

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: Microbiologie Appliquée

Département : Ecologie et Génie de l'Environnement

Thème

Isolement et identification des bactéries responsables des infections nosocomiales

Présenté par :

- BENTABOUCHE Amira
- BEDDOUD Amina

Devant le jury composé de :

Président : ROUAIGUIA M.	M.C.B	Université de Guelma
Examineur : BOUTELDJA M.	M.C.B	Université de Guelma
Encadreur : TABET M.	M.C.B	Université de Guelma

Juin 2025



Remerciements

,Au terme de ce travail

*Nous tenons à remercier, **Mme ROUAIGUIA M.** pour avoir accepté la présidence du jury de .ce mémoire et **Mme BOUTELDJA M.** pour avoir accepté d'évaluer et d'examiner ce travail
Nos sincères remerciements et notre respect vont à notre encadreur **Mme TABET M.** qui nous a donné l'opportunité de réaliser ce travail, nous la remercions pour le partage des savoirs de la connaissance avec nous, pour la patience et la confiance, pour la disponibilité et de son grand aide durant la réalisation de ce travail, pour sa patience, sa gentillesse, et son esprit responsable, critique et rigoureux*

Nous remercions très spécialement Mr ROUABHIA Kamel , pour son extrême serviabilité et son aide,

Nos remerciements vont aussi à :

Mme Noura, chef du laboratoire d'urgences à l'hôpital El Hakim OKBI, et son équipe : Rayan ,Bouchra , Hadjer et Sofia pour donner la chance de réaliser notre pratique de mémoire,

la technicienne du laboratoire de l'Université Amina pour sa gentillesse et son aide durant ce travail.

m^{er} abdelhak challal chef servise dans l'hopital EL HAKIM okbi

Nos remerciements vont enfin à toute personne qui a contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.



Dédicace

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

Avec un énorme plaisir je dédie ce modeste travail

À mon cher père Salah, que Dieu ait pitié de lui,

*Il ne se passe pas un jour sans que ton absence ne soit ressentie. Ton amour, ta
tendresse et*

*ta force m'ont construite et continuent de vivre en moi. Tu aurais été si fier de
me voir atteindre cette étape de ma vie... Je te dédie ce mémoire de fin d'études,
avec tout mon cœur et toute ma gratitude. Qu'Allah t'accorde Sa miséricorde,
illumine ta tombe et t'ouvre les*

portes de Son Paradis.

A ma chère mère Saïda ,

*Affable, honorable, aimable...Tu incarnes pour moi le symbole même de la
bonté, la source inépuisable de tendresse et l'exemple absolu de dévouement. Tu
n'as jamais cessé de m'encourager, de prier pour moi et de m'accompagner de
ta bienveillance. Tes prières et tes bénédictions ont été pour moi un véritable
soutien tout au long de mon parcours universitaire. Aucune parole ne saurait
exprimer pleinement la reconnaissance que je te dois pour tous les sacrifices
que tu as consentis depuis ma naissance. Je te dédie ce travail en témoignage de
tout l'amour et de la profonde gratitude que je porte dans mon cœur. Puisse
Dieu, le Tout-Puissant, te protéger, t'accorder la santé, une longue vie et un
bonheur sans fin.*

A mon binôme amina,

*je la remercie pour le courage qu'elle m'a insufflé et pour tous les précieux
moments que nous avons partagés.*

Dédicace

À celle qui fut mon premier refuge, celle dont les prières ne déçoivent jamais,

À ma chère maman Hakima,

Toi qui m'as appris que la tendresse est une force, et que le silence peut être prière,

Mes mots s'inclinent avec pudeur devant ton amour...

Tu as semé la foi en mon cœur et abreuvé mon âme d'une sérénité indicible.

Chaque moment de fatigue, tu étais là... par ta présence, ta parole, ton amour.

Et à mon cher père Abdelhafid,

Toi qui as été mon ombre dans les jours difficiles, mon appui quand mes pas chancelaient,

Tu étais la forteresse où je me suis abritée, la lumière qui m'a guidée vers la réussite.

Merci de m'avoir cru capable, même lorsque moi-même j'en doutais.

À mes frères bien-aimés Najib et Oussama,

Vous êtes une part de mon cœur qui ne peut être séparée...

Vos sourires, vos mots, vos cœurs ont été mon baume sur ce chemin.

Grâce à vous, la vie était plus douce, les pas plus assurés, et le rêve plus proche.

Et à mon amie fidèle Amira,

Toi qui as été la lumière dans mes jours sombres, et le soutien dans mes silences,

Ton amitié est une bénédiction, tes mots un remède...

Que Dieu fasse de toi une compagne de route dans ce monde et dans l'au-delà.

Aujourd'hui, je tourne la page d'un chapitre et j'en ouvre un nouveau.

Hier, ce diplôme n'était qu'un rêve lointain,

Aujourd'hui, il est réalité, colorée par les larmes de joie et une lutte que seul Dieu connaît.

Par la volonté du Très-Haut, chaque épreuve a mené à cette réussite. Louange à Dieu, par Sa grâce se complètent les bienfaits

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction 1

Partie Bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les infections nosocomiales

1. Infections nosocomiales	4
2. Modes de transmission	4
3. Types d'infections nosocomiales	5
3.1. Infections urinaires	5
3.2. Infections pulmonaires	5
3.3. Infections du site opératoire	6
3.4. Bactériémies nosocomiales	6
3.5. Autres infections nosocomiales	6
4. Microorganismes nosocomiaux	6
4.1. Bactéries	6
4.1.1. Bactéries commensales	6
4.1.2. Bactéries pathogènes	7
4.2. Champignons	7
4.3. Virus	7
5. Facteurs de risque des infections nosocomiales	8
5.1. Âge et état de santé du patient	8
5.2. Traitements médicaux	8
5.3. Actes médicaux invasifs	8
5.4. Ressources humaines et pratiques du personnel soignant	8
5.5. Conditions et infrastructures hospitalières	8

6. Prévention et lutte contre les infections nosocomiales	8
---	---

Chapitre II : La résistance Bactérienne

1. Définition	10
2 Types de résistance bactérienne	10
2.1. Résistance naturelle	10
2.2. Résistance acquise	10
2.3. Résistance croisée	10
2.4. Co-résistance	10
3. Bactéries multirésistantes	11
4.Mécanismes de la résistance bactérienne aux antibiotique	12
4.1. Inactivation enzymatique	13
4.2. Modification de la cible	13
4.3. Diminution de la perméabilité membranaire	13
4.4. Systèmes d'efflux actif	13

Partie expérimentale

Chapitre III : Matériel et Méthodes

1. Cadre d'étude	16
2. Prélèvement	16
2.1 Prélèvement à partir des surfaces sèches	16
2.2 Prélèvement à partir des surfaces humides	16
3- Isolement des bactéries	17
3.1 Gélose Mac-Conkey	17
3.2 Gélose Chapman	17
3.3 Gélose au cétrimide	18
4- Purification des bactéries	18
5. Identification bactérienne	18
5.1 Observation macroscopique	18

5.2 Observations microscopique	18
5.2.1 Examen direct à l'Etat frais	18
5.2.2. Examen direct après coloration de Gram	19
6. Identification biochimique	20
6.1. Test de catalase	20
6.2. Galeries biochimiques	20
6.2.1 Galerie Api Staph	20
6.2.2 Galerie Api 20 Strep	21
7. Antibiotogramme	22
7.2 Gélose Müller Hinton	22
7.3. Préparation de l'inoculum	22
7.4. Inoculation de gélose	22
7.5. Disposition des disques d'antibiotiques.....	23
7.6 Incubation des boites	23
7.7 Lecture de l'antibiotogramme	24

Chapitre IV : Résultats et Discussion

1. Résultats de l'enrichissement	26
2. Résultats d'isolement et d'identification	26
2.1. Résultats de l'examen macroscopique	26
2.2 Résultats des examens microscopiques	29
2.2.1. État frais	29
2.2.2 Coloration de Gram	30
3. Résultats d'identification biochimique	31
3.1 Résultat du test catalase	31
4. Résultats des galeries biochimiques	31
5 . Résultats d'antibiotogramme	33
Discussion	35

Conclusion 38

Références bibliographiques

Annexes

Résumés

Liste des figures

Figure 1 : Mécanismes de la résistance bactérienne aux antibiotiques	12
Figure 2 : Interprétation d'un antibiogramme.	24
Figure 3 : Résultats d'enrichissement sur le milieu BN	26
Figure 4 : Aspect macroscopique des colonies sur la gélose Chapman	29
Figure 5 : Aspect macroscopique des colonies sur la gélose cétrimide.....	29
Figure 6 : Aspect macroscopique des colonies sur la gélose Mac-Conkey	29
Figure 7 : Cocci Gram positifs	30
Figure 8 : Cocci Gram négatifs	30
Figure 9 : Coccobacilles Gram positifs	30
Figure 10 : Résultat du test catalase	31
Figure 11 : Profil biochimique de l'espèce <i>Aerococcus viridans</i>	32
Figure 12 : Profil biochimique de l'espèce <i>Staphylococcus xylosus</i> .	32
Figure 13 : Profil biochimique de l'espèce <i>Staphylococcus auricularis</i>	32
Figure 14 : Profil biochimique de l'espèce <i>Kocuria varians</i>	32
Figure 15 : Profil biochimique de l'espèce <i>Staphylococcus haemolyticus</i>	32
Figure 16 : Profil biochimique de l'espèce <i>Enterococcus faecium</i>	33
Figure 17 : Résultat d'antibiogramme de <i>Staphylococcus xylosus</i>	34
Figure 18 : Résultat d'antibiogramme de <i>Enterococcus faecium</i>	34
Figure 19 : Résultat d'antibiogramme de <i>Staphylococcus haemolyticus</i>	34
Figure 20 : Résultat d'antibiogramme de <i>Staphylococcus auricularis</i>	34
Figure 21 : Résultat d'antibiogramme de <i>Kocuria varians</i>	34
Figure 22 : Résultat d'antibiogramme de <i>Aerococcus viridans</i>	34

Liste des tableaux

Tableau 1 : Services et sites de prélèvement	16
Tableau 2 : Liste des antibiotiques utilisés.	24
Tableau 03 : Résultats positifs et négatifs des prélèvements	26
Tableau 04 : Caractéristiques morphologiques des colonies isolées.	26
Tableau 05 : Résultats microscopiques de l'état frais	29
Tableau 06 : Résultats obtenus du test catalase des bactéries isolées	31
Tableau 07 : Espèces bactériennes identifiées	31
Tableau 08 : Résultats de l'antibiogramme des différentes espèces bactériennes	33

Liste des Abréviation

API Staph : Analytical Profile Index pour *Staphylococcus*

API Strep :Analytical Profile Index pour *Streptococcus*

BLSE : Entérobactéries capables de produire des β -lactamases à spectre étendu

BMR : Bactéries multirésistantes

BN : Bouillon nutritif

ECBU : Examen cytobactériologique des urines

ECG : electrode de l'appareil d'électrocardiogramme

EPH : Établissement public hospitalier

MH : Müller Hinton

OMS : Organisation mondiale de la santé

PCR : Réaction de polymérisation en chaîne

Introduction

Introduction

Les infections nosocomiales représentent aujourd'hui un véritable enjeu pour les systèmes de santé dans le monde entier. Définies comme des « accidents médicaux » ou « événements indésirables » associés à la prise en charge médicale, elles ne résultent pas directement de la pathologie initiale du patient (**Garner et al., 1988**). Présentes depuis longtemps dans les milieux hospitaliers, ces infections ont vu leur fréquence augmenter au fil du temps, notamment avec l'évolution des pratiques de soins et la complexification des traitements médicaux (**Samou, 2005**).

De nombreuses études ont mis en lumière l'ampleur de ce phénomène. Par exemple, une enquête menée par le réseau Renforcement de l'épidémiologie des soins de santé pour l'étude des infections nosocomiales dans la région méditerranéenne dans 27 hôpitaux répartis entre l'Algérie, l'Égypte, l'Italie, le Maroc et la Tunisie, a révélé une prévalence alarmante de 10,5 % des infections nosocomiales dans la région méditerranéenne (**Amazian et al., 2010**). Ces chiffres témoignent de la gravité de la situation et de l'urgence d'adopter des mesures efficaces pour limiter leur propagation.

En parallèle à cette problématique, un phénomène encore plus préoccupant se développe : celui de la résistance bactérienne aux antibiotiques. Majoritairement observée en milieu hospitalier, cette résistance rend de plus en plus difficile le traitement des infections, transformant les hôpitaux en lieux à haut risque, où les bactéries deviennent de plus en plus résistantes (**Bouleghmane, 2006**).

Plus de 24 % des patients atteints de septicémie nosocomiale et plus de la moitié des patients en soins intensifs décèdent chaque année. Ces taux de mortalité sont encore plus élevés lorsqu'il s'agit d'infections causées par des germes résistants aux traitements antibactériens (**OMS, 2022**).

Dans ce contexte, l'objectif principal de notre étude est d'isoler et d'identifier les bactéries responsables des infections nosocomiales, ainsi que d'analyser leur profil de résistance aux antibiotiques, à partir d'échantillons prélevés dans différents services de l'Établissement Public Hospitalier (EPH) El Hakim Okbi de la ville de Guelma.

Pour répondre à cet objectif, le présent mémoire est structuré en quatre chapitres. La première partie est consacrée à une partie bibliographique divisée en deux chapitres : le premier présente les généralités relatives aux infections nosocomiales, tandis que le second s'intéresse à la problématique de la résistance bactérienne. La deuxième partie, expérimentale, comprend le troisième chapitre, qui détaille le matériel utilisé ainsi que les méthodes employées pour la réalisation de notre étude. Enfin, le quatrième chapitre expose les résultats obtenus et leur discussion. Ce travail se termine par une conclusion.

Partie Bibliographique

Chapitre I
Généralités sur les infections
nosocomiales

1. Infections nosocomiales

Définition

Les infections nosocomiales, aussi appelées infections liées aux soins ou infections hospitalières, sont définies comme des affections contractées par un patient au sein d'un établissement de santé, alors qu'elles n'étaient ni présentes ni en période d'incubation lors de son admission. Cette définition englobe aussi bien les infections apparues après la sortie de l'hôpital que celles contractées par le personnel soignant dans le cadre de leur travail (**Ducel , Fabry, 2002**).

En ce qui concerne les infections bactériennes, un délai de 48 à 72 heures après l'admission est généralement retenu pour les considérer comme nosocomiales. Toutefois, ce délai peut être plus long dans le cas des infections virales, en fonction de leur période d'incubation (**Lachassinne et al., 2004**).

2. Modes de transmission

Les infections nosocomiales peuvent avoir deux origines principales :

2.1.Une origine exogène

Ces infections se produisent lorsque le patient est exposé à des agents infectieux pendant son séjour à l'hôpital. Les sources potentielles peuvent comprendre la flore résidentielle ou passagère du personnel médical, des visiteurs, des équipements médicaux, de même que l'environnement et les installations de l'hôpital (**Monnet, 2011**).

2.2.Une origine endogène

Ces infections ont pour origine la flore commensale du patient. Les agents infectieux étaient déjà présents chez le patient avant son admission à l'hôpital, en particulier au niveau des voies respiratoires, de la peau, du système gastro-intestinal ou génital (**Monnet, 2011**).

La transmission peut se faire soit par voie manuportée (par contact direct) ou transmise par l'environnement, objets ou dispositifs médicaux (par contact indirect) :

2.2.1. Par contact direct

Les mains du personnel soignant, visiteurs, patients jouent un rôle dans le transfert passif des micro- organismes d'un malade à un autre. Les mains du personnel peuvent contenir de 100 à 1000 bactéries/cm². En plus de la flore résidente, on retrouve la flore transitoire : ce sont les germes de « l'ambiance hospitalière ».

2.2.2.Par contact indirect

Les objets et les matériaux présents à l'hôpital sont un réservoir de germes, facilitant leur transmission entre les patients.

Chapitre I : Généralités sur les infections nosocomiales

2.2.3. Transmission par voie aérienne : Particulièrement préoccupante chez les patients immunodéprimés, elle implique la dispersion de germes dans l'air, pouvant contaminer les individus à proximité.

2.2.4. Transmission par l'intermédiaire d'un support contaminé (nourriture dans le cas de Toxi-infections alimentaires)

2.2.5. Transmission par voie hydrique (la légionellose nosocomiale) (Saidoune, 2020).

3. Types d'infections nosocomiales

La fréquence et les causes des infections associées aux soins varient considérablement selon la région géographique, le type de service hospitalier et le profil des patients pris en charge (Monnet, 2011).

Cependant, certaines catégories d'infections sont plus fréquemment rencontrées que d'autres :

3.1. Infections urinaires

Les infections urinaires constituent les infections nosocomiales les plus fréquentes, représentant environ 40 % de l'ensemble des infections acquises en milieu hospitalier. Elles surviennent majoritairement chez des patients porteurs de sondes vésicales, mais peuvent également être déclenchées à la suite d'une intervention urologique. Le diagnostic de ce type d'infection repose principalement sur la réalisation d'un examen cyto bactériologique des urines (ECBU) (Gadiaga, 2022).

3.2. Infections pulmonaires

Les infections pulmonaires représentent la deuxième cause des infections nosocomiales. Elles comportent les bronchites et les pneumopathies. Les pneumopathies sont les plus redoutées et posent des difficultés diagnostiques. Elles entraînent également une prolongation de la durée d'hospitalisation.

Sous l'étiquette de pneumonies nosocomiales, on distingue trois entités :

- **Les pneumonies acquises à l'hôpital** (pneumonie survenant après plus de 48 heures d'hospitalisation et n'étant ni ne présente ni en incubation à l'admission)
- **Les pneumonies associées à la ventilation mécanique** (pneumonies survenant 48 à 72 heures après l'intubation endotrachéale) ;
- **Les pneumonies associées aux soins** (pneumonies survenant chez un patient hospitalisé au moins 2 jours dans les 90 jours précédents ou chez un patient ayant reçu une antibiothérapie intraveineuse, une chimiothérapie ou des soins pour plaie dans les 30 jours précédents ou chez un patient suivi en hémodialyse) (Kassogue, 2021).

3.3. Infections du site opératoire

Les infections du site opératoire constituent la troisième cause d'infections nosocomiales, représentant environ 15 % des cas, avec une incidence qui dépend du type de chirurgie pratiquée. Elles sont considérées comme nosocomiales si elles surviennent dans les 30 jours suivant l'intervention chirurgicale, ou dans l'année si une prothèse ou un implant a été posé (Nauciel et Vildé, 2005).

On distingue généralement les infections superficielles touchant la plaie opératoire et les infections profondes atteignant les organes (Monnet, 2011).

3.4. Bactériémies nosocomiales

Les bactériémies représentent une proportion relativement faible des infections nosocomiales, mais elles sont associées à un taux de létalité élevé. Leur incidence est en augmentation, notamment en lien avec l'émergence de microorganismes multirésistants tels que *Staphylococcus spp.* et *Candida sp.*.

Les bactériémies primaires sont fréquemment regroupées avec les infections secondaires liées aux cathéters intravasculaires, ces dernières étant souvent dues à la colonisation de ces dispositifs médicaux invasifs (Kassogue, 2021).

3.5. Autres infections nosocomiales

Ces pathologies représentent environ 20 % des infections nosocomiales. Elles regroupent une grande variété de localisations, incluant notamment les infections oculaires et oto-rhino-laryngologiques (5,7 %), les escarres surinfectées, ainsi que les infections génitales.

S'ajoutent également les infections buccales fréquemment observées chez les patients atteints de leucémie en aplasie médullaire, ainsi que des atteintes du système nerveux central, telles que les abcès cérébraux et les méningites, notamment chez les patients immunodéprimés (Amoussou, 2009).

4. Microorganismes nosocomiaux

4.1. Bactéries

Ce sont les micro-organismes les plus fréquemment impliqués dans les infections nosocomiales, et ils se répartissent en deux grandes catégories.

4.1.1. Bactéries commensales

Habituellement présentes au sein du microbiote humain sain, ces bactéries jouent un rôle protecteur contre les agents pathogènes. Cependant, en cas d'immunodépression, elles peuvent devenir opportunistes et provoquer des infections. C'est notamment le cas des staphylocoques à coagulase négative présents sur la peau, ainsi que *Escherichia coli* dans la flore intestinale.

Chapitre I : Généralités sur les infections nosocomiales

4.1.2. Bactéries pathogènes

Contrairement aux commensales, ces bactéries sont capables d'induire des infections sévères quel que soit le statut immunitaire de l'individu. *Staphylococcus aureus*, un cocci à Gram positif, est à l'origine de nombreuses infections et présente souvent une résistance aux antibiotiques. Les bactéries à Gram négatif, quant à elles, sont responsables de plus de la moitié des cas d'infections nosocomiales. Parmi elles, on retrouve *Escherichia coli* et *Klebsiella spp.*, qui ont une forte capacité à coloniser les zones sensibles de l'organisme et à déclencher des pathologies graves (Ducel et al., 2002) .

4.2. Champignons et parasites

Certains parasites et champignons sont fréquemment responsables d'infections opportunistes chez les patients immunodéprimés ou porteurs de dispositifs médicaux implantés, tels que les cathéters veineux centraux ou sondes urinaires. Parmi les agents fongiques et parasitaires les plus fréquemment impliqués dans les infections associées aux soins de santé (IAS) figurent plusieurs espèces de *Candida*, notamment *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata* *Aspergillus spp.*, *Giardia lamblia* et *Cryptosporidium* (Kassogue, 2021).

4.3. Virus

Il est généralement estimé que moins de 1 % des infections nosocomiales sont d'origine virale. Toutefois, certains virus peuvent provoquer des épidémies nosocomiales, comme cela a été observé avec le Norovirus (Kayser et al., 2008).

De nombreux virus présentent un risque de transmission en milieu hospitalier, notamment :

- les virus des hépatites B et C, par le biais de transfusions sanguines, séances de dialyse, injections ou procédures endoscopiques ;
- les virus respiratoires, les rotavirus et les entérovirus, transmis par contact direct (main-bouche) ou par voie fécale-orale.

D'autres agents viraux comme le cytomégalo virus (CMV), le VIH, le virus Ebola, les virus grippaux, les herpès virus et le virus varicelle-zona peuvent également être transmis en milieu hospitalier (Kernane et Khanouche, 2012).

5. Facteurs de risque des infections nosocomiales

5.1. Âge et état de santé du patient

Les patients âgés, immunodéprimés, polytraumatisés, grands brûlés, ainsi que les nouveau-nés, en particulier les prématurés, présentent un risque accru de contracter une infection nosocomiale en raison de la faiblesse de leurs défenses immunitaires (Saidoune, 2020).

5.2. Traitements médicaux

Certains traitements, comme les antibiothérapies, les corticoïdes ou les immunosuppresseurs, affaiblissent les mécanismes de défense de l'organisme. De plus, une

Chapitre I : Généralités sur les infections nosocomiales

utilisation excessive ou inappropriée des antibiotiques favorise l'émergence de bactéries résistantes, rendant les infections plus difficiles à traiter (Cattoir et al., 2016).

5.3. Actes médicaux invasifs

Les gestes techniques tels que la mise en place de sondes urinaires, de cathéters, la ventilation mécanique ou les interventions chirurgicales représentent des portes d'entrée potentielles pour les agents infectieux (Saidoune, 2020).

5.4. Ressources humaines et pratiques du personnel soignant

Un effectif insuffisant ou un personnel mal formé peut compromettre le respect des protocoles d'hygiène, augmentant ainsi les risques de transmission croisée au sein des services hospitaliers (Cattoir et al., 2016).

5.5. Conditions et infrastructures hospitalières

Les structures hospitalières, incluant les réseaux d'eau et d'air, les revêtements de surfaces, ainsi que les faux plafonds, peuvent devenir des niches favorables à la prolifération de micro-organismes pathogènes s'ils ne sont pas bien entretenus (Cattoir et al., 2016).

6. Prévention et lutte contre les infections nosocomiales

La prévention des infections associées aux soins constitue une priorité essentielle de santé publique. Elle repose sur une surveillance rigoureuse, notamment dans les unités à haut risque, ainsi que sur le respect strict des protocoles d'hygiène, une utilisation raisonnée des antibiotiques et l'application de mesures de précaution adaptées à chaque situation. Bien que l'élimination totale du risque soit irréaliste, la mise en œuvre de stratégies préventives permet de réduire considérablement la fréquence et la gravité de ces infections. Parmi ces stratégies figurent l'isolement des patients infectés, le renforcement des pratiques d'hygiène et le recours à des équipements de protection individuelle adéquats (Barbut, 2016).

Chapitre II

La résistance Bactérienne

1. Définition

Un micro-organisme est qualifié de « résistant » lorsque sa concentration minimale inhibitrice dépasse celle nécessaire pour inhiber la croissance de la majorité des souches de la même espèce. Autrement dit, une souche bactérienne est dite résistante si la concentration d'antibiotique qu'elle peut tolérer est supérieure à celle atteignable dans l'organisme après un traitement. Les souches résistantes supportent donc des concentrations d'antibiotiques plus élevées que la normale. Ces micro-organismes peuvent résister à l'action des agents antimicrobiens (antibiotiques, antifongiques, antiviraux ou antipaludéens), ce qui rend les traitements standards inefficaces, prolonge les infections et favorise leur propagation. Ce phénomène naturel est accéléré par une mauvaise utilisation des antimicrobiens (Carle ,2009)

2. Types de résistance bactérienne

2.1. Résistance naturelle

La résistance naturelle, ou intrinsèque, est propre à une espèce bactérienne et est partagée par l'ensemble de ses souches. Elle résulte généralement de l'expression d'un gène chromosomique commun. Pour chaque classe d'antibiotiques, certaines espèces présentent une insensibilité naturelle en raison d'une absence de cible adéquate ou d'un accès limité à celle-ci (Medhi, 2008).

2.2. Résistance acquise

La résistance acquise découle de modifications du génome, telles que des mutations ponctuelles ou l'acquisition de nouveaux gènes. Ces altérations permettent aux bactéries d'échanger du matériel génétique, renforçant ainsi leur capacité d'adaptation à divers environnements (Springman et al., 2009).

2.3.Résistance croisée

La résistance croisée se produit lorsqu'une bactérie développant une résistance à un antibiotique devient également résistante à d'autres, en raison d'un mécanisme biochimique commun. Ce phénomène peut concerner l'ensemble des molécules d'une même classe, comme les sulfamides, ou n'affecter que certains membres, comme les aminoglycosides, voire s'étendre à des classes différentes (El Abdani, 2016).

2.4.Co-résistance

Dans la co-résistance, une bactérie possède plusieurs mécanismes de résistance, parfois intégrés dans son chromosome. Chaque mécanisme agit contre une classe différente d'antibiotiques, ce qui donne un profil multi-résistant à la bactérie. Cette organisation

génétique conduit à un phénomène de co-sélection. C'est le cas, par exemple, de certaines souches de *Streptococcus pneumoniae* (Courvalin, 2008).

3. Bactéries multirésistantes (BMR)

La problématique de la résistance bactérienne aux antibiotiques a été signalée dès les années 1960, touchant initialement les entérobactéries ainsi que *Pseudomonas aeruginosa*. Depuis les années 1990, le concept de multirésistance est de plus en plus associé aux bactéries à Gram positif telles que *Staphylococcus* ou *Enterococcus*, bien que les bacilles à Gram négatif demeurent un sujet de préoccupation non négligeable.

D'un point de vue bactériologique, la multirésistance se caractérise par l'accumulation de mécanismes de résistance, qu'ils soient intrinsèques ou acquis, réduisant significativement les options thérapeutiques. Les résistances dites intrinsèques sont partagées par l'ensemble des souches d'une espèce donnée, tandis que les résistances acquises ne se retrouvent que chez certaines souches autrefois sensibles (Albrecht, 2015).

La multirésistance représente une progression vers une situation où les possibilités de traitement deviennent limitées. Elle touche aussi bien les bactéries impliquées dans des infections contractées en communauté telles que les *Streptococcus pneumoniae* ou les bacilles tuberculeux que celles responsables d'infections associées aux soins ou survenant en milieu hospitalier (Khiev et Veber, 2010).

Les BMR impliquées dans les infections nosocomiales

- *Staphylococcus aureus* présentant une résistance à la méticilline. (SARM).
- Entérobactéries capables de produire des β -lactamases à spectre étendu.(BLSE).
- Entérobactéries devenues résistantes aux β -lactamines par mécanisme d'hyperproduction de céphalosporinases.
- *Acinetobacter spp.* non sensibles à la ceftazidime et/ou à l'imipénem.
- *Pseudomonas aeruginosa* présentant une résistance à la ceftazidime (PARC) et/ou à l'imipénem.
- *Enterococcus spp.* résistants aux antibiotiques de la famille des glycopeptides (Khiev et Veber, 2010).

4. Mécanismes de la résistance bactérienne aux antibiotiques

Les bactéries ont développé plusieurs mécanismes pour neutraliser l'effet des agents antimicrobiens. Ces mécanismes de résistance, généralement acquis par mutation ou par transfert de gènes (via plasmides, transposons, etc.), résultent de pressions de sélection causées par l'usage intensif et parfois inapproprié des antibiotiques.

On distingue quatre grands mécanismes principaux, fondés sur des modifications biochimiques ou structurales : inactivation enzymatique, modification de la cible, diminution de la perméabilité membranaire et les systèmes d'efflux actif (**Fig. 1**)(Muylaert et Mainil,2012).

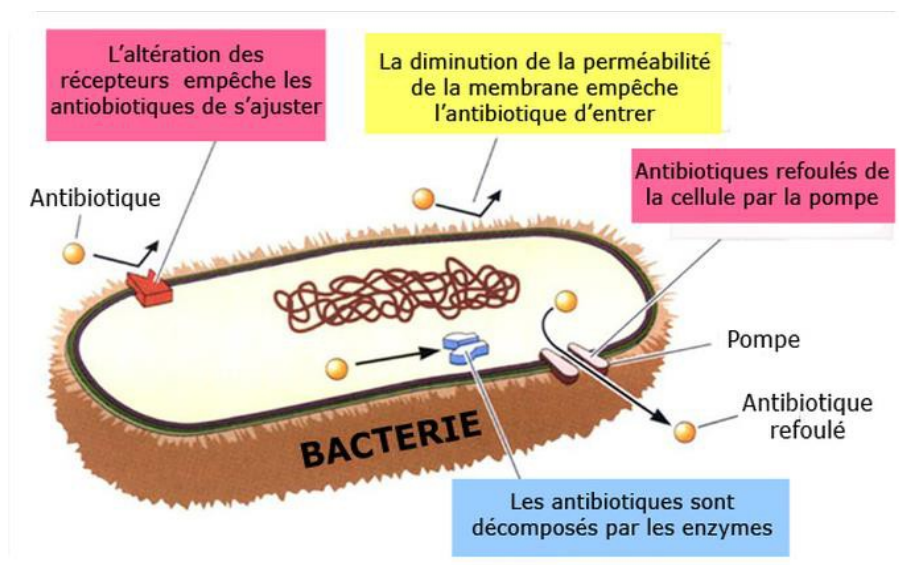


Figure 1: Mécanismes de la résistance bactérienne aux antibiotiques (Archambaud,2009)

4.1. Inactivation enzymatique

Ce mécanisme repose sur la production d'enzymes capables de dégrader ou modifier l'antibiotique, empêchant ainsi sa fixation à la cible bactérienne. Il est courant chez les bêta-lactames, aminoglycosides et phénicolés. Ces enzymes catalysent des réactions comme l'hydrolyse, l'acétylation, la phosphorylation ou encore l'ajout de glutathion. Elles sont souvent associées à des éléments génétiques mobiles (Muylaert et Mainil, 2012).

4.2. Modification de la cible

Le mode d'action des antibiotiques repose généralement sur l'interaction avec une cible précise dans la cellule bactérienne. Lorsqu'une modification affecte cette cible, l'antibiotique ne parvient plus à s'y fixer, rendant le traitement inefficace. Cette modification peut résulter de divers mécanismes : méthylation de la cible, altération de son nombre (surexpression ou suppression), ou substitution par une nouvelle cible fonctionnelle. Ces modifications sont fréquentes dans les résistances acquises, notamment vis-à-vis des macrolides, des fluoroquinolones ou des β -lactamines (Gutmann et al., 2010).

4.3. Diminution de la perméabilité membranaire

Chez les bactéries à Gram négatif, les antibiotiques hydrophiles pénètrent dans la cellule par l'intermédiaire de porines, protéines transmembranaires situées dans la membrane externe.

Une altération quantitative ou qualitative de ces porines (réduction de leur expression, mutation de leurs gènes, ou modification structurale) peut limiter l'entrée des antibiotiques dans la cellule. Ce phénomène est bien documenté chez *Pseudomonas aeruginosa*, dont la faible perméabilité membranaire constitue une barrière naturelle aux antimicrobiens (Muylaert, 2012).

Un exemple illustratif est celui de la fosfomycine, qui traverse la membrane bactérienne via le système de transport des glycérophosphates. Une mutation affectant ce système peut entraîner une résistance significative à cet antibiotique (Nauciel et Vildé, 2005).

4.4. Systèmes d'efflux actif

Les pompes d'efflux sont des transporteurs membranaires actifs, souvent impliqués dans la résistance naturelle des bactéries. Ces systèmes, qui nécessitent une source d'énergie, permettent l'expulsion active de substances toxiques, y compris les antibiotiques, hors de la cellule. Lorsque leur expression est augmentée souvent sous l'effet de mutations, ces pompes peuvent conférer une résistance acquise touchant simultanément plusieurs classes d'antibiotiques. La réduction de la concentration intracellulaire de l'antibiotique empêche celui-ci d'atteindre une concentration efficace sur sa cible, compromettant ainsi son action thérapeutique (Nauciel et Vildé, 2005 ; Muylaert, 2012).

Partie Expérimentale

Chapitre III

Matériel et Méthodes

1. Cadre d'étude

Cette étude vise à isoler et identifier les bactéries responsables des infections nosocomiales, ainsi qu'à analyser leur profil de résistance aux antibiotiques. L'investigation a été menée au sein d'EPH El Hakim Okbi, dans la wilaya de Guelma au cours d'une période de stage s'étendant de 16 février au 16 Mars 2025. Les analyses bactériologiques et les tests de sensibilité aux antibiotiques ont été réalisés dans le laboratoire pédagogique de notre faculté.

2. Prélèvement

vingtdeux prélèvements ont été effectués dans deux services de l'hôpital El Hakim Okbi, à savoir le service des urgences et le bloc opératoire. Les sites de prélèvement sont présentés dans le **tableau 01**.

2.1. Prélèvement à partir des surfaces sèches

Des écouvillons stériles, préalablement humidifiés avec de l'eau distillée stérile, ont été utilisés pour effectuer des prélèvements minutieux sur diverses surfaces sèches telles que les interrupteurs, les lits, etc. Les écouvillons ont ensuite été placés dans des tubes contenant du bouillon nutritif (BN) et incubés à 37°C pendant 24 à 48 heures afin de favoriser la croissance bactérienne.

2.2 Prélèvement à partir des surfaces humides

Les échantillons ont été prélevés à l'aide d'écouvillons stériles appliqués directement sur des surfaces humides, telles que les lavabos. Après le prélèvement, les écouvillons ont été transférés dans des tubes contenant du BN, puis incubés à 37°C pendant une durée de 24 à 48 heures pour permettre le développement des bactéries.

Tableau 1 : Services et sites de prélèvement

Service de Bloc opératoire (B)		Service des urgences médicales de chirurgie(U)	
B1	Main d'infirmière	U1	Electrode de l'appareil d'électrocardiogramme (ECG)
B2	Poignée de la porte	U2	Lit du malade
B3	Sol du bloc	U3	Main d'infirmière
B4	Potence	U4	Poignée de la porte
B5	Fenêtre septique	U5	Cathéter d'un malade

B6	Mûr	U6	Chariot de soin
B7	Interrupteur de bloc	U7	Interrupteur
B8	Lavabo		
B9	Table de bloc		
B10	Drap		
B11	Syalitic		
B12	Séparateur de salle de réanimation		
B13	Masque d'oxygène		
B14	Interrupteur de salle de réanimation		
B15	Champ opératoire		

3- Isolement des bactéries

Après la période d'incubation, l'isolement bactérien a été réalisé à partir des tubes de BN présentant un trouble, signe de croissance microbienne. Pour cela, une goutte de BN a été prélevée et ensemencée sur des boîtes de Pétri contenant des milieux gélosés adaptés à la culture bactérienne. Les boîtes ont ensuite été incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures, permettant ainsi le développement des colonies bactériennes. Les milieux de culture utilisés ont été sélectionnés en fonction des exigences de croissance des micro-organismes recherchés.

3.1. Gélose Mac-Conkey

Cette gélose est utilisée pour l'isolement des entérobactéries et la différenciation entre les bactéries fermentant le lactose (Lac+) et celles qui ne le fermentent pas (Lac-).

-La fermentation du lactose en acide est mise en évidence par la présence de rouge neutre, entraînant l'apparition de colonies roses ou rouges.

-Les micro-organismes lactose-négatifs forment, quant à eux, des colonies incolores (**Joseph, 2003**).

3.2. Gélose Chapman

Ce milieu est sélectif pour l'isolement et la numération des staphylocoques. Il permet également de différencier les espèces capables de fermenter le mannitol de celles qui ne le fermentent pas.

-En cas de fermentation du mannitol, une acidification se produit, entraînant une coloration jaune du milieu en présence de rouge de phénol (indicateur de pH).

-La sélectivité de ce milieu repose sur une forte concentration en chlorure de sodium, favorisant la croissance des bactéries halophiles, telles que *Staphylococcus*, tout en inhibant la majorité des autres bactéries (**Guillaume, 2004**).

3.3 Gélose au cétrimide

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

Le pouvoir sélectif repose sur le cétrimide, un ammonium quaternaire capable d'inhiber un très grand nombre de bactéries [1].

4- Purification des bactéries

Après incubation, la purification des colonies suspectes a été réalisée par une série de repiquages successifs sur les mêmes milieux de culture au sur la gélose nutritive, afin d'obtenir des cultures parfaitement pures. À chaque étape, une colonie isolée a été prélevée de manière aléatoire et réensemencée. Ce processus a été répété jusqu'à ce que les colonies obtenues présentent une uniformité en taille, en forme et en couleur, garantissant ainsi la pureté des souches (**Idoui et al., 2009**).

5. Identification bactérienne

L'identification des souches a été menée à travers :

5.1 Observation macroscopique

L'étude des caractères morphologiques (macroscopiques) consiste en l'observation des colonies bactériennes, à l'œil nu ou grâce à la loupe binoculaire, prenant en compte les éléments d'identifications macroscopiques suivant (**Joffin et Leyral, 2006**).

- La taille des colonies : moyenne, ou grosse...
- La chromogénèse : couleur de la colonie
- La forme des colonies : rondes, irrégulières, etc.
- L'élévation : convexe, concave, ou plate.
- L'opacité : opaque, translucide, ou transparente.
- La surface : lisse, rugueuse, sèche, ou dentelée.

5.2 Observations microscopique

5.2.1 Examen direct à l'Etat frais

.But d'examen

Une préparation à l'état frais permet d'examiner la mobilité et le mode de regroupement des bactéries.

.Méthode

-Déposer une goutte d'eau stérile sur une lame de microscope.

- Prélever une fraction de colonies sur une gélose, de préférence sur les bords.
- Mélanger progressivement l'inoculum dans la goutte d'eau pour obtenir une suspension homogène.
- Recouvrir la préparation d'une lamelle tout en évitant la formation de bulles d'air.
- Examiner les cellules au microscope optique en utilisant des grossissement de $\times 400$ (Prescott et Sherwood, 1993).

5.2.2. Examen direct après coloration de Gram

. But d'examen

Ce test vise à identifier la nature de la paroi bactérienne en distinguant les bactéries à Gram positif de celles à Gram négatif. Cette différenciation repose sur l'application de la coloration de Gram, une technique permettant de mettre en évidence les différences structurales de la paroi cellulaire des bactéries (Denis et al., 2007).

.Méthode

Préparation du frottis

- Déposer une goutte d'eau stérile sur une lame de microscope.
- Prélever une petite quantité de culture bactérienne et l'homogénéiser dans la goutte d'eau.
- Étaler la suspension en fine couche et laisser sécher à l'air libre.
- Fixer le frottis en passant brièvement la lame dans la flamme d'un bec Bunsen.

Coloration de Gram

- Application du violet de Gentiane : Recouvrir le frottis avec du violet de Gentiane pendant 1 minute.
- Rinçage : Laver délicatement à l'eau distillée.
- Fixation avec le lugol : Ajouter du lugol (mordant) et laisser agir 1 minute pour renforcer la fixation du colorant.
- Rinçage : Laver doucement à l'eau distillée.
- Décoloration : Appliquer de l'alcool pendant 10 à 30 secondes pour éliminer le violet de gentiane des bactéries à Gram négatif.
- Rinçage : Laver immédiatement à l'eau distillée pour stopper la décoloration.
- Contre-coloration avec la fuchsine : Ajouter de la fuchsine pendant 30 secondes à 1 minute pour colorer les bactéries Gram négatif.
- Rinçage final : Laver doucement à l'eau distillée et laisser sécher à l'air libre.

.Observation au microscope

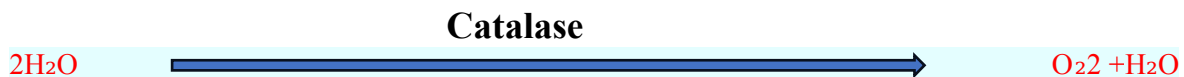
- Déposer une goutte d'huile à immersion sur le frottis.
- Examiner la préparation au microscope optique avec un objectif $\times 100$.

Interprétation :

- Bactéries à Gram positif : apparaissent en violet.
- Bactéries à Gram négatif : apparaissent en rose.

6. Identification biochimique**6.1. Test de catalase**

La catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives. Elle décompose l'eau oxygénée formée, en eau et en oxygène qui se Dégage. La réaction catalysée est la suivante :

**. Méthode**

- Déposer une goutte d'eau oxygénée (H_2O_2) sur une lame de microscope propre et sèche
- Prélever une colonie bactérienne avec une anse stérile.
- Mélanger doucement la culture avec l'eau oxygénée.
- Observer immédiatement la formation de bulles.

.Interprétation des résultats

- Test catalase positif : Formation immédiate de bulles (production d'oxygène), indiquant la présence de catalase.
- Test catalase négatif : Absence de bulles, indiquant que la bactérie ne produit pas de catalase.

6.2. Galeries biochimiques

Dans le cadre de cette étude, les galeries Analytical Profile Index pour *Staphylococcus*(API Staph)et API *Streptococcus*(API Strep)ont été utilisées pour l'identification biochimique des Cocci Gram positifs, en particulier les staphylocoques et les streptocoques. Le choix de ces tests a été orienté par les résultats préliminaires obtenus lors de l'examen microscopique. L'identification des espèces a été réalisée à l'aide du logiciel Api web.

6.2.1Galerie API Staph

La galerie API Staph est une méthode biochimique standardisée utilisée pour l'identification des bactéries du genre *Staphylococcus* et d'autres Cocci à Gram positif. Ce système repose sur 20 microtubes contenant des substrats déshydratés qui, après inoculation avec une suspension bactérienne, permettent la détection de diverses réactions métaboliques à travers des changements de couleur. Ces variations chromatiques peuvent être spontanées ou nécessiter l'ajout de réactifs spécifiques pour être révélées.

- 6.2.1.1.Préparation de la galerie

Assembler le fond et le couvercle d'une boîte d'incubation.

Ajouter de l'eau distillée dans les compartiments prévus pour garantir une atmosphère humide.

Introduire la galerie API Staph de manière stérile dans la boîte d'incubation.

- 6.2.1.2 Préparation de l'inoculum

Prélever une seule colonie d'un milieu gélosé.

La suspendre dans un tube contenant de l'eau distillée stérile afin d'obtenir une suspension bactérienne légèrement trouble.

- 6.2.1.3 Inoculation de la galerie

Distribuer la suspension bactérienne dans les 20 microtubes de la galerie.

Pour les tests ADH (Arginine Dihydrolase) et UREE (Uréase), créer des conditions anaérobies en recouvrant leur cupule avec de l'huile de paraffine.

Fermer hermétiquement la boîte d'incubation et la placer à 37 °C pendant 18 à 24 heures.

- 6.2.1.4 Lecture

Après incubation, les réactions sont interprétées en fonction des changements de couleur. Certains tests nécessitent l'ajout de réactifs pour révéler leur résultat (Voir annexe 3).

6.2.2 Galerie Api 20 Strep

Il s'agit d'un système normalisé intégrant 20 tests biochimiques, conçu pour diagnostiquer au niveau du groupe ou de l'espèce la majorité des streptocoques et entérocoques. Ce dispositif comprend 20 microtubes renfermant des substrats déshydratés, destinés à révéler soit des activités enzymatiques, soit la capacité de fermenter divers sucres. Pour les tests de fermentation, les microtubes sont inoculés avec un milieu enrichi contenant un indicateur de pH, ce qui permet de réhydrater les sucres et de visualiser rapidement les changements liés à la production d'acides.

- 6.2.2.1 Préparation de la galerie

Placez la galerie API dans une boîte d'incubation qui a été préalablement humidifiée. Pour humidifier la boîte, répartissez soigneusement de l'eau distillée dans les alvéoles prévues à cet effet. Cette humidification est essentielle pour assurer une reconstitution uniforme des substrats déshydratés dans chaque microtube, ce qui permet aux tests biochimiques de se dérouler correctement.

- 6.2.2.2 Inoculation

Prélevez une colonie isolée sur un milieu gélosé et préparez une suspension bactérienne dans de l'eau distillée stérile.

Ajustez cette suspension pour atteindre une turbidité équivalente à 0,5 McFarland, ce qui garantit une concentration bactérienne standardisée.

Remplissez soigneusement chaque microtube de la galerie avec cette suspension.

Pour certains tests nécessitant des conditions strictement anaérobies (notamment pour certains tests enzymatiques), recouvrez la cupule correspondante d'huile de paraffine afin de bloquer l'oxygène et favoriser la réaction attendue.

- 6.2.2.3 Incubation

Fermez hermétiquement la boîte d'incubation pour éviter toute contamination externe.

Placez la boîte dans un incubateur réglé à 37°C.

L'incubation dure généralement entre 18 et 24 heures.

Dans certains cas, une atmosphère enrichie en CO₂ est requise pour optimiser la croissance bactérienne et la manifestation des réactions biochimiques.

- 6.2.2.4 Lecture

Une fois l'incubation terminée, observez attentivement les microtubes pour identifier tout changement de couleur indiquant la réalisation d'une réaction.

Certains tests nécessitent l'ajout de réactifs pour révéler le résultat (Voir annexe 4).

7. Antibiogramme

Ce test permet de mettre en évidence la résistance des bactéries aux différents antibiotiques. C'est un test très important durant le diagnostic des infections et aussi durant les études épidémiologiques. L'antibiogramme des souches isolées a été effectué par la méthode de diffusion sur milieu gélosé Muller-Hinton à partir des disques d'antibiotiques selon les normes préconisées par le comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM, 2013)

7.1. Principe

Cette méthode consiste à mettre en contact une souche bactérienne avec plusieurs antibiotiques et d'observer leur effet sur la croissance bactérienne en fonction des zones d'inhibition.

7.2 Gélose Müller Hinton (MH)

La gélose MH est le milieu de référence pour tester la sensibilité des bactéries aux antibiotiques, il contient une forte concentration d'agar. Il peut être ajouté avec du sang pour réaliser un antibiogramme pour les microbes exigeants (Guezlan et al., 2008).

7.3. Préparation de l'inoculum

-Prélever quelque colonie bactérienne fraîche (18-24h de culture).

-Diluer dans du sérum physiologique ou du bouillon physiologique pour obtenir une turbidité de 0,5 McFarland.

7.4. Inoculation de la gélose

- Plonger un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- Strier uniformément la surface de la gélose en trois passages successifs pour assurer une répartition homogène.
- Laisser sécher la gélose 3 à 5 minutes à température ambiante avant d'ajouter les disques.

7.5. Disposition des disques d'antibiotiques

- Placer les disques imprégnés d'antibiotiques à équidistance avec une pince stérile ou un distributeur automatique.
- Appuyer légèrement pour assurer un bon contact avec la gélose.
- Respecter une distance minimale de 24 mm entre les centres des disques.

7.6. Incubation

- Placer les boîtes Pétri en étuve à 35-37°C pendant 16 à 24 heures.
- Les antibiotiques utilisés dans ce travail sont présentés dans le tableau 02

Tableau 2 : Liste des antibiotiques utilisés.

<i>Staphylococcus</i>	<i>Streptococcus</i>
Gentamicine (GN10)	Gentamicine (GN10)
Pénicilline (P10)	Pénicilline (P10)
Vancomycine (VA30)	Vancomycine (VA30)
Rifampicine (RD30)	
Chloramphénicol (C30)	

7.7. Lecture

Après incubation, on note les résultats (par la mesure de diamètre d'inhibition)

- Dans les cas où les diamètres obtenus sont supérieurs aux diamètres critiques, la Bactérie est déclarée sensible S.
- Dans les cas où les diamètres obtenus sont inférieurs aux diamètres critiques, la Souche est déclarée résistance R.
- Dans les cas où les diamètres obtenus sont égaux aux diamètres critiques, la bactérie est déclarée intermédiaire I.

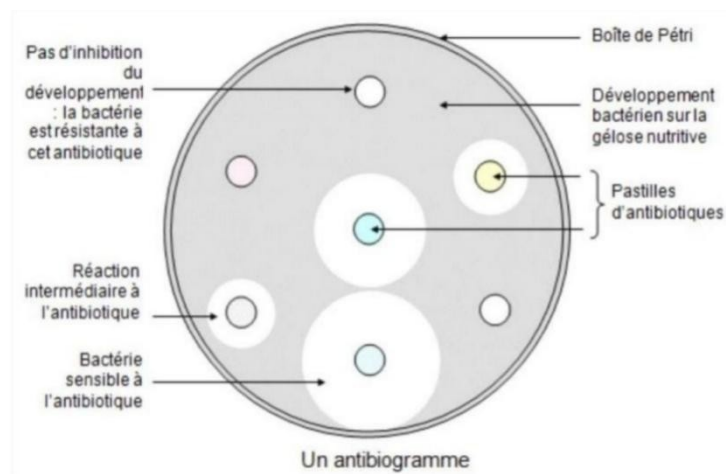


Figure 2 : Interprétation d'un antibiogramme.

Chapitre IV

Résultats et Discussion

1. Résultats de l'enrichissement

Après 24 heures d'incubation des échantillons, un trouble a été observé dans 17 tubes, suggérant une activité bactérienne. En revanche, 5 tubes étaient négatifs. Les résultats obtenus de l'enrichissement sont présentés dans la figure 03 et le tableau 03.

Tableau 03 : Résultats positifs et négatifs des prélèvements

Sites des prélèvements	Résultats
B1 . U1 . B2 . U2 . B3 . U3 . B4 . U4 . U5 . U6 . U7 . B8 . B10 . B12 . B13 . B14 . B15	+
B5 . B6 . B7 . B9 . B11	-



B: le bloc opératoire.

U: les urgences

Figure 3 : Résultats d'enrichissement sur le milieu BN (2025).

2. Résultats d'isolement et d'identification

2.1. Résultats de l'examen macroscopique

Après une incubation de 48 heures à 37 °C, l'examen macroscopique des colonies développées sur les milieux de culture a permis de mettre en évidence différentes caractéristiques morphologiques des colonies . Ces résultats sont présentés de manière synthétique dans le tableau 04, ainsi que dans les figures 04 à 06.

Tableau 04 : Caractéristiques morphologiques des colonies isolées.

Milieu de culture	Numéro des sites	Aspect macroscopique
Chapman	U2	Des petites colonies de forme arrondie d'une couleur blanchâtre opaques et transparentes avec une odeur désagréable Des petites colonies arrondies blanches Plates et bombées avec une odeur désagréable

	U3	Des petites colonies arrondies blanches bombées, opaques avec une texture lisse et une odeur désagréable
	U4	Des grandes colonies irrégulières de couleur blanchâtre bombées et opaques avec une odeur désagréable
	U6	Des petites colonies arrondies blanchâtres bombées et plates, transparentes d'une texture lisse et une odeur désagréable
	B1	-Des petites colonies arrondies blanchâtres bombées et opaques avec une odeur désagréable -Des grandes colonies irrégulières blanches bombées avec une odeur désagréable
	B3	-Des petites colonies arrondies roses bombées avec une texture lisse et une odeur désagréable -des grandes colonies irrégulières de couleur blanchâtre bombées et opaques avec une odeur désagréable
	B8	Des petites colonies arrondies blanches bombées transparentes avec une texture lisse et une odeur désagréable
	B10	Des petites colonies arrondies blanchâtres bombées, opaques avec une texture lisse et une odeur désagréable
	U5	.Des petites colonies arrondies transparentes bombées, opaques avec une texture lisse et une odeur désagréable. .Des grandes colonies blanches bombées opaques avec une texture lisse et une odeur désagréable.
	U7	.Des petites colonies arrondies blanches bombées, opaques avec une texture lisse et une odeur désagréable . Des colonies moyennes arrondies blanches bombées opaques avec une texture lisse et une odeur désagréable

	U1	. Des grandes colonies arrondies blanches bombées opaques avec une texture lisse et une odeur désagréable .Des petites colonies arrondies blanches plates opaques avec une texture lisse et une odeur désagréable .
	B2	Petites colonies arrondies blanches bombées opaques avec une texture lisse et une odeur désagréable
	B13	. grandes colonies arrondies blanches bombées opaques avec une texture lisse et une odeur désagréable . Petites colonies arrondies blanches bombées opaques avec une texture lisse et une odeur désagréable
	B14	Des colonies moyennes blanches bombées opaques avec une texture lisse et une odeur désagréable
	B15	Grandes colonies arrondies blanches bombées et plates opaques et transparentes avec une texture lisse et une odeur désagréable
	B4	.Des grandes colonies arrondies blanches bombées, opaques avec une texture crémeuse et une odeur désagréable. .des petites colonies arrondies blanches bombées opaques avec une texture lisse et une odeur désagréable
Mac Conkey	B8	Des petites colonies arrondies roses plates et bombées, transparentes avec une texture lisse et une odeur désagréable
Cétrimide	U4	Des grandes colonies blanchâtres et une forme irrégulière bombées et opaques avec une odeur désagréable

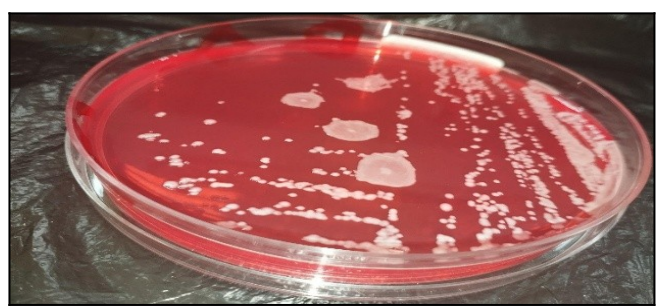


Figure 4 : Aspect macroscopique des colonies sur la gélose cétrimide (2025).

Figure 5 : Aspect macroscopique des colonies sur la gélose Chapman (2025).

Figure 6 : Aspect macroscopique des colonies sur La gélose Mac-Conkey (2025).

2.2 Résultats des examens microscopiques

2.2.1. État frais

L'observation directe des bactéries à l'état frais a permis d'identifier les caractéristiques présentées dans le tableau 05.

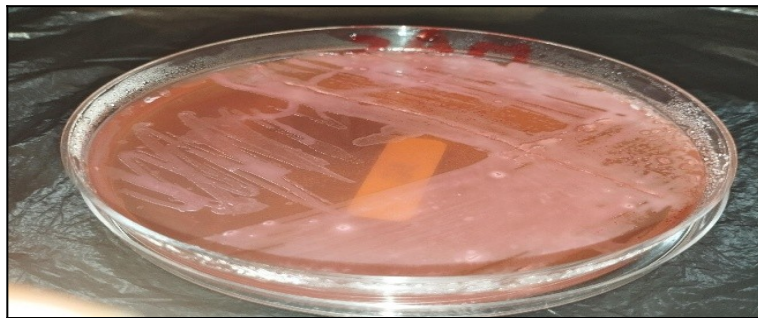


Tableau 05 Résultats microscopiques de l'état frais

Milieu de culture	Numéro des sites	Etat frais
Chapman	U2	Cocci en amas immobiles.
	U3	Cocci en amas immobiles.
	U4	Cocci en amas immobiles.
	U6	Cocci en chaînettes immobiles.
	B1	Cocci en amas immobiles.
	B3	Monocoque mobiles
	B8	Cocci en amas immobiles.
	B10	Cocci en amas immobiles.
	U5	Cocci en amas immobiles
	U7	.Cocci en amas immobiles .Cocci en chaînette immobiles
	U1	Cocci en amas immobiles
	B2	Cocci en amas immobiles
	B13	Cocci en amas immobiles.
	B14	Cocci en chaînette immobiles
	B15	Cocci en amas Immobiles.
	B4	Cocci en amas immobiles.
Mac Conkey	B8	Cocobacilles en amas immobiles.
Cétrimide	U4	Monococcobacilles Immobiles.

B: bloc

opératoire U:urgence

2.2.2 Coloration de Gram

Après la coloration de Gram, des cocobacilles Gram positifs, des Cocci Gram positifs et négatifs ont été observés. Les résultats de cette observation sont illustrés dans les figures (7,8 et 9).

Figure 7 : Cocci Gram positifs (2025)

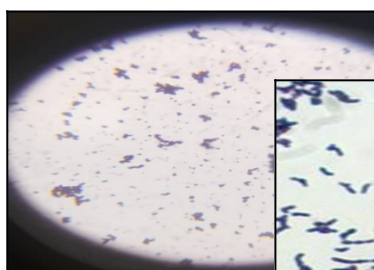


Figure 8 : Cocci Gram négatifs (2025)

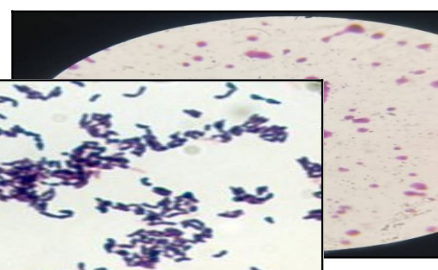
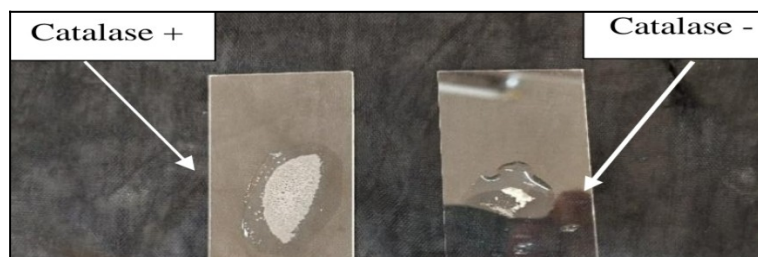


Figure 9 : Coccobacilles Gram positifs (2025)**3. Résultats d'identification biochimique****3.1 Test catalase**

Les résultats relatifs à l'activité catalasique des souches bactériennes isolées sont rapportés dans la figure (10) ainsi que dans le tableau 06.

**Figure 10 : Résultat du test catalase (2025).****Tableau 06 : Résultats obtenus du test catalase des bactéries isolées**

Sites des prélèvements	Résultats de Test catalase
U1 . B8 . U3 . B3 . B2 . B4 . B14 . B15 . B10 . B13	+
U4 . U6	-

U:urgence

B:bloc opératoire

4. Résultats des galeries biochimiques

Durant notre travail, plusieurs espèces bactériennes ont été identifiées à l'aide du logiciel API Web. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 07 ainsi que dans les figures 11 à 16.

Tableau 07 : Espèces bactériennes identifiées

Galerie Api utilisée	Sites de prélèvement	Espèce identifiée
Api20 Staph	B8 . U3 . B10 . U1 . B13	<i>Staphylococcus xylosus</i>
	B14 . B15	<i>Staphylococcus auricularis</i>
	B4	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
	B2	<i>Kocuria varians</i>
Api 20 Strep	U6	<i>Enterococcus faecium</i>
	U4	<i>Aerococcus viridans</i>

U:urgence

B:bloc opératoire



Figure 11 : Profil biochimique de l'espèce *Aerococcus viridans* (2025).



Figure 12 : Profil biochimique de l'espèce *Staphylococcus xyloso* (2025).

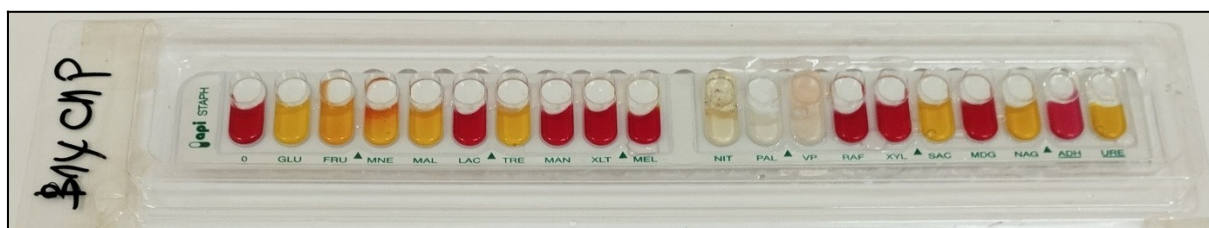


Figure 13 : Profil biochimique de l'espèce *Staphylococcus auricularis* (2025).

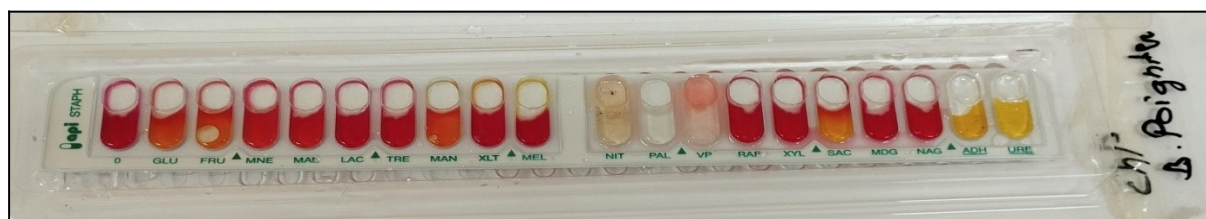


Figure 14 : Profil biochimique de l'espèce *Kocuria varians* (2025)



Figure 15 : Profil biochimique de l'espèce *Staphylococcus haemolyticus* (2025)



Figure 16 : Profil biochimique de l'espèce *Enterococcus faecium* (2025) .

5 . Résultats d'antibiogramme

Les résultats des profils de sensibilité aux antibiotiques des différentes espèces bactériennes isolées sont présentés dans le tableau 08 ainsi que dans les figures (17) à(22) .

Tableau 08 : Résultats de l'antibiogramme des différentes espèces bactériennes

Espèce bactérienne	VA30	C30	GN10	P10	RD30
<i>Aerococcus viridans</i>	S	/	S	R	/
<i>Staphylococcus auricularis</i>	I	/	S	/	/
<i>Staphylococcus xylosus</i>	R	S	I	R	I
<i>Enterococcus faecium</i>	S	S	I	R	/
<i>Kocuria varians</i>	S	S	S	R	/
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	I	/	S	R	I

S : sensible, I : Intermédiaire, R : Résistante, VA : Vancomycine, C : Chloramphenicol, GN : Gentamicine, P : Pénicilline, RD : Rifampicine

Figure 17 : Résultat d'antibiogramme



Figure 18 : Résultat d'antibiogramme



de *Staphylococcus xylosus* (2025).



Figure 19 : Résultat d'antibiogramme de *Staphylococcus haemolyticus* (2025).



Figure 21 : Résultat d'antibiogramme de *Kocuria varians* (2025).

d'*Enterococcus faecium* (2025)



Figure 20 : Résultat d'antibiogramme de *Staphylococcus auricularis* (2025)

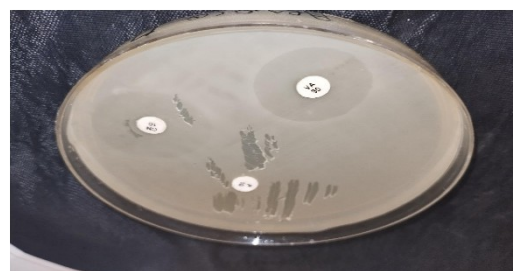


Figure 22 : Résultat d'antibiogramme d'*Aerococcus viridans* (2025)

Discussion

L'objectif de ce travail était l'isolement et l'identification des bactéries impliquées dans les infections nosocomiales, ainsi que l'évaluation de leur profil de résistance à une sélection d'antibiotiques. L'étude s'est appuyée sur l'analyse de 22 échantillons prélevés dans deux services à risque de l'EPH El Hakim OKBI, à Guelma : le service des urgences et le bloc opératoire.

Durant notre étude, nous avons pu identifier plusieurs espèces au niveau des différents sites choisis : *Staphylococcus xylosus* (main de l'infirmière, lavabo, drap et de l'électrode de l'appareil d'ECG, sol et masque d'oxygène), *Staphylococcus haemolyticus* (potence), *Staphylococcus auricularis* (champ opératoire et l'interrupteur de salle de la réanimation), *Kocuria varians* (poignée de bloc opératoire), *Aerococcus viridans* (poignée de la porte des urgences) , *Enterococcus faecium* (chariot de soin).

Bien que les espèces identifiées soient généralement considérées comme opportunistes, elles peuvent devenir pathogènes dans des conditions particulières, telles qu'une immunodépression, une hospitalisation prolongée ou l'utilisation de dispositifs médicaux invasifs (**Chen et al., 2022 ; Eltwisy et al., 2022**).

La majorité des espèces isolées au cours de cette étude (*Aerococcus viridans*, *Enterococcus faecium* , *Staphylococcus xylosus*) sont des germes responsables des infections urinaires , (**Wang et al., 2016 ; Mohan et al., 2017 ; Chen et al., 2022**), ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Fraser et al. et Amazian et al. en 2010**, qui ont montré que les infections urinaires sont les infections nosocomiales les plus courantes dans le milieu hospitalier.

La prévalence élevée de Staphylocoques à coagulase négative dans notre étude confirme les observations de **Chemsî et al. (2014)** qui rapportaient 36 % d'infections à *Staphylococcus* en Algérie, avec un taux encore plus élevé chez le personnel soignant. L'espèce la plus abondante, *Staphylococcus xylosus*, est désormais reconnu comme pathogène opportuniste : elle a été impliquée dans des septicémies néonatales, des infections de plaies post-opératoires ainsi que dans des infections cutanées et ostéo-articulaires (**Chen et al., 2022**). *Staphylococcus haemolyticus* est fréquemment associée à des pathologies graves telles que la méningite et la septicémie, notamment chez les patients immunodéprimés (**Eltwisy, 2022**).

Les résultats de l'antibiogramme des souches isolées révèlent que *Aerococcus viridans*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus haemolyticus* et *Kocuria varians* présentent une résistance acquise à la pénicilline.

L'espèce *Staphylococcus xylosus* a montré une multi-résistance préoccupante, en particulier à la pénicilline et à la vancomycine, soulignant ainsi son potentiel pathogène et sa capacité à persister dans l'environnement hospitalier malgré les mesures de désinfection, ces résultats sont en accord avec ceux cités dans les travaux de **Frizoni en 2002**. Cette multirésistance aux β -lactamines (pénicilline) et à la glycopeptide (vancomycine) est souvent

médiée par l'acquisition de gènes portés sur des éléments mobiles et par des modifications de ses protéines de la paroi cellulaire (**Quincampoix et Mainardi, 2001**).

Les résultats obtenus durant notre étude confirment que l'environnement hospitalier constitue un écosystème propice à la survie et à la dissémination de bactéries potentiellement pathogènes (**Debabza, 2015**). La diversité des espèces identifiées et leur répartition sur les différentes surfaces examinées suggèrent une contamination directe ou indirecte, en lien avec l'utilisation de matériel non stérilisé, la circulation du personnel et des visiteurs, et le non-respect des mesures de prévention (**Haouam et Boucheliga, 2020**).

Conclusion

Conclusion

Les infections hospitalières 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.

Il convient de rappeler que notre travail est basé sur l'identification des bactéries responsables des infections nosocomiales et d'étudier leur profil de la résistance, au niveau des deux services (bloc opératoire et les urgences) à l'hôpital El Hakim Okbi-Guelma.

Les résultats obtenus ont montré que les surfaces hospitalières sont contaminées par des germes tels que : *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus auricularis*, *Kocuria varians*, *Aerococcus viridans* et *Enterococcus faecium*. Ces espèces, déjà incriminées dans la littérature comme agents d'infections nosocomiales, ont fait l'objet d'un antibiogramme montrant une résistance à la pénicilline pour certaines espèces (*Aerococcus viridans* , *Enterococcus faecium* , *Kocuria varians* et *Staphylococcus haemolyticus*) et un profil de multirésistance à la fois à la pénicilline et à la vancomycine pour *Staphylococcus xylosus*. Ces résultats suggèrent que les services étudiés de l'établissement constituent des zones à haut risque d'infection.

Cette étude met en exergue la nécessité impérieuse de renforcer les mesures de prévention, notamment par l'application rigoureuse des protocoles d'hygiène lors des soins, afin de limiter la dissémination des germes dans l'environnement hospitalier. L'investigation microbiologique constitue un outil fondamental pour la détection et la surveillance des agents infectieux. Par ailleurs, la mise en œuvre de programmes de lutte ciblée contre les BMR s'impose comme une priorité stratégique pour maîtriser les infections nosocomiales.

D'une manière générale, nous pensons que ce modeste travail doit être complété par d'autres études plus approfondies telles, l'utilisation des outils moléculaires et génétiques, réaction de polymérisation en chaîne (PCR), afin de mieux caractériser les agents isolés et d'élucider les mécanismes responsables de leur résistance aux antibiotiques.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

A

- Albrecht A., (2015). Les infections nosocomiales d'origine bactérienne, ce que doit savoir le pharmacien d'officine. Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université de Lorraine-France, 127 p.
- Amazian K., Rossello J., Castella A., Sekkat S, Terzaki S., Dhidah L., Abdelmoumène T., FabryJ. (2010). Prévalence des infections nosocomiales dans 27 hôpitaux de la région méditerranéenne. Eastern Mediterranean Health Journal, vol 16, N10, 1070 P
- Amouso G. (2009). Incidence des infections associées aux soins dans le service de réanimation et de soins intensifs au CHU de Point G - Bamako. Thèse de doctorat en médecine, Université de Bamako, Mali.
- Archambaud M. Les Antibiotiques : mode d'action et mécanisme de résistance. Laboratoire de Bactériologie-Hygiène. CHU Rangueil–Toulouse. 2009.38p.

B

- Barbut F . (2016). Organisation de la lutte contre les infections nosocomiales. Elsevier SAS, 90-65-0155.
- Bouleghmane A. (2006). Evaluation des pratiques d'hygiène hospitalière à l'hôpital Sekkat de la préfecture d'arrondissement Casa Ain Chock.80p

C

- Carle S. (2009). La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important ! Pharmactuel, vol 42, N02. 07 p.
- CA-SFM. 2013.Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.
- Cattoir, V., Denis, F., Martin, C., Ploy, M.-C., & Poyart, C. (2016). *Bactériologie médicale : techniques usuelles*. Paris: Elsevier Health Sciences.
- Chems H., Moutaouakkil Y., Chadli M., Sekhsokh Y., (2014). Dépistage du portage nasal du *Staphylococcus aureus* lors de l'admission des patients à l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V. Journal Marocain des Sciences Médicales. 19 : 20-25.
- CHEN M., Li Y., Li Shu, Cui W., zhen. Y ; Qu.Q ; che. R ; Li.L ; Yuan, Sh ; Liu.X. (2022). Molecular Mechanism of *Staphylococcus xylosus* Resistance Against Tylosin and Florfenicol. Infection and Drug Resistance.
- Courvalin P., 2008. Prévalence et profil de résistance des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) à Abidjan Côte d'Ivoire de 2005 à 2006. Edition: EDUCI, 2008.219p.

D

- Debabza M. (2015). Emergence en milieu hospitalier des bacilles Gram négatifs multirésistants aux ATB s : étude bactériologique et moléculaire.These de Doctoraten Microbiologie. Université Badji Mokhtar-Annaba, 169 p.
- Denis F., Ploy M-C., Martin C., et al. 2007. Bactériologie médicale. 2èmeEdition.Ellipses. Paris, 573p.
- Duce G., Fabry J., Nicolle L. (2002). World Health Organization: Prevention of hospital-acquired infections. A practical guide (2nd ed).

E

- EL ABDANI S. (2016). Evolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques et conseils en antibiothérapie Thèse de doctorat, Université MOHAMMED V RABAT, 192 p.
- Eltwisy H.O. ; Twisy H.O., Hafez, M.H.R. ; Sayed, I.M. ;El-Mokhtar, M.A.(2022). Clinical Infections,Antibiotic Resistance, and Pathogenesis of *Staphylococcus haemolyticus*. Microorganisms1130.

G

- Gadiaga F. (2022). Etude relative aux infections nosocomiales et à la responsabilité des établissements de santé : les cas de la France et du Mali, thèse de doctorat, Université Normandie, 373p.
- GARNER J.S., JARVISWR, EMORITG. (1988). CDC definitions of nosocomial Infections. Am J Infect Control 1988 ; 16 : 128-140.
- Guezlane T.N., Kahlouche B., Athmani G.S. (2008). Microbiologie. Edn 1, Office Des publications universitaires, Alger, 100p.
- Guillaume, P.Y. (2004). Les milieux de cultures
- Gutmann L., Lortholary O. (2010). Coexister avec la résistance aux antibiotiques : une réalité internationale en 2010. Médecine/sciences, 26(11), 895–896.

I

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

J

- Joffin J.N and Leyral G.,2006. Microbiologie Technique. Tome 1,Dictionnaire des techniques. Académie de bordeaux et CRDP d'Aquitaine,France.
- Joseph P.G.(2003). Microbiologie alimentaire, 3émeédition, paris, 678p

K

- Kassogue A. (2021). Profil clinique et microbiologique des infections associées aux soins en Réanimation au CHU Point G, thèse de doctorat, Université des sciences des techniques et des technologies de BAMAKO, 170p.
- KAYSER F, BÖTTGER C, DEPLAZES P, HALLER O., ROERS A. (2008). Manuel de poche de microbiologie médicale. Sciences Flammarion, Paris. Ed 11^e. 66 P.
- Kernane S , Khanouche M . (2003). Contribution à l'étude du dispositif algérien de la lutte contre les infections nosocomiales : Cas des C.H.U de Bejaia de Tizi-Ouzou. Mémoire de Master, Université Abderrahmane Mira de Bejaia-Algérie. 127 P.
- Khiev, & Veber. (2010). *Patient BMR+ : risques de contamination et prévention en pré-hospitalier et aux urgences*. Service des urgences, CHU Charles-Nicolle.

L

- Lachassinne E., Letamendia-Richard E., Gaudelus J. (2004). Épidémiologie des infections nosocomiales en néonatalogie. Archives de Pédiatrie, 11(3), 229–233.

M

- Medhi S. (2008). La fréquence des bactéries multi-résistantes à l'hôpital Hassan II de Settat. Thèse pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie. RABAT : Université MOHAMMED V Faculté de Médecine et de Pharmacie. 51p
- Mohan B . , Zaman K . , Anand N . , Taneja N . (2017) . *Aerococcus Viridans* : A Rare Pathogen Causing Urinary Tract Infection . Microbiology section , DOI : 10.7860 , 2p
- Monnet T. (2011). Les infections nosocomiales : l'importance d'un suivi épidémiologique et de l'identification rapide des bactéries en cause : exemple de quelques techniques de diagnostic permettant cette identification précoce. Thèse de doctorat, Université Joseph Fourier-France, 93 p.
- Muylaert A., Mainil J. (2012). Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité ». Service de Bactériologie, Département des Maladies infectieuses et parasitaires, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège.

N

- Nauciel C. , Vildé J. (2005). Bactériologie médicale 2ème édition. Masson, p : 83-85.

O

- Organisation Mondiale de la Santé. (2022). L'OMS publie le tout premier rapport mondial sur la lutte anti-infectieuse. Communiqué de Presse.

P

- Prescott W . , Sherwood W.(1993). Prescott's Microbiology. huitième édition ; 113-114.

Q

- Quincampoix J . C . et Mainardi J. L. (2001) .Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif. Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS. 10 : 267-75

S

- Saidoune, A. (2020). Surveillance des infections nosocomiales en pédiatrie au CHU Béni Messous d'Alger. Faculté de médecine d'Alger.86p
- Samou, F., 2005. Les infections nosocomiales dans le service de chirurgie de L'hôpital.Thèse de doctorat, option :Médecine.Université du Mali. 106p.

W

- Wang S . , Guo Y . , Lv G . , Qi X . , Li D . , Chen Z . , Zhang X . , Wang L . , Yu F . (2016) . Characteristic of *Enterococcus faecium* clinical isolates with quinupristin/dalfopristin resistance in China . BMC Microbiology. DOI 10.1186. 5p.

- **Site web**

[1] : <https://www.bd.com/fr-fr>, Consulté le :04/03/2025.

Annexes

Annexe 1

Matériel utilisé

Le matériel utilisé au laboratoire est le suivant :

• Appareillages :

- Autoclave
- Etuves A 37°C
- Réfrigérateur
- Microscope optique

• Verrerie :

- Lames et Lamelles
- Pipettes Pasteurs
- Tubes à essai stériles

• Autres matériel :

- Ecouvillons Stériles
- Anse de platine
- Bec Bunsen
- Boîte Pétri
- Micropipette
- Système Api 20 (Api Staph et Api Strep)

Annexe2

Milieux de culture

1. Gélose au cétrimide

Peptone	20g
Chlorure de sodium	3.0g
Sulfate de potassium	10g
Monohydrogénophosphate de potassium	0.3g
Cétrimide (bromure de tétradonium	0.2g
Acide nalidixique	0.015g
Agar-agar	12g
L'eau distillée g/ litre	

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

2. Chapman

Peptone 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 Mueller-Hinton

Infusion de viande de bœuf	3.0g
Peptone de caséine	17.0g
Amidon de maïs	1.5g
Agar-agar	17.0g
L'eau distillée g/ litre	

pH= 6.7/ autoclavage 20 min à 120°C.

4. Gélose nutritive

Peptone pepsique de viande	5
Extrait de viande	1
Extrait de levure	2
Chlorure de sodium	.5
Agar-agar	15
L'eau distillée g/ litre	

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

5. Bouillon Nutritif (BN)

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

Annexe 3

Tableau 01 : Lecture des résultats de la galerie API Staph

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS / ENZYMES	RESULTAT	
				NEGATIF	POSITIF
0	Aucun		Témoin négatif	rouge	—
GLU	D-glucose	1,56	(Témoin positif) (D-GLUcose)	rouge *	jaune
FRU	D-fructose	1,4	acidification (D-FRUctose)		
MNE	D-mannose	1,4	acidification (D-ManNosE)		
MAL	D-maltose	1,4	acidification (MALtose)		
LAC	D-lactose (origine bovine)	1,4	acidification (LACtose)		
TRE	D-tréhalose	1,32	acidification (D-TREhalose)		
MAN	D-mannitol	1,36	acidification (D-MANnitol)		
XLT	xylitol	1,4	acidification (XyLiTol)		
MEL	D-mélibiose	1,32	acidification (D-MELibiose)		
<u>NIT 1 + NIT 2 / 10 min</u>					
NIT	nitrate de potassium	0,08	Réduction des NITrates en nitrites	incolore-rose pâle	rouge
<u>ZYMA + ZYMB / 10 min</u>					
PAL	β-naphtyl phosphate	0,0244	Phosphatase ALcaline	jaune	violet
<u>VP 1 + VP 2 / 10 min</u>					
VP	sodium pyruvate	1,904	production d'acétyl méthyl-carbinol (Voges Proskauer)	incolore-rose pâle	violet-rose
RAF	D-raffinose	1,56	acidification (RAFfinose)	rouge	jaune
XYL	D-xylose	1,4	acidification (XYLose)		
SAC	D-saccharose	1,32	acidification (SACcharose)		
MDG	méthyl-αD-glucopyranoside	1,28	acidification (Méthyl-αD-Glucopyranoside)		
NAG	N-acétyl-glucosamine	1,28	acidification (N-Acétyl-Glucosamine)		
<u>ADH</u>	L-arginine	1,904	Arginine DiHydrolase	jaune	orange-rouge
<u>URE</u>	urée	0,76	UREase	jaune	rouge-violet

Annexe 4

Tableau 02 : Lecture des résultats de la galerie API Strep

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS			
				NEGATIF		POSITIF	
VP	sodium pyruvate	1,9	production d'acétoïne (Voges Proskauer)	VP 1 + VP 2 / jusqu'à 10 min (3)			
				Incolore		Rose-Rouge	
HIP	acide hippurique	0,4	hydrolyse (acide HIPpurique)	NIN / jusqu'à 10 min			
				Incolore/Bleu pâle Gris-bleuté		Bleu foncé/Violet	
ESC	esculine citrate de fer	1,16 0,152	hydrolyse β -glucosidase (ESCuline)	4 h	24 h	4 h	24 h
				Incolore Jaune pâle	Incolore Jaune pâle Gris clair	Noir Gris	Noir
PYRA	acide pyroglutamique- β -naphthylamide	0,0256	PYRrolidonyl Arylamidase	ZYMA + ZYM B / 10 min (PYRA à LAP) (1) au besoin décoloré par éclaircissement intense			
				Incolore ou Orange très pâle		Orange	
α GAL	6-bromo-2-naphtyl- α -D- galactopyranoside	0,0376	α -GALactosidase	Incolore		Violet	
β GUR	acide naphтол-ASBI- glucuronique	0,0537	β -GUcRonidase	Incolore		Bleu	
β GAL	2-naphtyl- β -D- galactopyranoside	0,0306	β -GALactosidase	Incolore ou Violet très pâle		Violet	
PAL	2-naphtyl phosphate	0,0244	Phosphatase ALcaline	Incolore ou Violet très pâle		Violet	
LAP	L-leucine- β -naphthylamide	0,0256	Leucine AminoPeptidase	Incolore		Orange	
ADH	L-arginine	1,9	Arginine DiHydrolase	Jaune		Rouge	
				4 h	24 h	4 h	24 h
<u>RIB</u>	D-ribose	1,4	acidification (RiBose)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
<u>ARA</u>	L-arabinose	1,4	acidification (ARABinose)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
<u>MAN</u>	D-mannitol	1,36	acidification (MANnitol)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
<u>SOR</u>	D-sorbitol	1,36	acidification (SORbitol)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
<u>LAC</u>	D-lactose (origine bovine)	1,4	acidification (LACtose)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
<u>TRE</u>	D-tréhalose	1,32	acidification (TREhalose)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
<u>INU</u>	inuline	5,12	acidification (INUline)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
<u>RAF</u>	D-raffinose	3,12	acidification (RAFfinose)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
<u>AMD</u>	amidon (2)	2,56	acidification (AMIDon)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
<u>GLYG</u>	glycogène	1,28	acidification (GLYcoGène)	Rouge ou Orange		Jaune franc	

Résumé

Ce travail a été réalisé dans le but d'isoler et d'identifier les bactéries présentes dans 22 échantillons prélevés au sein de deux services (les urgences et le bloc opératoire) de l'Établissement Public Hospitalier El Hakim OKBI à Guelma. L'identification bactérienne a été effectuée selon les critères bactériologiques classiques, et la sensibilité aux antibiotiques a été évaluée à l'aide de la méthode de diffusion sur gélose (antibiogramme).

Les résultats ont révélé la présence de plusieurs espèces bactériennes potentiellement impliquées dans des infections nosocomiales, notamment *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus auricularis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Kocuria varians*, *Enterococcus faecium* et *Aerococcus viridans*. L'étude de leur profil de résistance aux antibiotiques a mis en évidence une résistance marquée à la pénicilline chez la majorité des espèces isolées. En particulier, *Staphylococcus xylosus* a montré une multirésistance vis-à-vis la pénicilline et la vancomycine, soulignant ainsi la problématique croissante de la résistance bactérienne en milieu hospitalier.

Mots clés: Infections nosocomiales, Hôpital, Bactéries, Antibiotiques, Résistance bactérienne.

Abstract

This study aimed to isolate and identify bacteria from 22 samples collected from two hospital departments (the emergency unit and the operating room) at the Public Hospital Establishment El Hakim OKBI in the city of Guelma. Bacterial identification was carried out using standard bacteriological methods, and antibiotic susceptibility was evaluated through the agar medium diffusion method (antibiogram).

The results revealed the presence of several bacterial species potentially responsible for nosocomial infections, including *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus auricularis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Kocuria varians*, *Enterococcus faecium*, and *Aerococcus viridans*. The study of their antibiotic resistance profile revealed a marked resistance to penicillin in the majority of the isolated species. In particular, *Staphylococcus xylosus* exhibited multidrug resistance to both penicillin and vancomycin, highlighting the growing concern of bacterial resistance in hospital settings.

Keywords: Hospital-acquired infection, Hospital, Bacteria, Antibiotics, Bacterial resistance.

الملخص

تم إنجاز هذا العمل بهدف عزل وتحديد البكتيريا الموجودة في 22 عينة تم جمعها من خدمتين داخل المؤسسة العمومية الاستشفائية الحاكم عقبي قالمية، وهما مصلحة الاستعجالات ومصلحة قاعة العمليات. تم تحديد البكتيريا استنادًا إلى المعايير البكتيريولوجية الكلاسيكية، وتم تقييم حساسيتها تجاه المضادات الحيوية باستخدام طريقة الانتشار على الوسط الصلب (الأنتيبوغرام). كشفت النتائج عن وجود عدة أنواع بكتيرية يُحتمل أن تكون مرتبطة بالعدوى المرتبطة بالرعاية الصحية (العدوى الاستشفائية)، ومن بينها: *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus auricularis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Kocuria varians*, *Enterococcus faecium* و *Aerococcus viridans*. وقد أظهرت دراسة نمط مقاومتها للمضادات الحيوية وجود مقاومة ملحوظة تجاه pénicilline لدى معظم الأنواع المعزولة. وعلى وجه الخصوص، أظهر *Staphylococcus xylosus* مقاومة متعددة تجاه كل من pénicilline و vancomycine، مما يبرز الإشكالية المتزايدة لمقاومة البكتيريا في الوسط الاستشفائي.

الكلمات المفتاحية: العدوى الاستشفائية، مستشفى، بكتيريا، مضادات حيوية، مقاومة بكتيرية.