

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة 8 ماي 1945 قالمة

Université 08 Mai 1945 Guelma

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Microbiologie-Ecologie

Spécialité : Santé eau et environnement

Option : Microbiologie de l'environnement

Thème :

Isolement des bactéries en milieu hospitalier et l'étude de la résistance aux antibiotiques.

Présenté par :

- ✓ **CHERAFI Imane.**
- ✓ **ZIADI CHIBANE Mounia.**

Membres de jury :

- **Président (e) :** Mme Khenaka K. (MAA)
- **Encadreur :** M. Houhamdi M. (Pr)
- **Examineur :** M. Rouabhia K. (MAA)
- **Membre :** Mme. Grara N. (MCA)
- **Membre :** Mme. Khellaf M. (MCB)
- **Membre :** M. Adrar N. (MAA)

Juin 2017.

Sommaire

Remerciement

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des photos

Liste des tableaux

Introduction	1
---------------------------	----------

I. Partie bibliographique.

Chapitre 01 : Généralités sur les infections nosocomiales

1. Définition des infections nosocomiales.....	2
2. Epidémiologie des infections nosocomiales	2
3. Caractéristiques évolutives des infections nosocomiales, réservoirs et mode de transmission.....	4
4. Origine des germes.....	6
4.1. La flore saprophyte du malade lui-même	6
4.2. Le personnel soignant (médical ou paramédical).....	6
4.3. L'environnement.....	6
5. Facteurs favorisant les infections nosocomiales.....	6
6. Mode de contamination.....	7
6.1. Auto-infection	7
6.2. Hétéro infection.....	7
6.3. Xéno-infection.....	8
6.4. Exo-infection.....	8
6.5. Patient réceptif.....	8
7. Les différents types des infections nosocomiales.....	12
7.1. Infection urinaire.....	12
7.2. Infection du site opératoire.....	12
7.3. Pneumopathie nosocomiale.....	13
7.4. Bactériémie nosocomiale.....	14
7.5. Les infections sur cathéter	14
7.6. Autre infections nosocomiales.....	14

Chapitre 02 : Les agents responsables des infections nosocomiales

1. Bactéries	16
1.1. Les bacilles anaérobies à Gram positif.....	16

1.1.1. <i>Clostridium</i> spp.....	16
1.2. Bactérie a gram (+).....	17
1.2.1. Staphylocoques.....	17
1.3. Bactérie a gram (-).....	18
1.3.1. Les Entérobactéries.....	18
1.3.1.1. <i>E .coli</i>	19
1.3.1.2. <i>Klebsiella</i>	21
1.3.1.3. <i>Enterobacter</i>	22
1.3.1.4. <i>Serratia</i>	22
1.4. Les micro-organismes a Gram négatif.....	23
1.4.1. <i>Pseudomonas</i>	23
1.5. Les bactéries multi résistantes.....	24
1.5.1. Définition.....	24
1.5.2. Les types de B M R	24
1.5.2.1. Hospitaliers.....	24
1.5.2.2. Communautaire	24
2. Les virus.....	26
3. Les parasites et les champignons.....	26

Chapitre 03 : Prévention contre les infections nosocomiales.

1. Responsabilité de lutte contre les infections nosocomiales.....	27
2. Personnels des hôpitaux.....	27
2.1. L'administration de l'hôpital.....	28
2.2. Rôle du médecin.....	28
2.3. Rôle du microbiologiste.....	28
2.4. Rôle des personnels infirmiers.....	29
2.5. Service de nettoyage.....	29
3. Les patients.....	30
4. Les visiteurs.....	30

II. Partie expérimentale.

Chapitre 04 : Matériels et Méthodes.

1. Cadre d'étude	32
2. Prélèvement	32
2.1. Prélèvement à partir de l'air.....	32
2.2. Prélèvement à partir des surfaces sèches.....	32
2.3. Prélèvement à partir des surfaces humides.....	32

3. Isolement et purification des bactéries.....	35
3.1. Isolement.....	35
3.2. La purification.....	37
3.3. Méthode d'inoculation.....	37
4. Identification.....	38
4.1. Observation macroscopique.....	38
4.2. Observation microscopique.....	38
4.2.1. Examen à l'état frais.....	39
4.2.2. Examen après coloration.....	39
5. Tests biochimiques.....	40
5.1. Recherche de catalase – Test catalase.....	40
5.2. Recherche de l'oxydase – Test oxydase.....	40
6. Galeries biochimiques.....	41
7. Test de résistance aux antibiotiques.....	42
Chapitre 05 : Résultats et Discussion	
1. Résultat de l'enrichissement.....	44
2. Aspect macroscopique après l'isolement.....	44
3. Résultat d'examen microscopique.....	50
4. Tests biochimiques.....	52
5. Identification biochimique.....	52
6. Antibiogramme.....	55
Discussion.....	60
Conclusion	61

Annexe

Références bibliographiques.

Résumé.

Abstract.

ملخص

Remerciement

Notre premier remerciement va à dieu, le tout puissant qui nous a aidés pour réaliser ce modeste travail.

Nous tenon à remercier vivement notre encadreur Mr HOUHAMDI Moussa pour sa gentillesse et sa contribution à l'élaboration de ce travail.

On souhaite aussi remercier tout les membres de jury présent aujourd'hui.

J'adresse mes sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions et ont accepté à nos rencontrer et répondre à nos questions durant notre parcours et nos recherches.

On tenons à remercier le personnel de l'Hôpital Ibn-Zohr et Hakim Okbi de la ville de Guelma pour leur accueil bras ouvert et qui nous a faciliter l'acquisition des données nécessaire de ce travail.

On remercie vivement les techniciennes de laboratoire de bactériologie : Nadia, Amina, Imane et Meriem.

On remercie très spécialement les techniciennes de laboratoire de l'université Hassiba, Wafa, Laila et Houria. Ainsi que le personnel accueillant de la bibliothèque en particulier Amira.

A la fin on remercie tout nos collègues d'études particulièrement notre promotion.

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

DÉDICACE

Je dédie ce modeste travail

A la mémoire de mon Père, Qu'il puisse reposer en paix

A ma douce et tendre Mère, le symbole de la tendresse, du courage, de la responsabilité et de l'amour. En témoignage de ses prières, sa bénédiction, sa patience et ses sacrifices. Que Dieux te garde, te comble de santé, et te donne longue vie.

A mon cher frère Khaled, ma fierté dans cette vie.

A mes tendres, gentilles et adorables sœurs Nadjat et son mari Faycel, Aida et son mari Hacem et la petite Safa.

A ma nièce Belkisse, et mes neveux Iyade et Foufou

A mes chères cousines Amina, Bessma, en témoignage de mes plus profondes amitiés.

A mes chères tantes à qui j'exprime mes plus profonds sentiments d'amour.

A mes chères amies Bessma, Marwa, Asma, je les remercie pour le sourire qu'elles ont su toujours dessiner sur mon visage.

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

Au Dr. Benmarce et sa fille Manel pour son aide et sa patience

A ma promotion et tous qui connaisse Imane.

Imane.

DÉDICACE

Je dédie ce modeste travail

A mon très cher époux pour son soutien et son amour.

A mon sourire de vie, mon adorable enfant Tedjeddine que Dieu le protège pour moi.

A mes très chers parents qui m'ont toujours encouragé et soutenu.

A ma très chère et adorable sœur Abba

A mes deux frères Adel et Mourad

A ma belle-sœur Assia et mon neveu Mohamed

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

A ma chère amie Assia.

A tout mes collègues de travail.

A ma promotion et tous qui connaisse Mounia.

Mounia.

Liste des abréviations :

IN : Infection nosocomiales.

CDC: Centers for Diseases Control.

VRS: Virus Respiratoire Syncytial.

HAS: Haute Autorité de santé.

SARM: Staphylocoques résistants à la méticilline.

SARS: Severe acute respiratory syndrome.

CMV: Le cytomegalovirus.

SIDA: Le syndrome d'immunodéficience acquise.

VIH : Le virus de l'immunodéficience humaine.

SCN : Staphylocoques à coagulase négative.

SCT : Syndrome de choc toxique.

BMR : Les bactéries multirésistantes.

EBLSE : Entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu.

ERV : Entérocoque résistante à la vancomycine.

PLP : Protéines de liaison aux pénicillines.

FMAR : Flore mésophile aérobie revivifiable.

pH : Le potentiel hydrogène.

Gram + : Gram positif.

Gram - : Gram négatif.

MH : Gélose Mueller-Hinton .

GN : Gélose nutritive.

MR : Multi resistant

Liste des figures :

N° :	Titre de la figure	page
01	Transmission de l'infection hospitalière.	09
02	Transmission endogène.	10
03	Transmission exogène.	11
04	Localisation des infections nosocomiales les plus courantes	15
05	Les sites et mode de prélèvement.	33
06	Pourcentage des espèces présentes.	59

Liste des photos :

N° :	Titre de la photo	page
01	Méthode d'ensemencement des géloses.	38
02	La disposition des disques d'antibiotiques.	43
03	Résultats de l'enrichissement (présence d'un trouble dans le milieu).	44
04	Culture sur GN à partir de prélèvement (26).	49
05	Culture sur Mac Conkey à partir de l'échantillon (12).	49
06	Culture sur Mac Conkey à partir de l'échantillon (05).	49
07	Culture sur Chapman à partir de l'échantillon (02 et 16).	49
08	Culture sur GN à partir de l'échantillon (26 et 27).	49
09	Culture sur Mac Conkey à partir de l'échantillon (07).	49
10	Les différentes formes des cultures isolées.	50
11	Résultats de test Oxydase.	52
12	Résultats du test Catalase	52
13	Galerie API 20 NE avant et après incubation.	53
14	Galerie API Staph avant et après incubation.	53
15	Galerie API 20 E avant et après incubation.	53
16	Profil biochimique d <i>Enterobacter intermidus</i> .	54
17	Lecture par API Web d <i>Enterobacter intermidus</i> .	54
18	Résultat d'antibiogramme de la culture N°(12).	56
19	Résultat d'antibiogramme de la culture N°(10).	56
20	Résultat d'antibiogramme de la culture N°(05).	56
21	Résultat d'antibiogramme de la culture N°(17).	56

Liste des tableaux :

N° :	Titre de tableau	page
01	Les sites et les services des prélèvements effectués.	34
02	les Germes bactériens selon le caractère biochimique (Oxydases)	40
03	Galerias API bioMérieux SA et bactéries identifiables.	42
04	Liste des antibiotiques utilisé.	43
05	Résultats de l'isolement du différent prélèvement effectué	44
06	Résultats de l'examen microscopique à l'état frais et après coloration.	50
07	Résultat de l'antibiogramme.	55
08	les résultats obtenus pendant notre étude pratique.	58

Introduction

Introduction:

Les milieux hospitaliers sont des établissements de soins où un personnel soignant peut prendre en charge des personnes malades ou victimes de traumatismes trop complexes pour être traités à domicile ou dans le cabinet du médecin. **(Gros Jean, 1999), [10]**. Mais en même temps l'hôpital est également un lieu où l'on peut contracter des maladies infectieuses. **(Bounab, R et al, 2011), [5]**.

Quel que soit son statut immunitaire, la personne peut être infectée dans les milieux hospitaliers. Une infection nosocomiale est un accident médical encore appelé événement indésirable associé à la pratique des soins de santé. Ce n'est jamais une complication de la maladie à l'origine des soins. **(Gamer et al, 1988)**. Ces infections nosocomiales constituent un fléau mondial et un sérieux problème de santé publique et donc un sujet de préoccupation croissante dans le domaine de la santé publique pour lequel l'impact en matière de morbidité et des dépenses de santé est aussi important que celui en matière de mortalité.

L'objectif de notre travail est de contribuer à l'isolement et à l'identification des bactéries dans les services des deux milieux hospitaliers (Hôpital Ibn-Zohr et Hôpital Hakim Okbi) de la wilaya de Guelma puis évaluer leurs résistances vis-à-vis des antibiotiques.

Notre manuscrit est structuré en 5 chapitres interdépendants :

- Le Premier rassemble des généralités sur les infections nosocomiales ; définitions et types.
- Le deuxième expose les principaux agents responsables de ces infections nosocomiales.
- Le troisième relate les différentes modalités de prévention et comment lutter contre les infections nosocomiales.
- Le quatrième décrit le matériel utilisé et la méthodologie adoptée pour réaliser ce travail, soit l'isolement l'identification et l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées.
- Enfin, le cinquième expose les résultats trouvés et leur discussion.

Une conclusion clôture ce mémoire.

Chapitre 01

Généralités sur les infections nosocomiales.

1. Définitions des infections nosocomiales :

Les infections nosocomiales (IN) – aussi appelées infections hospitalières – sont des infections acquises pendant un séjour à l’hôpital et qui n’étaient ni présentes ni en incubation au moment de l’admission du patient. Les infections survenant plus de 48 heures après l’admission sont habituellement considérées comme nosocomiales. Des définitions permettant d’identifier les infections nosocomiales de diverses localisations (par exemple urinaires, pulmonaires) ont été établies, d’après celles publiées aux Etats-Unis d’Amérique par les Centers for Diseases Control Prévention (CDC) ou issues de conférences internationales, et sont utilisées aux fins de surveillance. Elles s’appuient sur des critères cliniques et biologiques et portent sur une cinquantaine de sites infectieux potentiels. **(G.Ducel.2002), [9].**

Les infections nosocomiales peuvent également être envisagées en tant qu’endémiques ou épidémiques.

Les infections endémiques sont les plus répandues. Les infections épidémiques surviennent lors de flambées de cas, définies par une augmentation inhabituelle, par rapport aux valeurs de référence, d’une infection ou d’un agent infectieux déterminés. **(G.Ducel.2002), [9].**

L’évolution des pratiques médicales a entraîné une diminution de la durée des séjours à l’hôpital et une augmentation des soins ambulatoires. Il a été proposé d’englober dans le concept d’infection nosocomiale les infections survenant chez les patients recevant un traitement dans un établissement de santé quel qu’il soit. Les infections contractées par le personnel ou les visiteurs de l’hôpital ou autre établissement de santé peuvent aussi être considérées comme des infections nosocomiales.

Des définitions simplifiées peuvent être utiles pour certains établissements n’ayant pas accès à des techniques diagnostiques poussées. **(G.Ducel.2002), [9].**

2. Épidémiologie microbienne des infections nosocomiales :

La plupart des infections en réanimation sont causées par des bactéries pyogènes banales. La part des infections virales parmi l’ensemble des infections nosocomiales est mal connue, en dehors de contextes épidémiques (par exemple, épidémie de VRS en réanimation pédiatrique).

Les bactéries responsables d'infections nosocomiales sont dominées par les bacilles Gram négatif, notamment *entérobactéries* et bacilles non fermentant ; *Escherichia coli*, et *Pseudomonas* viennent en tête. Typiquement, les germes «hospitaliers» diffèrent des germes responsables d'infections dites «communautaires» par les espèces rencontrées et leurs caractères de résistance aux antibiotiques. Ils sont plus volontiers associés aux épidémies, mais la majorité des infections nosocomiales est due à des germes de type «communautaire » encore relativement sensibles aux antibiotiques. Les infections liées à la contamination de matériels venant coloniser ou infecter les malades par contact direct ou indirect, impliquent plus fréquemment des germes saprophytes de l'environnement (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Serratia*, *Enterobacter*). [1]

La dichotomie simple entre infections nosocomiales (sensu stricto, acquises en établissement de santé) et communautaires, aux caractéristiques bien différentes, est cependant obscurcie par l'individualisation récente d'une catégorie intermédiaire «d'infection associée aux soins», favorisée par les échanges fréquents entre la ville et l'hôpital et le développement des soins ambulatoires, qui partagent certaines caractéristiques microbiologiques des infections hospitalières. [1]

La diffusion importante de certaines bactéries multi résistantes dans l'univers hospitalier et les circulations de malades entre différents types d'institutions et la communauté extrahospitalière expliquent que certaines d'entre elles, tels les staphylocoques dorés résistants à la méticilline (SARM), les Entérobactéries (notamment *Klebsiella* et *Enterobacter*) productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (EBLSE), puissent être rencontrées dès l'admission à l'hôpital et en réanimation, notamment lors des infections « associées aux soins » ; dans la plupart des cas, il s'agit d'une acquisition lors d'un séjour hospitalier antérieur. L'administration préalable d'antibiotiques est un des facteurs de risque essentiel, sélectionnant les germes résistants dans l'environnement hospitalier et la flore endogène des malades eux-mêmes, à l'origine d'infections secondaires. L'usage raisonné des antibiotiques, fondé sur les recommandations locales et nationales (HAS), fait partie intégrante de la prévention des infections. [1]

Bien que leur fréquence ait été réduite de plus de 50% dans les 15 dernières années, les SARM tiennent encore une place importante en France, avec de fortes variations locales. L'importance des SARM tient au fait que leur acquisition, essentiellement liée à une

transmission croisée, est potentiellement évitable, comme le montrent les taux très faibles observés dans certains pays d'Europe du Nord. [1]

Les infections nosocomiales virales peuvent être liées soit :

À la transmission aérienne ou manuportée de virus hautement transmissibles (SARS, virus grippal, VRS chez les enfants),

- à la réactivation d'une infection latente (CMV, Herpes virus),
- ou à une transmission par contamination de matériels par du sang ou des sécrétions biologiques contaminées, telles les hépatites B et C secondaires à l'utilisation de lancettes de prélèvement sanguin, ou à l'utilisation d'un matériel d'endoscopie mal désinfecté. [1]

3. Caractéristiques évolutives des infections nosocomiales, réservoirs et mode de transmission :

Le réservoir principal des germes impliqués dans les infections nosocomiales est constitué par les malades eux-mêmes, qui s'infectent avec les germes de la flore dont ils sont porteurs, que ce soit leur flore résidente normale, ou une flore modifiée, transitoire, acquise lors de l'hospitalisation. Cette flore «endogène» est riche et variée selon les sites de colonisation naturels cutanés ou muqueux, rendant compte de la diversité des étiologies possibles. L'infection se produit à l'occasion d'une réduction des défenses normales de l'organisme, de la rupture des barrières cutané-muqueuses spontanée ou provoquée par l'introduction de corps étranger(s) à travers un site non stérile. [1]

L'environnement hospitalier, correctement entretenu, est rarement en cause, sauf pour des populations à risque exposées à des germes particuliers: aspergillose chez les sujets neutropéniques (particulièrement lors de travaux), ou légionellose chez les sujets fragilisés exposés à une eau contaminée. Il peut également contribuer à la pérennisation d'épidémies à germes pyogènes banals (notamment staphylocoques, Entérocoques, *Clostridium*, *Klebsiella*, *Acinetobacter*) du fait de la contamination de l'environnement par les malades ou le personnel. L'entretien régulier des locaux de soins, adapté au degré de risque correspondant aux malades qui y sont hospitalisés, est une mesure de prévention indispensable. [1]

Le personnel est rarement en cause en tant que réservoir stable ; des épidémies (par

exemple à *Streptocoque A*, *Staphylocoque doré*, ou *Acinetobacter*) peuvent cependant survenir par contamination des malades à partir d'un porteur sain chez le personnel. En revanche, le personnel est le vecteur transitoire le plus important de la transmission des bactéries par manuportage; celui-ci peut être éliminé par une hygiène soigneuse des mains, en particulier par l'utilisation au lit du malade de solutions hydroalcooliques (SHA) avant tout contact avec le malade ou son environnement proche. [1]

Environ deux tiers des infections nosocomiales évoluent sur un mode endémique, autrement dit que les cas «sporadiques» ne sont pas reliés entre eux par un réservoir, un germe, ou un mode de transmission commun. [1]

Les infections nosocomiales épidémiques correspondent à l'inverse aux cas reliés entre eux par une même étiologie microbienne, un même réservoir, ou un même mode de transmission. Les services de réanimation sont particulièrement exposés à ce risque du fait de la promiscuité des malades, de la densité en soins et en personnel, et de la multiplicité des réservoirs possibles (environnement ou matériels). Les épidémies de germes sont les plus faciles à reconnaître, par l'espèce impliquée et souvent ses caractères de résistance aux antibiotiques (par exemple, entérocoque résistant aux glycopeptides; staphylocoque de sensibilité diminuée aux glycopeptides). Cependant, des épidémies d'infections par des germes différents peuvent être reliées par un même mode de transmission (essentiellement le manuportage), une contamination indirecte à partir d'un réservoir plurimicrobien ou d'un défaut de procédure de décontamination d'un matériel entrant en contact avec le malade. Leur fréquence est probablement sous-estimée, de même que celle des épidémies à germe banal, sans «marqueur de résistance» aux antibiotiques. [1]

En pratique, une épidémie est définie par une augmentation significative du nombre de cas d'infections regroupés dans le temps ou l'espace, ce qui suppose de connaître le taux endémique, et donc de disposer d'un système de surveillance permettant la mesure régulière de l'incidence des infections nosocomiales.

L'importance de l'identification des épidémies tient au fait qu'elles sont a priori évitables, et nécessitent la mise en œuvre immédiate de mesures de contrôle, en même temps que l'investigation épidémiologique et microbiologique, afin de déterminer le réservoir éventuel et les modes de transmission de l'infection. [1]

4. Origine des germes :

4.1 La flore saprophyte du malade lui-même :

Elle subit au cours des premiers jours de l'hospitalisation des modifications qualitatives. Les bacilles Gram négatif et plus accessoirement les levures (*Candida*) remplacent les cocci Gram positif et les anaérobies. Ces flores saprophytes modifiées colonisent les sites préférentiels chez le malade entraînant une infection de l'appareil urinaire, des plaies opératoires, ou du parenchyme pulmonaire...**(Samou,F.2004), [16]**

4.2 Le personnel soignant (médical et paramédical) :

La contamination peut se faire par le biais du personnel soignant qui transmet les germes d'un patient à l'autre avec ses instruments ou ses mains souillées. **(Samou,F.2004), [16]**

4.3 L'environnement :

Il est moins déterminant dans le cadre de programme de prophylaxie que les deux précédentes origines. Il peut être contaminé par le personnel ou par le patient. Il comprend les divers appareillages d'assistance respiratoire et de monitoring par voie intra vasculaire, les lavabos, les instruments (stéthoscope, tensiomètre ...), les liquides et les tubulures, la nourriture et l'air ambiant. **(Samou,F.2004), [16]**

5. Facteurs favorisant les infections nosocomiales :

Quel que soit le mode de transmission, la survenue d'une infection nosocomiale est favorisée par la situation médicale du patient qui dépend de :

- son âge et sa pathologie : sont particulièrement réceptifs les personnes âgées, les personnes immunodéprimées, les nouveau-nés, en particulier les prématurés, les polytraumatisés et les grands brûlés,
- certains traitements : les antibiotiques qui déséquilibrent la flore bactérienne des patients et sélectionnent les bactéries résistantes et les traitements immunosuppresseurs,
- la réalisation d'actes invasifs nécessaires au traitement du patient : sondage urinaire, pose d'un cathéter, ventilation artificielle ou intervention chirurgicale.**(Vincent A.2008), [18]**

- Les progrès médicaux permettent de prendre en charge des patients de plus en plus fragiles qui cumulent souvent de nombreux facteurs de risque. Cela impose de prendre en compte ces facteurs de risque lors de l'interprétation des taux d'infections nosocomiales mesurés dans les enquêtes épidémiologiques. **.(Vincent A.2008), [18]**
- Aussi, la prévention des infections nosocomiales est complexe car la plupart d'entre elles relèvent de plusieurs facteurs. S'il est difficile de maîtriser tous les facteurs liés à la situation médicale des patients dans l'état actuel de nos connaissances, la qualité des soins et la sécurité de l'environnement hospitalier doivent faire l'objet d'une vigilance renforcée et d'actions de prévention. **.(Vincent A.2008), [18]**
- La vigilance accrue autour de l'application de gestes simples d'efficacité démontrée, comme l'hygiène des mains entre chaque soin et port de gants pour réaliser un geste invasif sont des éléments fondamentaux de la sécurité des soins. **.(Vincent A.2008), [18]**

6. Mode de contamination :

6.1 Auto-infection :

C'est lorsque le malade s'infecte soit par ses propres germes *in situ* soit à partir de l'environnement immédiat (surface de la peau, vêtement, lit) Voir **Figure N°01**. Ces infections sont dues généralement aux germes saprophytes qui deviennent pathogènes à la suite d'une antibiothérapie itérative ou d'un traitement immunosuppresseur. Les complications infectieuses respiratoires liées au décubitus et ses conséquences sur le drainage des voies aériennes peuvent être des autoinfections. Enfin certains malades immunodéprimés (aplasie médullaire, SIDA) peuvent avoir des bactériémies dues aux germes intestinaux qu'ils hébergent. Ces infections rigoureusement endogènes sont aussi des auto-infections. **(Samou,F.2004), [16]**

6.2 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. L'agent infectieux est rarement transmis par contact direct ou par voie aérienne. Le plus souvent le vecteur est le

personnel soignant par ses mains, et ou ses instruments de travail. On parle d'infection manu portée ou d'infection transmise par le matériel d'exploration ou de soin. C'est le mode de contamination majeure lors de nombreuses épidémies et probablement le plus sensible aux mesures prophylactiques. (Samou,F.2004), [16]

6.3 Xéno-infection :

Ce sont des infections qui sévissent sous forme endémique ou épidémique dans la population extrahospitalière. Les agents infectieux sont importés à l'hôpital par les malades, le personnel soignant, ou les visiteurs qui en sont atteints ou qui sont en phase d'incubation. Ils se transmettent par voie aérienne, par contact direct ou indirect et trouvent à l'hôpital des victimes particulièrement réceptives et des conditions de transmission facilitées. Lorsque la maladie infectieuse est le seul motif d'hospitalisation, les mesures immédiates d'isolement peuvent être prises. Mais dans certains cas l'infection est indépendante du motif d'hospitalisation. (Samou,F.2004), [16] .(Voir Figure N° 01)

6.4 Exo-infection :

Cette infection est liée à des avaries techniques (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. (Samou,F.2004), [16]

6.5 Patient réceptif :

Certaines pathologies entraînent une légère immunodépression : les malades à risque sont: les brûlés, les grabataires avec des escarres étendues, les polytraumatisés et les porteurs de dispositifs invasifs (assistance respiratoire, sonde urinaire, cathéters divers), les insuffisants respiratoires, les vieillards et surtout les nouveaux nés prématurés. Ils sont donc exposés à une infection nosocomiale. (Samou,F.2004), [16]

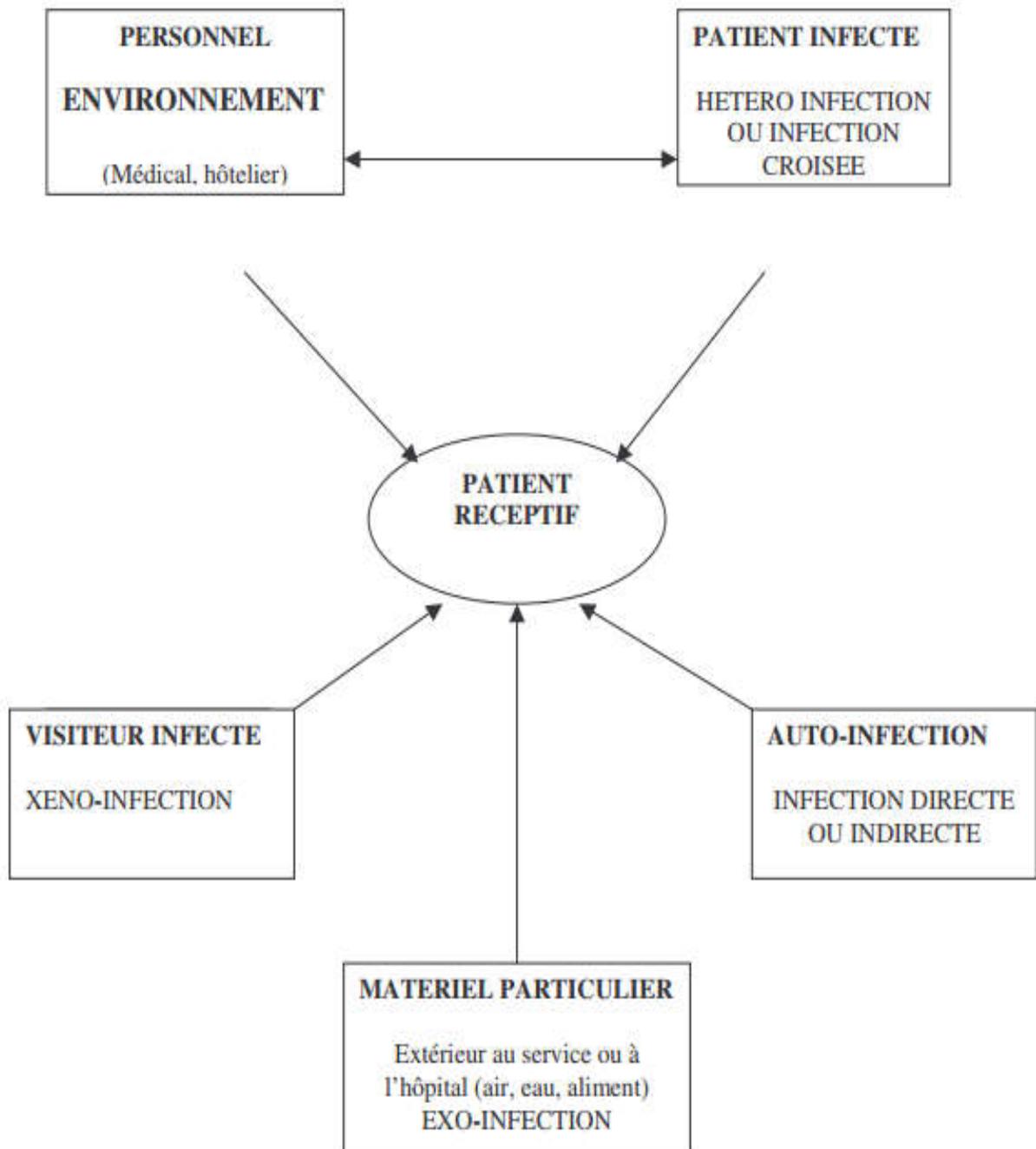


Figure N° 01: Transmission de l'infection hospitalière.

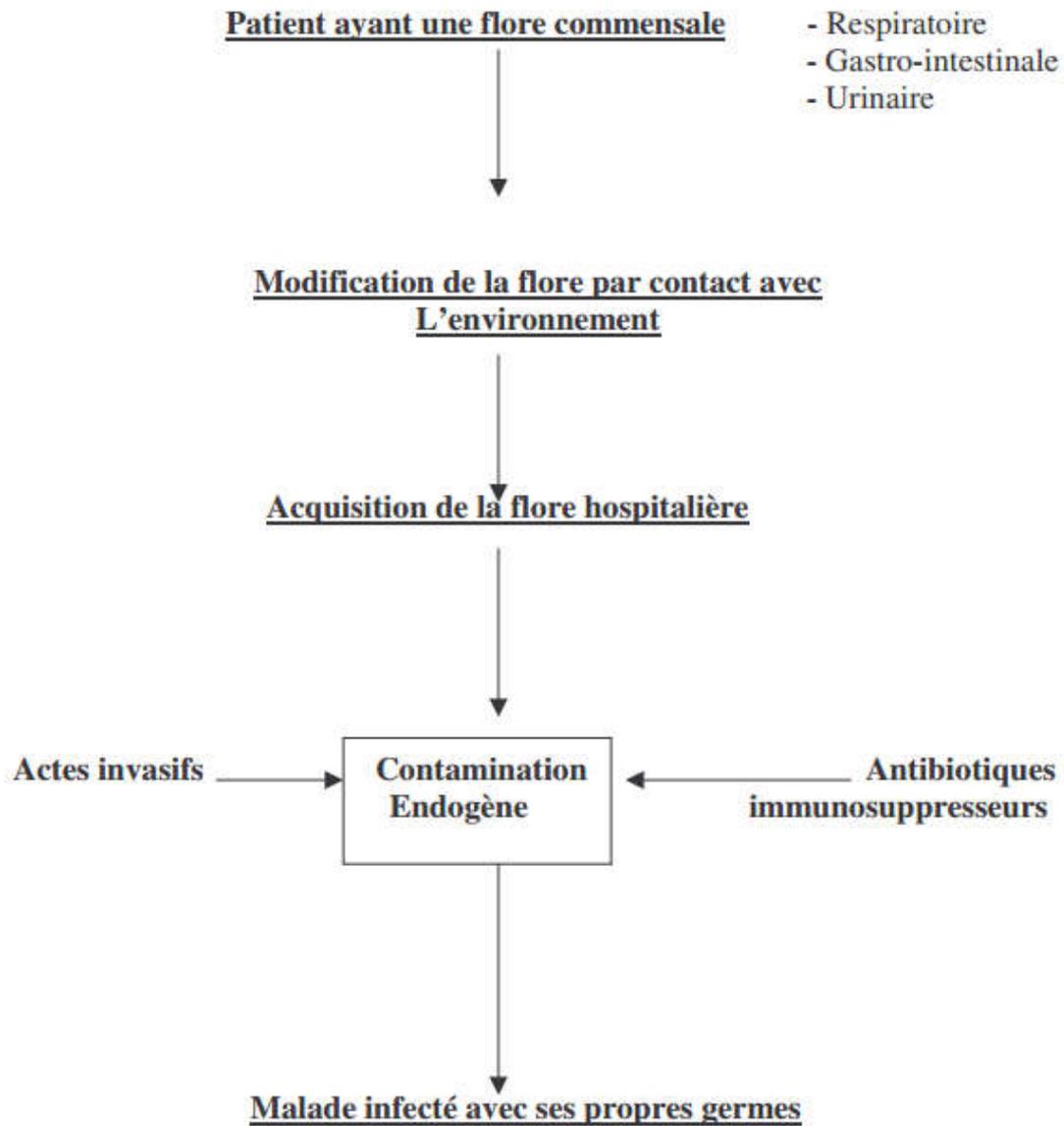


Figure N° 02: Transmission endogène.

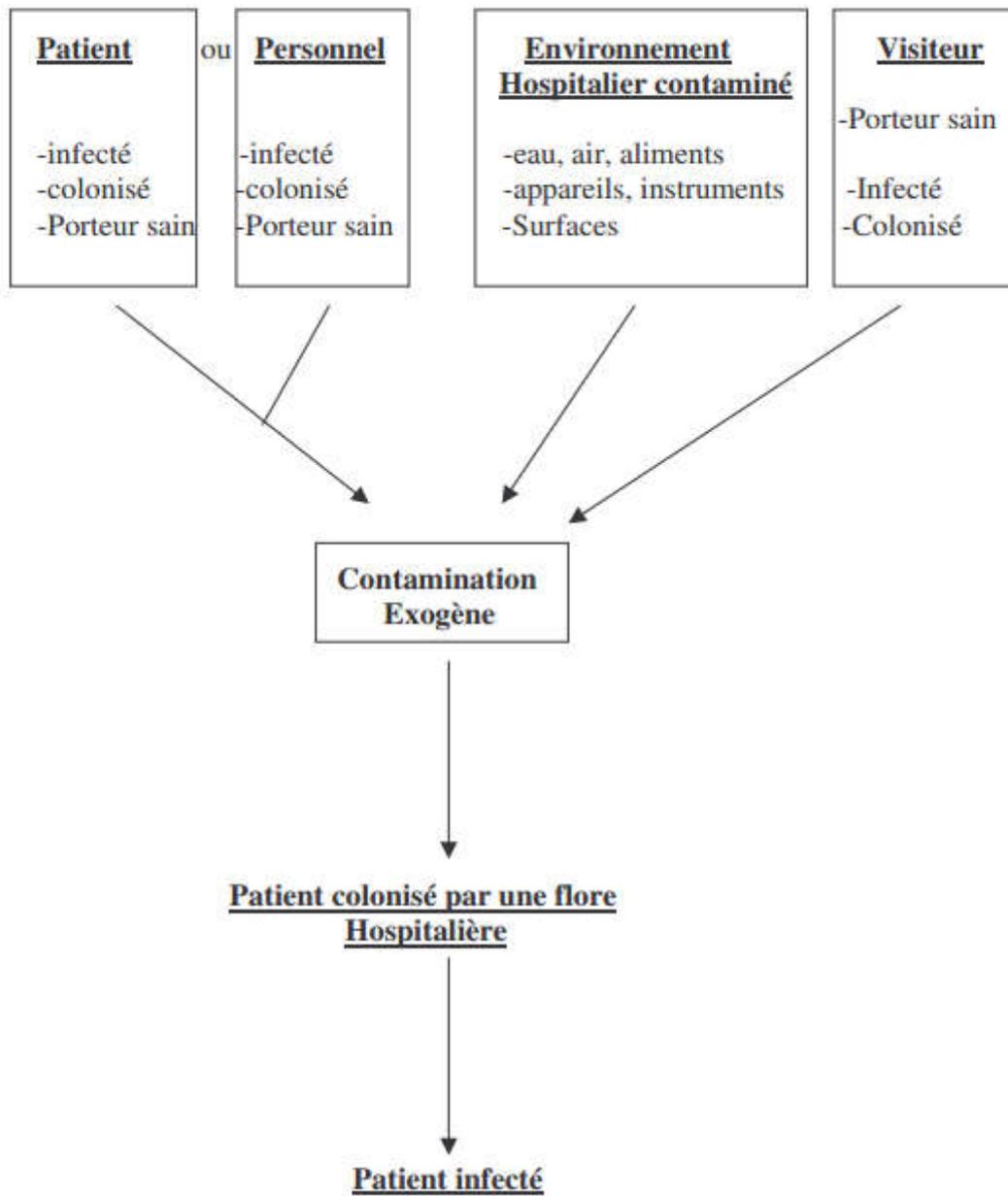


Figure N° 03: Transmission exogène.

7. Les différents types des infections nosocomiales :

On classe les types selon la localisation des infections, La figure 4 montre un exemple de répartition des infections nosocomiales selon leur localisation.

7.1 Infections urinaires :

Ce sont les infections nosocomiales les plus courantes ; 80 % des infections sont liées à un sondage vésical à demeure . Les infections urinaires sont associées à une plus faible morbidité que les autres infections nosocomiales, mais peuvent dans certains cas provoquer une bactériémie potentiellement mortelle. Ces infections sont habituellement définies selon des critères microbiologiques : uroculture quantitative positive ($\geq 10^5$ micro-organismes/ ml, avec au maximum deux espèces microbiennes isolées). Les bactéries responsables proviennent de la flore intestinale du patient, normale (*Escherichia coli*) ou acquise à l'hôpital (*Klebsiella* multirésistantes). (G.Ducel.2002), [9].

7.2 Infections du site opératoire :

Les infections du site opératoire sont également fréquentes : leur incidence va de 0,5 % à 15 % selon le type d'intervention et l'état général du patient. Il s'agit d'un problème important qui limite le bénéfice potentiel des interventions chirurgicales. L'impact sur les coûts hospitaliers et la durée du séjour postopératoire (3 à 20 jours de plus) est considérable. (G.Ducel.2002), [9].

La définition de ces infections est essentiellement clinique : écoulement purulent autour de la plaie ou du site d'insertion du drain, ou cellulite extensive à partir de la plaie. Les infections de la plaie opératoire (au-dessus ou au-dessous de l'aponévrose) et les infections profondes des organes ou des espaces sont identifiées séparément. L'infection est en général acquise pendant l'intervention elle-même, avec une origine soit exogène (air, matériel médical, chirurgiens et autres soignants), soit endogène (flore cutanée ou flore présente sur le site opératoire ou, dans de rares cas, sang utilisé en peropératoire). Les micro-organismes infectieux sont divers, et dépendent du type et de la localisation de l'intervention et des anti-infectieux reçus par le patient. Le principal facteur de risque est l'étendue de la contamination peropératoire (chirurgie propre, propre-contaminée, contaminée, sale), elle-même conditionnée par la durée de l'intervention et l'état général du patient. Les autres facteurs en

jeu sont la qualité de la technique chirurgicale, la présence de corps étrangers (drains compris), la virulence des micro-organismes, la présence d'une infection concomitante sur un autre site, la pratique du rasage préopératoire et l'expérience de l'équipe chirurgicale. **(G.Ducel.2002), [9].**

7.3 Pneumopathies nosocomiales :

Les pneumopathies nosocomiales s'observent chez plusieurs catégories de patients, principalement les patients sous ventilation artificielle dans les unités de soins intensifs, où leur taux atteint 3 % par jour. La pneumopathie associée à la ventilation assistée possède un taux de létalité élevé, bien que le risque attribuable soit difficile à déterminer du fait de l'importance des co-morbidités. Les micro-organismes colonisent l'estomac, les voies respiratoires supérieures et les bronches, et provoquent une infection pulmonaire (pneumopathie) ; ils sont souvent endogènes (appareil digestif ou rhinopharynx) mais peuvent être exogènes, souvent à partir d'un appareil respiratoire contaminé. **(G.Ducel.2002), [9].**

La définition de la pneumopathie peut reposer sur des critères cliniques et radiologiques faciles à établir mais non spécifiques : opacités radiologiques récentes et progressives au niveau du parenchyme pulmonaire, expectorations purulentes et fièvre d'apparition récente. Le diagnostic est plus spécifique lorsqu'on peut obtenir des échantillons microbiologiques quantitatifs par bronchoscopie spécialisée et protégée. Parmi les facteurs de risque connus figurent le type et la durée de la ventilation, la qualité des soins respiratoires, la gravité de l'état du patient (insuffisances organiques) et les antécédents d'antibiothérapie. **(G.Ducel.2002), [9].**

A part les pneumopathies associées à la ventilation, les patients atteints de convulsions ou dont le niveau de conscience est altéré sont exposés au risque d'infection nosocomiale même en l'absence d'intubation. Les bronchiolites virales (virus respiratoire syncytial) sont fréquentes dans les services de pédiatrie, et la grippe et les pneumopathies par surinfection bactérienne peuvent toucher les établissements pour personnes âgées. Chez les patients gravement immunodéprimés, une pneumopathie à *Legionella* spp. Et à *Aspergillus* peut survenir. Dans les pays à forte prévalence de la tuberculose et en particulier de ses souches résistantes, la transmission dans les établissements de santé peut constituer un grave problème. **(G.Ducel.2002), [9].**

7.4 Bactériémies nosocomiales :

Les bactériémies ne représentent qu'une faible proportion des infections nosocomiales (environ 5 %) mais possèdent un taux de létalité élevé – plus de 50 % pour certains micro-organismes. Leur incidence est en augmentation, en particulier pour certains micro-organismes comme *Staphylococcus* et *Candida spp.* coagulase-négatifs multirésistants. L'infection peut se développer au point d'insertion cutané d'un dispositif intravasculaire ou sur le trajet sous-cutané d'un cathéter (infection du tunnel). Les micro-organismes qui colonisent le cathéter à l'intérieur du vaisseau peuvent provoquer une bactériémie sans infection externe visible. L'infection prend sa source dans la flore cutanée résiduelle ou temporaire. Les principaux facteurs de risque sont la durée du cathétérisme, le niveau d'asepsie lors de l'insertion, et les soins continus une fois le cathéter en place. (G.Ducel.2002), [9].

7.5 les infections sur cathéter :

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

(Stammn E,1986) [17].

7.6 Autres infections nosocomiales :

Les infections décrites plus haut sont les quatre types les plus fréquents et les plus importants d'infections nosocomiales, mais il existe de nombreux autres sites potentiels d'infection, par exemple :

- Infections de la peau et des tissus mous : les plaies ouvertes (ulcères, brûlures, escarres) favorisent la colonisation bactérienne et peuvent conduire à une infection généralisée.
- La gastro-entérite est l'infection nosocomiale la plus fréquente chez l'enfant, avec un

rotavirus comme principal agent pathogène. Dans les pays développés, *Clostridium difficile* est la cause principale des gastro-entérites nosocomiales chez l'adulte.

- Sinusites, autres infections de la sphère ORL, infections de l'œil et de la conjonctive.
- Endométrite et autres infections de l'appareil génital après l'accouchement. [6]

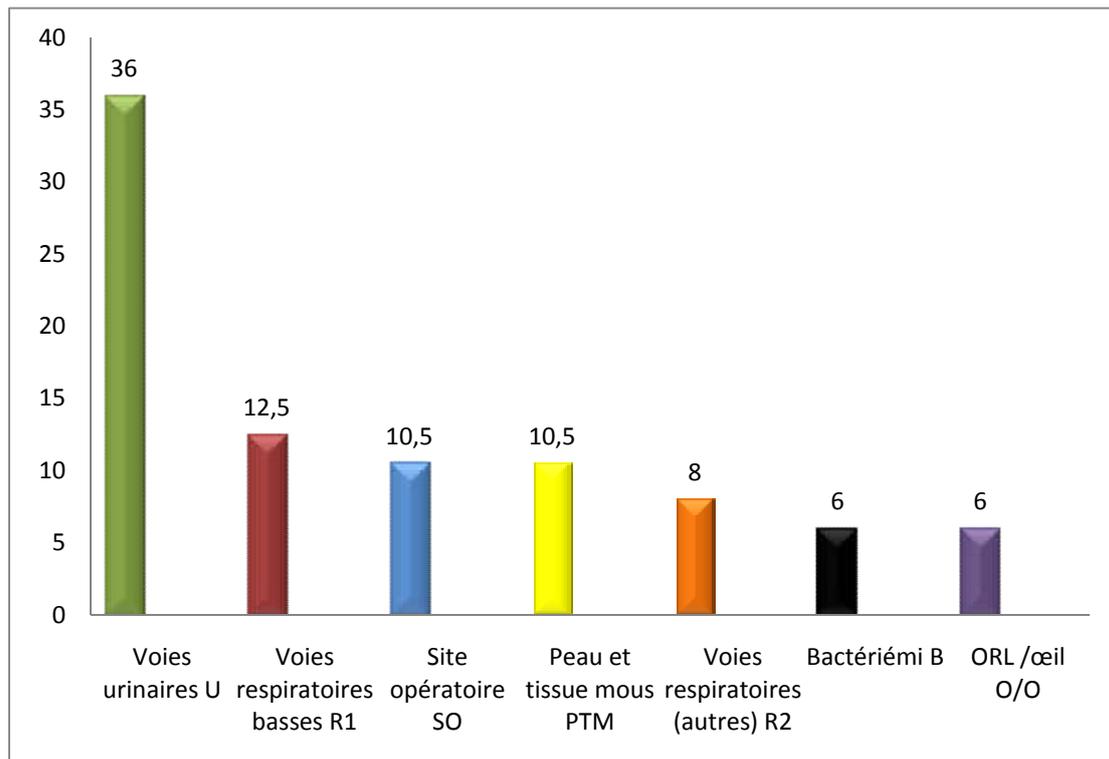


Figure N°0 4: Localisation des infections nosocomiales les plus courantes : répartition selon l'enquête nationale française de prévalence (1996).

Chapitre 02

**Les agents responsables des infections
nosocomiales.**

Micro-organismes responsables des infection nosocomiales :

Des agents pathogènes très divers peuvent être à l'origine d'infections nosocomiales. Les agents infectieux varient selon les populations de patients et les types d'établissements de santé, d'un établissement à l'autre et d'un pays à l'autre. (Emmanuelle.C,2013)[8]

1. Les Bactéries :

Ce sont les plus courants des agents pathogènes responsables des infections nosocomiales. On peut distinguer :

- **Les bactéries commensales :**

Présentes dans la flore normale des sujets en bonne santé. Elles jouent un rôle protecteur significatif en empêchant la colonisation par des micro-organismes pathogènes. Certaines bactéries commensales peuvent provoquer une infection si les défenses immunitaires de l'hôte sont affaiblies. Par exemple, les staphylocoques cutanés coagulase-négatifs provoquent des infections sur cathéter vasculaire et *Escherichia coli* présente dans l'intestin sont la cause la plus courante d'infections urinaires. (Emmanuelle.C,2013)[8]

- **Les bactéries pathogènes**

Les bactéries pathogènes n'existent que chez les malades, elles ont une pathogénicité intrinsèque qu'on appelle virulence. Le plus souvent elles se transmettent par contagion, au contraire des bactéries commensales par exemple qui sont peu pathogènes et non contagieuses. (Emmanuelle.C,2013)[8]

Elles ont une virulence plus élevée et provoquent des infections (sporadiques ou épidémiques) quel que soit l'état immunitaire de l'hôte.

1.1 Les bacilles anaérobies à Gram positif : (par exemple *Clostridium*) provoquent la gangrène.

1.1.1 *Clostridium spp* :

Le genre *Clostridium*, de la famille des Clostridiaceae, regroupe des bactéries Gram positif sporulées apparaissant sous leur forme végétative comme des bacilles en paires ou en chaînettes courtes. La plupart des espèces du genre *Clostridium* sont obligatoirement anaérobiques; cependant, certaines espèces peuvent être aérotolérantes ou capables de croître dans des conditions aérobies. Le genre regroupe près de 200 espèces, dont seulement

quelques-unes sont pathogéniques pour l'humain. Plusieurs espèces sont toxigéniques .[2]

Les espèces pathogènes ne sont pas envahissantes ; toutefois, certaines souches de *Clostridium* produisent des toxines qui provoquent des symptômes et des lésions associés à une infection, comme la nécrose des tissus (*C. novyi*, *C. septicum*, *S. sordellii*) ou le botulisme (*C. baratii*). Outre *C. botulinum* et *C. argentinense* (anciennement *C. botulinum* de type G), certaines souches de *C. baratii* et de *C. butyricum* produisent la neurotoxine botulinique.[2]

1.2 Bactéries à Gram positif :

Staphylococcus aureus (bactérie cutanée qui colonise la peau et le nez du personnel hospitalier et des patients) provoque une grande variété d'infections pulmonaires, osseuses, cardiaques et sanguines et résiste fréquemment aux antibiotiques. Les streptocoques bêta-hémolytiques sont également des agents pathogènes importants.[3]

1.2.1 Staphylocoques :

Les Staphylocoques sont des Cocci à Gram positif classiquement disposés en amas. Actuellement, on distingue 44 espèces. L'espèce *S. aureus* (plus communément appelé staphylocoque doré) se distingue généralement des autres staphylocoques appelés staphylocoques à coagulase négative (SCN) par la présence d'une coagulase. *S. aureus* est un germe très important aussi bien dans les infections communautaires que nosocomiales.[3]

Staphylococcus aureus est un germe pathogène opportuniste qui peut causer diverses maladies chez les humains, allant des affections qui évoluent spontanément vers la guérison à des pathologies mortelles. Cette bactérie est une des principales causes de toxi-infections alimentaires, résultant de la consommation d'aliments contaminés par des entérotoxines. L'intoxication alimentaire par les staphylocoques se caractérise par une apparition brutale de nausées, de vomissements, de douleurs abdominales, de crampes et de diarrhée. Les symptômes disparaissent habituellement après 24 heures. Les morsures d'animaux peuvent entraîner des infections locales, une cellulite, un érythème, une sensibilité, une fièvre légère, une adénopathie et une lymphangite (rare) . L'érythrodermie bulleuse avec épidermolyse est causée par des toxines exfoliatives sécrétées sur l'épiderme et elle touche surtout les nouveau-nés et les jeunes enfants. D'autres affections cutanées peuvent être causées par ces toxines exfoliatives : phlyctènes, perte cutanée, papules, furoncles, impétigo, folliculite, abcès, piètre contrôle thermique, perte de liquide et infection secondaire. *S. aureus* peut

également causer une fasciite nécrosante chez les sujets immunodéprimés, mais c'est très rare. La fasciite nécrosante est une maladie potentiellement mortelle qui s'accompagne d'une importante morbidité.[4]

Certaines souches de *S. aureus* produisent la toxine superantigénique TSST-1, qui est responsable de 75 % des cas de syndrome de choc toxique (SCT). Le tableau clinique du SCT comprend des symptômes aigus et sévères, notamment une forte fièvre, un collapsus vasculaire, des vomissements, une diarrhée, des myalgies, une hypotension, une éruption érythémateuse, une desquamation et l'atteinte d'au moins 3 organes. La mortalité est très élevée et le décès peut survenir en l'espace de 2 heures. Le syndrome de choc toxique est associé à la colonisation vaginale par *S. aureus* producteur de toxines durant les règles, à des complications d'une infection staphylococcique ailleurs dans le corps ou à des complications chirurgicales. Les infections peuvent être profondes : endocardite, péritonite, pneumonie nécrosante, bactériémie, méningite, ostéomyélite, arthrite septique et infections des os, des articulations et des organes.[4]

1.3 Bactéries à Gram négatif :

Les *Entérobactéries* (par exemple *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Serratia marcescens*) peuvent coloniser certains sites lorsque les défenses immunitaires de l'hôte sont affaiblies (site d'insertion d'un cathéter, d'une canule, sonde urinaire) et provoquer des infections graves (infection du site opératoire, infection pulmonaire, bactériémie, infection du péritoine). Elles peuvent également être hautement résistantes.(Jan.Ve)[12]

1.3.1 Les *Entérobactéries* :

Les *Entérobactéries* sont des bacilles Gram négatif facultatifs, retrouvés partout dans le sol, dans l'eau, et surtout dans l'intestin de l'homme et des animaux. Elles comprennent un nombre très élevé de genres et d'espèces. Leur abondance dans l'intestin, leur mobilité, la rapidité de leur multiplication, l'acquisition fréquente de mécanismes de résistance aux antibiotiques expliquent qu'elles soient les bactéries les plus souvent impliquées en pathologie infectieuse humaine surtout en milieu hospitalier.(Jan.Ve)[12]

Outre une résistance naturelle aux antibiotiques actifs sur les germes à Gram positif (pénicillines, macrolides) les *Entérobactéries* présentent fréquemment une résistance acquise aux antibiotiques à large spectre. Cette résistance est souvent conditionnée par la présence de plasmides porteurs de déterminants de résistance multiples et transférables à d'autres bactéries

à Gram négatif. La détermination de la sensibilité par l'antibiogramme est donc indispensable.[11]

On peut schématiquement subdiviser l'ensemble des Entérobactéries en deux groupes :

- d'une part des Entérobactéries qui font partie des flores fécales commensales habituelles de l'homme et des animaux ; ce groupe comprend principalement *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*, *Serratia*, *Citrobacter* ... Ces espèces ne provoquent pas de pathologie intestinales comme les suivantes mais sont très fréquentes dans beaucoup d'infections extra-intestinales, en premier lieu dans les infections urinaires.
- d'autre part les espèces pathogènes pour l'intestin dont l'ingestion provoque une infection intestinale (*Salmonella*, *Yersinia*, *Shigella* et certaines souches d'*Escherichia coli* ou un syndrome septicémique (*Salmonella typhi*). **.(Jan.Ve)[12]**

1.3.1.1 *Eschérichia coli* :

C'est de loin l'espèce bactérienne la plus souvent impliquée en pathologie infectieuse chez l'homme. Il existe une grande variété antigénique d'*E. coli*. On dénombre 155 antigènes somatiques (O), 100 antigènes capsulaires (K) et 50 antigènes flagellaires (H). Les principales pathologies qu'*E. coli* provoque sont les suivantes :

- Plus de 80% des infections urinaires acquises en communauté et 40 à 50% de celles acquises à l'hôpital. Les souches urinaires sont d'origine fécale. La virulence est liée au pouvoir d'adhésion conféré par des adhésines localisées sur les pili ou fimbriae. L'adhésine de type 1 se lie à des glycoprotéines contenant du mannose à la surface des cellules épithéliales vésicales et se retrouve sur la plupart des souches responsables de cystite. Une autre adhésine « gal-gal » se retrouve sur les souches pyélonéphrite survenant chez la femme. Les infections urinaires sont les infections les plus fréquentes chez l'homme après les infections respiratoires. La cystite est la forme la plus banale ; l'infection reste limitée à la paroi vésicale. Elle survient avec une grande fréquence chez la jeune femme. Elle entraîne une dysurie, une pollakisurie et des douleurs abdominales. Aussi les cystites sont très fréquentes. La pyélonéphrite aiguë implique des uretères et les reins et est souvent une complication d'une cystite. Les bactéries gagnent par voie ascendante le parenchyme rénal, souvent à la faveur d'un reflux vésico-urétéral lié à un obstacle ou d'une diminution du péristaltisme urétéro-

vésical. Elle entraîne par des douleurs lombaires avec fièvre, pyurie et signes de cystite.(Gros jean.Met al,1999) [10].

Le tractus urinaire est normalement stérile excepté au niveau des 2 à 3 derniers centimètres de l'urètre et de la région génitale qui sont principalement colonisés par une flore à Gram positif (Lactobacilles, Staphylocoques coagulase négatives, Corynébactéries ...). Les infections des voies urinaires basses se font par voie ascendante et sont le plus souvent provoquées par les bactéries Gram négatif d'origine fécale qui colonisent l'urètre. Les facteurs qui conditionnent le risque infectieux sont le nombre des bactéries et leur virulence qui est liée à :

- leur mobilité, la présence de pili, la production d'uréase et la présence d'une capsule.
- L'infection est plus fréquente chez la femme pour des raisons anatomiques. Elle est favorisée par des rapports sexuels. Chez l'homme l'infection est le plus souvent liée à une instrumentation. .(Gros jean.Met al,1999) [10].
- Le moyen de défense naturel le plus efficace de l'arbre urinaire est mécanique : le flux des urines. Dès lors toute stase favorise l'infection. Les facteurs d'adhérence de la bactérie qui sont variables, d'une part la richesse en récepteurs chez l'hôte et d'autre part leur type, expliquent les différences épidémiologiques. Certaines relations avec le groupe sanguin et les antigènes d'histocompatibilité ont été démontrées.(Gros jean.Met al,1999) [10].
- La grossesse, l'hypertrophie prostatique, les calculs rénaux, les tumeurs et tout rétrécissement des voies urinaires sont des facteurs favorisant l'infection par la stase urinaire qu'ils provoquent. La pose d'une sonde urinaire favorise la remontée de bactéries dans la vessie. Le maintien d'une sonde à demeure entraîne le dépôt à la surface de celle-ci d'un biofilm auquel peuvent s'adhérer les bactéries.(Gros jean.Met al,1999) [10].

E. coli provoque également des méningites néonatales, des pneumonies nosocomiales, des infections hépatobiliaires, des abcès abdominaux et pelviens, des septicémies. C'est donc une bactérie qui provoque 40 à 50% de toutes les infections nosocomiales.(Gros jean.Met al,1999) [10].

Près de 50% des souches de *E. coli* sont résistantes à l'amoxicilline par production d'une β -lactamase qui est la plus souvent inhibée par l'acide clavulanique et les autres inhibiteurs.

Il existe actuellement des souches productrices de β -lactamases à spectre élargi qui leur confèrent une résistance à toutes les β -lactamines à l'exception des carbapénems et de la témocilline. Ces souches peuvent poser de sérieux problèmes thérapeutiques en milieu hospitalier. **(Gros jean. Met al, 1999) [10].**

1.3.1.2 *Klebsiella* :

Le genre *Klebsiella* compte 7 espèces : *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. ozaenae*, *K. rhinoscleromatis*, *K. planticola*, *K. terrigena*, *K. ornithinolytica*. En raison de parentés génomiques les taxonomistes considèrent les espèces *K. ozaenae* et *K. rhinoscleromatis* comme des sous-espèces de *Klebsiella pneumoniae*, soit respectivement *K. pneumoniae* subsp. *ozaenae* et subsp. *Rhinoscleromatis*. **(Jan. Ve) [12]**

Ce sont des Enterobacteriaceae toujours immobiles, généralement entourées d'une capsule polysaccharidique, plus ou moins volumineuse selon les espèces et selon les types antigéniques capsulaires.

Elles peuvent avoir des origines très diverses : on les isole chez l'homme et les animaux, des eaux des effluents industriels, du sol, des végétaux, des aliments. **(Jan. Ve) [12]**

K. pneumoniae et *K. oxytoca* sont des bactéries ubiquistes, hôtes normaux quoiqu'en petit nombre de la flore respiratoire et surtout digestive de l'homme. Elles sont fréquemment isolées dans les infections urinaires mais aussi dans les infections de plaie et les bactériémies principalement lorsque ces infections sont nosocomiales. Certaines *K. pneumoniae* peuvent être en cause dans des pneumopathies aiguës. **(Jan. Ve) [12]**

K. ozaenae et *K. rhinoscleromatis* sont strictement adaptées au tractus respiratoire de l'homme. Isolées d'expectoration et de pus de sinus, ils sont souvent responsables d'affections sévères de l'arbre respiratoire, souvent chroniques. *K. ozaenae* peut être l'agent d'infections bronchiques chroniques dans les bronchiectasies ou la mucoviscidose. *K. rhinoscleromatis* est l'agent du rhinosclérome. **(Jan. Ve) [12]**

K. planticola et *K. terrigena* sont psychrophiles et dénuées de tout pouvoir pathogène pour l'homme. **(Jan. Ve) [12]**

K. pneumoniae et *K. oxytoca* présentent une résistance naturelle de nature chromosomique à l'ampicilline et à la carbenicilline. La majorité des souches isolées d'infections nosocomiales hébergent des plasmides de résistance multiple, en particulier aux aminosides et aux céphalosporines de troisième génération. **(Jan. Ve) [12]**

1.3.1.3 *Enterobacter* :

Le genre *Enterobacter* comprend 9 espèces dont *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *E. agglomerans* et *E. gergoviae* sont les plus importants. Les *Enterobacter* sont des Entérobactéries mobiles qui poussent rapidement sur tous les milieux d'isolement pour bacilles Gram négatif. **(Jan.Ve)[12]**

On rencontre *E. aerogenes* et *cloacae* dans les eaux, les eaux usées, le sol, les aliments et l'environnement hospitalier. Chez l'homme ces bactéries sont isolées de fécès bien qu'ils ne sont pas entéropathogènes, des tractus respiratoires et génito-urinaire, éventuellement de pus, sang.

E. agglomerans est une bactérie tellurique isolé de végétaux, de légumes. Les *Enterobacter* sont habituellement résistants aux céphalosporines de première génération, parfois même à celles des nouvelles générations. Depuis l'emploi nouveau céphalosporines on assiste actuellement à une augmentation des infections nosocomiales dues à ces *Enterobacter*. **(Jan.Ve)[12]**

1.3.1.4 *Serratia* :

Le genre *Serratia* comprend 8 espèces, dont les espèces *marcescens* et *liquefaciens* sont les plus souvent rencontrés. Certaines souches produisent un pigment rouge (prodigiosine). *Serratia* était un germe pratiquement inconnu des cliniciens il y a une vingtaine d'années. *Serratia marcescens* est fréquemment isolée en particulier en milieu hospitalier en raison de sa multirésistance aux antibiotiques. *S. marcescens* est comme « pathogène opportuniste » l'agent de nombreuses infections nosocomiales, principalement d'infections urinaires ou respiratoires. On l'isole également de diverses suppurations des voies biliaires et du sang. *S. marcescens* n'est pas entéropathogène mais peut colonisé le tube digestif. La transmission se fait de malade à malade par les mains du personnel. *S. liquefaciens*, bactérie de l'environnement peut aussi y être rencontrée. Les deux espèces peuvent aussi contaminer des solutions d'antiseptiques. Les céphalosporines à large spectre ainsi que les aminosides sont habituellement actifs. **(Jan.Ve)[12]**

1.4 Les micro-organismes à Gram négatif :

Pseudomonas spp. sont souvent isolés dans l'eau et les milieux humides. Ils peuvent coloniser les voies digestives des patients hospitalisés.

Plusieurs autres bactéries représentent un risque spécifiquement hospitalier. Tels, les diverses espèces de *Legionella* qui peuvent provoquer des pneumopathies (sporadiques ou endémiques) par inhalation d'aérosols impliquant de l'eau contaminée (climatisation, douches, aérosols à visée thérapeutique). (G.Ducel,2002), .[9]

1.4.1 *Pseudomonas* :

Les bactéries du genre *Pseudomonas* sont des bacilles à Gram négatif, non sporulés, généralement mobiles grâce à une ou plusieurs flagelles polaires, aérobies à métabolisme strictement respiratoire et chimio-organotrophes. Mais cette définition ne permet pas de les différencier des autres bactéries à Gram négatifs, et doit être complétée par d'autres caractéristiques phénotypiques (Palleroni, 2008),[15].

Les *Pseudomonas* sont des bactéries ubiquitaires que l'on rencontre dans les sols, sur les végétaux et surtout dans les eaux douces et marines. De nombreuses souches pouvant se développer à basse température (souches psychrophiles) contaminent les denrées alimentaires ou produits pharmaceutiques conservés au réfrigérateur. On peut occasionnellement les isoler de la flore intestinale de l'homme ou de l'animal mais leur capacité à résister à de nombreux antibiotiques et antiseptiques explique leur présence de plus en plus fréquente en milieu hospitalier. Ils se comportent comme des pathogènes opportunistes souvent à l'origine d'infections nosocomiales.[5]

Le milieu naturel de *Pseudomonas aeruginosa* est l'eau, les sols humides et les végétaux. Dans les habitations et à l'hôpital, on peut trouver la bactérie dans tous les réservoirs et conduites d'eau. Chez l'homme en bonne santé, on trouve assez peu de *Pseudomonas* (de 2 à 10% de porteurs selon les sites de l'organisme) tandis que chez les hospitalisés ce taux peut atteindre 50% sur certains sites et 60% sur les plaies de brûlures ou d'escarres. Bien entendu, ce sont essentiellement les sujets immuno-déprimés qui auront à pâtir de cette colonisation.[5]

A l'hôpital, *Pseudomonas aeruginosa* est un germe dangereux parce qu'il s'y trouve en grande quantité et qu'il y rencontre beaucoup de sujets sensibles. La forte densité de ce germe est due à la pression de sélection exercée par les antibiotiques. Les *Pseudomonas* sont avec les

staphylocoques et les *Entérobactéries* les bactéries les plus souvent responsables d'infections nosocomiales. Les marqueurs épidémiologiques (sérotypes, biotypes, antibiotypes et autres) sont évidemment très utiles pour mener à bien les enquêtes à la recherche d'une source de contamination hospitalière. La principale source de contamination est la flore endogène des malades eux-mêmes mais l'environnement est également incriminé. L'eau des vases de fleurs, les plantes en pot, les fruits et légumes consommés crus, les eaux des éviers, des siphons, les aérosols à visée thérapeutique ou créés par des manipulations de récipients contenant des liquides, les humidificateurs, les solutions "antiseptiques" sont des sources potentielles. La transmission d'un malade à un autre est souvent manuportée ou iatrogène, surtout par les cathéters, sondes, canules, masques ou lunettes pour oxygénothérapie.[5]

1.5 Les bactéries multirésistantes :

1.5.1 Définition :

Les bactéries sont dites multi résistantes (BMR) aux antibiotiques lorsque, du fait de l'accumulation des résistances naturelles et acquises, elles ne sont plus sensibles qu'à un nombre restreint d'antibiotiques utilisables en thérapeutique.(Meskine,Aet al,2015),[14]

La multirésistance concerne les bactéries responsables d'infections communautaires à l'exemple des pneumocoques ou les bacilles de la tuberculose et les bactéries responsables d'infections nosocomiales ou associées aux soins. Certaines résistances sont particulièrement importantes à prendre en compte, car elles concernent des espèces bactériennes qui sont à la fois commensales susceptibles de disséminer dans la population générale et à fort potentiel pathogène. C'est le cas des *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM) et des *Entérobactéries* productrices de β -lactamases à spectre étendu (EBLSE). (Vincent.J,2000), [19]

1.5.2 Les types de BMR :

1.5.2.1 Hospitaliers :

- **SARM** : *S.aureus* est une des deux principales espèces responsables d'infection nosocomiale. Le développement incontrôlé des épidémies de SARM et les preuves répétées de leur diffusion clonale justifient à eux seuls la mise en place d'un programme de lutte contre les BMR. Les SARM représentent 5 à 10% des bactéries isolées des infections nosocomiales,il sont résistants à toutes les β -lactamines et très

souvent résistants aux aminosides, aux macrolides et aux fluoroquinolones. (Vincent.J,2000), [19]

- **ESBL** : les Entérobactéries dans leur ensemble représentent 35 à 40% des bactéries responsables d'infections nosocomiales. Les EBLSE représentent environ 1% des bactéries isolées des infections nosocomiales. La tendance à la diffusion clonale des EBLSE est bien démontrée. Les souches d'EBLSE principalement *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes* et à un moindre degré *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter sp* sont résistantes à de nombreuses β -lactamines (sauf imipénème), et souvent céphamycines pour les espèces qui y sont naturellement sensibles, et très souvent résistantes aussi aux aminosides et aux fluoroquinolones. (Vincent.J,2000), [19]

- **Entérocoque résistante à la vancomycine (ERV)** : représentent environ 1% des souches d'entérocoques isolées à l'hôpital. On retrouve principalement :

- *Acinetobacter baumannii* : représentent 2 à 4% des bactéries responsables d'infection nosocomiale, jouent un rôle non négligeable dans certains secteurs hospitaliers (soins intensifs) et sont parfois à l'origine de bouffées épidémiques dans lesquelles la contamination de l'environnement des patients porteurs joue un rôle. Certaines souches épidémiques résistantes à l'imipénème conduisent à des impasses thérapeutiques (Vincent.J,2000), [19]

- *Pseudomonas aeruginosa* multirésistant : les souches de *P.aeruginosa* résistantes aux β -lactamines (ticarcilline, ceftazidime ou imipénème) ont tendance à être résistantes aussi aux aminosides et aux fluoroquinolones. Dans les hôpitaux concernés, ces souches doivent faire l'objet d'une stratégie spécifique, notamment d'une politique de prescription des antibiotiques, et des mesures de contrôle de l'environnement. (Vincent.J,2000), [19]

1.5.2.2 Communautaire :

Les BMR communautaire sont des bactéries impliquées dans les infections survenant en dehors d'un établissement de santé, par opposition des BMR hospitaliers. Ces germes sont caractérisés par une probabilité de résistance relativement faible, les plus fréquentes de ce type de BMR sont les pneumocoques et les bacilles de la tuberculose. (A.Znazen al,2004,2006), [3]

Streptococcus pneumoniae : est un pathogène majeur, responsable d'infections communautaires à type de pneumonies, de bactériémies, de méningites, d'otites et de

sinusites, la pneumocoque a acquis au cours des cinq dernières décennies de nombreuses résistances à : sulfamides ,tétracyclines, érythromycine, pénicilline et chloramphénicol .La résistance du pneumocoque aux β -lactamines est liée à une modification des protéines de liaison aux pénicillines (PLP). la surveillance de la sensibilité du pneumocoque aux antibiotiques est nécessaire afin d'adapter les recommandations thérapeutiques des infections pneumococciques.(A.Znazen al,2004,2006), [3]

Bacille de la tuberculose : Le bacille de la tuberculose peut devenir résistant aux antimicrobiens utilisés pour guérir la maladie, La tuberculose multi résistante (MR) est une tuberculose contre laquelle l'isoniazide et la rifampicine, les 2 antituberculeux les plus puissants, ne sont pas efficaces, La mauvaise gestion du traitement antituberculeux et la transmission interhumaine expliquent la propagation de la tuberculose multi résistante.(A.Znazen al,2004,2006), [3]

2. Les virus :

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 syncytial, les rotavirus et les entérovirus (transmis par contact main bouche et par voie féco-orale). D'autres virus comme le cytomégalovirus, le VIH, le virus Ebola, les virus grippaux, les virus de l'herpès et le virus varicelle zona, sont également transmissibles. .(G.Ducel,2002), [9]

3. Les parasites et les champignons :

Certains parasites (par exemple *Giardia lamblia*) se transmettent facilement chez l'adulte et l'enfant. De nombreux champignons et autres parasites sont des agents opportunistes et provoquent des infections.(G.Ducel,2002), [9]

Chapitre 03

**La prévention contre les infections
nosocomiales.**

1. Responsabilité de lutte contre les infections nosocomiales :

Aujourd'hui les infections nosocomiales font l'objet d'importantes mesures de prévention dans les structures hospitalières qui passent par l'ensemble des personnes et des services impliqués dans les soins de santé. Chacun doit contribuer à réduire le risque d'infection à la fois pour les patients et pour le personnel. Le concept de prévention englobe les programmes de lutte contre les infections nosocomiales qui doivent être appliqués à la fois par les patients, les visiteurs et le personnel y compris les médecins, les microbiologistes, le pharmacien de l'hôpital, le personnel infirmier, le service de stérilisation, le service de restauration, le service de nettoyage, le service de maintenance technique par le respect de ce qui suit :

- Etablir et tenir à jour des directives et recommandations concernant la surveillance, la prévention et les pratiques en matière de santé.
- Elaborer un système national de surveillance de certaines infections d'évaluation de l'efficacité des interventions
- Harmoniser les programmes de formation initiale et continue destinée aux professionnels de santé.
- Faciliter l'accès aux matériels et aux produits indispensables pour l'hygiène et la sécurité.
- Encourager l'établissement de santé à surveiller les infections nosocomiales et à restituer l'information aux professionnels concernés.
- L'autorité sanitaire devra désigner un organe chargé de superviser le programme (ministère, institution) et de planifier les activités nationales avec l'aide d'un comité national d'experts, les organisations professionnelles et les instituts universitaires devront aussi être impliqués dans ce programme.(G.Ducel,2002), [9]

2. Personnels des hôpitaux:

- Le principal effort de prévention devra être axé sur les hôpitaux et les autres établissements de santé, la prévention des risques pour les patients et le personnel de l'établissement est l'affaire de tous.(G.Ducel,2002), [9]

2.1. Rôle de l'administration de l'hôpital doit :

- Constituer un comité multidisciplinaire de lutte contre les infections nosocomiales.
- Identifier les ressources nécessaires pour que le programme soit en mesure de surveiller les infections nosocomiales et d'appliquer les méthodes de prévention les plus appropriées.
- Assurer l'éducation et la formation de tout le personnel par le soutien aux programmes sur la prévention de l'infection dans les techniques de désinfection et de stérilisation.
- Participer aux investigations sur l'épidémie. (G.Ducel, 2002), [9]

2.2. Rôle du médecin :

Les médecins jouent un rôle très important dans la prévention et la maîtrise des infections nosocomiales par:

- Leur participation directe aux soins en observant des pratiques qui réduisent le risque d'infections.
- Le respect des pratiques d'hygiène appropriées.
- Par leur participation au comité de lutte contre les infections nosocomiales.
- Et donc les médecins en général sont précisément chargés de protéger leur propres patients vis à vis des autres patients infectés et du personnel hospitalier susceptible d'être infectés.
- Se conformer aux pratiques approuvées par le comité de lutte contre les infections nosocomiales.
- Se procurer les échantillons microbiologiques appropriés en cas d'infection suspecte
- Signaler les cas d'infections nosocomiales à l'équipe de lutte, ainsi que l'admission des patients infectés.
- Se conformer aux recommandations du comité sur l'utilisation des anti-infectieux en ce qui concerne l'utilisation des antibiotiques.
- Suivre un traitement approprié pour toute infection dont ils seraient eux même atteints et prendre les mesures nécessaires pour empêcher la transmission de cette infection. (G.Ducel, 2002), [9]

2.3. Rôle de microbiologistes :

- Manipuler les échantillons provenant des patients et du personnel de façon à avoir le

maximum de chance de pouvoir effectuer un diagnostic microbiologique.

- Préparer les directives pour le recueil, le transport de la manipulation appropriée des échantillons.
- Assurer que les pratiques observés au laboratoire afin d'éviter la transmission d'infection aux personnels.
- Effectuer les tests de sensibilité aux anti-infectieux suivant des méthodes reconnues au plan international, et produire des rapports de synthèse sur la prévalence de la résistance.
- Surveiller la stérilisation la désinfection et si nécessaire l'environnement hospitalier.
- Communiquer en temps réel les résultats au comité de lutte contre les infections nosocomiales ou au responsable de l'hygiène hospitalière.
- Si nécessaire procéder un typage épidémiologique des microorganismes présents à l'hôpital.(G.Ducel,2002), [9].

2.4. Rôles du personnel infirmier :

Le personnel infirmier est chargé de mettre en œuvre les pratiques de soins assurant la lutte contre l'infection .Il doit être familiarisé avec les pratiques empêchant la survenue et la propagation des infections et observer des pratiques appropriées pour tout les patients pendant toute la durée de leur séjour a l'hôpital et cela suite à :

- Promouvoir le développement et l'amélioration des techniques de soins infirmiers et procéder a l'examen en continu des politiques en matière d'asepsie, avec l'approbation du comité de lutte contre les infections nosocomiales.
- Préparer les programmes de formation pour les membres du personnel infirmier.
- Superviser la mise en œuvre des techniques de prévention des infections dans les secteurs spécialisés tel que les blocs opératoires, unités de soins intensifs et maternité.(G.Ducel,2002), [9]

2.5. Rôle de service de nettoyage :

Ce service est responsable de nettoyage régulier de toutes les surfaces et de maintien d'un niveau élevé d'hygiène dans l'établissement et donc il est chargé de :

- Classer les différents secteurs de l'hôpital en fonction de leur exigence de propreté.

- Elaborer des politiques pour des techniques de nettoyage appropriées.
- Elaborer des politiques pour la collecte, le transport et l'élimination de différents types de déchets.
- Assurer que les distributeurs de savon liquide et de serviette en papier sont régulièrement regarnis.
- Informer de tout problème tel que défaut dans les installations électriques ou sanitaires
- Lutter contre les insectes et les rongeurs
- Déterminer la fréquence de lavage des rideaux et examiner les plans de renouvellement et rénovation des mobiliers.(G.Ducel,2002), [9]

3. Les patients :

En cas d'intervention, le patient doit respecter les consignes de préparation chirurgicale:

- La dépilation de la zone opératoire ne doit pas être faite par le rasoir mais à l'aide d'une tondeuse ou d'une crème.
- La douche antiseptique doit être réalisée de façon minutieuse et selon les directives de l'infirmière.
- Le patient ne doit pas manipuler personnellement les dispositifs invasifs tels que les cathéters, sondes, drains. [7]

En complément de ces préventions, certaines infections (ou suspicions d'infection) nécessitent la mise en œuvre de l'agent infectieux et de la localisation et la gravité de l'infection. [8]

- Isolement en chambre individuelle.
- Renforcement du lavage des mains.
- Port des vêtements de protection.
- Précaution accrues lors de l'élimination des instruments et des linges contaminés, des déchets. [8]

4. les visiteurs :

Les visiteurs peuvent constituer une source ou un vecteur d'infection pour cette raison, il est nécessaire de respecter quelques règles :

- Les visiteurs présentant une maladie des voies respiratoires ou toute autre maladie transmissible ne devraient pas entrer dans les secteurs de soins.
- Les plantes en pot et les fleurs coupées sont autorisées dans les chambres des malades (même si de nombreux champignons et bactéries se trouvent dans la terre) .l'eau des fleurs coupées doit contenir quelques gouttes d'eau de javel, afin d'éviter le développement de nombreux microorganismes.
- Elles sont interdites dans les services recevant des patients immunodéprimés ou risque (réanimation, néonatalogie.....) et n'hésiter pas a demander conseil au personnel soignant.
- Les visiteurs doivent accepter qu'un malade soit placer en isolement, particulièrement adapté a la prévention de maladies transmissibles et de la transmission de bactéries résistantes aux antibiotiques .cet isolement ne préjuge pas de la gravite de l'état du patient. [7]

Chapitre 04

Matériel et Méthodes.

1. Cadre d'étude :

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

Et les prélèvements ont été réalisés au niveau de :

- Trois services : Pneumologie et phtisiologie femme, Hémodialyse, et Oncologie de l'hôpital Ibn-Zohr.
- Et le service Chirurgie femme, d'hôpital Hakim Okbi

2. Prélèvement :

• Matériel de prélèvement :

- Ecouillonsstériles.
- Portoir.
- Eau distillé et eau physiologique.
- Glacière.
- Marqueur.

2-1 Prélèvement à partir de l'air :

Prendre les boites de Pétrie contenant (Gélose Nutritive, Gélose Chapman, et Gélose Mac Conkey) on l'ouvrant et on l'exposant pendant 12h de temps à l'air ambiant de la salle.

Refermer les boites et incuber à 37 C° pendant 24h à 48h.

2-2 Prélèvement à partir des surfaces sèches :

A l'aide d'un écouillon stérile préalablement humidifié avec de l'eau distillé ou de l'eau physiologique stérile, frotter les surfaces sèche comme : lit, drap, chariot, paillasse, chaise roulante, poignée de la porte, toilette, main d'un patient...etc, puis introduire dans des tubes contenant du bouillon nutritif.

2-3 Prélèvement à partir des surfaces humides :

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

Remarque :

- les prélèvements sont étiquetés (date, heure, site de prélèvement, et service)
- utiliser les écouillons stériles (à usage unique).

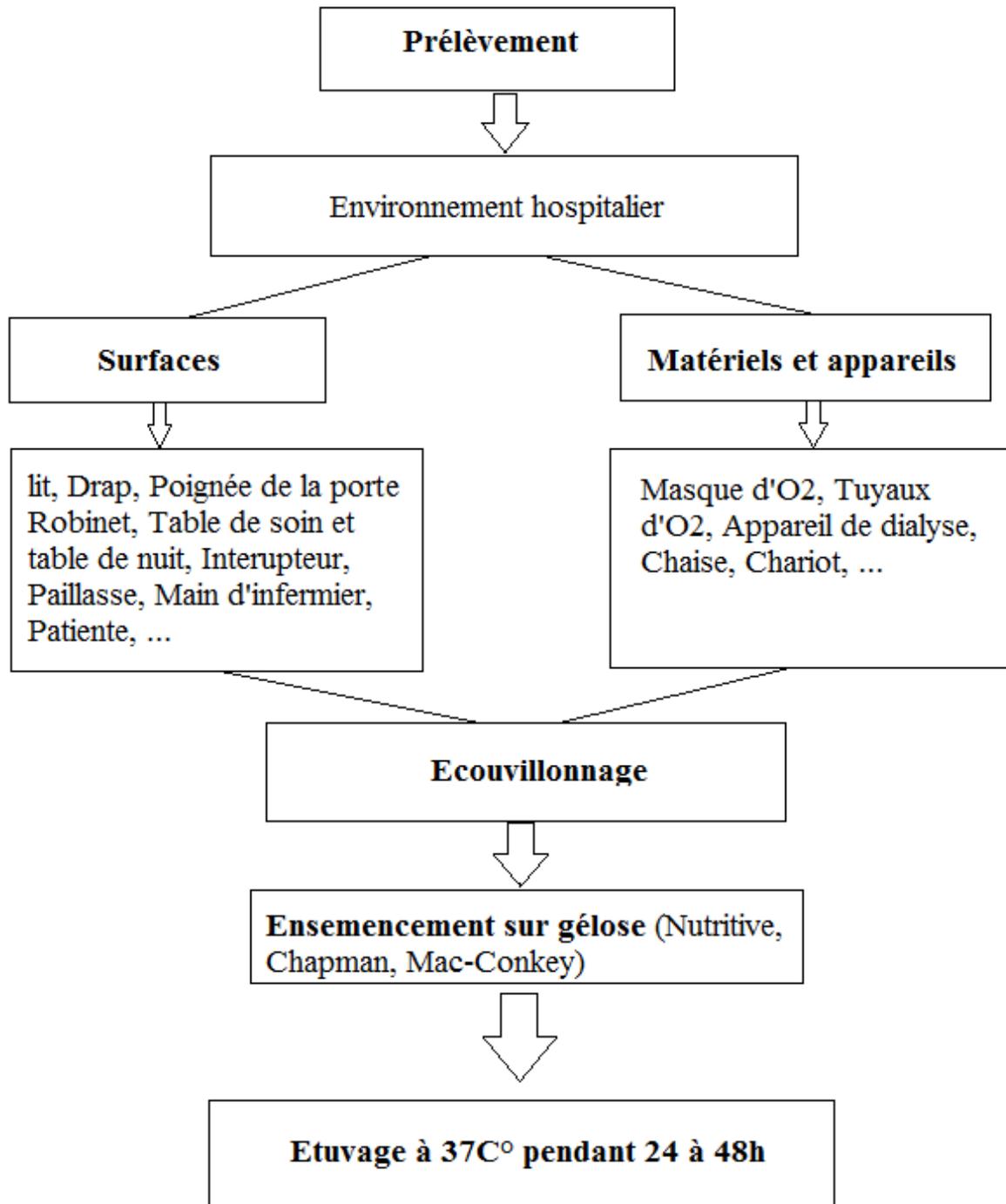


Figure N° 05 : Les sites et mode de prélèvement.

Tableau N° 01 : Les sites et les services des prélèvements effectués.

Numéro de prélèvement	Sites de prélèvement	Services
(01)	Chaise	Oncologie coté Femme
(02)	Drap	Oncologie coté Femme
(03)	Lit N° 03	Pneumologie et Physiologie Femme
(04)	Poignée de la porte (WC)	Pneumologie et Physiologie Femme
(05)	Paillasse de la salle de soin	Oncologie
(06)	Drap lit N°01	Pneumologie et Physiologie Femme
(07)	Interrupteur (Salle 04)	Pneumologie et Physiologie Femme
(08)	Masque d'O2 lit N°09	Pneumologie et Physiologie Femme
(09)	Masque d'O2 lit N°09	Pneumologie et Physiologie Femme
(10)	Main d'une patiente (Age 03 ans)	Chirurgie générale Femme
(11)	Poignée de la porte (Salle 05)	Chirurgie générale Femme
(12)	Masque d'O2	Oncologie
(13)	Boite savon liquide (WC)	Pneumologie et Physiologie Femme
(14)	Chariot (2)	Oncologie coté femme
(15)	Tuyaux d'O2 lit N° 11	Pneumologie et Physiologie Femme
(16)	Chaise roulante	Pneumologie et Physiologie Femme
(17)	Poignée de la porte (Salle 04)	Pneumologie et Physiologie Femme
(18)	Lit N°13	Pneumologie et Physiologie Femme
(19)	Table de nuit lit N°09	Pneumologie et Physiologie Femme
(20)	Lit N°8	Pneumologie et Physiologie Femme
(21)	Lavabo (WC)	Chirurgie générale Femme
(22)	Robinet (WC)	Oncologie
(23)	Drap lit N°12	Chirurgie générale Femme

(24)	Poignée d'une salle en stérilisation	Pneumologie et Physiologie Femme
(25)	Table de soin (Salle 03)	Pneumologie et Physiologie Femme
(26)	Masque d'O2 lit N° 9	Pneumologie et Physiologie Femme
(27)	Lit N°6	Pneumologie et Physiologie Femme
(28)	Robinet (WC)	Hémodialyse

3. Isolement et purification des bactéries :

- **Matériel d'isolement :**

- Boîtes de Pétries.
- Bec Bunsen.
- Pipette Pasteur stérile.
- Ecouvillon (échantillon).
- Gélose Nutritive.
- Gélose Chapman.
- Gélose Mac-Conkey
- Portoir.

3.1. Isolement:

Après l'observation macroscopique des différents types bactériens, on cherche à isoler les bactéries du mélange pour permettre de les identifier.

Prendre une goutte du bouillon nutritif et ensemencer des boîtes de Pétri contenant 18ml de gélose, pour cela on utilise la technique d'isolement par strie sur gélose coulée dans des boîtes de Pétri.

On a utilisé trois milieux

- **Les milieux gélosés utilisés sont :**

L'isolement nécessite des milieux gélosés, contenant de nombreux facteurs de croissance et rendus sélectifs grâce à l'addition d'antibiotiques.

- Gélose nutritive :

Caractéristiques

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

Usage

- Milieu d'isolement utilisé pour la recherche de FMAR (flore mésophile aérobie revivifiable). [18]

- Gélose de Chapman :

Caractéristiques

- Permet la croissance des bactéries halophiles.
- Très forte concentration en NaCl permettant l'inhibition des Gram-
- Permet l'étude de l'attaque du mannitol (si baisse du pH, on obtient une teinte jaune)
- Ensemencement en stries.
- Incubation : 24-48h

Usage

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

Lecture

- S'il s'agit de *Staphylococcus aureus* : colonies jaunes avec halo clair. Mannitol + Les autres colonies sont Mannitol. (Chringle), [7]

- Gélose de MacConkey :

Caractéristiques

- Contient des sels biliaires qui sont : inhibiteurs des Gram +
- Contient des cristaux qui sont : inhibiteurs des Gram +
- Si la bactérie fermente le lactose, le milieu devient rouge du fait de l'acidification du milieu.
- Ensemencement en stries.
- Incubation 18 à 24h à 37°C

Usage

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

Lecture

- Lactose + : colonies rouges entourées d'un halo opaque de la même couleur dû à la précipitation des sels biliaires.
- Lactose - : colonies jaunes ou incolores.(Chringle), [7]

3.2. La purification :

Après incubation, on examine l'aspect des colonies ayant poussé sur les milieux de culture et selon la nécessité (si les boîtes contiennent plusieurs types de colonies), on procède à la purification des souches en réalisant des repiquages successifs (sur le même milieu d'isolement).

3.3. Méthode d'inoculation :

Les germes se trouvent dans la nature sous forme de mélange de plusieurs espèces. Isoler c'est séparer les divers micro-organismes contenus dans le prélèvement initial. Un isolement peut être envisagé pour :

- Séparer des micro-organismes différents au sein d'un mélange (prélèvement par exemple).
- Purifier une souche contaminée ou contrôler sa pureté.

- Ensemencement en quadrant :

L'inoculum est déposé près du bord de la boîte de Pétri. A partir du dépôt, avec une pipette Pasteur ; on réalise des stries très serrées jusqu'à ce que l'ensemencement ait atteint le diamètre horizontal de la boîte ; ensemer les quadrants 1 et 2. Après avoir flambé la boucle et fait tourner la boîte de 90° et on termine avec strie d'une forme Z pour obtenir des colonies isolées, faciles à prélever.[10]

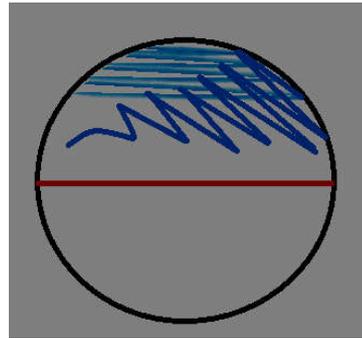
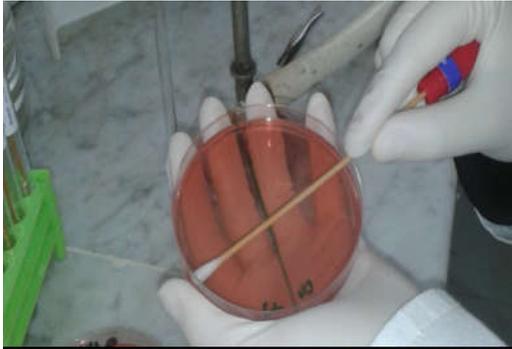


Photo N° 01: Méthode d'ensemencement des géloses.

4. Identification :

L'identification des souches est réalisée par :

4.1. Observation macroscopique :

C'est l'étude de l'aspect des colonies.

Une colonie est l'amas, visible à l'œil nu, constitué par des milliard de descendants d'une seule cellule bactérienne et dont la taille, la forme, la couleur, la consistance, l'opacité et l'odeur sont caractéristiques de chaque espèce.

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.[10]

Condition d'examen :

L'examen macroscopique des cultures est le premier examen effectué à partir de l'isolement après incubation. L'aspect des colonies dépend du milieu utilisé, de la durée et de la température de l'incubation.[10]

4.2. Observation microscopique :

Permet de faire une étude morphologique des cellules d'une espèce microbienne, elle comprend :

- Examen a l'état frais,
- Examen après coloration de Gram

4.2.1 Examen à l'état frais :

- **Intérêt :**

Il permet l'observation des bactéries vivantes et la détermination de leur morphologie, de leur mode de groupement, de leur mobilité éventuelle et la quantité approximative de bactéries.(Camille.D,2008), [10]

- **Technique :**

Prendre une lame propre nettoyée avec un coton imbibé d'alcool à 95° :

- Dans le cas d'une culture en milieu liquide (bouillon), déposer sur la lame une goutte de cette culture, à l'aide d'une pipette Pasteur stérile ou un inoculum avec une anse de platine.
- Dans le cas d'une culture sur milieu solide (gélosé) en tube ou sur boîte de Pétri, déposer tout d'abord sur la lame une goutte d'eau distillée stérile ou une goutte d'eau physiologique stérile, puis apporter et dissocier dans l'eau un inoculum bactérien ;
- Recouvrir d'une lamelle,
- Observer au microscope optique à l'objectif $\times 40$ ou $\times 60$.

- **Conseil pratique**

Il faut régler convenablement la lumière et ne pas prolonger le temps d'observation au-delà de 3 minutes, sinon la préparation se dessèche..(Camille.D,2008), [6].

4.2.2 Examen après coloration :

4.2.2.1 Coloration de Gram :

Le protocole de la coloration de Gram est comme suit :

- Préparer un frottis d'un produit pathologique ou d'une culture bactérienne pure ;
- Recouvrir le frottis de violet cristal oxalaté ; laisser agir 1minute ; rincer à l'eau distillée ;
- Verser du Lugol et le laisser agir pendant 1minute ; rincer à l'eau distillée ;
- Décolorer à l'alcool à 95°C, entre 15 et 30 secondes (selon les auteurs) ; rincer à l'eau distillée ;
- Recolorer avec la fuchsine pendant 1 minutes ; rincer à l'eau distillée ;
- Sécher au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen.

Observer au microscope à l'objectif à immersion. Avec cette coloration double, les bactéries

Gram-positif apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries Gram-négatif sont colorées en rose ou en rouge.

NB : Cette coloration permet en général d'apprécier la pureté des souches bactériennes avant toute identification.

5. Test biochimiques :

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

5.1 Recherche de la catalase -Test catalase :

La catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobie facultatives. Elle décompose l'eau oxygénée formée, en eau et en oxygène qui se dégage.

La méthode qui permet de rechercher cette enzyme est :

Prendre une lame porte objet propre. Déposer sur celle-ci une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes et émulsionner un peu de la colonie suspecte ou de la culture obtenue sur gélose.

- **Résultat** :

Le dégagement de bulles de gaz indique la présence de la catalase : test catalase +.

5.2 Recherche de l'oxydase- Test oxydase :

L'oxydase ou Cytochrome oxydase est une enzyme présente dans certaines chaînes respiratoires cytochromiques bactériennes.

La recherche de cette enzyme est utile dans le repérage des colonies de Neisseriaceae et dans le diagnostic des bacilles à Gram négatif. (Camille.D,2008), [6].

Tableau N° 02 : Les germes bactériens selon le caractère biochimique (Oxydases) .

Test oxydase	Genres bactériens
Oxydase +	<i>Aeromonas, Vibrio, Neisseria, Flavobacterium, Pseudomonas, ...</i>
Oxydase -	<i>Enterobacteriaceae, Acinetobacter, Pasteurella, ..</i>
Oxydase variable	<i>Brucella, ...</i>

- **La méthode :**

Déposer, sur une lame porte-objet propre, un disque « OX » et l'imbiber avec une goutte d'eau distillée ou d'eau physiologique stérile. Prélever une partie de la colonie à étudier à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée stérile et l'étaler sur le disque.

Une coloration violée foncée apparaît immédiatement sur le disque ou en quelques secondes puis vire au noir : test oxydase +.

Conseil pratique :

Il ne faut pas utiliser l'anse de platine qui peut oxyder le réactif contenu dans le disque et donner de faux positifs.

6. Galeries biochimique :

La galerie API commercialisée, est un système standardisé pour l'identification de bactéries ; elle est composée d'un nombre variable de microtubes (10 ou 20 le plus souvent), contenant des substrats déshydratés qui permettent de réaliser des tests biochimiques.(Camille.D,2008), [6].

Préparation de la galerie API :

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 mL d'eau dans les alvéoles avec pipette pour créer une atmosphère humide.
- Déposer la galerie dans la boîte d'incubation.[11]

Préparation de l'inoculum :

- Ouvrir une ampoule de « Suspension Medium » ou introduire quelques ml d'eau distillée stérile (avec une pipette Pasteur) dans un tube à vis stérile.
- Avec la pipette Pasteur, prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé.
- Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu[11]

Inoculation de la galerie API 20 E :

- Avec la suspension bactérienne et la pipette ayant servi au prélèvement, remplir tubes et cupules des tests **CTI – VP – GEL**
- Remplir uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests.

- Créer une anaérobiose dans les tests ADH, LCD, ODC, URE, H₂S en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- Refermer la boîte d'incubation et la placer dans l'étuve à 35 - 37° C pendant 18 à 24 heures[11]

Lecture et détermination :

- Elle se fait avec le tableau API 20 E [21].Et à l'aide du logiciel d'identification *apiweb* .[11]

Tableau N° 03: Galeries API bioMérieux SA et bactéries identifiables.

Galeries API	Nombre de tests biochimiques	Temps d'incubation en heures	Bactéries identifiées
Api 20 E	20	18 à 24	Enterobacteriaceae et autres bacilles à Gram- non fastidieux
Api 20 NE	20	24	Bacilles Gram- non enterobactéries et non fastidieux
Api Staph	20	24	Staphylocoques, microcoques et germes apparentés
Api 20 Strep	20	4 puis 24	Streptococcaceae et germes apparentés

7. Test de résistance aux antibiotiques :

Nous avons par la suite testé l'efficacité d'antibiotiques sur toutes les souches identifiées. Pour cela nous avons utilisé une gélose Mueller Hinton (MH) dans une boîte de Pétris ensemencée par la suspension obtenue (3 à 5 colonies sont prélevées et dissociées dans 5ml d'eau distillée stérile) par des stries bien serrées.

On disposera alors des pastilles d'antibiotiques différents (6 pour une boîte de Pétris) suivant la disposition du **Photo N°02**.

Après étuvage à 37 °C pendant 24 heures nous pouvons obtenir des diamètres sans bactérie (zone d'inhibition) autour des pastilles d'antibiotique.

Selon le logiciel **ATB Whonet 5,3** et les diamètres mesurés on a distingués des bacteries résistantes et d'autres sensibles ou intermédiaires.

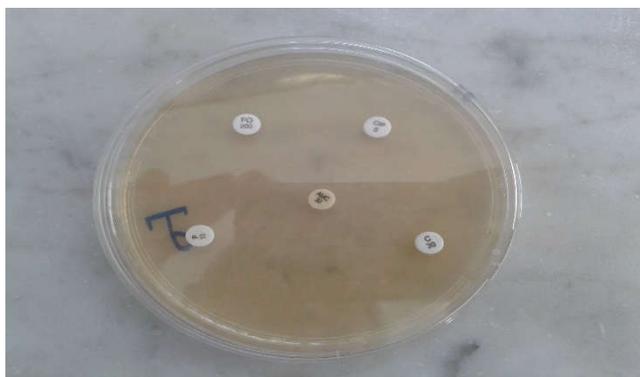


Photo N°02 : La disposition des disques d'antibiotiques.

Tableau N° : Liste des antibiotiques utilisé.

Entérobactéries	<i>Pseudomonas</i>	<i>Staphylococcus</i>
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Amoxicilline. ▪ Chloramphénicol . ▪ Amikacine. ▪ Ciprofloxacine. ▪ Gentamicine. ▪ Céftazidime. ▪ Impénéme. ▪ Aztréonam. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Fosfomycine. ▪ Amikacine. ▪ Ciprofloxacine. ▪ Gentamicine. ▪ Tobramycine. ▪ Ticarcilline+Ac clavulanique. ▪ Ticarcilline. ▪ Céftazidime. ▪ Impénéme. ▪ Aztréonam. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Vancomycin. ▪ Pénicilline. ▪ Amikacine. ▪ Ciprofloxacine. ▪ Erythromycine. ▪ Oxacilline. ▪ Gentamicine. ▪ Licomicine. ▪ Pristinamyci

Chapitre 05

Résultats et Discussion.

1. Résultat de l'enrichissement :

Après incubation pendant 24h les résultats de l'enrichissement apparaissent, un trouble a été observé dans 50 tubes inoculés. (Voir Photo N°03)



Photo N° 03 : Résultats de l'enrichissement (présence d'un trouble dans le milieu).

2. Aspect macroscopique après l'isolement :

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

Tableau N° 05 : Résultats de l'isolement des différents prélèvements effectués.

Milieu / Prélèvement	Gélose nutritive	Chapman	Mac-Conkey
(1)	Colonies blanches d'une taille moyenne opaques.	Petites colonies blanches translucides, rondes, -Mannitol (+). - présence d'une odeur.	Petites colonies brunes transparentes, d'une forme irrégulière.
(2)	Tapis microbien	Petites colonies blanches opaques, rondes bombées, - Mannitol (+) - présence d'une odeur.	Colonies d'une grosse taille, voilettes bombées

(3)	Tapis microbien.	- Colonies violettes d'une taille grosse, forme irrégulières, bombées. - Mannitol (+)	Colonies de taille moyenne, violettes, d'une forme irrégulière
(4)	Petites colonies, transparentes. - Produisant un pigment soluble d'une couleur verte qui colore le milieu.	Colonies blanches, d'une taille moyenne, forme irrégulière.	Grosse colonies violettes claires avec un centre foncé, forme irrégulière, bombées.
(5)	Petites colonies blanches transparentes, d'une forme ronde.	Absence de colonies.	Colonies d'une grosse taille, violettes claires opaque bombées, forme irrégulière.
(6)	Colonies blanchâtres de taille moyenne.	Colonies blanchâtres d'une taille moyenne.	Grosses colonies roses, muqueuses.
(7)	Tapis microbien.	- Petites colonies blanches - Grosse colonies jaunes claires bombées. - Mannitol (+)	- Petites colonies, violettes translucides, rondes, bombées - Présence d'odeur
(8)	Colonies blanchâtres, translucides, taille moyennes.	Petites colonies, blanches, plates.	Colonies d'une taille moyenne, violettes translucides, d'une forme irrégulière bombées.
(9)	Colonies blanchâtres, translucides, taille moyenne.	Petites colonies, blanches, plates.	Colonies d'une taille moyenne, violettes, d'une forme irrégulière bombées. Colonies transparentes, de taille moyenne,

			rondes bombées
(10)	Tapis microbien.	- Colonies de taille moyenne, violettes claires bombées. - Mannitol (+)	Absence de colonies
(11)	Colonies de taille moyenne jaunes, opaques, plates.	Absence de colonies	Gros colonies, brunes, opaques, plates.
(12)	Colonies de taille moyenne, - Produisant un pigment soluble d'une couleur verte qui colore le milieu.	- Colonies blanches de taille grosse, rondes et bombées.	- Colonies violettes, forme irrégulière - Colonies vertes claires.
(13)	Tapis microbien.	Colonies blanches opaques d'une taille grosse, forme irrégulière. - Mannitol (-)	Gros colonies violettes claires avec un centre foncé, forme irrégulière bombée.
(14)	Colonies de taille moyenne, blanches, plates.	Petites colonies transparentes, rondes.	Colonies de taille grosses violettes, bombées.
(15)	- Des petites colonies blanches, plates - présence d'une odeur.	Des petites colonies transparentes, rondes.	- Des colonies de taille moyenne transparentes, rondes, plates - présence d'une odeur.
(16)	Colonies blanches de taille moyenne, plates.	Colonies blanches de taille moyenne, forme irrégulière.	Colonies violettes claires, opaques de taille moyenne, rondes, plates.
(17)	Colonies transparentes,	- Petites colonies	Colonies violettes claires

(18)	d'une forme irrégulière, plate.	blanches - colonies de taille moyenne, blanches.	de taille grosse, rondes et bombées. Colonies de taille moyenne, brunes claires, rondes
	Tapis microbien.	Grosses colonies blanchâtres, - Petite colonies blanchâtres, - Mannitol (+)	Colonies de taille moyenne, couleur brune, ronde bombée Colonies transparentes de taille moyennes, rondes, plates
(19)	Colonies jaunes de taille moyenne, rondes.	Petites colonies d'une taille moyenne, rondes - Mannitol (-)	Petite colonies blanches, translucides, rondes. Colonies de taille moyennes, transparentes, rondes, plates.
(20)	Tapis microbien.	- Colonies blanche d'une taille grosse - Mannitol (+)	Colonies de taille moyenne, violettes, d'une forme irrégulière Colonies jaunes clairs opaque, d'une taille moyennes, bombée, irrégulières.
(21)	Colonies de taille moyennes, blanches, opaques	Petites colonies blanches, plates - Mannitol (-).	Absence de colonies.
(22)	Tapis microbien.	Colonies roses claires, rondes, bombées - Mannitol (+) - présence d'une odeur.	Absence de colonies.

(23)	Petites colonies blanches, opaques, rondes, plates.	Petites colonies blanches.	Absence de colonies.
(24)	Petites colonies blanches opaques, rondes, plates.	- Petit colonies blanches. - grosse colonies blanches.	Absence de colonies.
(25)	Petites colonies, blanchâtres, translucides, plates	Petites colonies blanches, de taille moyenne, rondes.	Absence de colonies.
(26)	Colonies blanchâtres, translucides, taille moyennes.	Petites colonies, blanches, plates.	Colonies d'une taille moyenne, violettes, d'une forme irrégulière bombée.
(27)	Petites colonies dorées.	Des colonies jaunes.	Absence de colonies
(28)	De grosses colonies Plates vertes.	Absence de colonies.	Colonies grosses dentellier vertes.

Remarque : Mannitol (+) : Virage de couleur de rouge vers le jaune

La majorité des prélèvements sont poly-microbiens. Plusieurs colonies ont poussés sur les trois milieux. Aussi, sur une même boîte de Pétri, on peut trouver plusieurs colonies différentes.

Les photos qui suivent montrent quelques aspects des colonies isolées sur les milieux de culture.



Photo N° 04: Culture sur GN à partir de prélèvement (24).

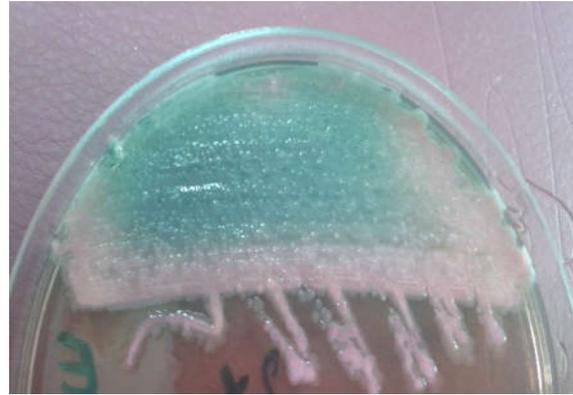


Photo N° 05: Culture sur Mac Conkey à partir de l'échantillon (12).



Photo N°06: Culture sur Mac Conkey à partir de l'échantillon (05).



Photo N°07 : Culture sur Chapman à partir de l'échantillon (02 et 14).



Photo N°08: Culture sur GN à partir de l'échantillon (24 et 25).



Photo N°09 : Culture sur MC à partir de l'échantillon (07).

3. Résultat d'examen microscopique :

Après coloration différentielle de Gram, nous avons isoler des cocci, des bâtonnets ainsi que des cocobacilles. Les photos qui suivent montrent l'aspect microscopique de quelques bactéries isolées sur les milieux utilisés.

Tous les résultats sont résumés dans le **Tableau N°06**

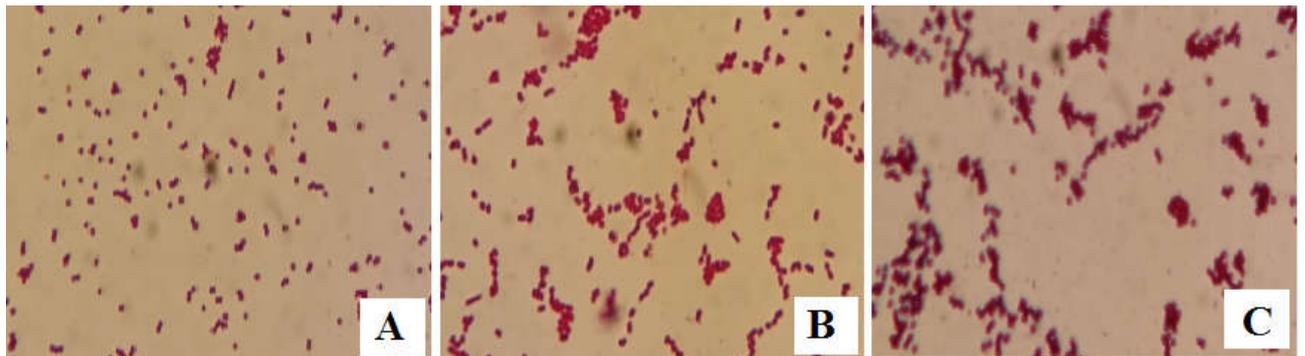


Photo N°10 : Les différentes formes des cultures isolées.

A : Culture de Cocci Gram (+).

B : Culture de bacilles Gram (-).

C : Culture de Coccobacile Gram (-).

Tableau N°06 : Résultats de l'examen microscopique à l'état frais et après coloration.

Prélèvement	Examen	À l'état frais	Coloration de Gram
	(1)		Mobile/ immobile
(2)		Immuable	Cocci Gram (+)
(3)		Immuable	Bacille Gram (-)
(4)		Mobile	Bacille Gram (-)
(5)		Mobile	Bacille Gram (-)
(6)		Mobile	Bacille Gram (-)

(7)	Mobile	Bacille Gram (-)
(8)	Mobile	Bacille Gram (+)
(9)	Mobile	Bacille Gram (+)
(10)	Mobile	Bacille Gram (-)
(11)	Mobile	Bacille Gram (+)
(12)	Mobile	Coccobacille Gram (-)
(13)	Immobile	Cocci Gram (+)
(14)	Mobile	Bacille Gram (-)
(15)	Mobile	Bacille Gram (-)
(16)	Mobile	Bacille Gram (-)
(17)	Mobile	Bacille Gram (-)
(18)	Mobile	Bacille Gram (+)
(19)	Mobile	Bacille Gram (+)
(20)	Mobile	Bacille Gram (-)
(21)	Immobile	Cocci Gram (+)
(22)	Immobile	Cocci Gram (+)
(23)	Immobile	Cocci Gram (+)
(24)	Immobile	Cocci Gram (+)
(25)	Immobile	Cocci Gram (+)
(26)	Immobile	Bacille Gram (-)
(27)	Mobile	Coccobacille Gram (-)
(28)	Immobile	Cocci Gram (+)

4. Tests biochimiques :

On à effectuer les tests (Oxydase – Catalase- Coagulase) sur les souches, Les résultats sont résumés dans le **Tableau N° 08**.

Ces **Photos (11 et 12)** montrent les caractères Oxydase, Catalase chez les bactéries isolées.



Photo N°11 : Résultat de test Oxydase.

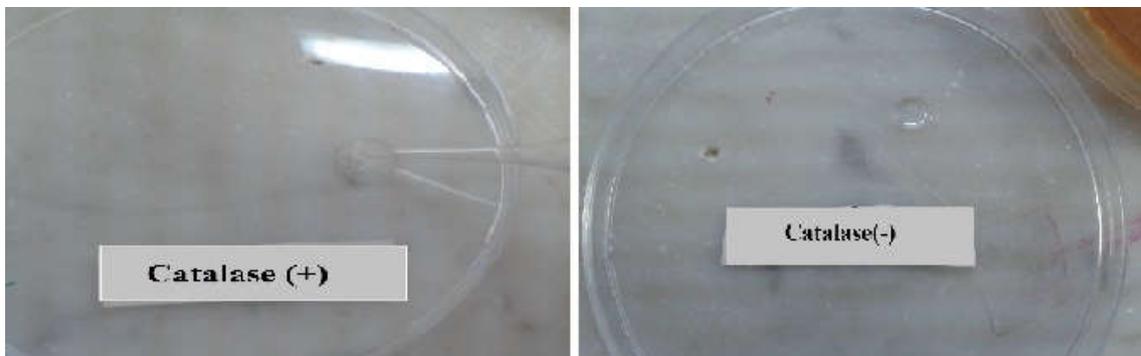


Photo N°12 : Résultats du test Catalase

5. Identification biochimique :

Nous avons utilisés trois types de galeries (Voir **Photo N° 13. 14. 15**), Après la préparation et l'incubation des galeries nous avons distingué plusieurs espèces de cellules bactériennes, **Tableau N° 08** résume les résultats.



Photo N°13 :Galerie API 20 NE avant et après incubation.



Photo N°14 : Galerie API Staph avant et après incubation.



Photo N°15 :Galerie API 20 E avant et après incubation.

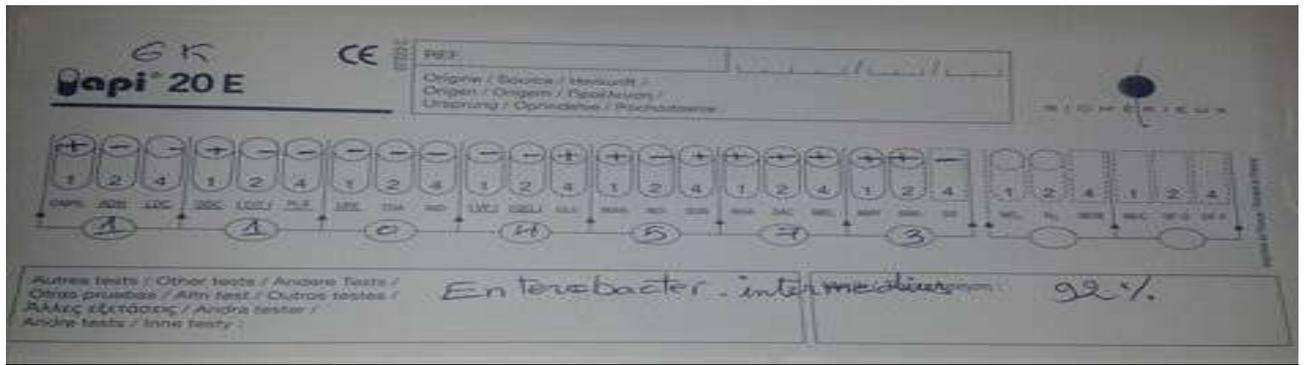


Photo N°16 : Profil numérique de *Enterobacter intermidus*.

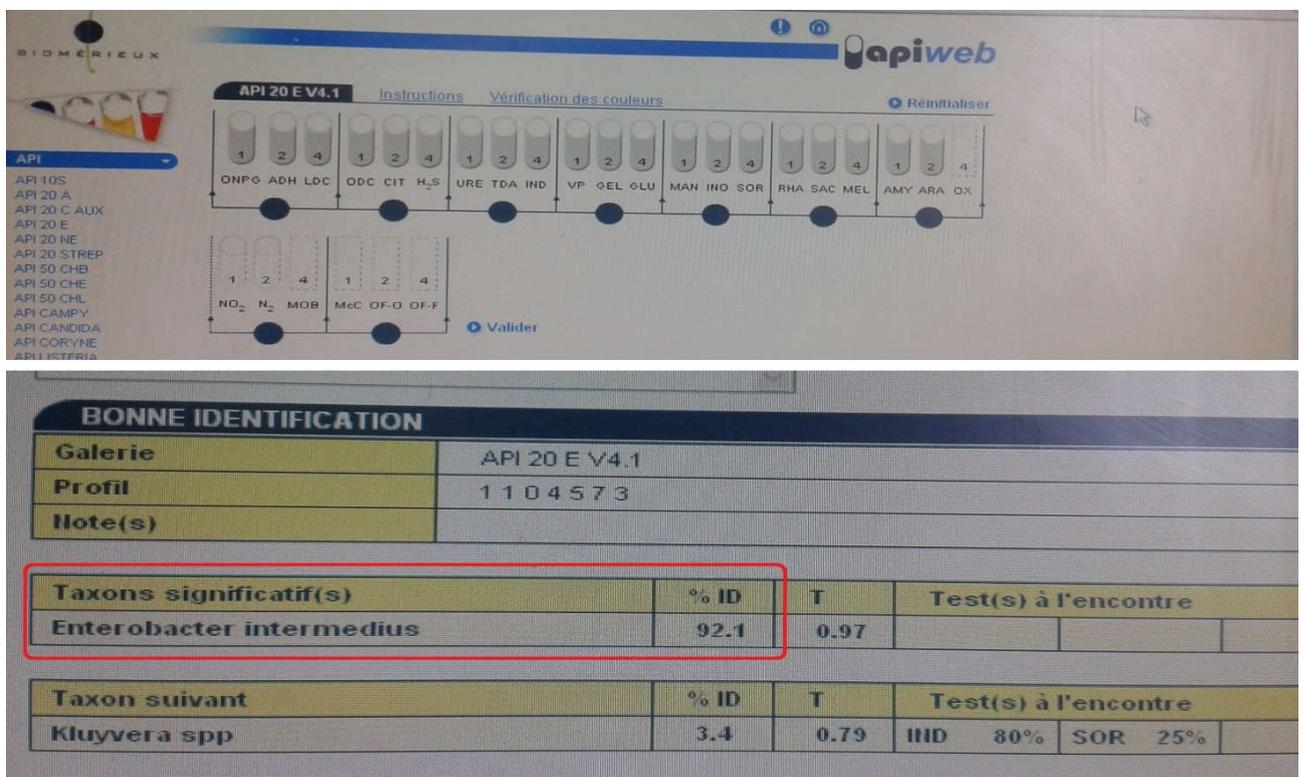


Photo N°17 : Lecture par apiWeb d'*Enterobacter intermidus*.

6. Antibiogramme :

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

Tableau N°07 : Résultat de l'antibiogramme.

Antibiotique \ Souche	AMC	VA	P	C	FO	AK	CIP	E	OX	CN	CZ	CTX	HLG
<i>Escherichia vulneris</i>	R	/	R	S	R	S	S	/	/	/	/	/	/
<i>Escherichia sakasaki</i>	R	/	R	S	S	S	S	/	/	R	/	/	/
<i>Escherichia cloaceae</i>	R	/	R	S	S	I	S	/	/	R	/	/	/
<i>Enterobacter intermedius</i>	R	/	R	R	R	R	R	/	/	R	/	/	/
<i>Serratia ficaria</i>	R	/	R	S	S	S	S	/	/	S	/	/	/
<i>Citrobacter freundii</i>	R	/	/	/	S	/	S	/	/	S	R	R	/
<i>Buttiauxella agrestis</i>	S	/	/	/	S	/	S	/	/	/	/	/	S
<i>Aeromonas hydrophila</i>	/	R	R	/	/	/	/	S	R	/	/	/	S
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	/	/	/	/	S	S	S	/	/	I	/	/	/
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	R	/	R	S	S	S	S	/	/	S	/	/	/
Micrococcus spp	/	R	R	/	S	/	/	S	R	/	/	/	S
<i>Staphylococcus sciuri</i>	/	S	R	/	/	/	/	I	R	/	/	/	/
<i>Staphylococcus xylosus</i>	/	S	R	/	/	/	/	R	R	/	/	/	S
<i>Staphylococcus hominis</i>	/	I	/	/	/	/	/	R	/	/	/	/	S
<i>Staphylococcus sapropticus</i>	/	S	R	/	S	/	/	R	R	/	/	/	S
<i>Staphylococcus aureus</i>	/	/	/	/	S	/	/	S	S	/	/	/	/

R : Résistante.

S : Sensible.

I : Intermediaire.

(AMC) : Amoxicillin.

(VA) : Vancomycin.

(P) : Penicillin G.

(C) : Chloramphenicol.

(FO) : Fosfomycin.

(AK) : Amikacin.

(CIP) : Ciprofloxacin.

(OX) : Oxacillin.

(CN) : Céfalexine.

(CZ) : Céfazoline.

(CTX) : Céfotaxime.

(HLG) : Gentamicine 120.

(E) : Erythromycin.

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

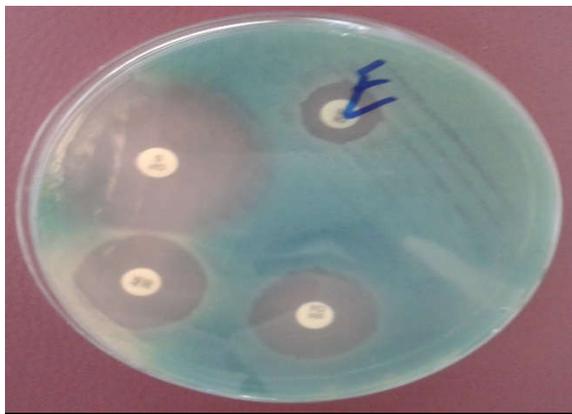


Photo N° 18: Résultat d'antibiogramme de la culture N°(12).



Photo N°19: Résultat d'antibiogramme de la culture N°(10).

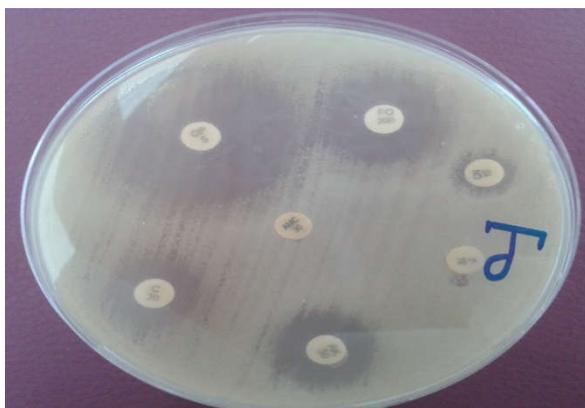


Photo N° 20: Résultat d'antibiogramme de la culture N°(5).



Photo N°21 : Résultat d'antibiogramme de la culture N°(17).

Tableau N°08 : les résultats obtenus pendant notre étude pratique.

Technique	État frais	Coloration de Gram	Milieu d'isolement sélectif	Test biochimique				Type respiratoire	Galerie utilisé	Identification biochimique
				Oxydase	Catalase	Coagulase	Mannitol			
(1)	Mobile/immobile	Bacille Gram(-)	Mac Conkey	(+)	/	/	(+)	Aerobies strictes	API 20E	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
(2)	immobile	Cocci Gram (+)	Chapman	(+)	(+)	(-)	(+)	Aero-anaérobie facultative	API Staph	<i>Staphylococcus sciuri</i>
(3)	Immuable	Baccille Gram (-)	Mac Conkey	(-)	(+)	(-)	(+)	/	API 20E	<i>Escherichia vulneris</i>
(4)	Mobile	Bacille Gram (-)	Mac Conkey	(+)	/	/	/	Aéro-anaérobie	API 20E	<i>Aeromonas hydrophila</i>
(5)	Mobile	Baccille Gram (-)	Mac Conkey	(-)	(+)	/	(+)	Anaérobie stricte	API 20 E	<i>Enterobacter sakasaki</i>
(6)	Mobile	Baccille Gram (-)	Mac Conkey	(-)	(+)	/	/	Anaérobie facultatifs	API 20 E	<i>Enterobacter cloacae</i>
(7)	Mobile	Baccille Gram (-)	Mac Conkey	(-)	(+)	/	/	Anaérobie facultatifs	API 20 E	<i>Enterobacter cloacae</i>
(8)	Mobile	Bacille Gram (+)	Mac Conkey	(-)	(+)	/	/	Anaérobie facultative	API 20 E	<i>Serratia ficaria</i>
(9)	Mobile	Bacille Gram (+)	Mac Conkey	(-)	(+)	/	/	Anaérobie facultative	API 20 E	<i>Serratia ficaria</i>
(10)	Mobile	Bacille Gram (-)	Mac Conkey	(-)	(+)	/	(+)	Anaérobie facultative	API 20 E	<i>Enterobacter intermedius</i>
(11)	Mobile	Bacille Gram (+)	Mac Conkey	(-)	(+)	/	/	Anaérobie facultative	API 20 E	<i>Serratia ficaria</i>
(12)	Mobile	Coccobacille	Mac Conkey	(+)	(+)	/	/	Aérobie stricte	API 20	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

		Gram (-)							NE	
(13)	Immobile	Cocci Gram (+)	Chapman	(+)	(+)	/	(-)	Aérobic stricte	API Staph	<i>Micrococcus spp</i>
(14)	Mobile	Baccille Gram (-)	Mac Conky	(-)	(+)	/	/	Anaérobic facultative	API 20 E	<i>Enterobacter cloacae</i>
(15)	Mobile	Baccille Gram (-)	Mac Conkey	(-)	(+)	/	/	Anaérobic facultative	API 20 E	<i>Enterobacter cloacae</i>
(16)	Mobile	Bacille Gram (-)	Mac Conkey	(-)	/	/	(-)	Anaérobic facultative	API 20 E	<i>Citrobacter freundii</i>
(17)	Mobile	Baccille Gram (-)	Mac Conkey	(-)	(+)	/	(+)	Anaérobic stricte	API 20 E	<i>Enterobacter sakasaki</i>
(18)	Mobile	Bacille Gram (+)	Mac Conkey	(-)	(+)	/	/	Anaérobic facultative	API 20 E	<i>Serratia ficaria</i>
(19)	Mobile	Bacille Gram (+)	Mac Conkey	(-)	(+)	/	/	Anaérobic facultative	API 20 E	<i>Serratia ficaria</i>
(20)	Mobile	Bacille Gram (-)	Mac Conkey	(-)	(+)	/	/	Anaérobic facultative	API 20 E	<i>Buttiarella agrestis</i>
(21)	Immobile	Cocci Gram(+)	Gélose nutritive	/	(+)	/	(-)	Aérobic-anaérobic facultative	API Staph	<i>Staphylococcus xylosus</i>
(22)	Immobile	Cocci Gram (+)	Chapman	/	(+)	(+)/(-)	(+)	Aéro-anaérobic facultative	API Staph	<i>Staphylooccus hominis</i>
(23)	Immobile	Cocci Gram(+)	Gélose nutritive	/	(+)	/	(-)	Aérobic-anaérobic facultative	API Staph	<i>Staphylococcus xylosus</i>
(24)	Immobile	Cocci Gram (+)	Gélose nutritive	/	(+)	(+)/(-)	(+)	Aéro-anaérobic facultative	API Staph	<i>Staphylooccus hominis</i>
(25)	Immobile	Cocci Gram(+)	Gélose	(-)	(+)	(+)	(+)	Aéro-anaérobic	API Staph	<i>Staphylococcus</i>

			nutritive					facultative		<i>saprophyticus</i>
(26)	/	Baccille Gram (-)	Mac Conkey	/	/	/	/	/	API 20 E	<i>Rahnella aquatilis</i>
(27)	Mobile	Coccobacille Gram (-)	Mac Conkey	(+)	(+)	/	/	Aérobic stricte	API 20 NE	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
(30)	Immobile	Cocci Gram (+)	Chapman	(-)	(+)	(+)	(+)	Aéro-anaerobic facultative	API Staph	<i>Staphylococcus aureus</i>

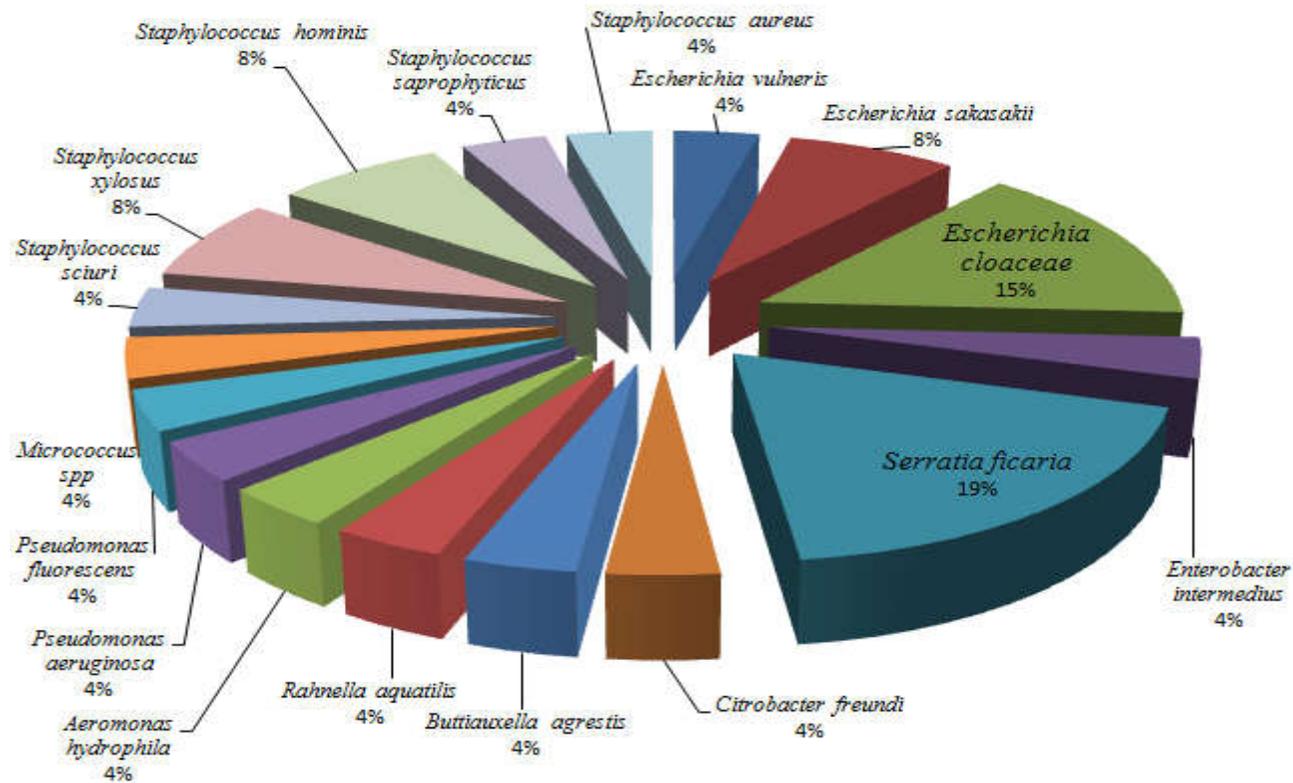


Figure N°06 : Pourcentage des espèces présentes.

Discussion :

Notre travail a pour but l'isolement et l'identification des microorganismes responsables des infections nosocomiales à partir de 28 prélèvements effectués dans les services de l'hémodialyse, de Pneumologie et Physiologie Femme, de la chirurgie générale Femme et de l'Oncologie de l'hôpital Ibn-Zohr et de l'hôpital Hakim Okbi de la ville de Guelma.

A partir des différentes analyses que nous avons réalisées, nous avons montré que les prélèvements sont souvent poly-microbiens. D'une manière générale, nous avons isolés 17 espèces bactériennes dont la majorité appartient à la famille des Enterobacteriaceae qui dominant avec un pourcentage de 58%. Elles sont suivies des Staphylocoques avec 28% et enfin des *Pseudomonas* avec 8%. Les Aeromonadaceae et les Micrococeaceae ont été isolés avec un pourcentage faible avoisinant 4% pour chacune.

L'examen macroscopique de ces bactéries a montré de multiples formes et aspects des colonies qui ont poussés sur les trois géloses utilisées pour l'isolement, la gélose nutritive, la gélose Chapman et la gélose Mac Conkey. La coloration de Gram a montré presque une égalité de nombre de présence des Gram négatifs et des Gram positifs et de multiples formes de cocci, de bacilles et de coccobacilles.

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques nous a confirmé que parmi les espèces bactériennes isolées, certaines exhibent une résistance aux différents antibiotiques utilisés, tels *Enterobacter intermedium*. Cette bactérie a été isolée à partir des mains d'une enfant de 3ans hospitalisée au niveau du service de chirurgie de l'hôpital Hakim Okbi.

Nous pouvons aussi constater la présence de nombreux germes dans tous les prélèvements que nous avons effectués. Cette variation, peut être expliquée par les contaminations directe ou indirecte par le matériel non stérile de l'hôpital et aussi aux déplacements du personnels et des visiteurs (personnes venant de l'extérieur) entre les différents services sans aucun respect des modalités de prévention.

Conclusion

Conclusion :

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

Dans notre travail réalisé au niveau de certains services de l'hôpital Ibn-Zohr et l'hôpital Hakim Okbi de la ville de Guelma, on a pu isoler et identifier les principales bactéries responsables des infections nosocomiales dans notre région.

Les souches trouvées sont en effets citées depuis longtemps par la littérature scientifique comme des germes responsables des infections nosocomiales. Par étude des antibiogrammes, la majorité des bactéries isolées ont montré aussi une résistance importante aux différents antibiotiques utilisés et commercialisés dans notre pays.

D'une manière générale, les souches bactériennes isolées et identifiées dans les deux hôpitaux appartiennent aux familles des Enterobacteriaceae, des Pseudomonadaceae des Staphylococcaceae, Aeromonadaceae et Micrococcaceae . Les souches isolées des services de l'hôpital Hakim Okbi ont montré une résistance plus importante aux antibiotiques, principalement la souche de *Escherichia intermedius*. Ceci nous montre que le risque d'infection nosocomiale dans ces services est toujours présent et constitue un grand problème pour la santé publique pour la wilaya et la région.

De ce fait, la prévention est en effet le seul moyen de lutter contre ces infections nosocomiales. Il est donc indispensable de suivre une stratégie efficace de lutte et de prévention contre ce fléau et ceci en respectant toutes les règles d'hygiène d'où penser à une formation continue pour l'équipe soignante et sensibiliser les patients et les visiteurs.

Annexe

Composition chimique des milieux de cultures :

Gélose nutritive :

- Extrait de viande de bœuf 1gr
- Extrait de levure2 gr
- Peptone.....5 gr
- Chlorure de sodium..... 5 gr
- Agar..... 15 gr

Gélose Chapman :

La gélose Chapman bioMérieux SA est un milieu de culture ancien (Chapman, 1945), destiné à l'isolement et à la différenciation des staphylocoques.

Ce milieu est utilisé :

Pour l'isolement des staphylocoques à partir de prélèvement biologiques en bactériologie médicale ;

La formule théorique de ce milieu de culture en g/l d'eau purifiée est :

- Extrait de viande (bovin ou porcin)01 gr
- Peptone de caséine et de viande (bovin et porcin).....10 gr
- Chlorure de sodiu.....75 gr
- D- Man.....10 gr
- Agar.....15 gr
- Rouge de phénol.....0.025 gr
- Eau distillée..... 1000ml
- Protéose peptone N°3..... 6 gr

PH: 7.4

Stérilisation l'autoclave : 15 minutes à 120°C

Préparer des boîtes de pétri à partir du milieu déshydraté suivant les indications du fabricant ou utiliser des boîtes de Pétri prêtes à l'emploi. Laisser les boîtes re venir à température ambiante avant usage

Gélose Mac Conkey :

La gélose Mac Conkey bioMérieux SA est un milieu d'isolement sélectif et de différenciation destiné à la recherche des Entérobactéries (dont Escherichia coli) , à partir de prélèvement d'origine diverses (clinique , alimentaire , pharmaceutique....)

La formule théorique de ce milieu de culture en g/l d'eau purifié est :

- Peptone de gélatine (bovin ou porcin).....17
- Peptone de viande (bovin ou porcin).....3
- Lactose (bovin)..... 10
- Sels biliaire (ovin ou bovin).....1.5
- Chlorure de sodium.....5
- Agar.....13.5
- Rouge neutre.....0.03
- Cristal violet.....0.01

PH : 7.1

Ce milieu est disponible en boites de prêts à l'emploi. Les laisser revenir à température ambiante avant emploi.

Bleu de méthylène :

- Bleu de méthylène.....20g
- Acide phénique.....20g
- Alcool à 95°100ml

La fuchsine :

- Fuchsine basique.....01g
- Acide phénique cristallisé.....05g
- Alcool à 95 °10ml

Réactifs: Les principaux réactifs utilisés dans l'identification bactérienne.

Réactifs généraux	Réactifs Api bioMérieux SA	Tests biochimiques
Perchlorure de fer	TDA	TDA
Réactif de Kovacs	Réactif de Kovacs	Indole
	JAMES	Indole
KOH	VP 1 (KOH 40 g) ou VP A (KOH 20 g)	VP (Voges-Proskauer)
Alpha- naphтол	VP 2 (Alpha-naphтол 6g) ou VP B (Alpha-naphтол 12g)	/
Rouge de méthyle		RM (rouge de méthyle)
N, N, N, N-tétraméthyl-1,4-phénylènediamine	Oxydase reagent	Oxydase
H2O2 (eau oxygénée)	ID color catalase	Catalase

Réactif de Griess-Ilosvay	NIT 1 (acide sulfanilique) + (N, N-diméthyl-1- naphtylamine)	Test nitrate-réductases (formation des nitrites)
Poudre de zinc	Zinc	Test nitrate-réductases (formation du diazote N ₂)
	Zym A (tris-hydroxyméthyl- aminométhane) + Zym B (fast bleu BB)	Phosphatase alcaline Alpha-galactosidase Béta-glucuronidase Béta-galactosidase Pyrrolidonyl arylamidase, Leucine arylamidase ...
	FB (Fast bleu BB)	Phosphatase alcaline, Gamma Glutamyl Transferase...
	NIN (Ninhydrine)	Hippurate

Les galeries API utilisées :

API 20 NE

Principe :

La galerie API 20 NE comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés.

Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne saline qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

Les tests d'assimilation sont inoculés avec un milieu minimum et les bactéries cultivent seulement si elles sont capables d'utiliser le substrat correspondant.

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.

Préparation de la galerie :

- Réunir fond et couvercle d'une d'incubation et répartir environ 5ml d'eau distillée ou déminéralisée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la biote. (Ne pas inscrire la référence sur le couvercle, celui-ci pouvant être déplacé lors de la manipulation).
- Sortir la galerie de son emballage individuel.

- Placer la galerie dans la boîte d'incubation.

Lecture et interprétation :

Lecture de la galerie

- Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture.
- Noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées (GLU, ADH, URE, ESC, GEL, PNPG).
- La révélation des deux tests NO₃ et TRP doit se faire en mettant les tests d'assimilation à l'abri d'une contamination par l'air ; pour cela, placer le couvercle de la boîte d'incubation au dessus de ces tests, pendant la période de révélation des tests NO₃ et TRP.
- **Test NO₃ :**

- Ajouter une goutte de réactifs NIT 1 et NIT 2 dans la cupule NO₃.

- Après 5 mn, une couleur **rouge** indique une réaction **positive**, à noter sur la fiche de résultats.

- Une réaction négative peut être due à la production d'azote (éventuellement signalée par la présence de microbulles) ; ajouter 2-3 mg de réactif Zn dans la cupule NO₃.

- Après 5mn, une cupule restée **incolor**e indique une réaction **positive** à noter sur la fiche de résultats. Si la cupule devient **rose-rouge** la réaction est **négative** car les nitrates encore présents dans le tube ont alors été réduits en nitrites par zinc.

La réaction utilisée pour l'identification de la bactérie est la réduction des nitrates ; elle est positive si l'une ou l'autre des deux réactions précédentes (production de NO₃ ou de N₂) est positive.

La production de N₂ peut cependant être utilisée seule comme test complémentaire dans le catalogue analytique.

- **Test TRP :**

Ajouter une goutte de réactif JAMES. Une couleur **rose** diffusant dans toute la cupule indique une réaction **positive**.

- **Tests d'assimilation :**

Observer la pousse bactérienne. Une cupule **trouble** indique une réaction **positive**.

Des pousses d'intensité intermédiaire peuvent être observées et notées, une fois cette lecture effectuée, l'identification doit être pratiquée comme indiqué au paragraphe

API Staph :

Principe :

la galerie API 20 Staph comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne réalisée dans API Staph medium qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture 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

Préparation de la galerie

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5ml d'eau distillée ou déminéralisée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Inscrir la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.
- Sortir la galerie de son emballage individuel.
- Placer la galerie dans la boîte d'incubation

Interprétation : l'identification est obtenue à partir du **profil numérique.**

- Détermination du profil numérique :

Sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2, ou 4 est indiquée pour chacun. En additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 7 chiffres qui constituent le profil numérique.

- Identification : elle est réalisée à partir de la base de données (V4.1)

* A l'aide du catalogue analytique :

- Rechercher le profil numérique dans la liste des profils

* A l'aide du logiciel d'identification **apiweb** :

- Entrer manuellement au clavier le profil numérique à 7 chiffres.

Annexe.

Tableau : Classification des souches identifiées.

Domaine	Bactérie									
Phylum	Protéobactéries							Actinobacteria	Firmicutes	
Classe	Gamma Proteobacteria							Actinobacteria	Bacilli	
Ordre	Enterobacteriales				Aeromonadales	Pseudomonadales	Actinomycetales	Bacillales		
Famille	Enterobacteriaceae				Aeromonadaceae	Pseudomonadaceae	Micrococcaceae	Staphylococcaceae		
Genre	<i>Escherichia</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Serratia</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>Buttiauxella</i>	<i>Aeromonas</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Micrococcus</i>	<i>Staphylococcus</i>	
Espèce	<i>E. vulneris</i>	<i>E. sakasaki</i> <i>E. cloacae</i> <i>E. intermedius</i>	<i>S. ficaria</i>	<i>C. freundii</i>	<i>B. agrestis</i>	<i>A. hydrophila</i>	<i>P. aeruginosa</i> <i>P. fluorescens</i>	<i>Micrococcus spp</i>	<i>S. sciuri</i> <i>S. xylosum</i> <i>S. hominis</i> <i>S. saprophyticus</i> <i>S. aureus</i>	
Échantillon	(03)	(05-17) (06-07-14-15) (10)	(08-09-18-11-19)	(16)	(20)	(04)	(12-27) (01)	(13)	(02) (21-23) (22-24) (25) (28)	

Références bibliographiques :

[1]. **ACAR J.F., Bouanchaud D.H., BUU-HOI A.** Résistance bactérienne aux antibiotiques in Le minor L, véron m. Bactériologie médicale Flammarion Medecine Science, Paris, 1989, 2ème édition : 213-224.

[2]. **ALLEN J.R., Hightower A.W., Martin S.M. , Dixon R.E.** Secular Trends in nosocomial infections : 1970-1979 Am.J.Med.,1981:70:389-392

[3]. **A.Znazen et al.** (2004 – 2006). Résistance de streptococcus pneumoniae aux antibiotiques] en Tunis : étude multicentrique, Laboratoire de Microbiologie, CHU Habib Bourguiba, Sfax. Laboratoire de Microbiologie, Hôpital d'enfant, Tunis. Laboratoire de Microbiologie, CHU Charles Nicolle, Tunis.

[4]. **BERGOGNE E. B., Carbon C., Collatz e., Joly V., Singlas E.** Résistance bactérienne Communication partenaire santé, N° spécial 1991

[5]. **BOUNAB,Rahma.Chekakla M. Sassi H.** isolement et identification des bactéries responsables d'une infection nosocomiale chez les nouveaux nés. Mémoire de master. Université 8mai 1945 Guelma.2011.P56

[6].**CAMILLE.Delarras.** Microbiologie pratique pour le laboratoir d'analyse ou de contrôle sanitaire. Lavoisier. Editions TEC and DOC. 11, rue la voisier F-75008 Paris :2007 ;p463. ISBN : 978-2-714-30-0945-8

[7]. **CHRINGEL.**les milieux de culture en bactériologie (en ligne).bio303. p12.disponible sur « <https://chringel.files.wordpress.com/2011/12/bio303-les-milieux-de-culture.pdf> » [consulté le 30/04/2017]

[8]. **EMMANUELLE.Cambav.**les bactéries pathogènes.(en ligne).2013.p20.disponible sur « http://cours13bichat2012-2013.weebly.com/uploads/9/6/0/7/9607940/roneo_-_11_-_les_bactries_pathognes_roneo_2.pdf » [consulté le 07/04/2017].

[9]. **G.Ducel.**prévention des infection nosocomiale quide pratique (en ligne).in J.Fabry. France . organisation mondiale de santé.WHO/CDS/CSR/EPH/2002.12.p 71.disponible sur « http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/69751/1/WHO_CDS_CSR_EPH_2002.12_fre.pdf » [consulté le 12 /032017].

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

[11]. **GUIBERT J.,Goldstein F.W.,Lafaise C., Gaudin H.** infection à entérobactérie EMC, Paris, Maladies infectieuses,80-16 J 10 5, 1981.

[12]. **JAN.Verhaegen.** Bactériologie (en ligne).p54.disponible sur
« <https://www.kuleuven.be/vesaliusonline/UNIKEN%20KONGO.doc> » [consulté le 12/04/2017].

[13]. **KELAIAIA, Hadjer . Zoufoul A.** Isolement des bactéries responsables de l'infection nosocomiales a partir d'un milieu hospitalier .Mémoire de master. Université 8mai 1945 Guelma.2014. P 47.

[14]. **MESKINE,A. Benabdelkader L.** Etude de la résistance et la multirésistance aux antibiotique de souches isolées du milieu hospitalier.mémoir de master. Université des Frères Mentouri Constantine.2015.p 33

[15]. **PALLERONI, N.J.** (2008) The road to the taxonomy of *Pseudomonas*.
In *Pseudomonas: Genomics and Molecular Biology* ed. Cornelis, P. pp. 1–18. Hethersett, UK: Caister Acad Press.

[16]. **SAMOU. Fotso hamel said.** Les infections nosocomiales dans le service de chirurgie « b » de l'hopital du point g. (en ligne).Mali : Université du Mali, 2004/2005, p 106.
Disponible sur :
« http://indexmedicus.afro.who.int/iah/fulltext/Thesis_Bamako/05M49.PDF » [consulté le 11/03/2017].

[17]. **STAMMN E.**(1986)Nosocomial urinary tract infection Bennt.Rachman.P.S hospital infection.p 347-384.

[18]. **VINCENT A.**Infection associées aux soins définition, fréquences et facteurs de risque (en ligne).Laprugne-GARCIA E, Saint genis laval.2008.CCLIN sud-est.CCLIN.octobre 2008, p5.disponible sur « http://cclin-sudest.chu-lyon.fr/Doc_Reco/guides/FCPRI/IAS/IAS_definitions.pdf » [consulté le 20/03/2017].

[19]. **VINCENT. J.**(2000) .Bactéries multirésistantes dans les hôpitaux français : bilan en 2000et perspectives de surveillance nationale dans le cadre du Réseau d'Alerte d'Investigation et de Surveillance des Infections Nosocomiales (RAISIN)

Site d'internet :

[1] <http://www.cnerea.fr/UserFiles/File/national/desc-des/livre-masson-2015/iatros/infection-nosocomiale.pdf> 14/03/2017

[2] <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/clostridium-spp-fra.php> le 08/ 04/2017

[3] <http://www.microbes-edu.org/etudiant/staph.html> le 08/04/2017

[4] <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/staphylococcus-aureus-fra.php> le 08/04/2017

[5] <http://anne.decoaster.free.fr/bgn/pseudo.htm> 11/04/2017

[6] <http://tpeinfectionsnosocomiales.e-monsite.com/pages/conclusion> 13/04/2017

[7] <http://www.cclinparisnord.org/Usagers/prev/PrevDream.htm> 21/04/2017

[8] <http://ch-ham.pagesperso-orange.fr/pageLibre000102e4.html> 07/05/2017

[9] https://fr.wikipedia.org/wiki/G%C3%A9lose_nutritive 14/05/2017

[10] <https://fr.scribd.com/document/311545207/Manue-2010> 23/05/2017

[11] <http://www.bio-top.net/Microbio/TP/Api.htm> le 03/06/2017

Résumé:

Les infections nosocomiales constituent un fléau de santé publique. Ils peuvent être liées directement aux soins hospitaliers ou survenir hors de tout acte médical, leur origine peut être endogène ou exogène.

Notre étude basée sur l'isolement et l'identification de certaines bactéries responsables de ces infections à partir des prélèvements effectués dans quelques services des deux hôpitaux (Ibn Zohr et Hakim Okbi) de la ville de Guelma. Nous avons isolés des : Enterobacteriaceae, Staphylococcaceae, Pseudomonadaceae, Aeromonadaceae et Micrococcaceae. Les tests de sensibilité aux antibiotiques réalisés ont confirmé la résistance des souches appartenant au genre : *Escherichia*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Buttiauxella*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*.

Le respect des règles de l'hygiène reste l'unique moyen de prévenir contre l'installation de ces bactéries et permet d'en diminuer le risque.

Mots clés : Infection nosocomiale, isolement, identification, hôpital, bactéries, test de sensibilité aux antibiotiques.

Abstract:

Nosocomial infections constitute a public health scourge, they can be directly related to care or occur outside of any medical procedure, their origin may be endogenous or exogenous.

Our study was based on the isolation and identification of certain bacteria responsible for nosocomial infections on the basis of the levies made in some departments of the two hospitals (Ibn-Zohr and Hakim Okbi) Guelma. We have isolated: Enterobacteriaceae, Staphylococcaceae, Pseudomonadaceae, Aeromonadaceae et Micrococcaceae

The sensitivity tests to the ATB confirmed the resistance of the stains belonging to the genus : *Escherichia*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Buttiauxella*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*.

Compliance with the rules of hygiene remains the only way to prevent the installation of these bacteria and reduces the risk.

Key words : Nosocomial infection, Isolation, Identification, Hospital, Bacteria, Antibiotic susceptibility test

المخلص:

عدوى المستشفيات هي مشكلة صحية عامة. ويمكن أن تكون ذات صلة مباشرة بالرعاية الصحية في المستشفيات أو تنشأ عن أي إجراء طبي، ويمكن أن يكون مصدرها داخلي أو خارجي. تستند دراستنا على عزل وتحديد أنواع معينة من البكتيريا المسؤولة عن هذه العدوى من العينات التي من بعض المصالح بمستشفى ابن زهر و كذا الحكيم عقبي بقالمة.

حيث قمنا بعزل : Enterobacteriaceae, Staphylococcaceae, Pseudomonadaceae, Aeromonadaceae et Micrococcaceae

وأكدت اختبارات الحساسية للمضادات الحيوية السلالات المقاومة تنتمي إلى الأنواع : *Escherichia*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Buttiauxella*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Staphylococcus* الالتزام بقواعد النظافة يبقى السبيل الوحيد لمنع من تثبت هذه البكتيريا ويساعد على الحد من المخاطر.

الكلمات المفتاح : عدوى المستشفيات , عزل, تحديد, مستشفى, بكتيريا, اختبار الحساسية للمضادات الحيوية