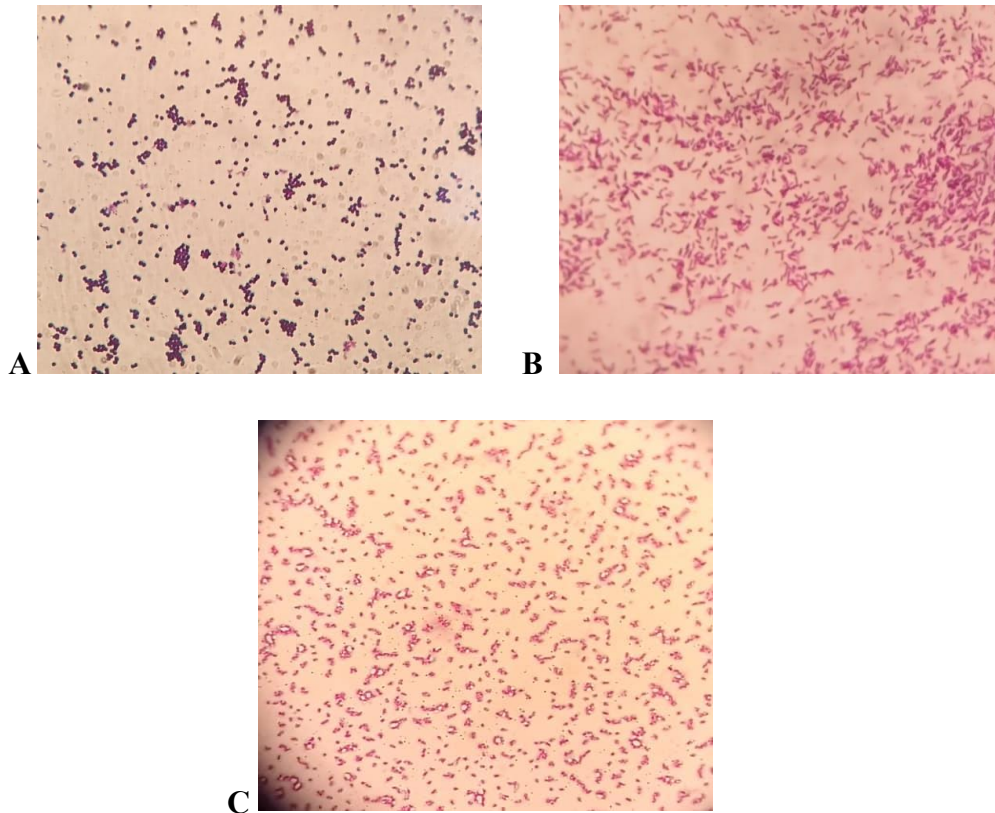


Figure 13 : Les différentes formes des cultures isolées.

A : Culture de Cocci Gram (+). B : Culture de bacilles Gram (-). C : Culture de Coccobacille Gram (-).

Et voilà l'ensemble des résultats sont résumé dans le Tab. VII.

Tableau VII : Résultats de l'examen microscopique à l'état frais et après coloration.

Examen Prélèvement	À l'état frais	Coloration de Gram
(1) Mac	Mobile	Bacille (+)
(1) chp	Immobile	Cocci (+)
(2) chp	Immobile	Cocci (+)
(2) Mac	Mobile	Bacille (+)
(2) Cét	Mobile	Bacille (+)
(3)Mac	Mobile	Bacille (-)
(4)Mac	Mobile	Bacille (-)
(5)Chap	Immobile	Cocci (+)
(6) Mac	Mobile	Bacille (+)
(6) Cét	Mobile	Bacille (-)
(7) Chap	Immobile	Cocci (+)
(7) Mac	Mobile	Bacille (+)
(8) Cét	Mobile	Bacille (+)
(9) Cét	Immobile	Bacille (-)
(9) Mac	Immobile	Coccobacille (-)
(10) Mac	Immobile	Bacille (+)
(11) Chap	Immobile	Cocci (+)
(12) Mac	Mobile	Coccobacille (+)
(12) Chap	Immobile	Cocci (+)

(13) Mac	Mobile	Bacille (+)
(14) Mac	Mobile	Bacille (+)
(15) Cét	Mobile	Coccobacille (+)
(16) Chap	Mobile	Bacille Gram (+)
(16) Mac	Mobile	Bacille (+)
(18) Mac	Mobile	Bacille (+)
(18) Mac	Immobile	Bacille (+)
(20) Mac	Immobile	Bacille (-)

4. Identification biochimique :

4.1 : Test Catalase -Oxydase

Des tests biochimiques (oxydase, catalase) ont été réalisés sur les souches isolées. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau VIII.

Les figures illustrent les caractères positifs pour les tests de l'oxydase et de la catalase chez les bactéries isolées.

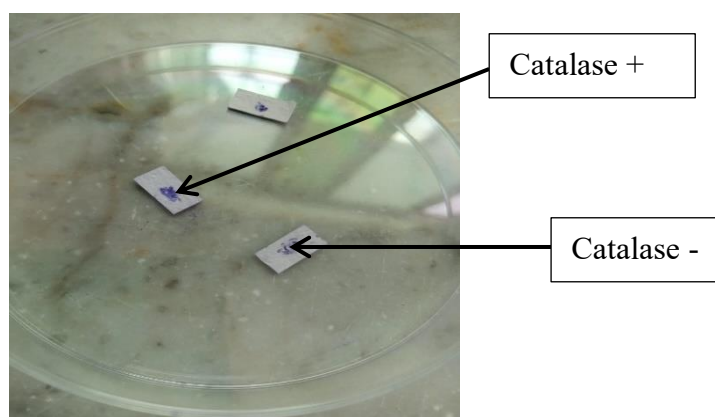
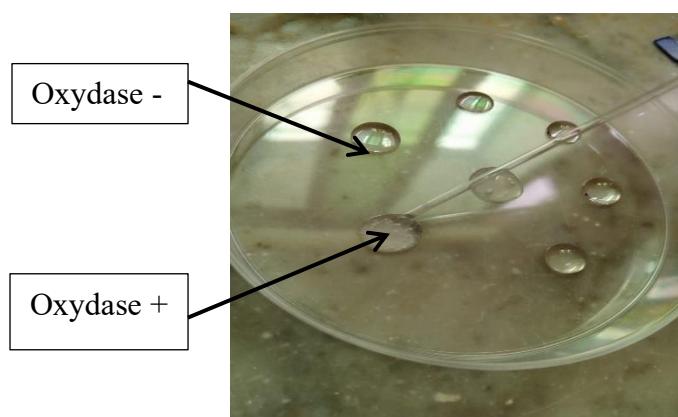


Figure 14 : Résultat de test Oxydase.

Figure 15 : Résultat de test Catalase.

Tableau VIII : Résultats des tests Catalases et Oxydases des bactéries isolées.

Cocci	Catalase positive	Chp1-Chp2-Chp5-Chp6-Chp7-Chp11-Chp12-Chp16
	Catalase négative	/
Bacille	Oxydase positive	Mac3-Cét9-Mac20
	Oxydase négative	Cét6

4.2. Galerie biochimique :

Nous avons utilisé trois types de galeries (voir Fig. 16/17/18). Après la préparation et l'incubation des galeries, plusieurs espèces de cellules bactériennes ont été identifiées par l'utilisation d'un logiciel API Web (Fig. 19/20)



Figure 16 : Galerie API 20NE avant et après incubation.



Figure 17 : Galerie API Staph avant et après incubation



Figure 18 : Galerie API 20 E avant et après incubation

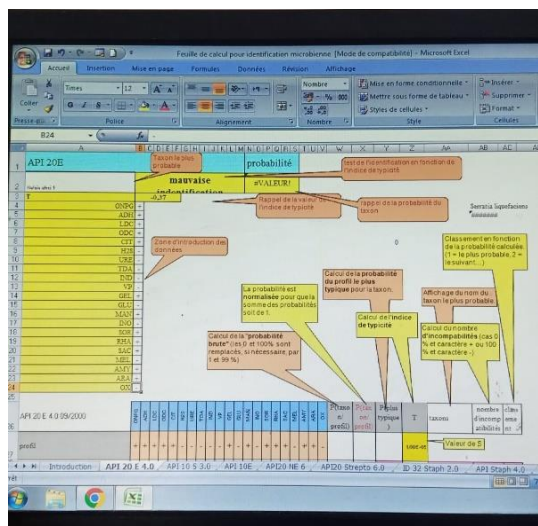


Figure 19 : Lecture par API Web de *Serratia liquefaciens*

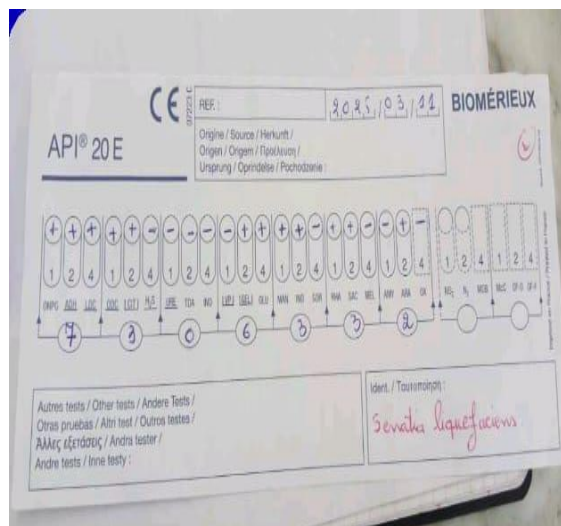


Figure 20 : Profil numérique de *Serratia liquefaciens*

Les résultats sont résumés dans le tableau IX

Tableau IX : Les résultats obtenus pendant notre étude pratique.

Technique	Etat frais	Coloration de gram	Milieu d'isolement sélectif	Test biochimique		Galerie utilisé	Identification biochimique
				Oxydase	Catalase		
Chp1	Immobile	Cocci Gram+	Gélose nutritive	/	(+)	API Staph	Staphylococcus Saprophyticus
Chp2	Immobile	Cocci Gram+	Gélose nutritive	/	(+)	API Staph	Staphylococcus Haemolyticus
Mac3	Mobile	Bacille Gram-	Gélose nutritive	(+)	/	API 20NE	Ochrobactrum Anthropi
Chp5	Immobile	Cocci Gram+	Gélose nutritive	/	(+)	API Staph	Staphylococcus Haemolyticus
Chp6	Immobile	Cocci Gram+	Gélose nutritive	/	(+)	API Staph	Staphylococcus Saprophyticus
Cét6	/	Bacille Gram-	Gélose nutritive	(-)	/	API 20E	Serratia Liquefaciens

Chp7	Immobile	Cocci Gram+	Gélose nutritive	/	(+)	API Staph	Staphylococcus Lentus
Cét9	Mobile	Bacille Gram-	Gélose nutritive	(+)	/	API 20NE	Pseudomonas putidia
Chp11	Immobile	Cocci Gram+	Gélose nutritive	/	(+)	API Staph	Staphylococcus Haemolyticus
Chp12	Immobile	Cocci Gram+	Gélose nutritive	/	(+)	API Staph	Staphylococcus Saprophyticus
Chp16	Immobile	Cocci Gram+	Gélose nutritive	/	(+)	API Staph	Staphylococcus Saprophyticus
Mac20	Immobile	Bacille Gram-	Gélose nutritive	(+)	/	API 20NE	Stenotrophomonas Maltrophila

5. Antibiotogramme :

Après incubation sur milieu Mueller Hinton à 37C° pendant 24h, nous avons obtenus les résultats résumés dans le tableau suivant.

Tableau X : Résultat de l'antibiogramme.

Antibiotique Souche	AMC	CTX	AMP	CN	FOX	RIF	C	VA	P
<i>Stenotrophomonas Maltrophila</i>	R	R	R	R	R	/	/	/	/
<i>Serratia Liquefaciens</i>	R	I	R	S	R	/	/	/	/
<i>Pseudomonas Putidia</i>	R	R	R	S	R	/	/	/	/
<i>Ochrobactrum Anthropi</i>	R	R	R	R	R	/	/	/	/
<i>Staphylococcus Saprophyticus</i>	/	/	/	/	R	R	R	S	R
<i>Staphylococcus Haemolyticus</i>	/	/	/	/	R	R	S	S	R
<i>Staphylococcus Lentus</i>	/	/	/	/	S	R	S	R	R

R : Résistante. **S** : Sensible. **I** : **Intermédiaire (AMC)**: Amoxicilline acide clavulanique. **(VA)** : Vancomycine. **(RIF)**: Rifampicine. **(P)** : Pénicilline G. **(C)**: Chloramphenicol **(FO)**:Fosfomycine. **(CN)** : Cefalexine. **(AMP)** = Ampicilline **(CTX)** : Céfotaxime.

Ces figures représentent les résultats des antibiogrammes réalisés au niveau du laboratoire.



Figure 21 : Résultat d'antibiogramme de la culture N° (7)

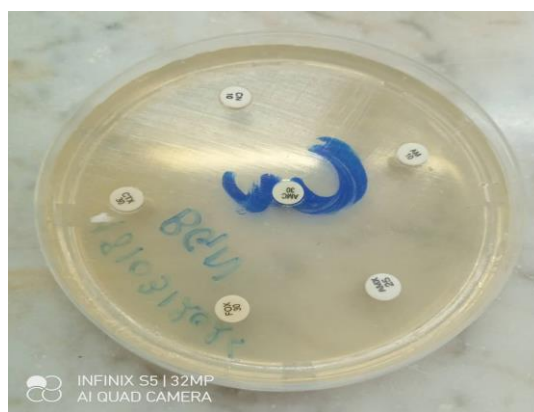


Figure 22 : Résultat d'antibiogramme de la culture N° (3)

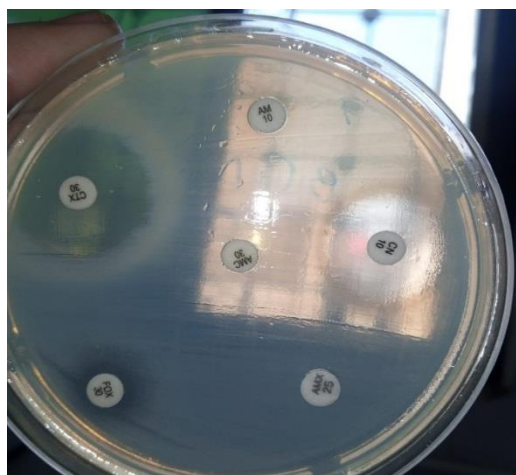


Figure 23 : Résultat d'antibiogramme de la culture N° (6)

II. Discussion :

Notre travail a pour but l'isolement et l'identification des microorganismes responsable des infections nosocomiales et l'étude de leur résistance de nombreux antibiotiques choisis, et ceci à partir de 20 prélèvements effectués dans le service de phtisiologie hommes de l'hôpital IBN_Zohr de la Ville de GUELMA.

Les analyses Effectuées ont révélées que les échantillons étudiés contiennent fréquemment un mélange de plusieurs micro-organismes. Au cours de notre étude, plusieurs espèces ont été recensées au niveau des différents sites sélectionnés : *Staphylococcus Saprophyticus* (Potence, Fauteuil roulant, Couvre-lit, Chaise) ; *Staphylococcus Haemolyticus* (Lavabo, Seau à déchets, La table) ; *Ochrobactrum Anthropi* (Plat de soins) ; *Serratia Liquefaciens* (Fauteuil roulant) ; *Staphylococcus Lentus* (Poignée) ; *Pseudomonas Putidia* (L'appareil d'O2) ; *Stenotrophomonas Maltrophila* (Trésoreries), ces résultats montrent que l'environnement hospitalier est un réservoir de germes pathogènes susceptibles de provoquer des maladies chez l'homme (Kramer, A., Schwebke, I., & Kampf, G. (2006).

Les souches trouvées (*Staphylococcus Saprophyticus*, *Serratia Liquefaciens*, *Pseudomonas Putidia*) sont en effets citées depuis longtemps par la littérature scientifique comme des germes responsables des infections nosocomiales. Ces résultats sont on accord avec ceux cités par (Tohme et al., en 1998et Amazian et al. en 2010).

Les résultats de l'enrichissement après une incubation de 24 heures sont conformes à ceux décrits dans la littérature, montrant une turbidité marquée dans la majorité des échantillons, indiquant une croissance bactérienne. Ces observations concordent avec les travaux de Dubois et al. (2017), qui ont démontré qu'une durée d'enrichissement de 24 heures est suffisante pour détecter des concentrations bactériennes même faibles. L'absence de croissance observée dans l'échantillon 17 pourrait être attribuée à la présence des inhibiteurs ou à une faible charge bactérienne, à l'instar des constatations de Smith et Brown (2015).

L'isolement sur milieux sélectifs tels que Mac-Conkey, Chapman et Cétrimide a révélé une diversité microbienne importante, traduisant une flore polymicrobienne, phénomène également rapporté par Nguyen et al. (2019) dans leurs études sur des échantillons environnementaux.

Cette diversité est renforcée par les observations microscopiques où différentes morphologies bactériennes ont été identifiées, incluant bacilles et coques Gram positifs et négatifs, ce qui est

en parfaite adéquation avec les résultats rapportés par Madigan et al. (2018) sur les échantillons environnementaux complexes.

Les tests biochimiques effectués ont permis de confirmer l'identité probable des isolats : toutes les coques étaient catalase positives, suggérant leur appartenance au genre *Staphylococcus*, comme décrit par Murray et al. (2020). Par ailleurs, la mise en évidence des bactéries oxydases positives telles que *Pseudomonas Putida* concorde avec les descriptions enzymatiques proposées par Ryan et Ray (2004).

Les résultats d'identification biochimique via les galeries API ont permis de confirmer la présence de plusieurs espèces environnementales et opportunistes telles que *Stenotrophomonas Maltrophila*, *Serratia Liquefaciens* et *Ochrobactrum Anthropi*, en accord avec les observations de Brooks et al. (2013).

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a révélé une résistance élevée aux antibiotiques chez plusieurs isolats, en particulier chez les bacilles à Gram négatif, ce qui rejoint les résultats de Looney et al. (2009) sur la multirésistance de *Stenotrophomonas Maltrophila*. En revanche, certaines souches de *Staphylococcus Saprophyticus* et *Staphylococcus Haemolyticus* sont demeurées sensibles à des antibiotiques comme la vancomycine, ce qui est cohérent avec les conclusions de Kloos et Schleifer (1981).

Ces résultats soulignent l'importance de la surveillance continue de la résistance antimicrobienne et confirment les alertes récentes de l'Organisation Mondiale de la Santé [11] concernant la nécessité d'une utilisation prudente et rationnelle des antibiotiques pour prévenir la propagation des bactéries multirésistantes.

Conclusion

Les infections nosocomiales constituent depuis toujours un fléau de santé publique et un grand risque pour le patient, le personnel hospitalier et pour les visiteurs à cause du manque de respect des modalités préliminaires d'hygiène.

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 de service phthisiohomme 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 Saprophyticus*, *Ochrobactrum Anthropi*, *Serratia liquefaciens*, *Pseudomonas putida*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus Lentus*.

Ces résultats ont révélé que ce service de cet hôpital, est un service à haut risque. Les souches trouvées sont en effets citées depuis longtemps par la littérature scientifique comme des germes responsables des infections nosocomiales. Par étude des antibiogrammes, la majorité des bactéries isolées ont montré aussi une résistance importante aux différents antibiotiques utilisés et commercialisés dans notre pays.

L'éradication complète de ces infections peut s'avérer difficile, mais la réduction significative de leur incidence demeure un objectif réaliste et atteignable, à condition qu'il y ait une volonté collective et une bonne coordination entre les différents acteurs. Ainsi, le renforcement de la culture de la prévention et le respect rigoureux des mesures préventives doivent constituer une priorité absolue pour garantir des soins de santé sûrs et efficaces pour tous les patients.

Références Bibliographiques

A

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, 1070 P.

Anonyme (2001). *Lancet Infectious Diseases*, 9–20.

B

Baba Ahmed-Kazi Tani Z. et Arlet G. (2014). Actualité de la résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif en Algérie. *J. Path. Bio.*, 62 : 169–178.

BEAUCAIRE G. (1997). Infections nosocomiales : Epidémiologie, critères de diagnostic, prévention et principe de traitement. *Rév. Prat*, 47 :201–209.

BEYTOUT D. (1989). Microbiologie. Dans : Le MINOR L et VERON M (eds). *Bactériologie médicale*. Paris : Flammarion, 99–112.

Bingen E., courvalin P., leclercq R. (2011). *L'Antibiogramme*. Editions ESKA, BARRISSE.266p.

Bouguenoun, Widad. (2017). Étude de la résistance aux antibiotiques des bactéries incriminées dans les infections nosocomiales... Université Badji Mokhtar – Annaba.

Bingen E., courvalin P., leclercq R. (2011). *L'Antibiogramme*. Editions ESKA, BARRISSE.266p.

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.

Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., & Morse, S. A. (2013). *Microbiologie médicale de Jawetz, Melnick et Adelberg* (26e éd.). McGraw-Hill Éducation.

C

CRONIN WENDY, TIETJEN LINDA (1992). Prévention des infections – Guide à l'intention des programmes de planification familiale. JHPIEGO corporation.

D

Denis, F., Ploy, M.-C., Martin, C., Bingen, É., & Quentin, R. (Éds.). (2009). Bactériologie médicale : Techniques usuelles (2e éd., revue et augmentée). Elsevier Masson.

Dubois, J., Dupont, L., & Martin, P. (2017). Méthodes microbiologiques pour la surveillance environnementale. *Journal of Environmental Science*, 45(3), 255-264.

Ducel G. (2002). Prévention des infections nosocomiales. 2e éd., Suisse, pp. 5–9.

Ducel G., Fabry J., Nicolle L. (2008). Prévention des infections nosocomiales. Guide Pratique. 2e éd.

E

Euzéby J.P. 2005. Dictionnaire de bactériologie vétérinaire. Ed. Blagnac. Toulouse.

F

Farmer J.J., Boatwright K.D., Janda J.M. 2007. Enterobacteriaceae : Introduction and Identification. *J. Man. Clin. Microbiol.* 649-669.

G

Garrity G.M., Bell J.A., Lilburn T. 2005. Pseudomonadales. In Brenner D.J., Krieg N.R., Staley J.R. (eds). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* 2e édition. Ed. eBook. USA. pp 323-442.

Giamarellou H., Antoniadou A., Kanellakopoulou K. 2008. *Acinetobacter baumannii* : a Universal threat to public health. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 32 : 106-119
O'Shea M.K. 2012. *Acinetobacter* in modern warfare. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 39 : 363-375.

GROSJEAN M. & Lacoste M. (1999). Communication et intelligence collective : le travail à l'hôpital. Presses Universitaires de France-PUF.

GUIBERT J., Goldstein F.W., Lafaise C., Gaudin H. (1981). Infection à entérobactérie. EMC, Paris, Maladies infectieuses, 80-16 J 10 5.

J

Janda J.M., Abbott S.L. (2006). The Enterobacteria. 2nd ed. ASM Press, Washington, p. 411.

Jaureguy F. (2009). Host and bacterial determinants of Escherichia coli extra intestinal Infections. Med. Sci., 25(3): 221–223.

K

Kloos W.E., Schleifer K.H. (1981). Caractérisation des staphylocoques. Int. J. Syst. Bacteriol., 31(4), 469–475.

Kramer, A., Schwebke, I., & Kampf, G. (2006). How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? BMC Infectious Diseases, 6(1), 130.

L

Letreche A. N. (2012). Contribution à l'étude des infections nosocomiales – Service de Chirurgie A – CHU Tlemcen. Thèse de doctorat en pharmacie.

Lie Souley Abdou Fousam Kourah. 2002. Sensibilité et révolution de la résistance de Pseudomonas aeruginosa aux antibiotiques à l'hôpital du Point G. [Thèse]. Université de Bamako (Mali). 115p.

Looney, W. J., Narita, M., & Mühlemann, K. (2009). Stenotrophomonas maltophilia : un pathogène nosocomial émergent. The Lancet Infectious Diseases, 9(5), 312-323.

M

Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. (2018).

Biologie des microorganismes de Brock (15e éd.). Pearson Éducation.

Mimoz O., Rigaud M.-P. (2019). Infections liées aux dispositifs intravasculaires. In : Denis M. et al. (eds), Infectiologie (3e éd.), pp. 420–428.

Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. (2020). Microbiologie médicale (9e éd.). Elsevier Masson.

N

Nejad SB, Syed SB, B. Ellis, D. Pittet Infections associées aux soins de santé en Afrique : une revue systématique Bull Organisation mondiale de la santé, 89 (2011), pp. 757-765

Nguyen, T. T., Tran, H. L., & Pham, Q. D. (2019). Diversité microbienne dans l'eau et le sol: Une revue. Environmental Microbiology Reports, 11(4), 450-460.

O

O'Shea M.K. (2012). Acinetobacter in modern warfare. Int. J. Antimicrob. Agents, 39 : 363–375.

P

POPI (2003). Maladies infectieuses. Paris, pp. 185–224.

R

RM Emily, TMP Sydnor (2011). Épidémiologie hospitalière et contrôle des infections en milieu de soins aigus. Clin Microbiol Rev, 24(1), 141–173.

Ryan K. J., Ray C. G. (2004). Microbiologie médicale de Sherris (4e éd.). McGraw-Hill.

S

SAINS BURYD, SINGLETON P (1984). Bactériologie, pp. 37, 115, 130, 141.

Samou Fotso Hamel Said. (2005). Les infections nosocomiales dans le service de chirurgie « B » de l'hôpital du Point G. Thèse de doctorat en médecine.

SFAR-SRLF (2009). Prévention des infections nosocomiales en réanimation. *J. Ann. Fr. Anesth.*, 28 : 912–920.

Smith, L., Brown, T. (2015). Limites de détection en analyse microbiologique. *Clin Microbiol Rev*, 28(2), 282–300.

STAMMN E. (1986). Nosocomial urinary tract infection. In: Bennt.Rachman.P. S *Hospital Infection*, p. 347–384.

T

TASSEAU F., BARON D. (1989). Infections nosocomiales. In : BRUKER GET FASSIN D. (eds), *Santé publique*. Paris : Ellipses, pp. 478–479.

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.

V

Vasudevan A., Mukhopadhyay A., Li J., Yuen E.G., Tambyah P.A. 2014. A prediction tool for nosocomial multi-drug resistant gram-negative bacilli infections in critically ill patients – prospective observational study. *J. BMC. Infect. Dis.*, 14 (615).

Site web

- [1] CH Saint-Gaudens (Centre Hospitalier). "Gestion des risques infectieux à l'hôpital."
<https://www.ch-saintgaudens.fr> [Consulté le 21 /04/ 2025]
- [2] CHRINGEL. Les milieux de culture en bactériologie (en ligne). Bio303, p.12.
Disponible sur : <https://chringel.files.wordpress.com/2011/12/bio303-les-milieux-deculture.pdf> [consulté le 09/04/2025].
- [3] Ducel G. (2002). Prévention des infections nosocomiales, guide pratique (en ligne). OMS.
[http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/69751/1/WHO_CDS_CSR_EPH_2002.12_fre](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/69751/1/WHO_CDS_CSR_EPH_2002.12_fre.pdf)
.pdf [Consulté le 26 /04/ 2025]
- [4] EMMANUELLE.Cambav.les bactéries pathogènes.(en ligne).2013.p20.disponible sur « http://coursl3bichat2012-2013.weebly.com/uploads/9/6/0/7/9607940/roneo_11_les_bactries_pathognes_roneo_2.pdf » [Consulté le 28/04/2025].
- [5] Inserm (Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale). "Infections nosocomiales : prévention et risques." <https://www.inserm.fr>
[Consulté le 21 /04/ 2025]
- [6] Institut national de santé publique du Québec (2023). La prévention des infections du site opératoire. <https://www.inspq.qc.ca/publications/1825>
[Consulté le 21/04/2025]
- [7] JAN.Verhaegen. Bactériologie (en ligne).
<https://www.kuleuven.be/vesaliusonline/UNIKEN%20KONGO.doc> [Consulté le 26 /04/ 2025]
- [8] Ministère de la Santé, France. "Quels sont les facteurs favorisant les infections nosocomiales ?" <https://sante.gouv.fr> [Consulté le 21 /04/ 2025]

[9] OMS (2016). Le fardeau des infections associées aux soins de santé dans le monde.
http://www.who.int/gpsc/country_work/burden_hcai/en/ [Consulté le 19/04/2025]

[10] Organisation mondiale de la santé (2020). Prévention des infections nosocomiales.
Genève. [Consulté le 01 /05/ 2025]

[11] Organisation mondiale de la santé (2022). Rapport GLASS: Système mondiale de
surveillance de la resistance aux antimicrobiens. Genève : OMS.

[12] Samou Fotso Hamel Said. (2004/2005). Les infections nosocomiales dans le service
de chirurgie B de l'hôpital du Point G (en ligne). Mali : Université du Mali,
2004/2005, p106. Disponible sur :
http://indexmedicus.afro.who.int/iah/fulltext/Thesis_Bamako/05M49.PDF

[Consulté le 20/04/2025]

[13] VINCENT A. Infection associées aux soins : définition, fréquences et facteurs de
risque (en ligne). Laprugne-GARCIA E, Saint-Genis-Laval, CCLIN sud-est, octobre
2008, p.5. Disponible sur :
http://cclin-sudest.chu-lyon.fr/Doc_Reco/guides/FCPRI/IAS/IAS_definitions.pdf

[consulté le 09/04/2025].

Annexes

Matériel utilisé

Le matériel utilisé au laboratoire est le suivant :

➤ **Appareillages :**

- Autoclave
- Ecouvillons Stériles
- Etuves A 37°C
- Réfrigérateur

➤ **Verrerie :**

- Lames Et Lamelles
- Pipettes Pasteurs
- Tubes A Essai Stériles

➤ **Autres matériels :**

- anse de platine
- Bec Bunsen
- Boite De Pétrie Stériles
- Micro Pipette
- Système Api 20. (api 20 E, api 20 NE, api staph)

Préparation des milieux de culture

1. Gélose de 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. Gélose de Chapman

-Peptone tryptique 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 de Mac Conkey

-Peptone de gélatine (bovin ou porcine)	17g
- Peptone de viande (bovin ou porcine)	3g
- Lactose (bovin).....	10g

- Sels biliaire (ovin ou bovin)1.5g
- Chlorure de sodium.....5g
- Agar.....13.5g
- Rouge neutre.....0.03g
- Cristal violet.....0.01g

L'eau distillée g / litre

Ph = 7.1 ± 0.2 / autoclavage 20 min à 120°C.

4. Gélose nutritive

- Peptone pepsique de viande 5
- Extrait de viande 1
- Extrait de levure 2
- Chlorure de sodium5
- 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.

5. 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.

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

1. Violet de Gentiane

- Violet de gentiane 1g
- Ethanol à 90% 1ml
- Phénol 2g
- Eau distillée 100ml

2. Lugol

- Iode 1g
- Iodure de potassium 2g
- Eau distillée 100ml

3. Fuchsine

- Fuchsine basique 1g
- Alcool éthylique 100ml
- Phénol 15g
- Eau distillée 100ml

4. Réactif TDA (pour la recherche de tryptophane désaminase)

- Perchlorure de fer 3.4g
- Eau distillée 100ml

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

- Paradiméthylaminobenzaldéhyde 5.0 g
- Alcool isoamylique 75.0 ml
- HCL 37% 25.0 ml

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

- Hydroxyde de potassium 40g
- Eau distillée 100ml

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

- Alpha naphthol 6g
- Ethanol 100ml

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

- Acide sulfamilique 0.8 g
- Acide acétique 5N100 ml

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

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

Résumés

Résumé

Les infections associées aux soins de santé représentent un problème majeur de santé publique. Leur origine peut être endogène, provenant du corps du patient, ou exogène, issue de l'environnement. L'objectif de ce travail était d'isoler et d'identifier des bactéries à partir de 20 prélèvements effectués au niveau de service (phtisiohomme) de l'EPH Ibn-Zohr de la ville de Guelma, et évaluer leur résistance aux différents ATBs choisis. Les résultats obtenus ont montré que la majorité des espèces identifiées : (*Staphylococcus Saprophyticus*, *Ochrobactrum Anthropi*, *Serratia liquefaciens*, *Staphylococcus haemolyticus*...) provoquent des infections nosocomiales et résistance à multiple aux ATBs. Le respect des règles de l'hygiène reste l'unique moyen de prévenir contre l'installation de ces bactéries et permet de diminuer le risque.

Les mots clés : Infection nosocomiale, Les bactéries, Résistance, Identification, ATB, Hôpital.

Abstract

Healthcare-associated infections are a major public health concern and may originate endogenously from the patient's body or exogenously from the environment. This study aimed to isolate and identify bacteria from 20 samples collected in the men's pulmonology department at Ibn Zohr Hospital in the city of Guelma, and to assess their resistance to selected antibiotics. The results showed that most of the identified species (*Staphylococcus saprophyticus*, *Ochrobactrum Anthropi*, *Serratia liquefaciens*, *Pseudomonas putida*, and *Staphylococcus haemolyticus*) cause nosocomial infections and exhibit multidrug resistance. Adhering to hygiene protocols remains the only effective way to prevent the spread of these bacteria and reduce the risk of infection.

Key words: Nosocomial infection, Bactéries, Resistance, Identification, ATB, Hospital.

الملخص:

تُعدّ العدوى المرتبطة بالرعاية الصحية مشكلةً كبيرة في مجال الصحة العامة، وقد يكون مصدرها داخلياً من جسم المريض أو خارجياً من البيئة المحيطة. يهدف هذا العمل إلى عزل وتحديد البكتيريا انطلاقاً من 20 عينة تم أخذها من مصلحة "الأمراض الصدرية - رجال" بمستشفى ابن زهر بمدينة قالمة، بالإضافة إلى تقييم مقاومتها لمجموعة من المضادات الحيوية المختارة. أظهرت النتائج أن أغلب الأنواع المحددة مثل : *Staphylococcus Saprophyticus* ، *Ochrobactrum Anthropi* ، *Serratia liquefaciens* ، *Staphylococcus haemolyticus*، تُسبب عدوى استشفائية وتُظهر مقاومة متعددة للمضادات الحيوية. ويُعد احترام قواعد النظافة الوسيطة الوحيدة الفعالة للوقاية من انتشار هذه البكتيريا وتقليل خطر الإصابة بها.

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