

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث 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 :** Biologie Moléculaire et Cellulaire  
**Département :** Biologie

### THEME

#### Infections Nosocomiales

(Isolement des bactéries en milieu hospitalier et évaluation de leur résistance aux antibiotiques)

• Réalisé par :

- BOUATI Ikram
- MAKHLOUF Nesrine
- ZERARI Hasna

• Devant le jury composé de :

Présidente :	Mme BOUMAZA A.	M.C.B	Université de Guelma
Examinatrice :	Mme MERABET R.	M.A.A	Université de Guelma
Encadreur :	Mme TABET M.	M.C.B	Université de Guelma

Juillet 2021

## **Remerciements**

*Avant tout nous remercions "Allah" tout puissant qui nous a donné le courage, la volonté et la force pour accomplir ce travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.*

*Nous tenons à adresser nos plus vifs remerciements à notre encadreur **Mme. TABET Mouna** qui nous a donné l'opportunité de réaliser ce travail, pour le partage des savoirs de la connaissance avec nous, pour la patience et la confiance, pour sa disponibilité et de sa contribution aide durant la réalisation de ce travail.*

*Nous tenons à adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui ont accepté de juger ce travail.*

***Mme BOUMAZA A.** qui nous a fait l'honneur de présider le jury et **Mme MERABET R.** pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nous tenons à remercier le personnel de l'Hôpital **El Hakim Okbi** de la ville de Guelma pour leur accueil qui nous a facilité l'acquisition des données nécessaires pour la réalisation de ce travail.*

*Nous remercions vivement les techniciennes de laboratoire de Bactériologie : **Mme : Hassiba, Houda, Louiza;** et l'ingénieur de laboratoire **Mme Asma.** A la fin nous remercions tous nos collègues d'études particulièrement notre promotion.*

*A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail dans cette année exceptionnelle pour nous tous.*

## **Dédicace**



*Je dédie ce mémoire*

*A ma mère **Samia** mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celle qui a toujours sacrifié tout pour me voir réussir.*

*A mon père **Rachid** la lumière de mes jours, la source de mes efforts mon bonheur, merci pour tous ce que tu m'as appris ; tes conseils, tes leçons qui resteront un héritage précieux pour le reste de ma vie*

*A mes adorables sœurs **IMAN** et **AYA** pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral*

*A mon cher frère **AYMEN** pour son appui et ses encouragements.*

*A ma chère nièce **ILINE**.*

*A ma grande mère **ZBIDA**. Merci pour tout ce que vous m'avez apporté, vous avez une place très importante dans ma vie.*

*A toute ma famille et mes très chères tantes et mes très chers oncles. A mes très chères cousines et cousins.*

*A mes Trinôme **Nesrine** et **Hasna** que je remercie pour le courage qu'elles m'ont donné et pour tous les moments que nous avez passés ensemble.*

*A mes merveilleuse collègues et amies : **Ghada, Zahra et Raouia**.*

*A la promotion de Master II spécialité BMC 2020-2021.*

***Ikram***

## **Dédicace**



*Je dédie ce mémoire*

*A Mon très cher Père **Mohamed Salah***

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour et le respect que j'ai toujours pour vous. A l'homme qui m'a aidé à comprendre la vie et devenir plus forte merci pour tout ce que tu m'as appris ; tes conseils, tes leçons qui resteront un héritage précieux pour le reste de ma vie.*

*A mon grand amour maman **Soraya***

*L'ange qui me protège depuis toujours, à ma source de tendresse de soutien et de sacrifices, à la femme qui ne cesse de me combler d'amour, tu étais toujours mon secret de bonheur et la raison pour laquelle je survive ; à toi la plus belle MAMAN*

*A mes chers frères **Mohamed et Youssef***

*A mes Très Chères Sœurs **Noure et Imen** et sa belle-fille **Assil**.*

*Merci pour votre soutien et vos encouragements tout au long de mes études.*

*A ma grand mère **Rachida***

*Merci pour tout ce que vous m'avez apporté, vous avez une place très importante dans ma vie*

*Aussi, à toute ma famille et mes très chères tantes et mes très chers oncles,*

*A mes très chers cousins surtout **Tayba**.*

*A mes trinômes **Ikram et Hasna** que je remercie pour le courage qu'elles m'ont donné et tous les moments que nous avons passé ensemble.*

*A mes merveilleuse collègues et amies : **Ghada, Zahra et Raouia**.*

*A la promotion de master II spécialité BMC 2020-2021*

**Nesrine**

## **Dédicace**



*Je dédie ce mémoire*

*À mon défunt **Père**, Puisse-t-il repose en paix*

*Je tiens à remercier ma mère **Atika**, le symbole de la tendresse, du courage de la responsabilité et de l'amour. Le souci de l'excellence, de la persévérance et de la rigueur. Et ses prières pour moi, sa bénédiction, sa patience et ses sacrifices. Que Dieu te garde, te comble de santé, et te donne longue vie.*

*A mes très chères sœurs: **Hayate** et **Ahleme**.*

*A mes très chers frères **Adel**, **Miloud**, **Ammar**, **soufiane** et **Rafik**.*

*A mon mari **Abdelkader** qui ma toujours encouragé et qui a été compréhensif et patient. Sans qui je n'aurai pas pu surmonter cette délicate épreuve.*

*A ma grande mère **Namecha**. Merci pour tout ce que vous m'avez apporté,*

*D'où votre importance dans ma vie.*

*Aussi à toute ma famille dont mes très chères tantes et mes très chers oncles.*

*A mes très chères cousine et cousins.*

*A mes trinômes **Ikram** et **Nesrine**. Que Je remercie pour le courage et la volonté qu'elles m'ont donnée et pour tous les moments que nous avons passés ensemble.*

*A mes très chères amies: **Mayssa**, **Nesrine**, **Ghada**, **Zahra** et **Raouia***

*A la promotion de Master II spécialité BMC 2020-2021*

**Hasna**

## Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction ..... 1

### Partie Bibliographique

#### Chapitre I: Les Infections nosocomiales

1. Définition .....	3
2. Epidémiologie .....	3
3. Les différents types des infections nosocomiales .....	4
3.1 Infection nosocomiale Urinaires .....	4
3.2 Infection nosocomiale Pulmonaires (PN) .....	5
3.3 Infection nosocomiale du site opératoire (ISO) .....	5
3.4 Bactériémies / septicémies .....	5
3.5 Autres types des infections nosocomiales .....	6
4. Modes de transmission .....	7
4.1 Les origines de transmission .....	7
4.2 Les types de transmission .....	8
4.2.1. Auto-infection .....	8
4.2.2 Hétéro-infection .....	8
4.2.3 Xéno- infection.....	8
4.2.4 Exo- infection.....	8
5. Les agents responsables aux infections nosocomiales .....	9
5.1. Bactéries.....	9
5.2. Virus.....	9
5.3. Parasites .....	10
5.4. Champignons .....	10
6. Les facteurs favorisant les infections nosocomiales .....	10
6.1 Le patient lui-même .....	10
6.2. L'environnement.....	10

7. La lutte contre les infections nosocomiales.....	11
---	----

## **Chapitre II: La Résistance Bactérienne**

1. Définition .....	15
2. Les types de la résistance bactérienne.....	15
2.1. Résistance naturelle ou intrinsèque.....	15
2.2. La résistance acquise.....	16
2.3. Résistance croisée .....	16
2.4. Co-résistance.....	16
3. Les bactéries multi-résistantes (BMR).....	17
4. Facteur de développement de la résistance bactérienne.....	18
5. Mécanismes de la résistance aux antibiotiques .....	18
5.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique.....	19
5.2. Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique .....	19
5.3. Pompes à efflux .....	20
5.4. Perméabilité réduite .....	21
6. Lutte contre la résistance bactérienne .....	21

### **Partie Expérimentale**

## **Chapitre III: Matériel et Méthodes**

1. Cadre d'étude .....	23
2. Prélèvement.....	23
2.1. Prélèvement à partir des surfaces sèches .....	23
2.2. Prélèvement à partir des surfaces humides: .....	23
3. Enrichissement .....	24
4. Isolement et purification.....	24
4.1. Technique d'isolement .....	24
4.2. Les Milieux Gélosés Utilisés .....	24
5. Méthodes d'ensemencement sur gélose.....	26
5.1. Ensemencement en Stries .....	26
5.2. Ensemencement en Quadrants .....	26
6. La Purification et l'identification.....	26

6.1. La purification.....	26
6.2. Identification Macroscopique .....	26
6.3. Identification Microscopique .....	27
7. Examen à l'état frais .....	27
8. Coloration de Gram.....	28
9. Test de Catalase.....	28
10. Test oxydase .....	29
11. Test coagulase.....	29
12. Les Galeries biochimiques.....	30
12.1. API 20 E.....	30
12.2 API 20 NE.....	31
12.3 API 20 STREP .....	31
13. Antibiogramme .....	32

## Chapitre IV: Résultats et Discussion

1. Résultats d'isolement.....	35
1.1 Examen macroscopique .....	35
1.2 Examen microscopique.....	38
1.2.1 Etat frais .....	38
1.2.2 Coloration de Gram.....	39
1.3 Résultats des tests biochimiques.....	40
1.3.1 Test de catalase et d'oxydase .....	40
1.3.2 Test coagulase .....	40
1.4 Résultat d'identification biochimique .....	41
1.5 Antibiogramme .....	43
2. Discussion.....	45
<b>Conclusion</b> .....	47
<b>Références Bibliographiques</b> .....	48

**Annexes**

**Résumé**

**Abstract**

**ملخص**



## Liste des abréviations

**ATB** : Antibiotique

**BLSE** :  $\beta$ -Lactamases à Spectre Etendu

**BMR** : Bactérie Multi-Résistante

**CA-SFM**: Comité de L'antibiogramme -Société française de Microbiologie

**CHU** : Centre Hospitalier Universitaire

**CLIN** : Comité de lutte contre les infections nosocomiales

**CMB** : Concentration Minimale Bactéricide

**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice

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

**EOH** : Equipe Opérationnelle d'Hygiène

**ERG** : Entérocoques Résistants aux Glycopeptides

**ERV** : Entérocoques Résistants à la Vancomycine

**IU** : Infection Urinaire

**ISO** : Infection de Site Opératoire

**OMS** : L'Organisation Mondiale de la Santé

**ORL** : Oto-Rhino-Laryngologie

**PCR** : Polymerase Chain Reaction

**PLP** : Protéines de Liaison aux Pénicillines

**PN** : Infections Pulmonaires

**SARM** : *Staphylococcus Aureus* Résistant à la Méricilline

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

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Les différents types d'infection nosocomiale .....	6
<b>Figure 2:</b> Transmission des agents infectieux .....	7
<b>Figure 3:</b> Phénomène de co-résistance bactérienne.....	17
<b>Figure 4:</b> Les mécanismes de la résistance aux ATB's.....	19
<b>Figure 5:</b> mécanisme de Camouflage de bactérie résistante.....	20
<b>Figure 6:</b> Les différentes formes observées des bactéries isolées .....	39
<b>Figure 7:</b> Résultat de test catalase .....	40
<b>Figure 8:</b> Résultat de test oxydase .....	40
<b>Figure 9:</b> Résultat négatif de test coagulase .....	41
<b>Figure 10:</b> Galerie API 20 E de <i>Aerococcus viridans</i> .....	42
<b>Figure 11:</b> Galerie API 20 NE de <i>Pseudomonas putida</i> .....	42
<b>Figure 12:</b> Galerie API STREP de <i>Streptococcus constellatus</i> .....	42
<b>Figure 13:</b> l'antibiogramme de <i>Pseudomonas putida</i> .....	44
<b>Figure 14:</b> l'antibiogramme d' <i>Aerococcus viridans</i> .....	44
<b>Figure 15:</b> l'antibiogramme d' <i>Aerococcus urinae</i> .....	44
<b>Figure 16:</b> l'antibiogramme de <i>Streptococcus costellatus</i> .....	44

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Les services et les sites de prélèvement. ....	24
<b>Tableau 2:</b> Guide de lecture macroscopique .....	27
<b>Tableau 3:</b> Les antibiotiques utilisés. ....	33
<b>Tableau 4:</b> Les caractères cultureux des souches. ....	35
<b>Tableau 5:</b> Résultat de l'examen microscopique à l'état frais. ....	39
<b>Tableau 6:</b> Les différent espèces bactériennes identifier. ....	41
<b>Tableau 7:</b> Résultats de l'antibiogramme. ....	43

# Introduction

## **Introduction**

Les infections nosocomiales ou « infections hospitalières » sont définies par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme des infections acquises pendant un séjour à l'hôpital, est communément accepté pour distinguer une infection d'acquisition nosocomiale d'une infection communautaire **(OMS, 2016)**.

Les infections nosocomiales représentent un problème de santé publique universel. Mais la lutte contre ces infections est bien organisée dans les pays développés. Elle l'est beaucoup moins dans les pays de faible niveau socio-économique qui souffrent, pour la majorité, d'une absence de réglementation et du manque de données représentatives de surveillance **(Amazian, 2010)**.

Une étude sur la prévalence des infections nosocomiales menée sous l'égide de l'OMS dans 55 hôpitaux de 14 pays dans 4 des six régions (Asie de sud Est, Europe, méditerranée orientale et pacifique occidentale) a révélé qu'en moyenne 8,7% des patients hospitalisés avaient acquis une infection nosocomiale. Une autre étude a montré qu'à tout moment, plus de 1,4 million de personnes dans le monde souffrent de complications infectieuses acquises à l'hôpital **(OMS, 2017)**.

De plus, l'apparition et la dissémination rapide des résistances bactériennes aux antibiotiques dans les établissements de santé sont l'un des problèmes de santé publique les plus inquiétants de ces dernières années **(Dali, 2015)**.

A cet effet, la mise en place d'un système de surveillance des infections nosocomiales aux bactéries multi-résistantes (BMR), apparait comme une priorité absolue ; il permettra d'apprécier l'impact des mesures de prévention prises sur la fréquence de ces infections **(Dali, 2015)**.

La présente étude a pour but d'isoler et d'identifier des bactéries responsables des infections nosocomiales, dans un environnement hospitalier bien choisi « l'hôpital El Hakim Okbi » de Guelma et d'étudier la sensibilité des bactéries isolées aux différents antibiotiques choisis.

Ce travail comporte deux parties principales:

- I. La partie bibliographique avec deux chapitres qui traitent les infections nosocomiales et la résistance bactérienne.
- II. la partie expérimentale avec deux chapitres:
  - Le premier chapitre porte sur la description du cadre de l'étude ainsi que le matériel et les méthodes d'analyse utilisées
  - Le deuxième chapitre sera consacré à la présentation du cadre de l'étude, ainsi que leur discussion.

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

**Partie**

**Bibliographique**

# Chapitre I

## Les Infections Nosocomiales



## 1. Définition

**Infection** : pénétration dans un organisme par un agent étranger (bactérie, virus, champignon, parasite) capable de s'y multiplier et d'y induire des lésions pathologiques. L'infection peut s'accompagner de manifestations cliniques (**Ammour et al ., 2005**).

**Nosocomial** : le terme nosocomiale " *nosokomeion* " vient d'un mot latin signifiant « Hôpital » (**Gerard, 2012**).

Infection nosocomiale aussi appelée infection hospitalière elle est acquise dans un établissement de soins et n'est ni en incubation ni présente à l'admission du malade. Le délai entre l'admission et le début de l'infection doit être de 48–72 heures pour les infections bactériennes et selon la période d'incubation il peut être plus long dans les infections virales. Il est admis d'exclure les infections materno-fœtales survenant dans les 48 heures premières de vie (**Lachassinne et al ., 2003**).

Les principaux micro-organismes responsables sont les bacilles Gram négatif (53%) et les cocci Gram positif (33%) mais on trouve aussi *Escherichia coli* (21%), *Staphylococcus aureus* (16%), *Pseudomonas aeruginosa* (11%), *Enterococcus spp.* (8%). Ces quatre espèces représentent 56% des micro-organismes retrouvés dans les infections nosocomiales (**Bouras et Belarbi, 2016**).

Les infections nosocomiales peuvent affecter, non seulement les patients mais aussi les infirmières, les médecins, les gardes malades, les visiteurs et toute personne en contact avec l'hôpital. (**Lansing et al., 2003**).

## 2. Epidémiologie

L'OMS estime qu'en moyenne 190 millions de personnes sont hospitalisées chaque année dans le monde et que 9 millions d'entre elles contractent une infection hospitalière à cette occasion. Environ un million de personnes dans le monde meurent chaque année de ces infections nosocomiales (**OMS, 2013**).

La comparaison des taux d'infection nosocomiale observés dans divers pays est difficile compte tenu des différences d'organisation hospitalière et des variations dans la méthodologie des surveillances. Toutefois, les données recueillies montrent une situation concordante dans la plupart des pays européens avec une prévalence des patients infectés

variant entre 5 et 8,5 % et une répartition des différents types d'infection également comparable (Talon et al., 2015).

Le nombre d'enregistrements d'infections acquises dans certains hôpitaux universitaires en Algérie peut être présenté comme suit :

- 1987 Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de « Hussein Dey » : (16%).
- 1991 CHU de « Mustapha Pacha » : (16,2%).
- 1992 CHU de « Beni Messous » : (15%).
- 2000 CHU de « Sidi Bel Abbas » : (16%) (Meryzog, 2010).

Une enquête de prévalence portant sur l'ensemble des malades hospitalisés, l'exception de ceux ayant séjourné moins de 48 heures, a été réalisée au CHU de Bab El Oued Alger, parmi les 426 malades hospitalisés. Au total, 69 malades étaient infectés, soit une prévalence de 16,2% (Bezzaoucha et al., 1994).

### 3. Les différents types des infections nosocomiales

La fréquence et l'étiologie des infections nosocomiales varient considérablement selon la zone étudiée, le service hospitalier et le type de patient concerné. Certaines de ces infections sont graves et peuvent entraîner la mort, en particulier les infections pulmonaires et la septicémie (Fig.1) (Lucet, 2015).

#### 3.1 Infection nosocomiale Urinaires

Ce sont les infections nosocomiales les plus courantes ; 80 % des infections sont liées à un sondage vésical à demeure. Les infections urinaires (IU) sont associées à une plus faible morbidité que les autres infections nosocomiales, mais peuvent dans certains cas provoquer une bactériémie potentiellement mortelle. Les bactéries responsables proviennent de la flore intestinale du patient, normale (*Escherichia coli*) ou acquise à l'hôpital (*Klebsiella* multi résistantes) (Ducel, 2002).

IU représentaient 25,9 % de l'ensemble des infections nosocomiales contractées est une prévalence de 2,6 %. L'importance des sites d'infection en termes de fréquence était néanmoins différente entre les pays (Amazian et al., 2010).

### 3.2 Infection nosocomiale Pulmonaires (PN)

PN représentent 15% des infections nosocomiales et ont un taux de mortalité élevé (de 13% à 55%). La plupart de ces PN sont liés à l'utilisation d'appareils d'oxygénothérapie, qui est utilisé pour favoriser la respiration ou administrer des médicaments (Gerard, 2012).

Les bactéries, virus et champignons peuvent pénétrer dans les voies respiratoires inférieures par aspiration, inhalation et par dissémination hémotogène. La contamination peut survenir lors de l'emploi de matériels et liquide contaminé et aussi en cas d'erreurs de manipulation.

Les principaux responsables sont les bacilles à Gram négatif de près de 60% de Staphylocoque de 40% des pneumonies nosocomiales (Bounab et al., 2011).

### 3.3 Infection nosocomiale du site opératoire (ISO)

Les ISO sont la 3ème cause d'infection nosocomiale, se définit par la présence de pus provenant d'une des localisations suivantes :

- Partie superficielle de l'incision chirurgicale (peau et tissus sous-cutanés).
- Partie profonde de l'incision chirurgicale (tissus mous profonds en dessous de l'aponévrose).
- Cavité ou organe à proximité ou à distance du site opératoire mais liée à l'intervention.

Pour les infections du site opératoire, on considère habituellement comme associées aux soins les infections survenant dans les 30 jours qui suivent l'intervention ou, s'il y a mise en place d'un implant, d'une prothèse ou d'un matériel prothétique dans l'année qui suit l'intervention. Toutefois et quel que soit le délai de survenue, il est recommandé d'apprécier dans chaque cas la plausibilité de l'association entre l'intervention et l'infection, notamment en prenant en compte le type de germe en cause (Bruyère et Lafaurie, 2013).

### 3.4 Bactériémies / septicémies

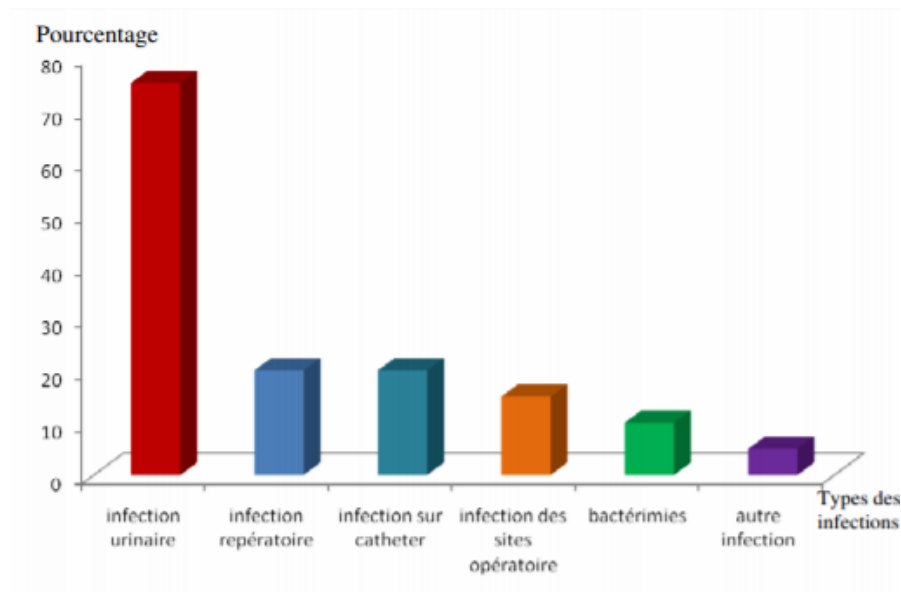
Dans les infections hospitalières, les bactériémies restent des infections graves dont le taux de mortalité est élevé, avec une mortalité variant de 10 à 50 %. Les bactériémies/septicémies nosocomiales représentent 6,4 % des infections nosocomiales. Les cathéters sont la porte d'entrée la plus fréquente, la porte d'entrée urinaire est

également très représentée. D'autres foyers infectieux à distance peuvent aussi être associés à une bactériémie nosocomiale, comme un foyer pulmonaire ou digestif. Les cathéters veineux centraux sont les dispositifs les plus à risque, et le risque infectieux augmente avec la durée de maintien et la fréquence d'utilisation du cathéter (**Astagneau et Ambrogi, 2013**).

### 3.5 Autres types des infections nosocomiales

Représentent 11% des infections nosocomiales parmi les quelles :

- Infection cutanées : Représente environ 8% des infections nosocomiales. Mais les nouveau-nés sont très sensibles aux infections de la peau et des yeux (**Gerard, 2012**).
- La gastro-entérite : est l'infection nosocomiale la plus fréquente chez l'enfant, avec un rotavirus comme principal agent pathogène, et *clostridium difficile* est la cause principale des gastro-entérites nosocomiales chez l'adulte.
- La sphère oto-rhino-laryngologie (ORL), infections de l'œil et de la conjonctive (**Ducel et al ., 2002**).



**Figure 1:** Les différents types d'infection nosocomiale (**Sayad, 2008**).

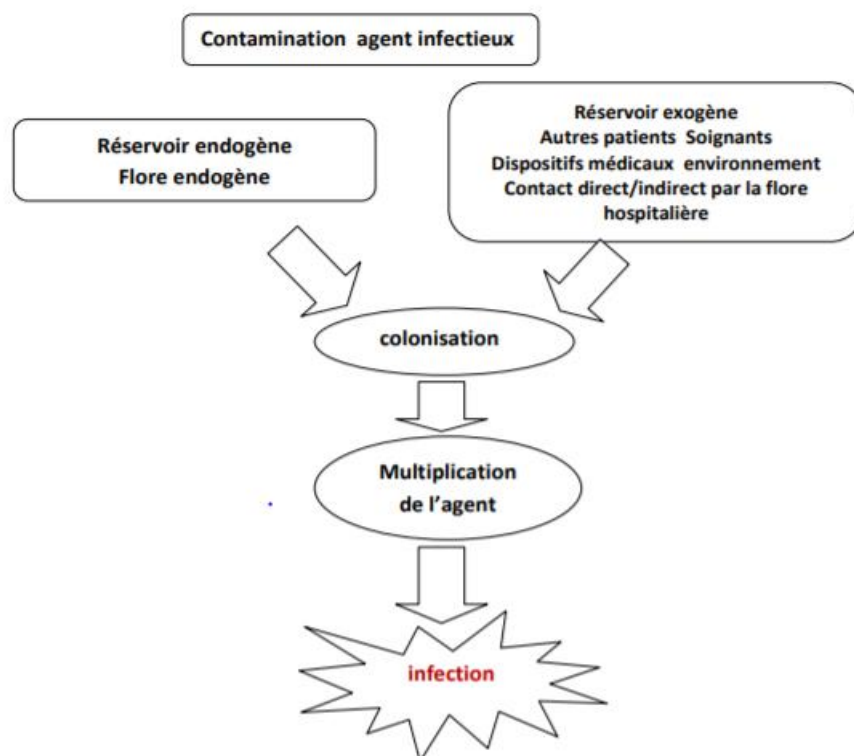
## 4. Modes de transmission

Les infections peuvent être directement liées aux soins dispensés au patient ou simplement survenir lors de l'hospitalisation, indépendamment de tout acte (**Fig.2**) (**Astagneau et Ambrogi, 2003**).

### 4.1 Les origines de transmission

Les infections nosocomiales peuvent avoir deux origines :

- **Une origine endogène:** c'est-à-dire qu'ils font partie de la flore commensale du patient. Les pathogènes sont présents chez le patient avant l'hospitalisation, par exemple au niveau des voies respiratoires, de la peau, de la sphère gastro-intestinale ou génitale (**Monnet, 2011**).
- **Une origine exogène:** c'est-à-dire que le patient a été en contact avec ces organismes au cours de l'hospitalisation. Ces pathogènes peuvent provenir de la flore transitoire ou résidente du personnel soignant ou de visiteurs, de dispositifs médicaux et même de l'environnement et des locaux hospitaliers (**Monnet, 2011**).



**Figure 2:** Transmission des agents infectieux (**Khiev et Veber, 2010**).

## 4.2 Les types de transmission

### 4.2.1. Auto-infection

Le patient s'infecte avec ses propres germes, les « portes d'entrée » sont les lésions des muqueuses, les lésions cutanées (plaies, brûlures, maladies de peau). Ce sont les infections les plus fréquentes. La principale source de contamination est le patient lui-même et son environnement (surface de la peau, vêtement, lit). (**Bourgois, 2018**).

Enfin, les patients immunodéprimés sont les personnes les plus à risque du fait du défaut de vigilance immunitaire de leur organisme, développant ainsi des pathologies strictement endogènes [1].

### 4.2.2 Hétéro-infection

On parle d'hétéro-infection lorsqu'un agent infectieux est transporté d'un malade à un autre provoquant une infection dite croisée ou hétéro-infection. Le plus souvent le vecteur est le personnel soignant par ses mains, et ou ses instruments de travail. C'est le mode de contamination majeure lors de nombreuses épidémies et probablement le plus sensible aux mesures prophylactiques (**Samou, 2004**).

C'est-à-dire que le patient a été en contact direct avec les personnels soignant ou les patients au cours de l'hospitalisation (**Monnet, 2011**).

### 4.2.3 Xéno- infection

Une troisième source d'infection importante est l'entrée dans la communauté hospitalière de nouveaux malades, plus rarement de personnel ou de visiteurs porteurs d'une maladie infectieuse : c'est les xéno-infections, susceptibles à la fois d'enrichir la flore hospitalière et de susciter, par divers modes de transmission, des épidémies nosocomiales (**Leminor et Véron, 1982**).

### 4.2.4 Exo- infection

Cette infection est liée aux dommages techniques du matériel (stérilisation inefficace, filtre à air non stérile, eau polluée). Les matériaux à usage paramédical ou domestique sont utilisés auprès des malades ; ils sont susceptibles d'être contaminés et peuvent ainsi provoquer des infections nosocomiales souvent épidémiques (**Berche et al ., 1989**).

## 5. Les agents responsables des infections nosocomiales

Les bactéries, les virus, les parasites et les champignons peuvent être responsables d'infections nosocomiales, cependant les bactéries sont les germes les plus fréquemment incriminées. Elles sont responsables dans 90% à 95% des cas (**Mchich, 2002**).

### 5.1. Bactéries

Les bactéries sont responsables avant tout d'infections urinaires, mais également d'infections de plaies chirurgicales, de pneumonies ou de bactériémies primaires ou secondaires ; sont elles aussi qui sont souvent impliquées dans des épidémies hospitalières liées à la contamination des appareils médicaux où de liquides de perfusion.

- Les Staphylocoques sont responsables d'environ 15% des infections nosocomiales. Le staphylocoque doré se trouve le plus souvent dans les infections cutanées ou de plaies chirurgicales, il est parfois responsable d'épidémie hospitalière due à un porteur sain ou à la transmission passive d'un patient à l'autre.
- Au cours de ces dernières années, *Staphylococcus epidermidis* s'est révélé être un pathogène important, plus particulièrement responsable de bactériémies sur cathéter intraveineux ou d'infections de matériel prothétique orthopédique ou cardio-vasculaire.
- Environ 10% des infections nosocomiales sont dues à des streptocoques qu'il s'agisse d'enterocoques retrouvés dans les infections urinaires et des plaies dues au streptocoque du groupe B pathogène important de la période néonatale les autres Streptocoques, tels le Streptocoque du groupe A et les Pneumocoques sont rares (**Diakaria, 2002**).

### 5.2. Virus

Il est estimé grossièrement que moins de 1% des infections nosocomiales sont dues à des virus. Un problème pourrait venir d'une épidémie par Norovirus (**Kayser et al., 2008**).

Il existe une possibilité de transmission nosocomiale pour de nombreux virus, notamment ceux des hépatites B et C (transfusions, dialyse, injections, endoscopie), le virus respiratoire, les rotavirus et les entérovirus (transmis par contact main, bouche et par voie feco-orale). D'autres virus comme le cytomégalovirus, le VIH (Virus de l'immunodéficience humaine), le virus Ebola, les virus grippaux, les virus de l'herpès et le virus varicelle zona, sont également transmissibles (**Kernane et Khanouche, 2012**).

### 5.3. Parasites

Il s'agit de parasites endogènes opportunistes responsable de pneumonie grave chez les immunodéprimés, de *Cryptosporidium*, *Giardia* ou d'ectoparasites telle que la gale (*Sarcoptes scabiei*) à l'origine d'épidémies dans certains établissements de longs séjours (**Barbier, 1999**).

### 5.4. Champignons

De nombreux champignons sont des agents opportunistes et provoquent des infections en cas de traitement antibiotique prolongé et d'immunodépression sévère. Ils sont une cause majeure d'infection généralisée chez les patients immunodéprimés (**Kernane et Khanouche, 2012**).

## 6. Les facteurs favorisant les infections nosocomiales

### 6.1 Le patient lui-même

Indépendamment du mode de transmission, la survenue d'une infection nosocomiale est favorisée par la situation médicale du patient qui dépend de plusieurs critères.

- **L'âge**

Les personnes âgées, les nouveaux nés. Leurs défenses immunitaires sont soit incomplètes soit diminuées, du fait de l'âge. Ils sont donc particulièrement réceptifs aux infections nosocomiales (**Benfreha et Temmouri, 2013**).

- **Pathologie**

Les personnes immunodéprimées (séropositivité pour le V.I.H, chimiothérapie), les personnes opérées ou exposées à un dispositif invasif ainsi que les grands brûlés sont particulièrement à risque (**Benfreha et Temmouri, 2013**).

- **La durée de séjour**

Son augmentation est un facteur de risque d'acquisition d'une infection nosocomiale car il y a concentration en un même lieu de nombreux malades (**Barbier, 1999**).

### 6.2. L'environnement

Cela peut varier en fonction de la durée du séjour ; le type d'acte effectué ; ainsi que certains traitements ou matériels diagnostiques ou thérapeutiques (sondes urinaires, trachéales ou gastriques, les cathéters ou encore les matériels utilisés lors d'interventions chirurgicales). Cela peut dépendre du type d'établissement.



Il peut y avoir aussi des contaminations endogènes (environnement hospitalier, travaux, visites,...). De même le flux dans les salles publiques est aussi vecteur de transmission.

Par conséquent, le risque de survenue d'une infection nosocomiale dépend du type de soins dispensés quelque soit l'infection nosocomiale. Le taux d'infection est plus grand en réanimation et dans les unités de soins intensifs où les malades sont immunodéprimés et maintenus en vie par un grand nombre de sondes et de cathéters, qu'en chirurgie ou en médecine (Ammour *et al.* , 2005).

## 7. La lutte contre les infections nosocomiales

Les mesures de lutte contre les infections nosocomiales diffèrent d'un établissement à l'autre. Mais certains procédés sont d'application courante. Il est essentiel de réduire le nombre d'agents pathogènes auxquels les patients sont exposés en appliquant des techniques d'asepsie, en manipulant prudemment le matériel contaminé, en insistant sur le lavage de mains fréquent et complet ,en enseignant aux membres du personnel les mesures fondamentales de lutte contre les infections et en utilisant des chambres d'isolement et des services de contagieux (Gerard, 2012).

La lutte contre les infections nosocomiales s'est réellement développée en France à partir de 1988 avec la création, dans tous les hôpitaux publics, des CLIN (comité de lutte contre les infections nosocomiales) dont les missions sont d'élaborer un programme de surveillance et de prévention des infections nosocomiales. Pour mettre en œuvre ce programme, les CLIN s'appuient sur des équipes opérationnelles en hygiène (EOH) formées de praticiens hygiénistes et d'infirmières hygiénistes (Barbut, 2016).

# **Chapitre II**

## **La résistance Bactérienne**

## 1. Définition

Un micro-organisme est considéré «résistant» lorsque sa concentration minimale inhibitrice (CMI) est plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce. En fait, une souche est dite «résistante» lorsque la concentration d'antibiotique (ATB) qu'elle est capable de supporter est plus élevée que la concentration que l'on peut atteindre *in vivo* à la suite d'un traitement (Carle, 2009).

Une souche résistante est une souche qui supporte une concentration d'ATB notamment plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des souches de la même espèce. Les micro-organismes résistants peuvent résister à l'attaque des antimicrobiens tels que les antibiotiques, les antifongiques, les antiviraux et les antipaludéens, de sorte que les traitements classiques deviennent inefficaces et que les infections persistent et que le risque de propagation est accru. La mauvaise utilisation des antimicrobiens accélère ce phénomène naturel (OMS, 2015).

## 2. Les types de la résistance bactérienne

### 2.1. Résistance naturelle ou intrinsèque

C'est une insensibilité aux ATB, existant naturellement chez tous les membres d'un genre ou d'une espèce bactérienne. Elle fait, donc, partie du patrimoine génétique normal du germe (Yala et al., 2001). Une résistance intrinsèque se définit comme une caractéristique fonctionnelle ou structurelle conférant une certaine tolérance, voir une insensibilité totale, à tous les membres d'un groupe de bactéries (une espèce, un genre ou parfois un groupe plus grand), vis-à-vis d'une molécule particulière ou vis-à-vis d'une classe d'antimicrobiens. L'absence ou la réduction de sensibilité à un ATB peut être due à:

- un manque d'affinité du composé pour la cible bactérienne (par exemple, la faible affinité de l'acide nalidixique pour la gyrase des entérocoques),
- une inaccessibilité de la molécule à la cellule bactérienne (impermeabilité de la membrane externe des bactéries Gram négatives aux glycopeptides comme la vancomycine),
- une expulsion de l'antibiotique par des pompes à efflux chromosomiques (résistance aux tétracyclines, au chloramphénicol et aux quinolones chez *Pseudomonas aeruginosa*, ou encore

- une inactivation enzymatique innée de l'ATB (la production d'une bêta-lactamase AmpC chez certains membres de la famille *Enterobacteriaceae*) (**Muylaert et Mainil, 2012**).

## 2.2. La résistance acquise

C'est l'acquisition de nouveaux gènes capables de rendre la bactérie insensible à un ATB ou à un groupe d'antibiotiques (**Yala et al ,2001**), Il s'agit d'un caractère qui ne concerne alors que quelques souches d'une espèce bactérienne. La résistance acquise est moins stable. Elle résulte d'une modification du patrimoine génétique de la bactérie soit par mutation chromosomique ou bien extra-chromosomique lui permettant de tolérer une concentration d'ATB plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce (**Guillot, 1989**).

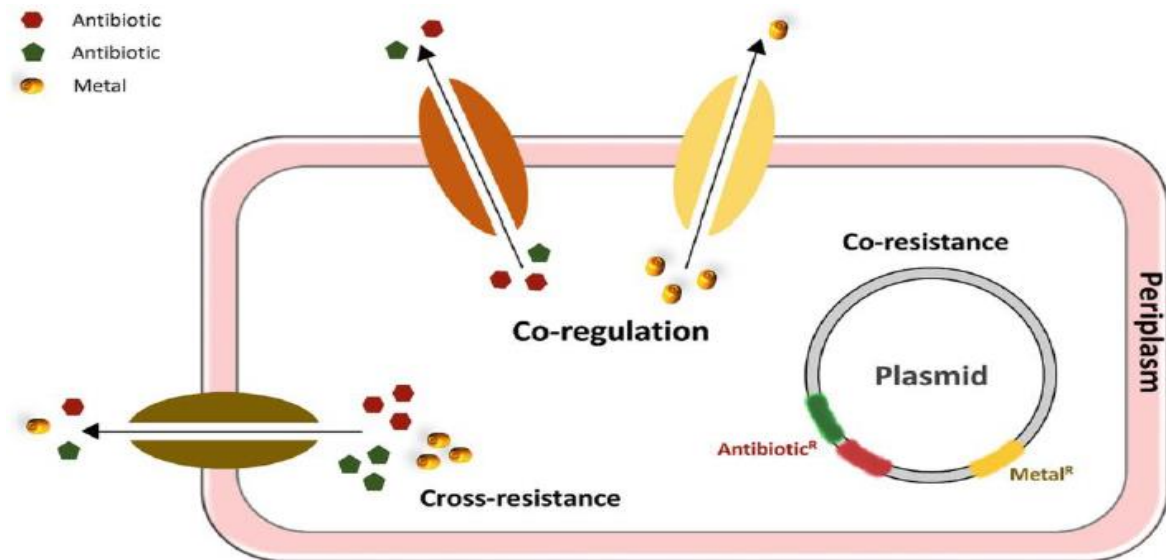
Dans ce cas, elle est portée par un support génétique extra-chromosomique (plasmide ou transposon). La résistance acquise est moins stable, mais elle se propage de façon plus importante au sein des populations bactériennes, et notamment via une transmission horizontale (**Jérémy et Mathieu, 2018**).

## 2.3. Résistance croisée

La résistance croisée est le développement d'une résistance à tous les membres d'une classe d'ATB en raison d'un mécanisme de résistance unique. Le niveau de résistance varie avec les ATB. Le phénomène de la résistance croisée peut se produire entre tous les membres d'une classe d'ATB, tels que 120 sulfamides, ou limité à quelques membres d'un groupe, tels que les aminoglycosides, ou encore impliquer des antimicrobiens appartenant à des classes différentes (**Courvalin, 2008**).

## 2.4. Co-résistance

Dans la Co-résistance, il existe de multiples mécanismes de résistance chez une même bactérie, parfois stabilisés par intégration dans le chromosome. Chacun confère (par résistance croisée) une résistance à une classe d'antibiotiques, résultant en un phénotype largement résistant de la bactérie hôte. Encore une fois, le résultat de cette organisation génétique est la Co-sélection. C'est par exemple le cas du pneumocoque (**Fig.3**) (**Courvalin, 2008**).



**Figure 3:** Phénomène de co-résistance bactérienne (Piyush Baidara, 2019).

### 3. Les bactéries multi-résistantes

Le phénomène de résistance aux ATB est décrit pour la première fois dans les années 1960 et touchait surtout les Entérobactéries et *Pseudomonas aeruginosa*. Depuis 1990, le terme de multi-résistance se rapporte surtout aux Bactéries Gram positif (Staphylocoque, Entérocoque...) néanmoins les bacilles Gram négatif restent quand même une préoccupation importante.

Sur le plan bactériologique, la multi-résistance se définit comme le résultat d'une combinaison de résistances intrinsèques ou acquises limitant ainsi le nombre d'ATB efficaces. Les résistances intrinsèques ou naturelles sont celles retrouvées chez toutes les souches de la même espèce bactérienne. A l'inverse, les résistances acquises ne sont présentes que chez une partie des souches d'une espèce bactérienne normalement sensible (Albrecht, 2015).

La multi résistance est une étape vers l'impasse thérapeutique. Elle concerne les bactéries responsables d'infections communautaires (ex : pneumocoques, bacilles de la tuberculose) et les bactéries responsables d'infections nosocomiales ou associées aux soins (Khiev et Veber, 2010).

- **les principaux Bactéries multi résistantes**

- *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM).
- Entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (EBLSE).
- Entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) ou résistants aux glycopeptides (ERG) (Khiev et Veber, 2010).

#### 4. Facteur de développement de la résistance bactérienne

Les gènes de résistance aux ATB se dissémineraient dans le monde principalement par deux voies par : (Diffusion clonale d'une bactérie résistante, Les transferts horizontaux). Car la plupart des gènes de résistance sont identifiés sur des éléments génétiques mobiles (transposons, cassettes de gènes, plasmides, etc.). Cependant, en raison de facteurs anthropiques ou environnementaux, de nombreux facteurs peuvent faciliter cette propagation (El Abdani, 2016).

- **L'automédication et mauvais usage**

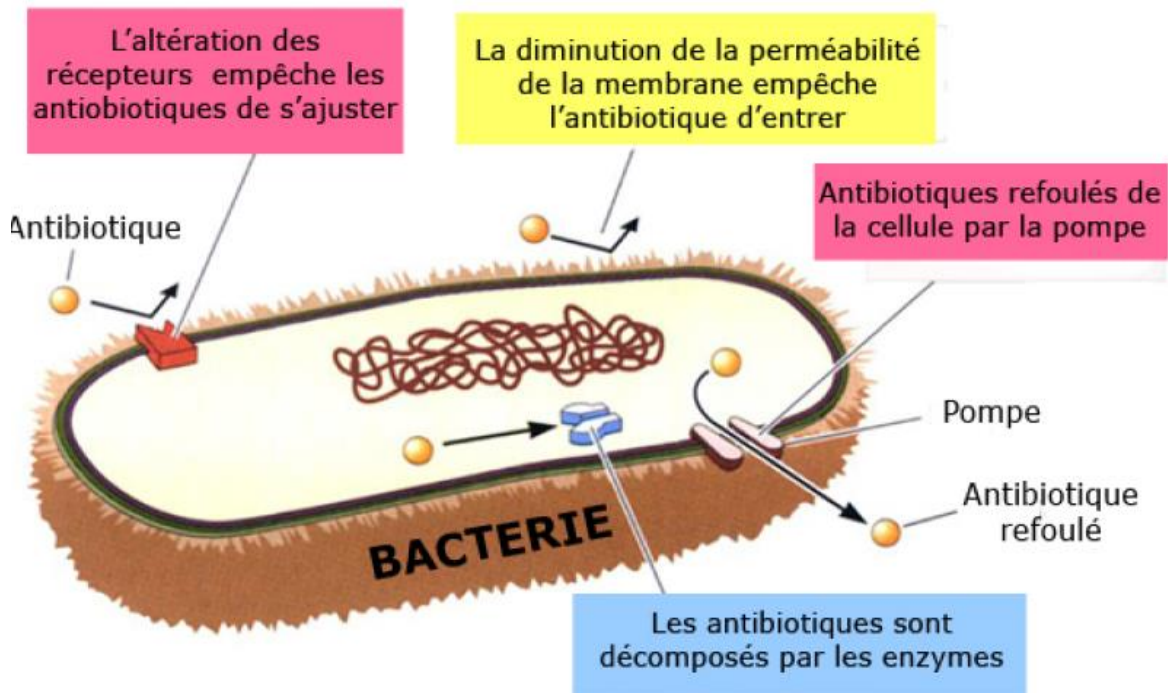
L'automédication ATB se caractérise par un traitement injustifié, un choix inapproprié de l'ATB, l'emploi de doses insuffisantes et une durée de traitement inadéquate. L'utilisation inappropriée des ATB augmente le risque de sélection de bactéries résistantes conduisant à l'émergence de résistance bactérienne. De plus, les souches bactériennes résistantes se propagent rapidement entre individus dans des environnements où les conditions sanitaires sont défectueuses.

L'OMS définit l'automédication responsable comme ; étant la pratique par laquelle les individus traitent des maux et des états de santé avec des médicaments qui sont approuvés et disponibles sans prescription et qui sont sûrs et efficaces une fois utilisés selon les instructions (Hounsa et Kouadio, 2010).

#### 5. Mécanismes de la résistance aux antibiotiques

La résistance des bactéries aux ATB's résulte de la co-évolution entre des organismes qui sécrètent des ATB et des organismes qui s'adaptent aux ATB. Ces mécanismes ont une origine ancestrale (Drancourt et al., 2016).

La résistance aux ATB résulte de la pression de sélection. Ainsi, en présence d'un ATB, les bactéries présentant une mutation qui leur confère la résistance, survivent et continuent à se reproduire et transmettant à leur descendance leurs gènes de résistance. Finalement, les bactéries s'adaptent au milieu pour survivre. Elles modifient leur génome pour acquérir la résistance et la transmettent à leurs bactéries filles. *E. coli* (*Escherichia coli*) se multiplie en 20 minutes permettant donc rapidement la transmission de la mutation (Fig.4) (Khiev et Veber, 2010).



**Figure 4:** Les mécanismes de la résistance aux ATB (Khiev et Veber, 2010).

### 5.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique

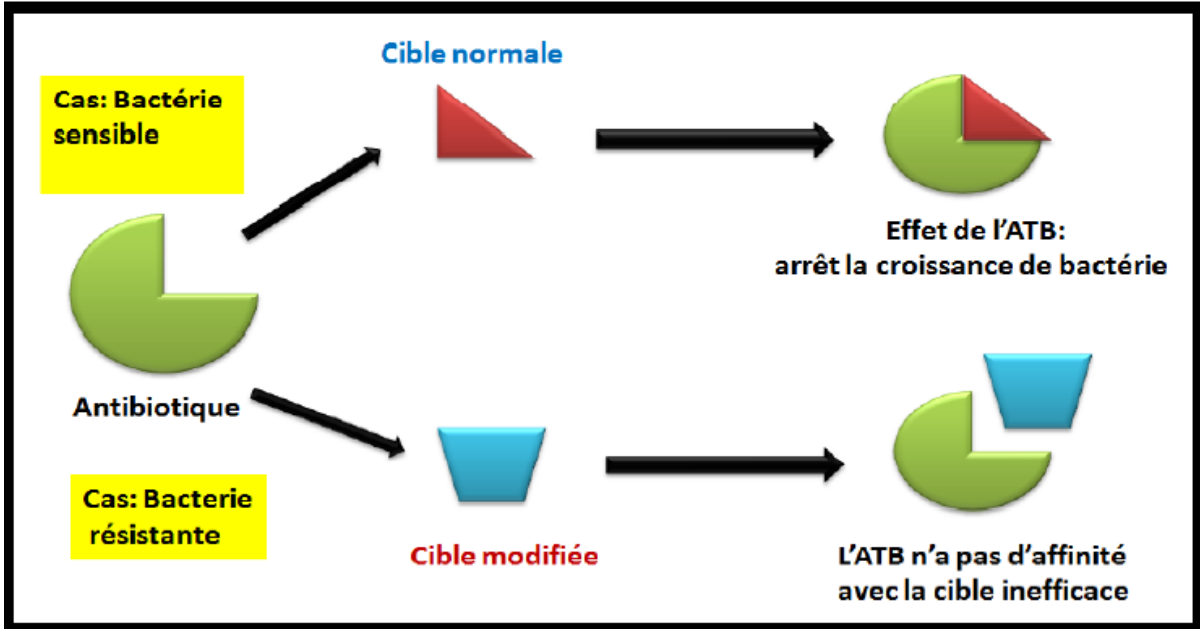
L'enzyme en modifiant le noyau actif de l'ATB par clivage ou par addition d'un groupement chimique, empêche la fixation de l'antimicrobien sur sa cible et provoque une perte d'activité. Ces enzymes sont généralement associées à des éléments génétiques mobiles (Muylaert et Mainil, 2012).

De nombreuses souches résistantes fabriquent une enzyme qui modifie ou qui clive la molécule d'ATB, la rendant inactive. C'est le mécanisme principal de résistance aux  $\beta$ -lactamines (famille de la pénicilline et des céphalosporines) qui implique les enzymes de la famille des  $\beta$ -lactamases (Veysiere, 2019).

### 5.2. Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique

La cible de l'ATB peut être structurellement modifiée ou remplacée de telle sorte que le composé antibactérien ne puisse plus se lier et exercer son activité au niveau de la bactérie. Ce type de résistance peut être la conséquence de l'acquisition de matériel génétique mobile codant pour une enzyme modifiant la cible de l'ATB ou peut résulter d'une mutation au niveau de la séquence nucléotidique de la cible (Muylaert et Mainil, 2012).

Si cette cible est modifiée, cela entraîne une diminution de reconnaissance par l'antibiotique et une diminution de l'efficacité. La bactérie acquiert une résistance qui souvent s'entendra à toute une famille d'ATB. Ce mécanisme est observé avec de nombreuses ATB et nombreuses bactéries (**Fig.5**) (**Decoster et al., 2016**).



**Figure 5:** mécanisme de camoufrage de bactérie résistante (**Haouam et Boucheliga, 2020**).

### 5.3. Pompes à efflux

Il s'agit d'un système actif reposant sur la présence de protéines particulières jouant le rôle de pompe permettant l'expulsion des molécules nocives pour la bactérie, dont les ATB's, dès qu'ils pénètrent dans la cellule bactérienne. Cela entraîne une diminution de la quantité d'ATB atteignant la cible (**Ziai, 2014**).

L'ATB ne peut atteindre son site d'action par pompage actif de ce dernier vers l'extérieur de la bactérie (efflux). Les transporteurs d'efflux de plusieurs ATB sont des composants normaux des cellules bactériennes et contribuent pour une large part à la résistance intrinsèque des bactéries à de nombreux agents antibactériens. Ces pompes ont besoin d'énergie. L'exposition aux ATB favorise une surexpression par mutation de transporteurs, entraînant une hausse de la résistance bactérienne. Il est possible qu'une résistance par efflux apparaisse à cause d'une exposition à un ATB d'une autre classe (**Philippon, 2010**).



#### 5.4. Perméabilité réduite

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires: une membrane cytoplasmique sépare leur cytoplasme du milieu externe. Les bactéries à Gram négatif sont également munies d'une enveloppe additionnelle, la paroi externe, qui sert de barrière et protège les protéines de liaison aux pénicillines (PLP) du milieu externe. Les nutriments et les ATB doivent traverser cette enveloppe pour pénétrer dans la bactérie (**Knothe et al., 1983**).

La réduction de la perméabilité cellulaire se produit par diminution de l'entrée de l'ATB sur son site, provoquée par une modification de la perméabilité de la membrane interne ou externe de la bactérie. Une altération des porines dans la paroi des bactéries à Gram négatif peut réduire ou bloquer la pénétration de l'ATB jusqu'à son site d'action.

Les mutations des porines joueraient un rôle important dans l'émergence d'une résistance, particulièrement à la suite d'une réduction du calibre des canaux ou du nombre de porines. L'imperméabilité liée aux porines s'associe souvent à la synthèse de bêtalactamases pour conférer une résistance à la bactérie (**Pitout et al., 1996**).

### 6. Lutte contre la résistance bactérienne

La résistance bactérienne étant principalement liée aux niveaux de consommation d'ATB, quelle que soit l'échelle (service d'hospitalisation, établissement de santé, pays), il convient de surveiller cette consommation et de lutter contre un usage excessif, c'est-à-dire réduire les prescriptions inutiles ainsi que les durées de traitement parfois trop longues (**Muller, 2017**).

En mai 2015, l'OMS a adopté un plan d'action mondial pour lutter contre les résistances aux antimicrobiens. Ce plan est constitué de 5 objectifs sur lesquels les pays devront se baser pour élaborer leur propre plan de lutte. Le premier objectif est de mieux faire connaître et comprendre le problème de la résistance aux antimicrobiens grâce à une communication, une éducation et une formation efficaces. L'objectif suivant est de renforcer les connaissances et les bases factuelles par la surveillance et la recherche. Il faut également réduire l'incidence des infections par des mesures efficaces d'assainissement, d'hygiène et de prévention des infections. Le quatrième objectif est d'optimiser l'usage des médicaments antimicrobiens en santé humaine et animale.

Enfin dernier objectif, il faut dégager les arguments économiques en faveur d'investissements durables qui tiennent compte des besoins de tous les pays et accroître les investissements dans la mise au point de nouveaux médicaments, outils diagnostiques, vaccins et autres interventions (**Battraud, 2017**).

# **Partie expérimentale**

# **Chapitre III**

## **Matériel et Méthodes**

Les infections nosocomiales où les infections associées à l'hygiène hospitalière est un concept extrêmement important. L'objectif de notre travail est l'isolement et l'identification des bactéries responsables d'une infection nosocomiale, puis l'étude de leurs résistances aux ATB.

## 1. Cadre d'étude

Notre étude a été réalisée dans l'hôpital "El Hakim Okbi" de la wilaya de Guelma (Nord Est de l'Algérie), qui comprend les services suivants:

- Chirurgie Orthopédique.
- Ophtalmologie.
- ORL.
- Chirurgie Générale.
- Pédiatrie.
- Gynéco--obstétrique
- Médecine Interne.
- Bloc Opératoire et Réanimation.
- Hémodialyse.
- Urgence Médicaux Chirurgicales.

## 2. Prélèvement

Pendant la période de deux semaines, 15 prélèvements ont été effectués à partir de deux services: le bloc opératoire et service d'urgence. Les prélèvements ont été rapidement acheminés pour être analysés au niveau du laboratoire de microbiologie de l'université de Guelma (**Tab.2**).

### 2.1. Prélèvement à partir des surfaces sèches

La récupération des micro-organismes cultivables peut être réalisée en frottant la surface à prélever avec un écouvillon stérile humidifié par l'eau distillée stérile, puis introduire dans des tubes contenant du bouillon nutritif (**Le gallou et lepelletier, 2017**).

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

Frotter directement les écouvillons stériles secs sur les surfaces, puis les introduire dans des tubes contenant du bouillon nutritif.

**Tableau 1:** Les services et les sites de prélèvement.

Bloc opératoire			Service d'urgence	
Salle de stérilisation	Salle de réveil	Salle opératoire (A) ophtalmique		
Robinet	Porte	Table opératoire	Drap	Mains d'infirmière
Paillasse	Lit	Masque respirateur	Mur	Mains d'un patient
Chariot	Chariot de transport de malade	Scialytique	Chaise roulante	
			Porte	

### 3. Enrichissement

Une fois les différents échantillons prélevés, les écouvillons sont placés dans des tubes de bouillon nutritif. Les tubes sont ensuite emmenés au laboratoire où ils seront incubés à 37 °C pendant 24 à 48 heures jusqu'à l'apparition d'un trouble dans le milieu.

### 4. Isolement et purification

#### 4.1. Technique d'isolement

Après incubation, l'isolement a été fait à partir des tubes de bouillon nutritif présentant un trouble. Prendre une goutte du bouillon nutritif et ensemer sur des boîtes de pétri contenant les différents milieux de culture. Les boîtes ont été ensuite incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures jusqu'à l'apparition des colonies.

#### 4.2. Les Milieux Gélosés Utilisés

- **Gélose Nutritive**

Ce milieu est dit non sélectif car il ne permet pas de sélectionner une souche bactérienne précise. Ce milieu permet donc à toutes souches bactériennes de pouvoir pousser après l'incubation. Donc l'utilisation de ce milieu doit conduire à l'obtention des colonies différentes (**Guezlan et al., 2008**).

- **Gélose Chapman**

La gélose Chapman est un milieu sélectif pour l'isolement et la numération des staphylocoques. Il permet également de différencier les espèces fermentant le mannitol de celles qui ne le fermentent pas. La sélectivité de ce milieu est basée sur la présence de chlorure de sodium qui inhibe la plupart des bactéries à Gram (+) et à Gram (-). La différenciation des Staphylocoques est basée sur leur capacité à fermenter ou non le mannitol. S'il y a fermentation, cela induit une acidification qui entraîne une coloration jaune du milieu en présence de rouge de phénol (indicateur de pH) (Guillaume, 2004).

- **Gélose Hektoen**

Est un milieu sélectif permettant l'isolement et la différenciation des entérobactéries pathogènes tels que les *Salmonelles* et les *Shigelles*, bien que de nombreuses bactéries à Gram négatif puissent se développer sur ce milieu (Delarras, 2007).

Ce milieu permet de détecter simultanément l'utilisation du lactose, du saccharose et de la salicine. Cette utilisation se traduit par une acidification et donc un virage du bleu de bromothymol au jaune.

- colonies jaunes ou orangés : acidification du milieu par fermentation d'au moins l'une des glucides présents dans le milieu.
- colonies vertes ou bleues : pas d'acidification du milieu aucun des glucides n'est utilisé : lactose, saccharose et salicine [2].

- **Gélose Cétrimide**

La gélose au cétrimide est un milieu sélectif utilisé pour l'isolement et l'identification présomptive de *Pseudomonas aeruginosa*. Cette gélose existe avec ou sans acide nalidixique.

Grâce à une composition très proche de celle du milieu King A, ce milieu favorise la production de la pyocyanine et donc facilite le repérage des *Pseudomonas aeruginosa*. La pyocyanine est un pigment bleu produit par un très grand nombre de souches de *Pseudomonas aeruginosa*.

Sur ce milieu, les souches de *Pseudomonas aeruginosa* produisent également un autre pigment, appelé pyoverdine ou fluoresceine. Ce pigment jaune-vert est fluorescent lorsque les cultures sont placées sous lampe UV [3].

## 5. Méthodes d'ensemencement sur gélose

### 5.1. Ensemencement en Stries

L'inoculum est prélevé avec l'anse de platine dans les conditions d'asepsie rigoureuses à partir des milieux d'enrichissement est déposé sur un point périphérique de la gélose puis disséminé par des stries sur toute la surface, les boîtes sont marquées puis incubées à 37C° pendant 24heures [4].

### 5.2. Ensemencement en Quadrants

L'inoculum, prélevé à partir d'un bouillon de culture, est déposé à la périphérie de la gélose. Il est ensuite disséminé par des stries parallèles sur une moitié de la boîte, faire tourner la boîte d'un quart de tour et ensemercer par des stries perpendiculaires aux premières stries ; après un autre quart de tour de la boîte, ensemercer le dernier quadrant. Les boîtes de pétri sont toujours incubées renversées [4].

## 6. La Purification et l'identification

### 6.1. La purification

Après incubation, la purification des colonies suspectes est procédée par repiquages successifs sur les mêmes milieux de culture afin d'obtenir des cultures pures.

### 6.2. Identification Macroscopique

L'identification macroscopique des bactéries est basée sur l'observation à l'œil nu, l'aspect des colonies obtenues à partir des différents milieux d'isolement. Cette observation permet d'enregistrer les caractéristique culturelles : la pureté des souches, La couleur des colonies, le virage de couleur du milieu, la taille, la transparence, les contours...etc.

- L'étude de l'aspect des colonies nécessite l'observation à l'œil nu, en lumière naturelle et artificielle, par éclairage direct et par transparence des colonies (**Tab.2**) (**Delarras, 2007**).



**Tableau 2:** Guide de lecture macroscopique (Delarras, 2007).

Caractère	Lecture		
<b>Taille</b>	petites colonies : < 1 mm	colonies moyennes : 1,5 à 3 mm	grosses colonies : > 3mm
<b>forme de la colonie</b>	à bords circulaires (fréquent)	irrégulières et parfois envahissantes	déchiquetées et parfois envahissantes
<b>élévation de la colonie</b>	colonies convexes	colonies légèrement convexes	colonies plates
<b>transparence</b>	colonies transparentes	colonies translucides	colonies opaques
<b>Surface</b>	colonies lisses (parfois brillantes)	colonies rugueuses (granitées comme le cuir)	colonies muqueuses (aspect en coulée de miel)
<b>consistance</b>	les colonies grasses, crémeuses donnant facilement des suspensions homogènes		Les colonies sèches donnent difficilement des suspensions homogènes
<b>pigmentation</b>	Les colonies apparaissent le plus souvent blanchâtres à crème. Une couleur différente est due à des pigments, qui sont parfois solubles dans le milieu de culture.		

### 6.3. Identification Microscopique

L'examen microscopique est le premier stade de la détermination des bactéries. il est cependant indispensable pour orienter les recherches ultérieures : culture et isolement, mise en évidence des caractères biochimiques.

L'examen morphologique des bactéries peut se faire soit à l'état frais, soit après coloration de Gram.

## 7. Examen à l'état frais

C'est une méthode rapide qui consiste à observer entre lame et lamelle une suspension bactérienne à l'objectif  $\times 40$  (Delarras, 2007). Elle permet d'apprécier à la fois la forme, le mode de regroupement et la mobilité des bactéries isolées (Barbier et al., 1999).

- **Technique**

- Déposer une petite goutte d'eau distillée stérile sur une lame propre.
- Prélever une fraction de colonies sur gélose (ou prélever une petite goutte de bouillon).
- Faire une suspension dans la goutte d'eau.
- Recouvrir d'une lamelle en évitant d'enfermer des bulles d'air.
- Observer rapidement à l'objectif ( $\times 40$  ou  $\times 60$ ) (**Guizlane et al., 2008**).

## 8. Coloration de Gram

Cette coloration aide à déterminer deux grands groupes appelés Gram positif et Gram négatif. Elle nous permet aussi de connaître la morphologie et le mode de regroupement de bactérie (**Degrement, 2005**). Elle doit être parfaitement maîtrisée car c'est le point de départ du choix des examens complémentaires à effectuer (**Baldent et al., 2018**).

- **Technique**

- Préparation d'un frottis sur une lame à partir d'une culture bactérienne pure.
- La coloration: recouvrir le frottis avec violet de gentiane; laisser agir une minute et rincer à l'eau distillée.
- Mordançage au lugol: verser le lugol et laisser agir une minute; rincer à l'eau distillée.
- Décoloration à l'alcool pendant 5 à 10 secondes; rincer à l'eau distillée.
- Coloration avec la fuchsine, laissé agir pendant une minute et rincer à l'eau distillée, sécher la lame au dessus de la flamme d'un bec bunsen.
- Observer le frottis à l'objectif à immersion (**Janvier et al., 2008**).

- **Lecture**

- Les bactéries colorées en violet sont des Gram positifs.
- Les bactéries colorées en rose sont des Gram négatifs.

## 9. Test de Catalase

Le test de catalase permet de vérifier si une bactérie possède l'enzyme de la catalase ayant comme utilité de décomposer le peroxyde d'hydrogène en eau ainsi qu'en oxygène par l'équation suivante :



Pendant leur respiration aérobie certaines bactéries produisent du peroxyde d'hydrogène, celui-ci est très toxique et certaines bactéries sont capable de le dégrader grâce aux enzymes qu'elles synthétisent et notamment la catalase (**Marchal et al, 1991**).

- **Technique**

- Déposer sur une lame une goutte d'eau oxygénée.
- Prélever une colonie avec l'anse de platine.
- Dissocier la colonie dans la goutte.

- **Lecture**

- S'il y'a des bulles gazeuses donc la bactérie possède la catalase, dite catalase +.
- S'il n'y a pas de bulle, la bactérie ne possède pas la catalase, dite catalase - .

## 10. Test oxydase

Ce test à la base de l'identification des bactéries Gram (-), le cytochrome oxydase ou l'oxydase est une enzyme de la chaîne respiratoire bactérienne qui catalyse des réactions d'oxydation (**Delarras, 2003**).

- **Technique**

- Déposer un disque sur une lame.
- Imbibler le avec une goutte d'eau stérile.
- Prélever une colonie parfaitement isolée avec une anse de platine et l'écraser sur le disque pendant une dizaine de secondes.

- **Lecture**

Observer immédiatement la couleur violette.

## 11. Test coagulase

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

- **Technique**

Ce test est réalisé selon les étapes suivantes :

- Mettre une colonie bactérienne isolée dans un tube sec qui contient 0.5 ml de plasma du sang.
- La première observation après 2 heures d'incubation à 37°C.
- L'observation de résultat finale après 4 heures d'incubation à 37°C (**Rasamiravaka et al., 2015**).
- **Lecture**
- Coagulation du plasma : Coagulase (+).
- Absence de Coagulation du plasma : Coagulase(-).

## 12. Les Galeries biochimiques

Le choix de la galerie à ensemercer dépend des résultats de coloration de Gram et les caractères morphologiques et biochimiques qui ont été étudiés précédemment (oxydase, catalase...) et qui sont indispensables pour l'interprétation de la galerie Api.

### 12.1. API 20 E

La galerie API 20E comporte 20 micro-tubes contenant des substrats sous forme déshydratée, Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanées ou révélés par l'addition de réactifs.

- **Préparation de l'inoculum**

Faire une suspension bactérienne, dans une ampoule de Suspension Medium ou dans un tube d'eau distillée stérile, avec une seule colonie prélevée sur un milieu gélosé.

- **Inoculation de la galerie**

- Remplir les tubes et les cupules des tests : CIT, VP, GEL avec la suspension bactérienne. Remplir uniquement les tubes des autres tests.
- Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H<sub>2</sub>S en remplissant leur Cupule d'huile de paraffine.
- Refermer la boîte d'incubation et la placer à 37°C pendant 18 à 24 heures.

- **Lecture**

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du tableau d'identification ou par l'utilisation du logiciel d'identification Api web [5].

### 12.2 API 20 NE

API 20 NE est un système standardisé pour l'identification des bacilles à Gram négatif non Entérobactéries et non fastidieux (ex. *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas*...etc.).

- **Inoculation de la galerie**

- Remplir les micro-tubes (et non les cupules) des tests NO<sub>3</sub> à PNPG avec la suspension précédente. Éviter la formation de bulles au fond des tubes.
- Ouvrir une ampoule d'API aux Médium et transférer environ 200 µl de la suspension précédente. Homogénéiser avec la pipette en évitant la formation de bulles.
- Remplir les micro-tubes et les cupules des tests GLU à PAC.
- Remplir d'huile de paraffine les cupules des trois tests soulignés (GLU, ADH, URE) Refermer la boîte d'incubation et incuber à 37°C pendant 24 heures.

- **Lecture**

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification Api web [5].

### 12.3 API 20 STREP

Api 20 Strep est un système standardisé, il permet de faire un diagnostic de groupe ou d'espèce pour la plupart des streptocoques et entérocoques.

- **Préparation de L'inoculum**

- Ouvrir une ampoule d'API suspension medium (2ml) ou utiliser un tube contenant 2ml d'eau distillée sans additif.
- A l'aide d'un écouvillon, prélever toute la culture préalablement préparée.
- Réaliser une suspension très dense: cette suspension doit être utilisée extemporanément.

- **Inoculation de La Galerie**

- Dans la première moitié de la galerie tests VP à ADH, répartir la suspension précédente en évitant la formation de bulles.
  - Pour les tests VP à LAP: mettre environ 100 µl dans chaque cupule.
  - Pour le test ADH: remplir uniquement le tube.
- Dans la deuxième moitié de la galerie (tests RIB à GLYG).
  - Ouvrir une ampoule d'API GP medium et y transférer le reste de la suspension et bien homogénéiser.
  - Répartir cette nouvelle suspension dans les tubes uniquement.
  - Remplir les cupules des tests soulignés ADH à GLYG avec de l'huile de paraffine.
  - Refermer la boîte d'incubation et incuber dans l'étuve 37°C pendant 24 heures.

- **Lecture**

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification Api web [5].

### 13. Antibiogramme

L'antibiogramme consiste à rechercher la résistance des bactéries isolées vis-à-vis des différents ATB (Yakhlef et al., 2011).

- **Technique**

L'étude de la sensibilité des espèces bactériennes aux ATB's a été réalisée par la technique de diffusion en milieu gélosé Mueller Hinton dans une boîte de Pétri ensemencée par la suspension obtenue par des stries bien serrées (Atanda et al., 2007).

Après l'incubation en 24 heures à 37°C, nous avons mesuré les diamètres d'inhibition de chaque espèce bactérienne et nous les avons comparés avec un diamètre de référence (D).

- **Gélose Müller Hinton**

La gélose Müller Hinton est le milieu de référence pour tester la sensibilité des microbes aux ATB's et aux sulfamides, il contient une forte concentration d'agar. il peut être ajouté avec du sang pour réaliser un antibiogramme pour les microbes fragiles (Guezlan et al., 2008).

- **les disques d'ATB**

Chaque disque est imprégné d'antibiotiques sélectionnés pour tester la sensibilité des souches bactériennes à celui-ci. Le principe consiste à placer des cultures bactériennes stockées dans des boîtes de Pétri en présence d'un ou plusieurs antibiotiques et d'observer les effets sur leur développement et leur survie (Tab.3) [6].

**Tableau 3:** Les antibiotiques utilisés.

<i>Pseudomonas</i>	<i>Aerococcus</i>	<i>Streptococcus</i>
Amoxicilline (AMX)	Amoxicilline (AMX)	Pénicilline G (P)
Gentamicine (GN)	Pénicilline (P)	Vancomycine (VA)
Fosfomycine (FO)	Vancomycine (VA)	Gentamicine (GN)
Sulphamithoxazole (SXT)	Erythromycine (E)	Erythromycine (E)
	Fosfomycine (FO)	Fosfomycine (FO)

- **La concentration minimale inhibitrice (CMI)**

La CMI est définie comme la plus faible concentration d'ATB inhibant après 24 heures la multiplication des bactéries. Cette valeur permet de classer une souche bactérienne dans les catégories : sensible (S), résistante (R) ou intermédiaire (I) (Debabza, 2015).

- **Lecture et interprétation**

– Si le diamètre de la zone d'inhibition est  $>$  à D : la souche est dite sensible (S).

- Si le diamètre de la zone d'inhibition est  $< D$  : la souche est dite résistante (R).
- Si le diamètre de la zone d'inhibition =  $D$  : la souche est dite intermédiaire (I) (**CASFM, 1998**).



# **Chapitre IV**

## **Résultats et Discussion**

## 1. Résultats d'isolement

### 1.1 Examen macroscopique

L'examen macroscopique des bactéries isolées a montré que les colonies obtenues avaient des caractéristiques de culture différentes (**Tab.4**).

**Tableau 4:** Les caractères culturaux des souches.

	Gélose nutritive	Chapman	Hektoen	Cétrimide
<b>Mur</b>	/	Petites colonies; Plates à contour régulier ; lisses ; couleur blanche.	Taille moyenne à contour régulier; Convexes ; rigoureuses de Couleur orangé.	/
<b>Porte</b>	/	2 aspects: _ Le premier: grosses colonies, à contour irrégulier, crémeuses, rigoureuses de couleur orangé. _ Le deuxième : petites colonies, à contour irrégulier, lisses de couleur blanche.	3 aspects : _ Le premier : taille moyenne, à contour régulier, lisses de couleur transparente. _ Le deuxième: petites colonies, convexes, rigoureuses, pigmentée. _ Le troisième: petites colonies, forme envahissante, opaques, légèrement convexes de couleur blanche.	/

<p><b>Drap</b></p>	<p>/</p>	<p>/</p>	<p>2 aspects :</p> <p>_ Le premier:</p> <p>Petites colonies, plates à contour régulier, lisses, opaques de couleur blanche.</p> <p>_ Le deuxième:</p> <p>Colonies moyennes à contour régulier, opaques.</p>	<p>/</p>
<p><b>Mains d'infermière</b></p>	<p>/</p>	<p>Petites colonies, plates à contour régulier, lisses de couleur transparente.</p>	<p>2 aspects :</p> <p>_ Le premier:</p> <p>Colonies moyennes, plates à contour régulier, lisses, opaques de couleur verte.</p> <p>_ Le deuxième:</p> <p>Colonies moyennes, plates à contour irrégulier, rigoureuses, convexes, opaques de couleur blanche.</p>	<p>/</p>

<p><b>Mains d'un malade</b></p>	<p>/</p>	<p>2 aspects :</p> <p>_ Le premier:</p> <p>Grosses colonies, à contour irrégulier, convexes, lisses de couleur transparente.</p> <p>_ Le deuxième:</p> <p>Petites colonies, à contour régulier, opaques, rigoureuses de couleur blanche.</p>	<p>2 aspects :</p> <p>_ Le premier:</p> <p>Colonies moyennes, plates à contour régulier, lisses, opaques de couleur verte.</p> <p>_ Le deuxième:</p> <p>Petites colonies, à contour irrégulier, convexes, lisses de couleur transparente.</p>	<p>/</p>
<p><b>Porte (salle de réveil)</b></p>	<p>/</p>	<p>2 aspects:</p> <p>_ Le premier:</p> <p>Grosses colonies à contour régulier; convexes; rigoureuses; de couleur blanche.</p> <p>_ Le deuxième:</p> <p>colonies moyennes ; plates; lisses ; de couleur transparente.</p>	<p>2 aspects :</p> <p>_ Le premier: petites colonies ; à contour régulier; convexes ; lisses ; de couleur blanche.</p> <p>_ Le deuxième:</p> <p>colonies moyennes ; de contour irrégulier; opaques; de couleur transparente.</p>	<p>/</p>

<b>Masque respiratoire</b>	Petites colonies ; de couleur blanche.	Petites colonies ; de couleur blanche.	/	/
<b>Lit (salle de réveil)</b>	<p>3 aspects:</p> <p>_ Grosses colonies ; envahissantes; convexes; lisses; plates de couleur transparente.</p> <p>_ Les 2 autres aspects: petites colonies ; de couleur orangé et blanche.</p>	Petites colonies ; à contour régulier ; plates ; lisses de couleur blanche.	Petite colonies; à contour régulier; plates; lisses de couleur blanche.	Grosses colonies ; de couleur blanche.
<b>Pailleasse</b>	<p>2 aspects:</p> <p>_ Le premier : petite colonies; à contour régulier; lisses de couleur orangé.</p> <p>_ Le deuxième: petites colonies de couleur blanche.</p>	Petites colonies de couleur blanche.	/	/
<b>Table opératoire</b>	Petites colonies; à contour régulier; lisses; plates de couleur blanche.	Petites colonies ; à contour régulier; lisses; légèrement convexes de couleur blanche.	Grosses colonies ; à contour irrégulier; convexes; de couleur verte.	Petite colonies ; lisses ; convexes de couleur transparente.

## 1.2 Examen microscopique

### 1.2.1 Etat frais

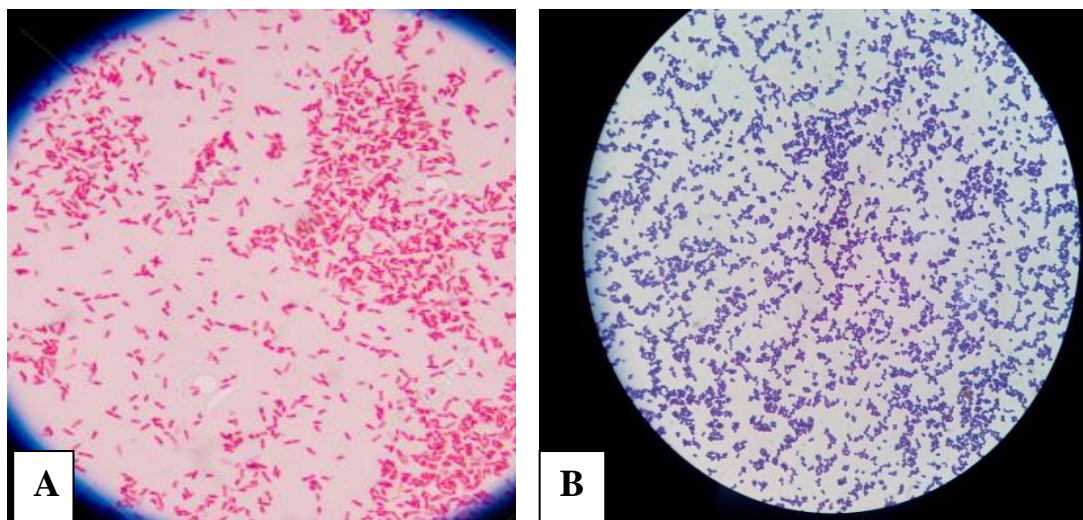
L'observation microscopique des échantillons entre lames et lamelles, nous a permis de déterminer les caractères suivants (**Tab.5**).

**Tableau 5:** Résultat de l'examen microscopique à l'état frais.

	Gélose nutritive	Chapman	Hektoen	Cétrimide
Porte d'urgence	Cocci; immobile	Bacille ; immobile	/	/
Drap d'urgence	Cocci; immobile	Cocci; immobile	Bacille ; mobile	/
Chaise roulant	/	/	/	Cocci ; immobile
Paillasse	Bacille ; mobile	Cocci ; immobile	Bacille ; mobile	Bacille ; mobile
Lit salle réveil	Cocci ; immobile	Cocci ; immobile	Bacille; mobile	Bacille ; mobile
Table opératoire	Cocci ; immobile	Cocci; immobile	Bacille, mobile	/

### 1.2.2 Coloration de Gram

Après coloration de Gram, l'examen microscopique nous a permis d'observer des bactéries à Gram positif et des bactéries à Gram négatif (**Fig.6**).



**Figure 6:** Les différentes formes observées des bactéries isolées (**prise personnelle**).

**A:** Bacille à Gram négatif.

**B :** Cocci à Gram positif.

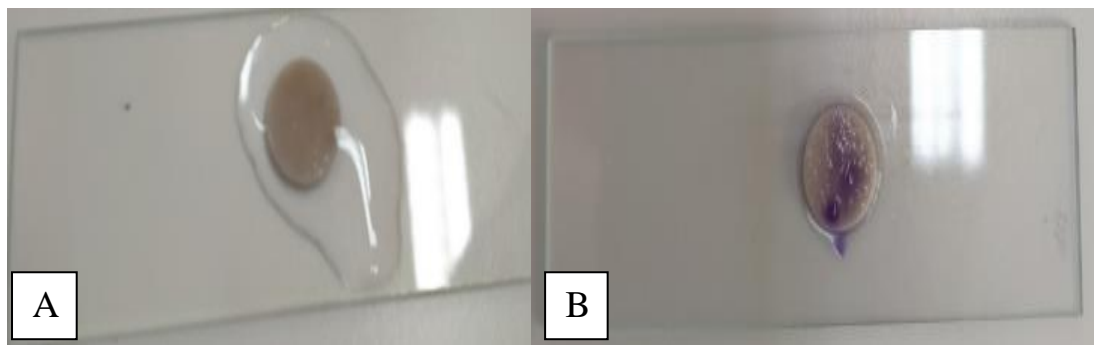
### 1.3 Résultats des tests biochimiques

#### 1.3.1 Test de catalase et d'oxydase

Les résultats obtenus des tests catalase et oxydase des bactéries isolées. Sont présentées dans les figures 7 et 8.



**Figure 7:** Résultat de test catalase



**Figure 8:** Résultat de test oxydase (**Prise personnelle**).

**A:** négatif (-).

**B:** positif (+).

#### 1.3.2 Test coagulase

La figure 10 représente le résultat du test coagulase. Le résultat obtenu a montré l'absence de cette enzyme chez les bactéries isolées ce qui indique l'absence de l'espèce *Staphylococcus aureus* dans nos prélèvements.



**Figure 9:** Résultat négatif de test coagulase (**Prise personnelle**).

#### 1.4 Résultat d'identification biochimique

Les résultats de l'identification biochimique des bactéries isolée sont présentés dans le tableau ci-dessous et les figures 10.11.12.

**Tableau 6:** Les différentes espèces bactériennes identifiées.

Site	L'espèce
La porte d'urgence	<i>Pseudomonas putida</i>
La salle opératoire A scialytique	<i>Aerococcus urinae</i>
Chariot de transport de malade de la salle réveil	<i>Aerococcus viridans</i>
Chaise roulante d'urgence	<i>Streptococcus constellatus</i>
Chariot de la salle de stérilisation	<i>Bacillus coagulans</i>
Drap d'urgence	<i>Serratia ficaria</i>





Figure 10: Galerie API 20 E d' *Aerococcus viridans* (Prise personnelle).



Figure 11: Galerie API 20 NE de *Pseudomonas putida* (Prise personnelle).



Figure 12: Galerie API STREP de *Streptococcus constellatus* (Prise personnelle).

### 1.5 Antibiogramme

Le tableau 7 et les figures (13, 14,15 et 16) résument les résultats de l'antibiogramme des différentes espèces bactériennes.

**Tableau 7:** Résultats de l'antibiogramme.

<b>Antibiotique</b> <b>Bactéries</b>	<b>AMX</b>	<b>P</b>	<b>GEN</b>	<b>E</b>	<b>VA</b>	<b>F</b>	<b>SXT</b>
<i>Pseudomonas putida</i>	<b>R</b>	/	<b>S</b>	/	/	/	/
<i>Aerococcus urinae</i>	/	<b>S</b>	/	/	<b>I</b>	<b>S</b>	/
<i>Aerococcus viridans</i>	/	/	/	<b>S</b>	<b>R</b>	/	/
<i>Streptococcus costellatus</i>	/	/	<b>S</b>	/	<b>I</b>	/	/

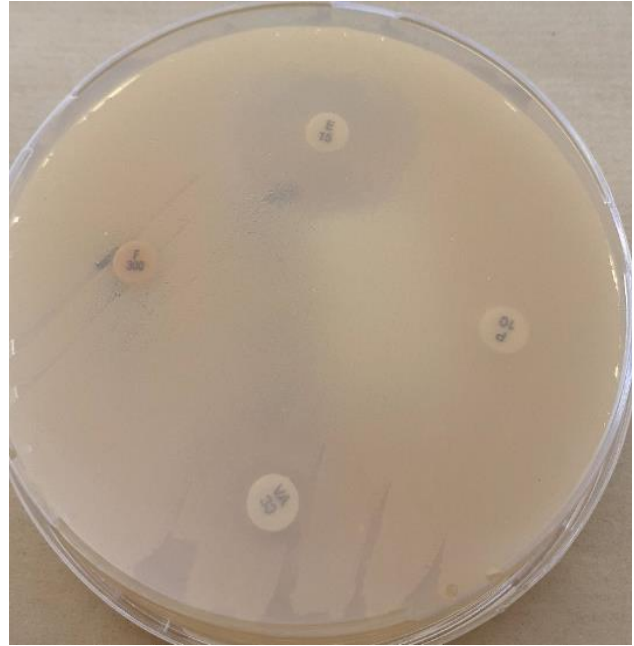
**R** : Résistante.

**S** : Sensible.

**I**:Intermédiaire.



**Figure 13:** l'antibiogramme de *Pseudomonas putida* (Prise personnelle).



**Figure 6:** l'antibiogramme d'*Aerococcus viridans* (Prise personnelle).



**Figure 15:** l'antibiogramme d'*Aerococcus urinae* (Prise personnelle).



**Figure 7:** l'antibiogramme de *Streptococcus costellatus* (Prise personnelle).

## 2. Discussion

Notre étude a pour but d'isoler, d'identifier des bactéries responsables des infections nosocomiales et d'évaluer leur résistance aux ATB, et ceci à partir de 15 prélèvements effectués au niveau des deux services (le bloc opératoire et les urgences) de l'hôpital EL Hakim Okbi de la ville de Guelma.

A partir des résultats des analyses bactériologiques que nous avons réalisés, nous avons pu identifier plusieurs espèces au niveau des différents sites choisis : *Pseudomonas putida* (la porte d'urgence) ; *Aerococcus urinae* (la salle opératoire A scialytique) ; *Aerococcus viridans* (chariot de transport de malade de la salle réveil) ; *Streptococcus constellatus* (chaise roulante d'urgence) et *Bacillus coagulans* (chariot de la salle de stérilisation); *Serratia ficaria* (drap d'urgence).

Ces résultats confirment que le milieu hospitalier constitue un réservoir de germes potentiellement pathogènes pour l'Homme et est responsable des infections nosocomiales.

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques testés sur quatre espèces : *Pseudomonas putida*; *Aerococcus urinae* ; *Aerococcus viridans* et *Streptococcus constellatus*, nous a montré que parmi les espèces bactériennes isolées, certaines acquièrent une résistance aux différents ATB utilisés notamment l'amoxicilline et la vancomycine, ces résultats sont en accord avec ceux cités par **Philippon** en **2008**.

A l'issue de notre travail, la variation des espèces et leur distribution au niveau des sites choisis peut être expliqué par contamination directe ou indirecte par : le matériel non stérile, les déplacements du personnel et des visiteurs venant de l'extérieur entre les différents services sans aucun respect des règles de prévention.

La plupart des espèces identifiées durant cette étude provoquent des infections urinaires, ces résultats sont en accord avec ceux cités dans les travaux de **Tohme et al.** en **1998** et avec ceux obtenus par **Amazian et al.**, en **2010** qui ont montré que les IU étaient les infections les plus fréquentes : elles représentaient 25,9 % de l'ensemble des infections nosocomiales contractées et une prévalence de 2,6 % .

Cette étude nous a permis de faire un premier état des lieux sur la situation des infections nosocomiales dans les différents services de cet hôpital. Où il en ressort que le

service des urgences constitue un service à hauts risques. Il s'agit particulièrement du renforcement de l'application des mesures générales d'hygiène, et plus précisément l'hygiène des malades et de l'environnement hospitalier, de la sensibilisation du personnel hospitalier concernant ces risques sous-estimés et de la nécessité d'une surveillance adéquate des souches BMR dans l'environnement des hôpitaux algériens.

**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 le profil de la résistance de ces espèces 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 *Pseudomonas putida* ; *Aerococcus urinae* ; *Aerococcus viridans*. *Streptococcus constellatus*; *Bacillus coagulans*; *Serratia ficaria*. Les espèces identifiées sont déjà citées par la littérature scientifique comme des germes responsables de ce type d'infection. L'étude de la sensibilité aux ATB a montré que certaines espèces isolées expriment une résistance à l'amoxicilline et à la vancomycine.

Pour la lutte contre les infections nosocomiales, il faut adopter un programme de surveillance spécifique pour chaque service en prenant en considération les spécificités des services et leur capacité de contribuer aux infections. L'organisme hospitalier doit évaluer régulièrement la qualité du nettoyage et de la désinfection de l'environnement physique. L'application de ces mesures de base permettra de contribuer à la limitation de la contamination de l'environnement hospitalier et ainsi de la survenue des infections nosocomiales.

D'une manière générale, nous pensons que cette modeste étude doit être complétée par d'autres études, plus approfondies telles, l'utilisation des outils moléculaires et génétiques (PCR) dans le but d'identifier et de caractériser plus de germes, puis, déterminer leurs formes de résistance en utilisant des techniques des CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) et CMB (Concentration Minimale Bactéricide) de BMR (Bactérie Multi-Résistante).

**Références**

**Bibliographiques**



## Références Bibliographiques

- 📖 **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.
- 📖 **Ammour N., Zekri D et Lazreg., (2006).** Les infections Nosocomiales. Rapport de stage de doctorat, Université CHU TIDJANI DAMERDJI-Tlemcen-Algérie, 47 P.
- 📖 **Andre J., Atsanis G., Boirier J., Ctala M. (2008).** Histologie : Organes, Systèmes Et Appareils, Université Bière et Marie Curie, 102 P.
- 📖 **Astagneau P., Ambrogi V., (2013).** Infections nosocomiales et infections associées aux soins. Elsevier Masson SAS, Vol 09, N01, 02, 07 P.
- 📖 **Atanda, O., Oguntubo, A., Adejumo, O., Ikeorah, J., & Akpan, I. (2007).** Aflatoxin M1 contamination of milk and ice cream in Abeokuta and Odeda local governments of Ogun State, Nigeria. *Chemosphere*, Elsevier Masson SAS.vol 68(8), 1455-1458.
- 📖 **Balédent, V., Lebert, B. W., Toulemonde, P., Ablett, J. M., & Rueff, J. P. (2018).** Emergent high-spin state above 7 GPa in superconducting FeSe. *Physical Review B*, 97(18), 180503.
- 📖 **Barbier P., (1999).** Les infections nosocomiales : quel rôle pour le pharmacien hospitalier ? , Ecole Nationale de la Santé Publique. (E.N.S.P.). Rennes. FRA. 65 P.
- 📖 **Barbut Frédéric., (2016)** Organisation de la lutte contre les infections nosocomiales. Elsevier SAS, 90-65-0155.
- 📖 **Benfreha., Temmouri H. (2014).** Etude Epidémiologique des Bactéries responsables des Infections Nosocomiales et Mise en Place d'un Plan de Prévention et de Lutte (Hôpital de Mascara). Thèse de doctorat, Université Mustapha Stambouli- MASCARA, 05 P.
- 📖 **Berche P., Gailard J et Simonet. (1989).** Bactériologie des infections humaines. Paris : Flammarion médecine-sciences. 660 P

- 📖 **Bezzaoucha A., Makhoul E., Dekkar N et Lamdjadani N. (1994).** Prévalence des infections nosocomiales au centre hospitalo–universitaire de Bab El Oued-Alger. Médecine et Maladies Infectieuses. Vol 24, N02.
- 📖 **Bonnet J. (2014).** Utilisation raisonnées des antibiotiques en élevage porcin, démarche d’accompagnement dans sept élevages. Thèse de doctorat, Ecole nationale vétérinaire d’Alfort-France, 132 P.
- 📖 **Bourgeois M. (2019).** Les infections nosocomiales : entre prévention et réparation. Mémoire de Master, Université de Lille-France, 118 P.
- 📖 **Boyer S, Guyard M, Caseris M, Blanc T, Pinquier D, Laudénbach V. (2013).** Infections nosocomiales en réanimation pédiatrique, doi : 10.1007/978-2-8178-0407-1\_14
- 📖 **Bruyère F., Lafauri M. (2013).** Infections associées aux soins et infections nosocomiales en urologie. Elsevier Masson SAS, vol 06, N01.
- 📖 **Carle S. (2009)** La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important !. Pharmactuel. Pharmactuel, vol 42, N02. 07 P.
- 📖 **CA-SFM.** Antibiogramme en diffusion. Recommandations techniques et Guide d’interprétation. Communiqué 1998 du comité de l’antibiogramme de la société française de microbiologie. Sanofi Diagnostics Pasteur, 12P.
- 📖 **Courvalin P. (2008).** La résistance des bactéries aux antibiotiques : combinaisons de mécanismes biochimiques et génétiques. Bulletin de l’Académie Vétérinaire de France, (1), 7. doi:10.4267/2042/47917, 8-11 P.
- 📖 **Dali A. (2015).**Infection nosocomiale à bactéries multi résistance (BMR) en réanimation adulte a l'EHUO profil épidémiologique, facteurs de risque et facteurs pronostiques. Thèse de Doctorat en science médicale. Université d'ORAN 1 Ahmed BNBELLA. 161P.
- 📖 **Décoester, D., Badertscher, D. L., Damak, H. A. S. S. E. N., Mercier, L. U. D. I. V. I. N. E., & (2016).** Prise en charge de la neutropénie fébrile. *Rev Med Suisse*, 12, 1321-5.
- 📖 **Degrémont (2005).** Mémento technique de l’eau, Lavoisier. Ed 10<sup>ème</sup>. Vol 1. ISBN : 2-7430-0717-6, Paris

- 📖 **Delarras Camille. (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Lavoisier. Editions TEC and DOC. 11, rue la voiser F-75008 Paris : 2007 463 P. ISBN : 978-2-714-30-0945-8 Pages: 102, 103, 105, 128, 129.
- 📖 **Delarras Camille., Bernard Trébard., DURAND Joëlle (2003)** Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux. 2<sup>e</sup> édition.
- 📖 **Derabza M. (2015).** Emergence en milieu hospitalier des bacilles Gram négatifs multi résistants aux antibiotiques : étude bactériologique et moléculaire. Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar-Annaba. 259 P.
- 📖 **Diakaria G. (2002).** Etude de la prévalence des infections nosocomiales d'origine bactérienne dans le service de néphrologie et dans l'unité d'hémodialyse à l'Hôpital du Point G. Thèse de doctorat, Université de Bamako-Mali. 65 P.
- 📖 **Drancourt M. (2016).** Antiquité of antibiotiques résistance. Journal des Anti-infectieux. Journal des Anti-infectieux. Vol 18, N 02, 40-44 P.
- 📖 **Ducel G., Fabry J., Nicolle L. (2002).** Prevention des infections nosocomiale. World Health Organization. 80 P.
- 📖 **EL ABDANI S. (2016).** Evolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques et conseils en antibiothérapie Thèse de doctorat, Université MOHAMMED V-RABAT. 192 P.
- 📖 **GUIBERT J., GOLDSTEIN F-W et al. (1981).** Infection à entérobactérie EMC, Paris, Maladies infectieuses. 16, 80,105 P. 1981.
- 📖 **Haouam., Boucheliga. (2020).** Evaluation de la résistance aux antibiotiques des bactéries isolées du milieu hospitalier cas de l'hôpital Khaledi Abdelaziz -Tébessa. Mémoire de Master II. Université 8 Mai 1945 Guelma.50 P.
- 📖 **Hounsa A., Kouadio L. (2010).** Automédication par les antibiotiques provenant des pharmacies privées de la ville d'Abidjan en Côte d'Ivoire. Medicine et Maladies Infectieuses. Vol 40, N06. 333-340 P.
- 📖 **Janvier, F., Mbongo-Kama, E., Mérens, A., & Cavallo, J. D. (2008).** Les difficultés d'interprétation de l'examen cyto bactériologique des urines. *Revue Francophone des laboratoires*, 2008(406), 51-59 P.
- 📖 **Jérémy Berthuin et Mathieu Miras. (2018).** La résistance aux antibiotiques: un enjeu de sante publique et économique. Bpifrance, 27 P.

- 📖 **KAYSER F, BÖTTGER C., DEPLAZES P, HALLER O., ROERS A. (2008).** Manuel de poche de microbiologie médicale. Sciences Flammarion, Paris. Ed 11<sup>e</sup>. 66 P.
- 📖 **Kernane Sana & Khanouche Meriem. (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.
- 📖 **Knothe G., Shah P., Kremery V., Antal M., Mitsuhashi S. (1983)** Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumonia* and *Serratia marcescens*. Doi: 10.1007/BF01641355.
- 📖 **Lachassinne E., Letamendia-Richard E et Gaudelus J. (2003).** Épidémiologie des infections nosocomiales en néonatalogie Epidemiology of nosocomial infections in neonates. doi:10.1016/j.arcped.2003.10.016.
- 📖 **Lansing M Prescott., John P Harley ET Donald A Klein. (2003).** Microbiologie.de boek. 2<sup>e</sup> édition française. 866,867 P.
- 📖 **Le Gallou F et Lepelletier D. (2007).** Contrôles particuliers et microbiologiques de l'air et contrôle microbiologiques des surfaces dans les établissements de santé. Elsevier Masson SAS. Doi : 10.1016/S2211-9698(17)74812-1.
- 📖 **Leminor L., Véron M. (1982).** Bactériologie médicale 1<sup>e</sup> édition Flammarion, paris, 2<sup>e</sup> tirage. ISBN : 2-257-12418-9.
- 📖 **Lucet, J. C., Mimos, O., Kerforne, T., Pascal, J., Souweine, B., Goudet, V., ... & CLEAN Trial Investigators. (2015).** Skin antisepsis with chlorhexidine–alcohol versus povidone iodine–alcohol, with and without skin scrubbing, for prevention of intravascular-catheter-related infection (CLEAN): an open-label, multicentre, randomised, controlled, two-by-two factorial trial. *The Lancet*, 386(10008), 2069-2077.
- 📖 **Meryzog. (2010).** Infections acquises dans les hôpitaux algériens : causes, coûts et modalités de traitement. Reformes Economiques et Intégration en Economie Mondiale. N04.

- 📖 **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.
- 📖 **MULLER A. (2017).** Bon usage des antibiotiques : résultats d'actions dans différents types d'établissements de sante. Thèse de doctorat, Université bourgogne-franche-comte-France, 193 P.
- 📖 **Muylaert A., mainil J G. (2012).** Résistance bactériennes aux antibiotiques: les mécanismes et leur «contagiosité». Doi : 156, 109- 123
- 📖 **OMS.** Guide pratique de prévention des infections nosocomiales de l'OMS Disponible sur : (<http://www.who.int/iris/bitstream/10665/254665/1/WHO-HIS-SDS-2017.3-fre.pdf>).
- 📖 **Organisation mondiale de la santé (OMS). 2015.** Plan d'action mondial pour combattre la résistance aux antimicrobiens. Bibliothèque de l'OMS ,04-12 P.
- 📖 **Paul Battraud. (2017).** La résistance aux antibiotiques, un mythe ou une réalité ? Thèse de doctorat, Université de Lille. 128 P.
- 📖 **Philippon A. (2008).** Résistance bactérienne : définitions, mécanismes, évolution. Doi:11668598. 1-13 P.
- 📖 **Philippon., Thomas. (2010).** "Financiers versus Engineers: Should the Financial Sector Be Taxed or Subsidized?" *American Economic Journal: Macroeconomics*, 2 (3): 158-82.DOI: 10.1257/mac.2.3.158
- 📖 **Pitout J., Hanson N., Church D et Laupland K. (2004).** Population-based laboratory surveillance for Escherichia coli-producing extended-spectrum beta-lactamases: importance of community isolates with blaCTX-M genes. Doi: 10.1086/421094
- 📖 **Piyush Baidara. (2019).** Baco résicterial Adaptation to co-résistance pp 191-210).
- 📖 **Rasamiravaka T., Rasoanandrasana S., Olivat Rakoto Alson A., Rasamindrakotroka A. (2015).** Coagulase-test en tube sur plasma human pour l'identification de Staphylococcus aureus: peut-on l'utiliser en routine? Journal de Biologie Médicale, vol 04, N04.

- 📖 **SAMOU FOTSO HAMEL SAID. (2005).** Les infections nosocomiales dans le service de chirurgie « B » de l'hôpital du point G. Thèse de doctorat, Université du Mali. 106 P.
- 📖 **Sayad L. (2008).** Qualité physico-chimique et bactériologique des eaux de l'écosystème lacustre lac des Oiseaux (Wilaya EL Tarf). Mémoire de Magister, Université Badji Mokhtar ; Annaba ; p 110
- 📖 **Talon D., Hocquet D., Bertrand X. (2015).** Infections nosocomiales. Elsevier Masson SAS. Vol 12, N02.
- 📖 **Tohme A., Karam-sarkis D., El Rassi R., chèlala D., Ghayad E. (1998).** Agents et conséquences des infections nosocomiales dans un centre hospitalier universitaire libanais. Elsevier Masson SAS, vol 152, N02.
- 📖 **Veyssiere A. (2019).** La résistance aux antibiotiques des bactéries les plus communément rencontrées dans les infections communautaires. Thèse de doctorat, université de bordeaux-France, 107 P.
- 📖 **Yakhlef G., Laroui S., Hambaba L., Aberkane M., Ayachi A. (2011).** Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle. DOI: 10.1007/s10298-011-0641-6.
- 📖 **YALA D., MERAD A0, MOHAMEDI., OUAR KORICH M. (2001).** Résistance Bactérienne aux antibiotiques, Médecine du Maghreb 2001. 91 P.
- 📖 **ZIAI S. (2014).** La résistance bactérienne aux antibiotiques : apparition et stratégies de lutte. Thèse de doctorat, université de LUMOGES, faculté de pharmacie. 151 P.

## **Sites d'internet**

[1] [http://www.livrespourtous.com/e-books/detail/Les-infections nosocomiales/onecat/Livres-electroniques+Medecine-et Sante+Epidemiologie/0/all\\_items.html](http://www.livrespourtous.com/e-books/detail/Les-infections-nosocomiales/onecat/Livres-electroniques+Medecine-et-Sante+Epidemiologie/0/all_items.html) (consulté le 15/05/2021)

[2] <https://microbiologiemedicale.fr/gelose-hektoen/> (consulté le 20/04/2021)

[3] <https://microbiologiemedicale.fr/gelose-au-cetrimide/> (consulté le 21/04/2021)

[4] <https://microbiologie-clinique.com/API.html> (consulté le 03/06/2021)

[5] [https://fsnv.univsetif.dz/telecharger/EDT2017/TP\\_Microbiologie\\_2eAnnee\\_SNV.pdf](https://fsnv.univsetif.dz/telecharger/EDT2017/TP_Microbiologie_2eAnnee_SNV.pdf)

(Consulté le 22/05/2021)

# Annexes



## **Annexe I**

### **Matériel utilisé**

Le matériel utilisé au laboratoire est le suivant:

#### **• Appareillages :**

- autoclave
- écouvillons stériles
- étuves à 37°C
- réfrigérateur
- centrifugeuse

#### **• Verrerie :**

- lames et lamelles
- pipettes pasteurs
- tubes à essai stériles

#### **• Autres matériel :**

- anse de platine
- bec bunsen
- boîte de pétrie stériles
- micro pipette
- tubes à hémolyse
- système Api 20.

## **Annexe II**

### **Les milieux de culture**

#### **1. Gélose au cétrimide**

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

L'eau distillée g/ litre

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

#### **2. Chapman**

Peptone 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 (G.N)**

Peptone pepsique de viande.....	5
Extrait de viande.....	1
Extrait de levure.....	2
Chlorure de sodium.....	.5

Agar-agar..... 15

L'eau distillée g/ litre

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

### **5. Gélose Hektoen**

Protéose-Peptide .....12g

Extrait de levure .....3g

Désoxycholate de sodium .....9g

Lactose..... 12g

Saccharose .....12g

Salicine..... 2g

Bleu de bromothymol..... 65mg

Fuchsine acide .....100mg

Thiosulfate de sodium..... 5g

Citrate ferrique ammoniacal..... 1.5g

Chlorure de sodium .....5g

Agar .....15g

pH = 7.5 / autoclavage à 120° C pendant 20 min.

### **6. Bouillon Nutritif**

Peptide..... 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 III**

### **Les réactifs et colorants**

#### **Violet de Gentiane**

Violet de gentiane .....1g

Ethanol à 90% .....1ml

Phénol .....2g

Eau distillée .....100ml

#### **1. Lugol**

Iode .....1g

Iodure de potassium .....2g

Eau distillée .....100ml

#### **2. Fuchsine**

Fuchsine basique .....1g

Alcool éthylique .....100ml

Phénol .....15g

Eau distillée .....100ml

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

Perchlorure de fer .....3.4g

Eau distillée ..... 100ml

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

Paradiméthylaminobenzaldéhyde ..... 5.0 g

Alcool isoamylique ..... 75.0 ml

HCL 37% .....25.0 ml

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

Hydroxyde de potassium .....40g

Eau distillée .....100ml

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

Alpha naphthol .....6g

Ethanol .....100ml

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

Acide sulfamilique ..... 0.8 g

Acide acétique 5N .....100 ml

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

Naphtylamine ..... 0.5 g

Acide acétique 5N .....100 ml.

## Annexe IV

### - Les tableaux de lectures des API

**Tableau 01** : la lecture de la galerie api 20NE

Tests	Substrat	Enzymes/Réaction	Résultats	
			Négative	Positif
NO3	Nitrate de potassium	Réduction des nitrates en nitrites	<b>Nit 1+Nit 2 / 5min</b>	
			Incolore	Rose/Rouge
		Réduction des nitrates en azote	<b>Zn/5mn</b>	
			Incolor	Rose
TRP	tryptophane	Formation d'indole	<b>TRP / 3-5mn</b>	
				Incolore
GLU	Glucose	Fermentation	Bleu à vert	Jaune
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Orange/ rose/ rouge
URE	Urée	Uréase	Jaune	Orange/rose/rouge
ESC	Esculine	<b>Hydrolyse(<math>\beta</math>-glucosidase)</b>	Jaune	Gris/marron/noir
GEL	Gélatine	Hydrolyse(protéase)	Pas de diffusion du pigment	Diffusion du pigment noir
PNPG	p-Nitro-phényle- $\beta$ -D-Galactopyranoside	$\beta$ -galactosidase	incolore	Jaune
GLU	Glucose	Assimilation	Transparence	Trouble
ARA	Arabinose			
MNE	Mannose			
MAN	Mannitol			
NAG	N-acétyl-glucosamine			
MAL	Maltose			
GNT	Potassium Gluconate			
CAP	Acide Caprique			
ADI	Acide Adipique			
MLT	Acide Malique			
CIT	Trisodium Citrate			
PAC	Phényl-acétate			
OX	Tetraméthyl-p-phenylène diamine	Cytochrome oxydase	Incolore	Violet

**Tableau 02** : la lecture de la galerie api 20E

Test	Groupement active	Réaction/enzyme	Résultats	
			Négative	Positive
<b>ONPG</b>	Ortho-nitro-phényle B-D Galactopyranoside	Beta-Galactosidase	incolore	<b>Jaune</b>
<b>ADH</b>	L-Arginine	dihydrolase Arginine	jaune	<b>Rouge/orangé</b>
<b>LDC</b>	L-Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	<b>Rouge/orangé</b>
<b>ODC</b>	L-Orthine Omithine	Décarboxylase	jaune	<b>Rouge/orangé</b>
<b>CIT</b>	TriSodium citrate	Utilisation de citrate	vert	<b>Bleu-vert/orangé</b>
<b>H2S</b>	Thiosulfate de sodium	Production de H2S	incolore	<b>Noire</b>
<b>URE</b>	Urée	Urease	jaune	<b>Rouge – orangé</b>
<b>TDA</b>	Tryptophane	Tryptophane désaminase	jaune	<b>Marron</b>
<b>IND</b>	Tryptophane	Production d'indole	incolore	<b>Rose</b>
<b>VP</b>	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	VP1+VP2	
			incolore	<b>Rouge/Rose</b>
<b>GEL</b>	Gélatine (origine bovine)	Gélatinase	Diffusion de pigments noirs	<b>Pas de diffusion de pigments noirs</b>
<b>GLU</b>	Glucose	Fermentation/oxydation	Bleu /bleu-vert	<b>Jaune /jaune-gris</b>
<b>MAN</b>	D-Mannitol	Fermentation/oxydation	Bleu /bleu-vert	<b>Jaune</b>
<b>INO</b>	Inositol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	<b>Jaune</b>
<b>SOR</b>	D-Sorbitol	Fermentation/oxydation	Bleu /bleu-vert	<b>Jaune</b>
<b>RHA</b>	L-Rhamnose	Fermentation/oxydation	Bleu /bleu-vert	<b>Jaune</b>

<b>SAC</b>	D-Saccharose	Fermentation/oxydation	Bleu /bleu-vert	<b>Jaune</b>
<b>MEL</b>	D-Melibiose	Fermentation/oxydation	Bleu /bleu-vert	<b>jaune</b>
<b>AMY</b>	Amygdaline	Fermentation/oxydation	Bleu /bleu-vert	<b>Jaune</b>
<b>ARA</b>	L-arabinose	Fermentation/oxydation	Bleu /bleu-vert	<b>Jaune</b>
<b>Réduction de nitrate (GLU tube)</b>	Potassium Nitrate	Production de NO <sub>2</sub>	Nit1+Nit2, 2-3 min	
			Jaune	<b>Rouge</b>
		Réduction au N <sub>2</sub>	Zn / 5 min	
			Orange /rouge	<b>Jaune</b>
<b>OF-O</b>	Glucose	Oxydation de Glucose	Vert	<b>Jaune</b>
<b>OF-F</b>	Glucose	Fermentation de glucose sous l'huile	Vert	<b>Jaune</b>



**Tableau 03 : la lecture 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-naphtylamide	0,0256	PYRrolidonyl Arylamidase	ZYM A + ZYM B / 10 min (PYRA à LAP) (1) au besoin décoloré par éclaircissement intense			
				Incolore ou Orange très pâle		Orange	
αGAL	6-bromo-2-naphtyl-α-D-galactopyranoside	0,0376	α-GALactosidase	Incolore		Violet	
βGUR	acide naphtol-ASBI-glucuronique	0,0537	β-GIUcuRonidase	Incolore		Bleu	
βGAL	2-naphtyl-βD-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-naphtylamide	0,0256	Leucine AminoPeptidase	Incolore		Orange	
ADH	L-arginine	1,9	Arginine DiHydrolase	Jaune		Rouge	
				4 h	24 h	4 h	24 h
RIB	D-ribose	1,4	acidification (RIBose)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
ARA	L-arabinose	1,4	acidification (ARAbinose)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
MAN	D-mannitol	1,36	acidification (MANnitol)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
SOR	D-sorbitol	1,36	acidification (SORbitol)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
LAC	D-lactose (origine bovine)	1,4	acidification (LACTose)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
TRE	D-tréhalose	1,32	acidification (TREhalose)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
INU	inuline	5,12	acidification (INUline)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
RAF	D-raffinose	3,12	acidification (RAFFinose)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
AMD	amidon (2)	2,56	acidification (AMIDon)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
GLYG	glycogène	1,28	acidification (GLYcoGène)	Rouge ou Orange		Jaune franc	

## **Résumé**

Une infection nosocomiale est une infection acquise dans un hôpital. Elle est très majoritairement d'étiologie bactérienne. Elle est d'origine endogène ou exogène. Elle est souvent due à des BMR. L'apparition de ces germes dans l'environnement hospitalier pose un problème majeur pour la santé publique.

L'objectif de notre étude est l'isolement et l'identification des germes bactériens et l'évaluation de leur résistance aux ATB dans l'environnement hospitalier. 15 prélèvements ont été effectués à partir de deux services: bloc opératoire et service d'urgence de l'hôpital El Hakim Okbi. Ils sont analysés au niveau du laboratoire de microbiologie de l'université de Guelma.

Les résultats obtenus montrent la présence des bactéries tels que *Pseudomonas putida* ; *Aerococcus urinae* ; *Aerococcus viridans*; *Streptococcus constellatus* et *Bacillus coagulans*; *Serratia ficaria*. Et l'étude de la sensibilité aux ATB montre que certaines espèces isolées expriment une résistance à l'amoxicilline et à la vancomycine.

**Les mots clés :** infection nosocomiale, milieu hospitalier, résistance bactérienne, ATB

## **Abstract**

A nosocomial infection is an infection acquired in a hospital. It is mostly of bacterial etiology. It is of endogenous or exogenous origin. It is often due to BMR. The appearance of these germs in the hospital environment poses a major problem for public health.

The objective of our study is the isolation and identification of bacterial germs and the evaluation of their resistance to ATB in the hospital environment. 15 samples were taken from two departments: operating room and emergency department of El Hakim Okbi hospital. They are analyzed at the laboratory of microbiology of the University of Guelma.

The results obtained show the presence of bacteria such as *Pseudomonas putida*; *Aerococcus urinae*; *Aerococcus viridans*; *Streptococcus constellatus* and *Bacillus coagulans*; *Serratia ficaria*. And the study of susceptibility to TBAs shows that some isolated species express resistance to amoxicillin and vancomycin.

**Key words:** nosocomial infection, hospital environment, bacterial resistance, ATB

## المخلص

عدوى المستشفيات هي العدوى المكتسبة في المؤسسات الاستشفائية. وتعتبر البكتيريا المسبب الرئيسي لها والتي قد تكون من أصل داخلي أو خارجي. والأكثر شيوعا هي البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية . تشكل هذه الجراثيم خطر كبير للصحة العامة في بيئة المستشفى.

الهدف من دراستنا هو عزل وتحديد الجراثيم البكتيرية وتقييم مقاومتها للمضاد الحيوي في بيئة المستشفى. تم أخذ 15 عينة من قسمين من أقسام الخدمات الطبية: غرفة العمليات وقسم الطوارئ بمستشفى الحكيم عقبي. وتم تحليلها على مستوى مخبر الأحياء الدقيقة بجامعة قلمة.

النتائج التي تم الحصول عليها تظهر وجود بكتيريا مثل *Pseudomonas putida*؛ *Aerococcus* *urinae*، *Aerococcus viridans*، *Serratia ficaria*، *Bacillus coagulans* . وأظهرت دراسة الحساسية للمضاد الحيوي أن بعض الأنواع المعزولة أبدت مقاومة للأموكسيسيلين والفانكوميسين. **الكلمات المفتاحية :** عدوى المستشفيات، بيئة المستشفى، مقاومة البكتيريا، مضاد حيوي.