

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Saad Dahleb Blida -1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie
Mémoire de fin d'étude
En vue d'obtention du diplôme Master en Biologie
Option : Microbiologie

Sous le thème :

Évaluation des méthodes et des techniques de détection des infections associées aux soins: Expérience de l'établissement hospitalier spécialisé de transplantation d'organes et de tissus Blida

Soutenu le : 02 / 07 / 2025.

Réalisé et présenté par :

Mme Boumaza Lina

Mme Midegue Abir

Devant le jury :

Mr Guetarni. D	professeur	Université Blida -1- Président
Mme Mouhamed ahmoud. F	MCA	Université Blida-1- Examinatrice
Mr BOUDJELLA .M.L	Professeur	Université Blida -1- Promoteur
Mme AIT SAADI .N	MCA	Université Blida -1- Co-Promotrice

Promotion : 2024-2025

Remercîments

Merci à **Dieu** le tout puissant de nous avoir guidé et donné la santé et la volonté d'accomplir ce mémoire

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à :

Nos encadrants, **Pr Boudjella Mohamed Lotfi** et **Mme Aït Saadi Nacera**, Pour leur accompagnement précieux, leur soutien constant, leur encadrement attentif et leurs remarques constructives, qui ont grandement contribué à l'orientation et à la finalisation de ce travail.

Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements à l'ensemble des membre de Jury :

Nous tenons à gratifier **le Pr Guetarni. D**, d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.

Nous adressons nos vifs remerciements à **Mme.Mouhamed Mahmoud. F** Pour l'intérêt qu'elle a porté à notre travail en acceptant de l'examiner et de le Juger.

Un grand merci à **M. Tefahi Djamel** pour son soutien moral.

Nous exprimons aussi notre gratitude à **Hafsa, Batoul, Hayat**, ainsi qu'à tout le personnel médical et paramédical pour leur précieuse collaboration.

Merci notamment à nos familles et à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce travail :

*À ma très chère **mère, Belkada Fatiha**, qui n'a jamais cessé de prier pour moi, de me soutenir, et qui a toujours été ma source de force pour affronter tous les obstacles. Que Dieu la protège.*

*À mon cher **père, Ali**, pour tout le soutien qu'il m'a apporté, ses conseils précieux, et pour les efforts qui ont suscité en moi la volonté de réussir.*

Votre soutien indéfectible et votre amour inconditionnel ont été ma plus grande motivation. Merci pour tout.

Vous êtes les meilleurs parents du monde.

*À mes chers frères, **Mohamed, Qusai et Mehdi Chahine**, et à ma jolie sœur, **Riham**, pour leur soutien indéfectible, leurs encouragements infinis et leur présence morale.*

Puisse Dieu vous accorder la santé, le bonheur, le courage et, surtout, la réussite.

À tous ceux qui ont croisé ma route et ont contribué, de près ou de loin, à l'accomplissement de ce travail, je vous adresse ma plus profonde gratitude.

Vos encouragements, vos conseils et votre soutien ont été des éléments essentiels de cette réussite.

*À toutes mes amies, **Dorssaf et Maroua et Malika** qui m'ont toujours encouragée, et à qui je souhaite encore plus de succès.*

À tous ceux que j'aime.

LINA

Dédicace

Je dédie ce travail

*À mon très cher **père**, à qui je dois le respect, qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance pour tous les efforts et le soutien incessant qu'il m'a toujours apportés.*

*À ma très chère **mère**, ma raison de vivre, symbole de sacrifice et de dévouement, qui m'a accompagnée durant tout ce parcours laborieux.*

*À mon très cher époux **Nacer**, qui m'a toujours aimée et soutenue sans rien attendre, que Dieu te garde à mes côtés.*

*À mes très chères sœurs, **Manel**, **Rihame** et **Assil** et à mon très cher frère Amir, merci pour votre amour, votre force et vos sourires.*

Ce travail est aussi le vôtre.

À ma belle-famille pour leur bienveillance et leurs prières.

*À mon binôme **Lina**.*

À toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail...

Abir

Liste des tableaux

Tableau I. Mécanisme d'action des antibiotiques et leurs principales cibles bactériennes.	12
Tableau II. Souches de référence utilisées.	17
Tableau III. Répartition des prélèvements selon le type et taux de positivité	39
Tableau IV. Résultats des tests positifs de catalase et d'oxydase.	46
Tableau V. Les résultats du test de coagulase positifs et Coagulase négatifs.	47
Tableau VI. Répartition des souches des souches SARM selon l'espèce et le type de prélèvement.	60
Tableau VII. Répartition des souches bactériennes isolées et leur profil de résistance.	61

Liste des figures

Figure 1. Cathéter après prélèvement, conditionné pour analyse microbiologique en laboratoire...	20
Figure 2. Organigramme général d'un examen cytobactériologique des urines et du pus	22
Figure 3. Différents aspects macroscopiques des urines	23
Figure 4. Remplissage des urines entre la lamelle et la cellule MALASSEZ.....	24
Figure 5. Observation des urines sous le microscope optique (Gr ×40).	24
Figure 6. Appareil BactAlert pour les flacons d'hémoculture	26
Figure 7. Préparation de l'Api 20 E	30
Figure 8. Préparation de l'Api 10 S	31
Figure 9. Inoculation des Cartes VITEK	33
Figure 10. Répartition des cas positifs et négatifs de prélèvement.	35
Figure 11. Répartition des prélèvements selon l'âge	36
Figure 12. Répartition des cas positifs selon le sexe.....	37
Figure 13. Répartition des patients selon les différents services.	38
Figure 14. Observation microscopique à l'état frais : Présence de globules rouges dans un échantillon d'urine	41
Figure 15. Observation des leucocytes sur frottis colorés au bleu de méthylène	41
Figure 16. Colonies d' <i>E.coli</i> , à gauche sur Hektoen	42
Figure 17. Colonies de <i>Klebsiella pneumoniae</i> a) sur gélose au sang, b) sur GN	43
Figure 18. Colonies de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , a) sur Hektoen, b) sur GS cuit c) sur GS frais.....	44
Figure 19. <i>Proteus mirabilis</i> , a) sur GN b) sur GS	44
Figure 20. Aspect des colonies de <i>Staphylococcus aureus</i> sur milieu Chapman	45
Figure 21. Réparations des résultats selon la coloration de Gram.	45
Figure 22. Résultats de coloration de Gram : a) bacilles à Gram positif, b) Cocci à Gram positif, Cocci gram négatif	46
Figure 23. Résultats de l'identification biochimique d' <i>E. coli</i>	47
Figure 24. Résultats de l'identification biochimique de <i>Proteus mirabilis</i>	48
Figure 25. Résultats de l'identification biochimique de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	48
Figure 26. Répartition des résultats selon la nature du germe	49

Figure 27. Résultats de l'étude de l'antibiorésistance des souches d' <i>E. coli</i>	49
Figure 28. Résultats de l'étude de l'antibiorésistance des souches de <i>K. pneumoniae</i>	51
Figure 29. Antibiorésistance chez <i>Enterobacter sp.</i>	52
Figure 30. Antibiorésistance chez <i>Enterococcus faecalis</i>	53
Figure 31. Antibiorésistance chez <i>Staphylococcus aureus</i>	56
Figure 32. Antibiorésistance chez <i>Staphylococcus</i> à coagulase négatifs	57
Figure 33. Antibiorésistance chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	58
Figure 34. Image de synergie (BLSE) observée chez <i>E.coli</i>	61

Liste des abréviations

AMC : Amoxicilline + acide clavulanique

AMP : Ampécilline

AN : Amikacine

BGN : Bacilles à Gram négatif

BHIB : Brain heart infusion

BMR : Bactéries multi- résistantes

C3G : céphalosporines 3 ème génération Cefotaxime.

CIP : Ciprofloxacine

CIT : Citrate

CL : Clindamycine

CLSI : Clinical and laboratory standards institute

CTX : Céfotaxime

CZ : Céfazoline

DO : Densité optique

E : Erythromycine

EHS TOT : Etablissement Hospitalier spécialisée de transplantation d'organes et de tissus

FA : Acide fusidique

FOX : Céfoxitine

FT : Furanes

GM : Gentamycine

GN : Gélose nutritif

H₂S : Thiosulfate de sodium

IMP : Imipénème

IND : Indole

LDC : Lysine décarboxylase

LEV: Levofloxacin

McF: Mac Farland

MH: Muller Hinton

MSA: Mannitol salt agar (gélose Chapman)

NA : Acide nalidixique

ODC : Ornithine décarboxylase

OMS : Organisation mondiale de la Santé

ONPG : L'orthonitrophényl- β -galactoside (ou 2-nitrophényl- β -D-galactopyrannoside)

OX : Oxacilline

PIP : Pépiracilline

PN : Pénicilline

PT : Pristinamycine

RA : Rifampicine

SXT : Trémithoprime + sulfémoxazol

TC : Ticarcilline

TCC : Ticarcilline + acide clavulanique

TDA : Tryptophane désaminase

TM : Tobramycine

VA : Vancomycine

VP : Voges-Proskauer

Résumé

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la surveillance des infections nosocomiales à l'EHS de Transplantation d'Organes et de Tissus (EHS TOT) de Blida, au sein des services de néphrologie, urologie et hémodialyse.

L'étude visait à évaluer les méthodes et techniques microbiologiques utilisées pour détecter les infections nosocomiales, à travers l'analyse de 208 prélèvements cliniques, incluant des urines, du pus, des hémocultures, ainsi que des dispositifs médicaux tels que les cathéters veineux centraux et les sondes urinaires JJ.

Les prélèvements suivent systématiquement des méthodes classiques (culture, coloration de Gram, tests biochimiques) et des systèmes automatisés, notamment VITEK®2 pour l'identification et l'antibiogramme, et BacT/ALERT® pour la détection automatisée des hémocultures.

Les résultats ont montré un taux de positivité de 51 %, avec une prédominance marquée des bacilles à Gram négatif. Les espèces les plus fréquentes étaient *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus spp.* et *Staphylococcus aureus*. Plusieurs souches isolées étaient productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE), avec une fréquence de 15,4 % chez *E. coli*, 9,1 % chez *Enterobacter spp.*, 31,25 % chez les staphylocoques à coagulase négative, et quelques cas chez *K. pneumoniae*.

L'antibiorésistance a été particulièrement marquée, avec une résistance totale à l'amoxicilline-acide clavulanique, et des taux de sensibilité élevés à l'imipénème (85–100 %) et à l'amikacine (60–80 %). Des résistances très élevées ont été observées chez *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis de plusieurs bêta-lactamines (jusqu'à 87,5 %).

Ces résultats soulignent l'importance d'un diagnostic microbiologique rapide et fiable, particulièrement dans le contexte de l'utilisation croissante de dispositifs médicaux, et appellent à un renforcement des bonnes pratiques d'hygiène hospitalière, d'un bon usage des antibiotiques, et d'une surveillance continue des bactéries multirésistantes.

Mots-clés : Infections nosocomiales, antibiogramme, multirésistance, BLSE, dispositifs médicaux, microbiologie clinique, VITEK®2, BacT/ALERT®, EHS TOT Blida.

Abstract

This study was conducted as part of the surveillance of nosocomial infections at the Organ and Tissue Transplantation Hospital (EHS TOT) in Blida, within the nephrology, urology, and hemodialysis departments.

The objective was to evaluate the microbiological methods and techniques used to detect healthcare-associated infections by analyzing 208 clinical samples, including urine, pus, blood cultures, and medical devices such as central venous catheters and JJ urinary stents.

The samples are systematically collected using standard methods (culture, Gram staining, biochemical tests) and automated systems, notably VITEK®2 for identification and antibiotic susceptibility testing, and BacT/ALERT® for automated blood culture detection.

The results revealed a 51% positivity rate, with a marked predominance of Gram-negative bacilli. The most frequently isolated species were *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus spp.*, and *Staphylococcus aureus*.

Several isolates were extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producers, with a frequency of 15.4% in *E. coli*, 9.1% in *Enterobacter spp.*, 31.25% in coagulase-negative staphylococci, and a few cases in *K. pneumoniae*.

Antibiotic resistance was particularly significant, with total resistance to amoxicillin-clavulanic acid, while high susceptibility rates were observed to imipenem (85–100%) and amikacin (60–80%). *Pseudomonas aeruginosa* showed very high resistance to several beta-lactams (up to 87.5%).

These findings highlight the importance of rapid and accurate microbiological diagnosis, especially in the context of increased use of medical devices, and underline the need for strict hospital hygiene practices, appropriate antibiotic stewardship, and continuous monitoring of multidrug-resistant organisms.

Keywords : Nosocomial infections, antibiogram, multidrug resistance, ESBL, medical devices, clinical microbiology, VITEK®2, BacT/ALERT®, EHS TOT Blida.

ملخص

تندرج هذه الدراسة ضمن إطار مراقبة العدوى المرتبطة بالرعاية الصحية بمستشفى زرع الأعضاء والأنسجة (EHS) بالبلدية، وذلك على مستوى أقسام أمراض الكلى، جراحة المسالك البولية، وتصفية الدم .

هدفت الدراسة إلى تقييم الطرق والتقنيات الميكروبيولوجية المستخدمة في الكشف عن العدوى المكتسبة داخل المستشفيات، من خلال تحليل 208 عينة سريرية، شملت البول، القيح، مزارع الدم، إضافة إلى أجهزة طبية مثل القثاطر الوريدية المركزية وأنابيب JJ البولية .

تجرى عملية أخذ العينات بشكل منتظم وفقاً للطرق التقليدية (الزرع، صبغة غرام، الاختبارات الكيميائية الحيوية) والأنظمة المؤتمتة، خاصة VITEK®2 لتحديد الهوية والاختبارات الحساسية للمضادات الحيوية، و BacT/ALERT® للكشف الآلي عن مزارع الدم .

أظهرت النتائج معدل إيجابية بلغ 51 %، مع سيطرة واضحة للعصيات سالبة الجرام. وكانت الأنواع الأكثر عزلاً هي *Pseudomonas aeruginosa*، *Enterobacter cloacae*، *Klebsiella pneumoniae*، *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus*، *Enterococcus spp.*

كما لوحظت نسب مرتفعة من السلالات المنتجة للبيتا-لاكتاماز ذات الطيف الموسع (BLSE) ، حيث بلغت 15.4 % لدى *E. coli*، و 9.1 % لدى *Enterobacter spp.*، و 31.25 % لدى المكورات العنقودية سالبة التخثر، بالإضافة إلى بعض الحالات لدى *K. pneumoniae*.

لوحظت مقاومة مرتفعة جداً للمضادات الحيوية، خصوصاً ضد الأموكسيسيلين/حمض الكلافولانيك، بينما سُجلت نسب حساسية عالية تجاه الإيميبينيم (85–100) % (والأميكاسين 60–80) % . (كما أظهرت *Pseudomonas aeruginosa* مقاومة شديدة للعديد من مضادات البيت-لاكتام) حتى 87.5 %).

تؤكد هذه النتائج على أهمية التشخيص الميكروبيولوجي السريع والدقيق، خاصة في ظل الاستخدام المتزايد للأجهزة الطبية، وتُبرز الحاجة إلى تطبيق صارم لقواعد النظافة بالمستشفيات، والاستخدام الرشيد للمضادات الحيوية، والمراقبة المستمرة للبكتيريا المتعددة المقاومة .

الكلمات المفتاحية : عدوى المستشفيات، اختبار الحساسية، المقاومة المتعددة، BLSE، الأجهزة الطبية، الأحياء الدقيقة السريرية، BacT/ALERT®، VITEK®2، مستشفي زرع الانسجة والاعضاء بالبلدية .

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Résumé

Abstract

ملخص

Introduction..... 1

Chapitre I. Synthèse bibliographique

I. 1 Généralités sur les infections nosocomiales..... 3

I.1.1 Les infections nosocomiales 3

I.1.2 Les types des infections nosocomiales..... 4

I.1.2.1 Les infections urinaires 4

I.1.2.2 Infections du site opératoire 4

I.1.2.3 Septicémies 5

I.1.2.4 Infections sur cathéter..... 5

I.1.2.5 Autre infection 5

I.1.3 Facteurs favorisant les infections nosocomiales..... 5

I.1.3.1 Facteurs liés aux patients..... 6

I.1.3.2 Facteurs liés aux soins hospitaliers 6

I.1.3.3 Facteurs liés à l'environnement hospitalier 7

I. 2. Principaux germes impliqués 8

I.2.1 Les bacilles à Gram négatif 8

I.2.1.1 Enterobacteriaceae 8

I.2.2 Les bacilles à Gram négatif non fermentaire..... 10

I.2.2.1 <i>Acinitobacter boumani</i>	10
I.2.2.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10
I.2.3 Les Cocci Gram positifs	11
I.2.3.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	11
I.2.3.2 <i>Staphylococcus epidermidis</i>	11
I.3 Antibiotiques et Antibioresistance.....	12
I.3.1 Les antibiotiques.....	12
I.3.2 Antibiorésistance	13
I.3.3 Les bactéries multirésistantes (BMR).....	15
I.3.3.1 En milieu hospitalier	15
I.3.3.2 En milieu communautaire	16

Chapitre II. Matériel et méthodes

II.1 Matériel.....	17
II.2 Méthodes.....	18
II.2.1 Liquides biologiques	18
II.2.2 Dispositifs médicaux	20
II.2.3 L'examen cyto bactériologique des urines et du pus	22
II.2.4 Hémoculture	25
II.2.5 Etude bactériologique	26
II.3 Test d'identification biochimique.....	28
II.3.1 Test de la catalase.....	28
II.3.2 Test de l'oxydase	28
II.3.3 Test de la coagulation	28
II.4 Galerie biochimique.....	29
II.4 .1 Galerie Api 20E	29
II.4.2 La Galerie API 10s.....	30
II.5 Les tests complémentaires.....	31

II.6	Antibiogramme.....	32
II.6.1	Antibiogramme standard	32
II.6.2	Vitek automatisée.....	33
II.7	tests complémentaires de synergie (Double Disk Synergy Test – DDST).....	34

Chapitre 03. Résultats et discussion

III.1	Répartition des résultats	35
III.1.1	Selon les cas positifs et négatifs	35
III.1.2	Selon la tranche d'âge	35
III.1.3	Répartition des cas positifs selon le sexe	36
III.1.4	Selon les différents services	38
III.1.5	Selon le type de prélèvement	39
III.2	Résultats de l'examen cytologique	41
III.3	Résultats de l'identification des germes.....	40
III.4	Antibiorésistance.....	48

Conclusion

Reference bibliographie

Annexe

Introduction

Introduction

Les infections nosocomiales, également appelées infections associées aux soins (IAS), représentent un enjeu critique de santé publique à l'échelle mondiale. Elles sont définies comme des infections contractées après l'admission dans un établissement de santé, qui n'étaient ni présentes ni en incubation au moment de l'entrée du patient. Selon le dernier rapport mondial de l'OMS, environ 7 % des patients hospitalisés dans les pays à revenu élevé et jusqu'à 15 % dans les pays à revenu faible et intermédiaire contractent au moins une infection associée aux soins durant leur séjour (OMS, 2022). Elles peuvent affecter divers organes ou systèmes, avec une prédominance des infections urinaires, des pneumopathies, des septicémies et des infections du site opératoire (ECDC, 2022).

Plusieurs facteurs contribuent à leur apparition, parmi lesquels figurent la durée prolongée d'hospitalisation, les gestes invasifs (pose de cathéters veineux centraux, sondes JJ), l'état immunodéprimé de certains patients, et une hygiène des mains insuffisante ou inadéquate (WHO, 2022 ; Magill et al., 2023). L'utilisation fréquente de dispositifs médicaux dans des services à haut risque, tels que la néphrologie, l'urologie et l'hémodialyse, renforce considérablement le risque de colonisation et d'infection par des pathogènes opportunistes.

Dans ce contexte, la microbiologie clinique joue un rôle déterminant dans la lutte contre ces infections. Elle permet non seulement l'identification rapide et précise des agents pathogènes responsables, mais également la détermination de leur profil de sensibilité aux antibiotiques. Avec l'augmentation continue des bactéries multirésistantes, un diagnostic microbiologique fiable devient essentiel pour un traitement ciblé et efficace (Tacconelli et al., 2023). Les technologies actuelles, combinant les méthodes classiques (culture, coloration de Gram, galeries biochimiques) et des systèmes automatisés comme le VITEK®2, permettent d'optimiser la prise en charge thérapeutique et de réduire les délais d'identification.

C'est dans cette optique que s'inscrit le présent travail, mené au sein de l'Établissement Hospitalier Spécialisé de Transplantation d'Organes et de Tissus (EHS TOT) de Blida. L'étude a été réalisée sur une période de trois mois auprès de patients hospitalisés dans les services de néphrologie, d'urologie et d'hémodialyse, qui sont particulièrement exposés aux infections nosocomiales en raison de la fréquence des actes invasifs. L'objectif principal est d'évaluer la diversité des agents pathogènes impliqués dans ces infections à partir de prélèvements cliniques, ainsi que leurs profils de résistance aux antibiotiques. Pour cela, l'étude vise à :

- Comparer les résultats selon les types de prélèvements (urines, pus, hémocultures, cathéters, sondes double j) et les services hospitaliers concernés
- Mise en œuvre différentes techniques de détection microbiologique telle que la culture sur milieux appropriés, les galeries biochimiques (API®) et le système automatisé VITEK®2, dans le but de diagnostiquer efficacement les infections nosocomiales à partir de prélèvements cliniques.
- Analyser les profils de résistance aux antibiotiques des souches isolées, en mettant un accent particulier sur la multirésistance.

Synthèse bibliographique

I. 1 Généralités sur les infections nosocomiales

I.1.1 Les infections nosocomiales

Les infections nosocomiales (IN) constituent un problème majeur de santé publique, alourdissant la prise en charge des patients hospitalisés, et générant de lourdes dépenses pour les établissements de santé **(Frigui et al., 2021)**.

Les IN englobent toutes les infections acquises au sein d'un établissement hospitalier, survenant durant la prise en charge (diagnostique, thérapeutique, palliative, préventive ou éducative) d'un patient, et qui n'étaient ni présentes, ni en incubation au début de la prise en charge **(Bouvier-slekovec ,2022)**.

Selon **Charline (2018)**, pour être considérée comme nosocomiale, l'infection doit être absente à l'admission du patient et se déclarer au minimum 48 heures après cette admission. Cependant, pour les infections de plaie opératoire, ce délai est prolongé à 30 jours. Le nombre de cas d'infections nosocomiales varie en fonction de plusieurs facteurs :

- ❖ **Type d'établissement** : Les centres de lutte contre le cancer sont particulièrement concernés.
- ❖ **Type de séjour** : On observe 0,8 % des cas en obstétrique, contre 24,2 % en réanimation, où les gestes invasifs sont plus courants et les patients plus fragiles.
- ❖ **Durée du séjour** : Le risque d'IN est 15 fois plus élevé lors de séjours prolongés (30 à 89 jours) par rapport aux séjours courts (2 à 7 jours).
- ❖ **Profil du patient** : Les personnes de plus de 65 ans, les très jeunes enfants, les individus atteints de pathologies sévères, les patients immunodéprimés, ainsi que les ceux opérées ou soumis à des gestes invasifs (comme les sondes urinaires, trachéotomies ou cathéters) sont particulièrement à risque de développer une infection.

Ces infections sont associées à un facteur de risque de surmortalité hospitalière dont les germes responsables sont souvent multi résistants **(Meftah et al., 2020)**.

I.1.2 Les types des infections nosocomiales

I.1.2.1 Les infections urinaires

Les infections urinaires représentent les infections nosocomiales les plus courantes, tant en milieu ambulatoire qu'hospitalier, constituent 40 % des infections nosocomiales (**Lejeune , 2003**).

Une infection urinaire est un état inflammatoire de l'urothélium causé par une invasion bactérienne, généralement au niveau de la vessie. Cela est souvent associé à l'insertion d'une sonde urinaire, bien que cela soit rarement grave. Les manifestations cliniques incluent des douleurs pendant la miction, une augmentation de la fréquence urinaire et, dans certains cas, la présence de sang dans les urines (**Gonthier, 2000**). Ces infections se produisent plus souvent après la mise en place d'une sonde urinaire ou lors d'interventions chirurgicales sur les voies urinaires (**Ouamrouche et al., 2019**).

I.1.2.2 Infections du site opératoire

Les infections du site opératoire sont des infections nosocomiales qui surviennent suite à une intervention chirurgicale. Leur nature est très variée et dépend de l'intervention réalisée et de l'organe concerné (**Ludovic, 2017**).

Selon **Belil et al., (2020)**, on peut distinguer trois catégories d'infections du site opératoire :

- **Infection cutanée superficielle de la plaie** : affectent la peau et le tissu cellulaire sous-cutané.
- **Infection profonde de la plaie** : touchent les tissus mous profonds tels que les muscles de la paroi abdominale.
- **Infection d'un organe ou d'un espace** : qui se manifeste au niveau des viscères ou des cavités.

I.1.2.3 Septicémies

La septicémie est une infection généralisée causée par la présence de microorganismes viables dans la circulation sanguine, entraînant leur diffusion dans tout l'organisme. Elle englobe toutes les réactions du corps en réponse à cette agression. Les manifestations cliniques de la septicémie se manifestent par une fièvre élevée, alternant avec des périodes d'hypothermie, ainsi que par des frissons, une tachycardie et une augmentation de la fréquence respiratoire (**Aymen, 2007**).

I.1.2.4 Infections sur cathéter

Le cathéter peut être contaminé par des bactéries qui migrent le long de la surface externe des tubulures, par contamination manuelle du personnel médical, ou par voie hématogène, lorsque des germes présents dans le sang s'attachent au cathéter. Les signes cliniques incluent une inflammation au point de ponction (l'endroit où le cathéter pénètre dans la peau) et un écoulement purulent. Le principal risque est que l'infection associée au cathéter entraîne une bactériémie, ce qui peut provoquer une infection généralisée. Le traitement consiste généralement à retirer le cathéter, si possible, et à administrer un traitement antibiotique (**Mermel et al., 2009**).

I.1.2.5 Autre infection

Ces infections représentent entre 10 et 30 % des infections nosocomiales, parmi lesquelles on retrouve les infections pulmonaires, les infections cutanées (au niveau de la peau et des tissus), les infections des voies génitales, les infections ophtalmiques et les infections gastro-intestinales (**Kelaiaia et Zoufoul, 2014**).

I.1.3 Facteurs favorisant les infections nosocomiales

Les infections nosocomiales surviennent en raison de divers facteurs liés aux patients, aux pratiques hospitalières et aux caractéristiques des agents pathogènes.

I.1.3.1 Facteurs liés aux patients

- ❖ **Immunodépression** : Les patients immunodéprimés, notamment ceux sous chimiothérapie, greffés ou atteints de maladies chroniques, présentent un risque accru d'infections nosocomiales, y compris celles liées aux dispositifs médicaux comme les cathéters (Taccone et al., 2023).
- ❖ **Âge extrême** : Les nouveau-nés, en particulier les prématurés, ainsi que les personnes âgées, sont plus vulnérables aux infections en raison d'une immunité réduite et d'une réponse inflammatoire altérée (Darmon et al., 2022).
- ❖ **Pathologies sous-jacentes** : Des maladies chroniques telles que le diabète sucré, l'insuffisance rénale chronique et les maladies cardiovasculaires augmentent significativement le risque d'infections nosocomiales et les complications associées (Liu et al., 2022).

I.1.3.2 Facteurs liés aux soins hospitaliers

❖ Utilisation de dispositifs invasifs

Les dispositifs médicaux comme les cathéters veineux centraux, les sondes urinaires et les ventilateurs mécaniques sont des portes d'entrée majeures pour les agents pathogènes. Leur utilisation prolongée est fortement associée au risque d'infections nosocomiales (Magill et al., 2022).

❖ Mauvaise hygiène des mains

Le non-respect des protocoles d'hygiène des mains reste une cause majeure de transmission croisée des infections. Une amélioration de la conformité aux règles d'hygiène permettrait de réduire jusqu'à 50 % des infections nosocomiales (WHO, 2023).

❖ Antibiothérapie excessive

L'utilisation inappropriée des antibiotiques favorise l'émergence de bactéries multi-résistantes (BMR) et augmente la difficulté de traitement des infections nosocomiales (Tacconelli et al., 2023).

I.1.3.3 Facteurs liés à l'environnement hospitalier

❖ Surpopulation et promiscuité

Les services de soins intensifs sont des zones à haut risque en raison de la proximité entre patients vulnérables et de la charge de soins élevée, favorisant la transmission d'agents pathogènes (**Haque et al., 2022**).

❖ Désinfection insuffisante

Des études ont montré que la contamination des surfaces hospitalières, comme les lits, poignées de portes ou équipements médicaux, peut permettre la persistance de micro-organismes pathogènes pendant plusieurs jours (**Weber et Rutala, 2022**).

I.1.4 Mode de transmission des infections nosocomiales

❖ Par contact

La voie de transmission la plus fréquente est le contact direct ou indirect via des objets contaminés comme les cathéters ou les sondes (**CDC, 2023**).

❖ Par voie aérienne

Certaines bactéries ou champignons, comme *Mycobacterium tuberculosis* ou *Aspergillus* spp., peuvent se propager par aérosols ou poussières en suspension (**Beggs et al., 2023**).

❖ Par voie fécale-orale

Des bactéries comme *Clostridioides difficile* se transmettent par les mains du personnel ou les surfaces souillées, surtout en cas de désinfection insuffisante (**Dubberke et Gerding, 2023**).

❖ Par voie sanguine

Les dispositifs invasifs comme les cathéters veineux centraux peuvent transmettre des pathogènes tels que *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) ou les virus des hépatites B et C (**Mermel, 2023**).

I. 2. Principaux germes impliqués

I.2.1 Les bacilles à Gram négatif

I.2.1.1 Enterobacteriaceae

Les entérobactéries sont un groupe hétérogène largement dispersé dans la nature, représentant environ 80 % des isolats à Gram négatif. Elles sont responsables de nombreuses maladies chez l'homme, notamment les infections des voies urinaires, la pneumonie, la diarrhée, la méningite, la septicémie et le choc endotoxique. Ces bactéries sont des bacilles non sporulés, avec une motilité variable, capables de se développer en présence ou en absence d'oxygène. Elles fermentent le glucose, sont négatives à la cytochrome oxydase et peuvent réduire le nitrate en nitrite (**Oliveira et al., 2023**).

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, 2020**).

Actuellement, plus de 130 espèces sont répertoriées. Parmi celles-ci, les genres les plus fréquemment isolés en bactériologie clinique incluent *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Providencia*, *Salmonella* et *Shigella* (**Morales-López et al., 2019**).

II.2.1.2 *Escherichia coli*

Escherichia coli est un bacille Gram négatif en forme de bâtonnet, mesurant de 2 à 4 µm de long sur 0,4 à 0,6 µm de large. Il a une morphologie fine et allongée avec des extrémités arrondies, et est mobile grâce à une ciliature péritriche. Ce germe est peu exigeant sur gélose ordinaire, produisant des colonies lisses, brillantes et homogènes. Sa température de croissance optimale est de 37 °C (**Abraham, 2018**).

Escherichia coli est l'une des principales causes d'infections du sang et des voies urinaires, dont une partie est liée aux soins de santé (**Tian et al, 2021**). Elle est présente dans la flore intestinale normale, mais peut également provoquer des maladies intestinales et extra-intestinales

chez l'homme (**Mueller Met al., 2023**) . Est la bactérie la plus fréquemment impliquée dans les maladies infectieuses, tant dans les hôpitaux ou dans la communauté (**Meziane., 2020**).

Elle est considérée comme un Organisme hôte régulier, c'est-à-dire un commensal de la microflore digestive chez les êtres humains et plupart des animaux à température corporelle élevée (**Farsi et Merad., 2021**).

I.2.1.3 *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae est une bactérie à Gram négatif, capsulée et immobile, présente dans l'environnement. Elle est associée à la pneumonie chez des patients ayant des troubles liés à l'alcool ou au diabète sucré. La virulence de *K. pneumoniae* repose sur divers facteurs pouvant conduire à l'infection et à la résistance aux antibiotiques. Elle colonise généralement les surfaces muqueuses humaines de l'oropharynx et du tractus gastro-intestinal (**John et al ., 2023**).

K.pneumoniae est un pathogène opportuniste impliqué dans des infections sévères notamment des infections urinaires, des bactériémies et **des** pneumonies (**Berrazeg et al ., 2013**). La pneumonie causée par *K. pneumoniae* est considérée comme la principale cause de pneumonie nosocomiale aux États-Unis, représentant plus de 8 % de toutes les infections nosocomiales (**John et al., 2023**).

I.2.1.4 *Enterobacter cloacea*

Enterobacter cloacea est une bactérie à Gram négatif, en forme de bâtonnet, anaérobies facultatives. Il est également décrit comme non sporulé, contenant des flagelles, positif à l'uréase et fermentant le lactose. Elle est principalement associée aux infections liées aux soins de santé. Actuellement, il existe 22 espèces d'*Enterobacter*, responsables de nombreuses infections nosocomiales et moins fréquemment d'infections communautaires. Celles-ci incluent les infections des voies urinaires, les infections respiratoires, les infections des tissus mous, l'ostéomyélite et l'endocardite (**Mosaffa et al., 2024**).

I.2.2 Les bacilles à Gram négatif non fermentaire

I.2.2.1 *Acinetobacter baumannii*

Acinetobacter est un organisme à Gram négatif, aérobic, non fermentatif, immobile et négatif à l'oxydase, avec *Acinetobacter baumannii* ayant une importance clinique. On le trouve dans le sol et l'eau et il est souvent isolé de l'urine, de la salive, des sécrétions respiratoires et des plaies. *Acinetobacter* a une faible virulence mais peut infecter les patients immunodéprimés.

La plupart des infections à *Acinetobacter* sont des épidémies de groupe, tandis que les cas isolés sont rares. Ces infections peuvent compliquer le traitement par cathéter intraveineux, la ventilation mécanique et dialyse péritonéale. Dans de nombreux cas, la présence d'*Acinetobacter* dans les sécrétions respiratoires des patients sous ventilation indique une colonisation (**Brady et al., 2023**).

I.2.2.2 *Pseudomonas aeruginosa*

Le genre *Pseudomonas* comprend plus d'une centaine d'espèces ubiquitaires, dont *Pseudomonas aeruginosa*, souvent appelée bacille pyocyanique. Cette espèce, appartenant à la famille des Pseudomonaceae, est un bâtonnet à Gram négatif, aérobic et non sporulé. Elle est connue pour causer diverses infections chez les hôtes immunocompétents et immunodéprimés. Sa capacité à infecter les personnes immunodéprimées, ainsi que sa polyvalence, sa résistance aux antibiotiques et son large éventail de mécanismes de défense, en font un microorganisme difficile à traiter en médecine moderne (**Wilson MGET et al., 2023**).

Pseudomonas aeruginosa se trouve principalement dans l'environnement, surtout dans l'eau douce. Il peut causer des infections communautaires comme la folliculite, l'ostéomyélite, la pneumonie et l'otite externe. C'est un agent pathogène opportuniste et une cause majeure d'infections nosocomiales, telles que la pneumonie associée à la ventilation assistée et les infections urinaires liées au cathéter. Dans les hôpitaux, ses réservoirs incluent l'eau potable, les robinets, les éviers, les brosses à dents, les machines à glaçons, les solutions désinfectantes et l'équipement de thérapie respiratoire (**Wilson MGET et al., 2023**).

I.2.3 Les Cocci Gram positifs

I.2.3.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est une bactérie à Gram positif, en forme cocci, qui se dispose en grappes. Elle peut se développer dans des milieux à 10 % de sel, avec des colonies dorées ou jaunes. C'est une aérobie ou anaérobie (facultatif), croissant entre 18 °C et 40 °C. Les tests d'identification biochimique incluent la catalase positive, la coagulase positive, la sensibilité à la novobiocine (pour la différencier de *Staphylococcus saprophyticus*), et la fermentation positive du mannitol (pour la distinguer de *Staphylococcus epidermidis*)

Staphylococcus aureus est une bactérie pathogène majeure responsable de nombreuses infections dans les environnements communautaires et hospitaliers, compliquées par l'émergence de souches multi-résistantes comme le SARM (Taylor et al, 2023).

S. aureus se trouve à la fois dans l'environnement et dans la flore humaine normale, située sur la peau et les muqueuses (surtout dans la région nasale) et de la gorge et du périnée (Ghali et al., 2018).

S. aureus ne provoque normalement pas d'infection sur une peau saine, mais peut causer des infections graves si elle pénètre dans la circulation sanguine ou les tissus internes. La transmission se fait généralement par contact direct, mais certaines infections peuvent également être transmises par d'autres modes (Taylor et al., 2023).

I.2.3.2 *Staphylococcus epidermidis*

Staphylococcus epidermidis est une bactérie cocci à coagulase négative, à Gram positif, en forme de grappes. C'est un anaérobie facultatif et catalase positif. Elle est une bactérie symbiotique commune qui peut devenir infectieuse dans l'hôte humain. Elle est l'une des principales causes d'infections nosocomiales aux États-Unis, pouvant entraîner de graves complications. *Staphylococcus epidermidis* est particulièrement responsable d'infections sanguines nosocomiales. Les patients porteurs de prothèses valvulaires, de dispositifs cardiaques, de cathéters centraux et utilisant des médicaments intraveineux sont les plus à risque d'infection par cette espèce (Lee et al., 2023).

I.3 Antibiotiques et Antibioresistance

I.3.1 Les antibiotiques

Le terme antibiotique désigne une substance d’origine naturelle, semi-synthétique ou synthétique capable d’inhiber la croissance des bactéries (effet bactériostatique) ou de les tuer (effet bactéricide). Ces agents sont exclusivement actifs contre les bactéries, et n’ont aucune efficacité contre les infections virales ou fongiques **(Bennett, 2024)**. Ils constituent aujourd’hui l’un des piliers de la médecine moderne, utilisés dans la prévention et le traitement des infections bactériennes, tant en milieu hospitalier qu’en soins de ville **(Merriam-Webster, 2025)**.

I.3.1.2 Mode d’action des antibiotiques

Les antibiotiques exercent leur effet en ciblant des structures ou fonctions essentielles de la bactérie, absentes ou très différentes chez les cellules humaines. On distingue plusieurs classes d’antibiotiques selon leur cible moléculaire principale :

Tableau I. Mécanisme d’action des antibiotiques et leurs principales cibles bactériennes.

Mécanisme d’action	Mode d’action	Les antibiotiques
Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne	Inhibent la formation du peptidoglycane, provoquant la lyse cellulaire.	Bêta-lactamines (pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes),glycopeptides (vancomycine) (Silhavy et al., 2020) .
Inhibition de la synthèse des protéines	Se fixent sur les ribosomes bactériens (30S ou 50S) et bloquent la traduction.	Aminosides,macrolides, tétracyclines, chloramphénicol (Wilson, 2021) .
Inhibition de la synthèse des acides nucléiques	Inhibent la réplication ou la transcription de l’ADN.	Quinolones (ciprofloxacine), rifamycines (rifampicine) (Hooper et Jacoby, 2022) .
Antimétabolites	Inhibent la synthèse des folates, nécessaires à la production des bases de l’ADN.	Sulfamides, triméthoprim (Bush et al., 2021) .

I.3.2 Antibiorésistance

La résistance bactérienne constitue une menace mondiale pour la santé publique, exacerbée par la diffusion rapide de souches multirésistantes dans les établissements de soins. Certaines espèces bactériennes sont particulièrement concernées en raison de leur capacité à acquérir et exprimer divers mécanismes de résistance aux antibiotiques (**Goro, 2021**).

Les principales espèces bactériennes responsables d'infections nosocomiales et présentant des profils d'antibiorésistance sont :

I.3.2.1 *Klebsiella pneumoniae* : est une entérobactérie opportuniste fréquemment impliquée dans les infections nosocomiales, notamment les pneumonies, les infections urinaires et les septicémies. Cette espèce est connue pour produire des bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE), qui confèrent une résistance aux pénicillines, céphalosporines de 3^e génération et à l'aztréonam (**Goro, 2021**). Elle est également capable d'acquérir des carbapénémases comme les KPC et OXA-48, rendant les traitements encore plus complexes (**Benmahdi et al., 2020**).

I.3.2.2 *Enterobacter cloacae* : est une espèce naturellement résistante à plusieurs bêta-lactamines grâce à la production constitutive ou inductible de bêta-lactamases chromosomiques de type AmpC. Ces enzymes peuvent être surexprimées sous la pression antibiotique, réduisant ainsi l'efficacité des céphalosporines. Les traitements de choix incluent les carbapénèmes ou les combinaisons avec des inhibiteurs puissants (**Traoré, 2019**).

I.3.2.3 *Providencia rettgeri* : est naturellement résistante à la colistine. Elle présente souvent une multi-résistance acquise aux fluoroquinolones, aminoglycosides et céphalosporines. Des souches pan-résistantes ont été rapportées en soins intensifs, associées à la présence de plasmides et d'intégrons de classe 1 (**Singh et al., 2023**).

I.3.2.4 *Morganella morganii* : cette espèce produit une β -lactamase AmpC chromosomique induite, conférant une résistance à de nombreuses β -lactamines. Elle est également naturellement résistante à la colistine. Des souches multirésistantes aux quinolones et au cotrimoxazole ont été identifiées (**Li et al., 2022**).

I.3.2.5 *Pseudomonas aeruginosa* : est un bacille non fermentant avec une résistance intrinsèque élevée. Elle développe une résistance acquise via la production de métallob- β -lactamases, la perte de porines, l'efflux actif et des mutations de cibles. Les souches CRPA (carbapénème-résistantes) sont en forte augmentation (EUCAST, 2023 ; Tacconelli et al., 2024).

I.3.2.6 *Escherichia coli* : Les souches d'*E. coli* productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) sont en hausse. Elles sont souvent co-résistantes aux fluoroquinolones, aminoglycosides et sulfamides, rendant le traitement empirique complexe (Tamma et Holmes, 2023).

I.3.2.7 *Staphylococcus aureus* : Le gène *mecA* confère à *S. aureus* une résistance à toutes les β -lactamines (SARM). Des cas de résistance intermédiaire ou complète à la vancomycine (VISA/VRSA) ont également été rapportés. La vancomycine, la daptomycine ou le linézolide restent les traitements de choix (Turner et al., 2023).

I.3.2.8 *Enterococcus spp.*

Enterococcus faecalis et *E. faecium* sont naturellement résistants à de nombreux antibiotiques. La présence des gènes *vanA* ou *vanB* confère une résistance à la vancomycine (ERV), en hausse dans les milieux hospitaliers (WHO, 2023).

I.3.2.9 *Streptococcus spp.*

Certaines espèces de *Streptococcus* présentent une antibiorésistance préoccupante, *Streptococcus pneumoniae* montre une résistance croissante aux β -lactamines et aux macrolides, notamment dans les régions sous-vaccinées (Knupp-Pereira et al., 2024). *Streptococcus agalactiae*, souvent impliqué dans les infections néonatales, est largement résistant à la tétracycline et présente des taux variables de résistance aux macrolides (Chandran et al., 2025).

Streptococcus pyogenes reste sensible à la pénicilline, mais une résistance aux macrolides est en émergence (Jesudason, 2024).

I.3.3 Les bactéries multirésistantes (BMR)

Les BMR sont des microorganismes résistants à plusieurs classes d'antibiotiques, compromettant les traitements via divers mécanismes : production d'enzymes (β -lactamases), modifications des cibles, efflux actif et diminution de la perméabilité membranaire (Arnold et al., 2022 ; MDPI, 2024).

I.3.3.1 En milieu hospitalier

L'usage intensif d'antibiotiques en milieu hospitalier exerce une pression sélective, favorisant l'émergence de souches résistantes (MDPI, 2024). Les pathogènes hospitaliers récurrents comprennent :

- ***Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM)** : Cause majeure d'infections nosocomiales, telles que les infections de plaies chirurgicales, les pneumonies et les septicémies, en particulier en unités de soins intensifs. Sa résistance à la méticilline complique la prise en charge thérapeutique (Archives of Public Health, 2025).
 - **Entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE)** : *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* productrices de BLSE sont fréquemment associées aux infections urinaires et aux bactériémies. Leur prévalence est en hausse dans de nombreux contextes hospitaliers, même chez des patients sans antécédents d'hospitalisation (Morsy et al., 2023 ; Al-Omari et al., 2023).
 - ***Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*** : Ces bacilles à Gram négatif sont naturellement résistants à plusieurs classes d'antibiotiques. Ils sont responsables d'infections nosocomiales graves, notamment respiratoires et urinaires, souvent contractées en réanimation (Torres et Alvarez, 2023).
 - ***Enterococcus spp.* Résistants à la vancomycine (ERV)** : Ces agents pathogènes posent un défi important chez les patients immunodéprimés. Leur résistance à la vancomycine limite fortement les options thérapeutiques disponibles (Silva et al., 2023).
- ❖ La transmission hospitalière survient souvent par contact direct via les mains du personnel soignant, ou indirectement par les surfaces et le matériel médical contaminés (Abramowitz et al., 2024 ; World Health Organization, 2023).

I.3.3.2 En milieu communautaire

Les bactéries multirésistantes (BMR) ne sont plus confinées au milieu hospitalier. Leur émergence dans la communauté est favorisée par la surprescription d'antibiotiques, l'automédication, les voyages internationaux et le contact étroit dans certains environnements collectifs (**World Health Organization, 2023**).

- **SARM communautaire** : Le *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline d'origine communautaire est associé à des infections cutanées sévères, notamment dans les milieux sportifs, scolaires ou familiaux, et peut évoluer vers des complications graves (**Lakhundi et Zhang, 2023**).
- **Entérobactéries BLSE** : Des souches comme *Escherichia coli* productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) sont de plus en plus détectées chez des patients n'ayant jamais été hospitalisés, notamment dans les infections urinaires compliquées (**Agyekum et al., 2023**).
- ***Streptococcus pneumoniae* résistant à la pénicilline**, Ce pathogène est responsable de pneumonies, otites et sinusites, surtout chez les jeunes enfants. La vaccination incomplète et la pression antibiotique expliquent sa persistance en communauté (**Kyaw et al., 2024**).

Matériel et méthodes

Notre travail a été réalisé au sein de l'établissement hospitalier spécialisé de transplantation d'organes de tissus Blida pendant une période de 3 mois allant de la fin janvier au début mai 2025. Ce travail a pour but d'isoler et d'identifier les bactéries à partir de plusieurs prélèvements biologiques et les différentes bactéries responsables de la contamination bactériologique sur les quelques dispositifs médicaux, et d'étudier leur sensibilité vis-à-vis des antibiotiques afin de dresser leurs profils de résistance.

II.1 Matériel

II.1.1 Matériel non biologique : représenté principalement par les milieux de culture et les réactifs, l'appareillage, ainsi que les différents antibiotiques utilisés sont présentés en **Annexe 1**

II.1.2 Matériel biologique :

❖ Type de Prélèvement et les critères d'inclusion

Au total, 208 prélèvements ont été réalisés chez des personnes hospitalisées. Ils se répartissent entre des liquides biologiques (107 urines, 17 pus, 44 sang) et des dispositifs médicaux (20 cathéters veineux centraux et 20 sondes urinaires de type JJ).

Ces prélèvements sont accompagnés d'une fiche de renseignement comportant, nom et prénom, numéro de prélèvement, âge et sexe, nature et site de prélèvement, l'antibiothérapie en cours (**Annexe 2**).

Les souches de références (**Tableau II**).

Tableau II. Souches de référence utilisées.

Souche	Types de résistance	Référence
<i>Staphylococcus aureus</i>	Résistant	ATCC 43300
<i>Escherichia coli</i>	Sensible	ATCC 25922
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Résistant	ATCC 27853

II.2 Méthodes

II.2.1 Liquides biologiques

A. Urine

Le recueil de l'urine est une étape essentielle qui influence la qualité des résultats de l'ECBU et doit être effectué dans des conditions d'asepsie strictes. Lors de la pose d'une sonde urinaire, le prélèvement se fait en insérant une seringue dans le tube reliant la vessie à la poche urinaire, et non directement dans la poche pour éviter la multiplication des bactéries, pour les patients non sondés, après un lavage hygiénique minutieux des organes génitaux externes et l'élimination du premier jet, le prélèvement doit être réalisé dans un tube stérile (environ 10 à 20 ml). Ce tube doit être hermétiquement fermé et transporté rapidement au laboratoire, où le prélèvement doit être traité dans les deux heures suivant sa collecte ou conservé au réfrigérateur à +4 °C avant d'être envoyé et traité dans les 18 heures (**Ferrari, 2023**).

B. Pus

Les règles d'hygiène doivent être respectées. Dans des conditions d'asepsie très strictes, après une désinfection minutieuse de la peau, en nettoyant la plaie avec une gaze imbibée de sérum physiologique stérile, le prélèvement est réalisé en utilisant :

- **Écouvillons**

Deux écouvillons ont été utilisés pour l'examen direct et la culture. Les traces purulentes ont été repérées et prélevées pour échantillonnage. Dans le cas où le pus était localisé dans la partie supérieure de la plaie, un écouvillon stérile a été passé sur la surface avec un mouvement superficiel. Si le pus était localisé dans un abcès superficiel fermé ou une cavité, il a été récolté par ponction à l'aide d'une seringue stérile. L'écouvillon humidifié avec un bouillon (BHIB) a été acheminé au laboratoire pour éviter la dessiccation du prélèvement.

- **Seringues**

La peau a été désinfectée à l'alcool avant la ponction, Le prélèvement a ensuite été rapidement envoyé dans la seringue, après avoir recouvert l'aiguille de son capuchon et purgé l'air éventuellement présent.

C. Hémoculture

Il est essentiel de respecter rigoureusement le protocole afin d'éviter toute contamination du prélèvement sanguin, notamment par la flore normale présente sur la peau du patient. La prise de sang se fait dans un environnement stérile, une porte fermée, avec une Asepsie rigoureuse pour éviter la contamination des flacons. Lorsque plusieurs analyses sont demandées lors de la même prise de sang, le sang pour les hémocultures est prélevé en premier lieu le flacon aérobie (bouchon vert) puis le flacon hémoculture anaérobie (bouchon orange).

10ml de sang sont directement inoculés dans des flacons contenant 40 ml de milieu de culture. Après avoir effectué le prélèvement, il est important de bien identifier les flacons. Le prélèvement doit être acheminé au laboratoire dans les 2 heures qui suivent le prélèvement (conservation à T° ambiante). Si ce n'est pas possible : max. 12h à T° ambiante (18-26°C), jamais au frigo (**Duchemin ., 2022**).

II.2.2 Dispositifs médicaux

A. Le cathéter

Cette méthode vise à détecter la colonisation microbienne d'un cathéter veineux central après son retrait, en utilisant une suspension dans une solution stérile, suivie d'un ensemencement sur milieux de culture. Selon des études récentes, ce type d'analyse est essentiel pour diagnostiquer les infections liées aux dispositifs intravasculaires, en particulier en cas de suspicion de bactériémie nosocomiale (**Ziegler et al., 2021 ; García-Botello et al., 2022**) (**Figure 1**).



Figure 1. Cathéter après prélèvement, conditionné pour analyse microbiologique en laboratoire.

- **Mode opératoire**

Le cathéter a été retiré en respectant rigoureusement les conditions d'asepsie, puis nous avons découpé un fragment distal de 5 cm à l'aide de ciseaux stériles. Ce fragment a été placé dans un tube stérile contenant entre 5 et 10 ml de solution saline stérile ou d'eau peptonée tamponnée, afin de récupérer les microorganismes présents sur les surfaces internes et externes du cathéter. Le tube a ensuite été agité vigoureusement au vortex pendant 30 à 60 secondes pour détacher les bactéries potentiellement adhérentes.

Nous avons ensuite prélevé une aliquote de 100 µl de cette suspension que nous avons ensemencé par étalement en surface (technique du râteau) sur milieu de culture gélose au sang cuit (pour la culture des bactéries aérobies) et par technique d'encadrement sur gélose nutritive et gélose Chapman (pour la recherche des staphylocoques). Les boîtes ont été incubées à une température de 35 à 37 °C pendant 24 à 48 heures, afin de permettre la croissance et l'identification des microorganismes présents.

B. Sonde urinaire (La sonde JJ)

La sonde JJ (ou sonde urétérale double J) est couramment utilisée pour assurer le drainage de l'urine en cas d'obstruction des voies urinaires, notamment dans les situations de calculs, de sténoses ou après une chirurgie urologique (**Türk et al., 2023**).

En microbiologie, les prélèvements réalisés à partir de ces sondes sont essentiels pour diagnostiquer les infections urinaires associées aux dispositifs urinaires et pour orienter une antibiothérapie ciblée (**Kasyan et al., 2022**).

- **Mode opératoire**

Nous avons prélevé un fragment de la sonde JJ dans des conditions aseptiques, que nous avons ensuite placé dans un tube stérile contenant entre 5 et 10 mL de solution saline stérile (0,85 % NaCl). Le tube a été soumis à une agitation vigoureuse au vortex pendant 60 secondes, dans le but de détacher les micro-organismes adhérents à la surface de la sonde.

La suspension obtenue a étéensemencée sur trois milieux de culture : sur gélose au sang cuit, permettant la croissance de bactéries Gram positives telles qu'*Enterococcus spp.* Et *Staphylococcus spp.* , sur gélose nutritive et gélose chapman.

L'ensemencement a été réalisé à l'aide d'une anse calibrée de 1 µl ou 10 µl, en fonction de la turbidité, en utilisant la méthode des stries afin de favoriser l'isolement de colonies pures. Les boîtes de Pétri ont été incubées à 37 °C pendant 18 à 24 heures, voire jusqu'à 48 heures en cas de croissance lente.

II.2.3 L'examen cyto bactériologique des prélèvements

Les différentes étapes suivies pour l'analyse des prélèvements, depuis l'examen cyto bactériologique jusqu'à l'identification des bactéries, sont présentées dans la (Figure 2).

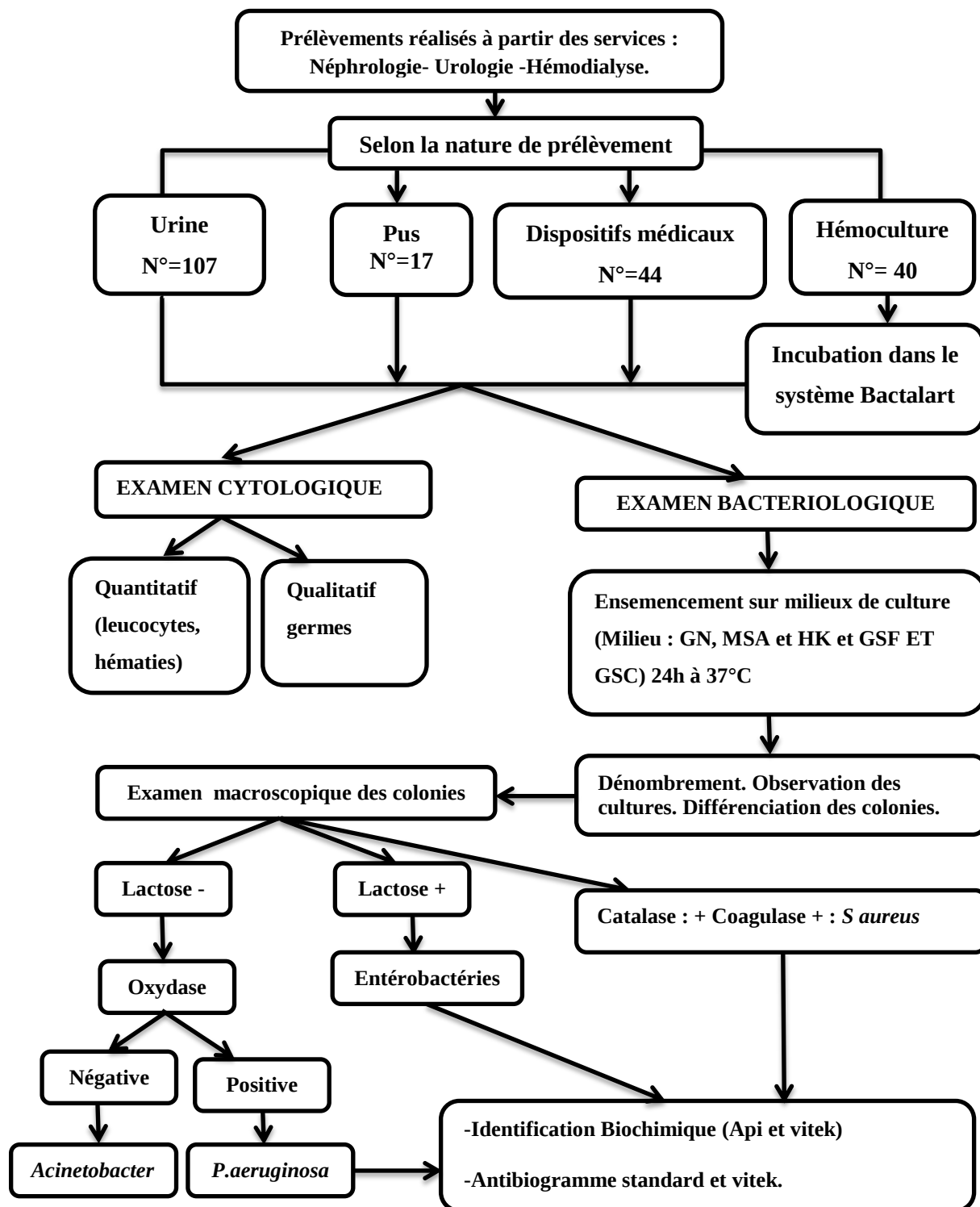


Figure 2. Organigramme général de l'examen cyto bactériologique des prélèvements (urines, pus, hémocultures, dispositifs médicaux) et des étapes d'identification des Entérobactéries, de *Pseudomonas aeruginosa* et de *Staphylococcus aureus*.

II.2.3.1 Étude macroscopique

A. Urine

Nous avons commencé par homogénéiser l'urine par retournement ou agitation. Nous avons ensuite noté si elle était limpide ou trouble et observé la présence d'hématurie. La couleur anormale pouvait indiquer diverses significations, l'hématurie pouvant donner des teintes allant du rouge franc au brun rouge. Certaines couleurs résultent de pigments alimentaires ou médicamenteux. Des sédiments blanchâtres (phosphates), rouge brique (acide urique) ou roses (urates) ont également pu être présents, ainsi qu'une odeur nauséabonde (**Figure 3**).

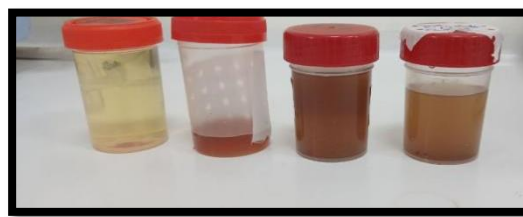


Figure 3. Différents aspects macroscopiques des urines.

B. Pus

Pour le prélèvement de pus l'observation macroscopique d'un échantillon est essentielle. Nous avons évalué sa consistance, sa couleur, son aspect et, dans le cas du pus, sa viscosité. Le pus pouvait être épais, visqueux, élastique, mélangé au sang ou non, fluide ou séreux. Sa couleur variait de la teinte chocolat au blanc, certains pus étant verdâtres ou bleutés.

II.2.3.2 Examen microscopique des prélèvements

II.2.3.2.1 Urine

B. Etude cytologique

C'est l'étude de différents types de cellules retrouvés dans l'urine (hématies, globules rouges, leucocytes, globules blancs et cellules épithéliales recouvrant la surface de la vessie).

- **Mode opératoire**

Pour la numération, nous avons utilisé la cellule de Malassez. Un volume d'urine a été prélevé à l'aide d'une pipette Pasteur. Une lamelle a ensuite été placée sur la cellule, et l'urine a été ajoutée entre la lamelle et la cellule (**Figure 4**). La cellule a été positionnée sous un microscope optique à un grossissement de 40x (**Figure 5**). . Nous avons compté le nombre d'éléments observés dans le champ et multiplié ce chiffre par 10 pour obtenir le résultat sur la cellule de Malassez.

Les résultats ont montré moins de 1000 hématies/ml (ou $1/\text{mm}^3$) et moins de 10 000 leucocytes/ml (ou $10/\text{mm}^3$) (**Takilt et al., 2014**).



Figure 4. Remplissage des urines entre la lamelle et la cellule MALASSEZ.

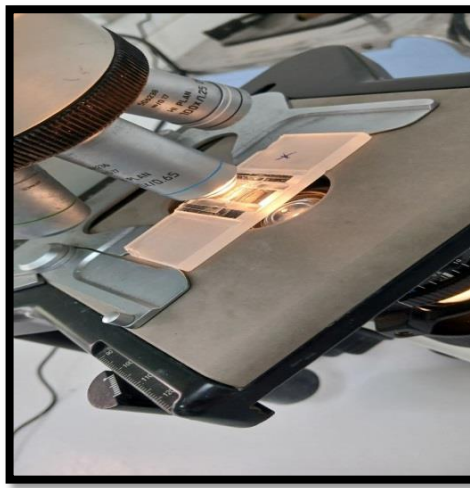


Figure 5. Observation des urines sous le microscope optique (Gr $\times 40$).

II.2.3.2.2 Pus

A. Examen direct

L'état frais ou la coloration au bleu de méthylène sont des étapes importantes de l'examen. Cet examen permet d'apprécier l'importance des polynucléaires et de déterminer si la suppuration est monomicrobienne ou polymicrobienne. Il consiste à évaluer le degré d'altération et le nombre de polynucléaires neutrophiles, ainsi que, potentiellement, la présence d'autres cellules.

Une quantité du prélèvement a été diluée dans de l'eau physiologique, et une goutte a été déposée sur une lame porte-objets pour observation au microscope optique au grossissement x 40. Cet examen permet de distinguer les cellules d'accompagnement, notamment les polynucléaires et les lymphocytes (étude qualitative et quantitative), de constater l'état des cellules (intactes ou altérées) et d'observer la morphologie et la mobilité des bactéries éventuelles

II.2.4 Hémoculture

Le système BactAlert repose sur l'isolement et la détection automatisée des micro-organismes, notamment les bactéries et les champignons, dans les hémocultures. Grâce à son interface tactile sans texte, la gestion des flacons est simplifiée. Chaque flacon contient un capteur colorimétrique appelé "CO2 sensor", initialement vert, séparé du milieu de culture par une membrane semi-perméable. Lorsque les micro-organismes produisent du CO2, le pH diminue, ce qui entraîne un changement de couleur du capteur, qui devient jaune. Ce changement est détecté par réflectométrie, chaque flacon possédant sa propre cellule de lecture. Le système émet des alertes visuelles et sonores dès qu'un flacon est détecté positif (**Duchemin, 2022**).

- **Mode opératoire**

Nous avons suivi une méthode de chargement en deux étapes : Scannez et Chargez (**Figure 6**) Après avoir sélectionné le champ actif à l'écran, nous avons tourné le flacon pour orienter l'ID vers le haut, puis l'avons positionné au-dessus de la bande de lecture. Une double sonnerie confirmait un scan réussi. Nous avons ensuite cliqué sur « chargement des flacons » et enregistré les informations nécessaires avant d'introduire les flacons pour incubation.

Les flacons aérobies et anaérobies ont été incubés à 37 °C pendant 5 à 7 jours. Durant cette période, le système a assuré une surveillance continue de la croissance bactérienne. En cas de croissance, une alarme s'est déclenchée, signalant le besoin de retirer les flacons positifs pour analyses complémentaires.

Une hémoculture a été considérée positive lorsqu'un ou plusieurs germes ont été détectés dans le sang, et négative lorsqu'aucun germe n'a été observé



Figure 6. Appareil BactAlert pour les flacons d'hémoculture.

Nous avons réalisé la mise en culture à partir des prélèvements d'hémocultures, d'urines, de pus et de dispositifs médicaux. Pour les hémocultures, l'isolement a été effectué par repiquage sur des milieux appropriés, sans jamais ouvrir les flacons. Un échantillon a été prélevé par ponction aseptique à l'aide d'une seringue stérile, et la manipulation s'est déroulée près du bec benzène, avec le port de gants et d'un masque médical pour éviter toute contamination.

L'ensemencement des prélèvements a été effectué sur cinq milieux : gélose nutritive (GN), gélose Hektoen (HK), gélose Chapman (MSA) et gélose au sang frais (GSF), et gélose au sang cuit (GSC), en utilisant la méthode des quatre quadrants. Les boîtes ont ensuite été incubées dans l'étuve à 37 °C.

II.2.5 Etude bactériologique

II.2.5.1 Mise en culture

Nous avons réalisé la mise en culture à partir des prélèvements de pus, d'urine et de dispositifs médicaux, en réponse à l'augmentation des éléments cytologiques tels que les leucocytes et les hématies. Nous avons ensemencé les échantillons sur les milieux suivants : gélose nutritive (GN), gélose Hektoen (HK), gélose Chapman, gélose au sang frais (GSF) et gélose au sang cuit (GSC). À l'aide d'une anse de platine ou d'une pipette stérile, nous avons déposé une goutte du prélèvement, puis procédé à l'étalement selon la technique des stries ou des cadrans. Enfin, nous avons incubé les

boîtes à 37 °C pendant 24 heures, certaines en atmosphère classique, d'autres dans une cloche à CO₂ selon les exigences du milieu.

II.2.5.2 Identification macroscopique des colonies

Après l'obtention d'une culture, on examine l'aspect des colonies isolées selon les critères macroscopiques suivantes : la forme, le relief, le contour, la taille, la couleur, le bord, l'opacité, l'élévation et la surface (Benzekkour et *al.*, 2018).

II.2.5.3 Examens microscopiques après culture

❖ Examen microscopique à l'état frais

Nous avons réalisé cet examen afin de mettre en évidence la mobilité, la morphologie et le mode de regroupement des bactéries. Pour cela, nous avons déposé une goutte d'eau physiologique sur une lame stérile, puis ajouté une colonie prélevée à partir d'une culture bactérienne pure. Nous avons soigneusement homogénéisé la préparation avant de la recouvrir d'une lamelle, en prenant soin d'éviter la formation de bulles d'air. L'observation a été effectuée au microscope avec un grossissement de $\times 40$

❖ Coloration de GRAM

Elle met en évidence les germes, leur morphologie et leur affinité tinctoriale. Elle permet de distinguer entre les Gram (+) et les Gram (-) en se basant sur les propriétés de la paroi bactérienne : les bactéries à Gram positif qui sont riches en peptidoglycane et pauvres en lipide et les bactéries à Gram négatif qui sont pauvres en peptidoglycane et riches en lipide.

➤ La technique

Nous avons d'abord fixé le frottis à la chaleur, puis recouvert la lame de violet de gentiane pendant une minute pour colorer les bactéries en violet. Après un rinçage à l'eau, nous avons appliqué le lugol pendant une minute afin de fixer cette coloration, suivi d'un second rinçage. La décoloration a ensuite été réalisée à l'alcool, pendant 30 secondes à une minute selon l'épaisseur du frottis, puis stoppée par un lavage à l'eau. Nous avons ensuite ajouté de la fuchsine diluée pendant 30 secondes à une minute, lavé la lame, puis l'avons séchée entre deux feuilles de papier filtre. Enfin, après avoir déposé une goutte d'huile d'immersion, nous avons observé la lame au

microscope à l'objectif $\times 100$. Les bactéries à Gram positif apparaissent en violet, tandis que les bactéries à Gram négatif sont colorées en rose.

II.3 Test d'identification biochimique

II.3.1 Test de la catalase

Pour vérifier la présence de l'enzyme catalase chez certaines souches isolées, nous avons réalisé le test de la catalase. À l'aide d'une anse stérile, nous avons prélevé une colonie fraîche que nous avons déposée sur une lame de microscope propre. Nous y avons ensuite ajouté une goutte de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Lorsqu'il y a production immédiate de bulles à l'endroit du contact un test positif indiquant la présence de l'enzyme catalase. En revanche, en l'absence totale de bulles, la réaction est considérée comme négative, ce qui traduisait l'absence de cette enzyme chez la souche testée (Labster, 2024).

II.3.2 Test de l'oxydase

Afin d'identifier la présence du cytochrome c oxydase, nous avons réalisé le test de l'oxydase. Pour cela, nous avons utilisé un disque imprégné de réactif oxydase. À l'aide d'une pipette Pasteur ou d'un bâtonnet stérile, nous avons appliqué une colonie bactérienne fraîche directement sur le disque. Dans les cas positifs, nous avons observé un changement rapide de couleur du disque vers un violet foncé, généralement en moins de 30 secondes, signe de la présence de l'enzyme. En l'absence de changement de couleur, le test a été interprété comme négatif (Labster, 2024).

II.3.3 Test de la coagulation

II.3.3.1 Test coagulase tube

Nous avons réalisé le test de coagulation afin de différencier les souches de *Staphylococcus aureus* à coagulase positive des autres *staphylocoques* à coagulase négative. Pour cela, nous avons utilisé trois tubes contenant du plasma sanguin prélevé dans des tubes citratés, le citrate agissant comme anticoagulant. Le premier tube contenait une souche de *Staphylococcus aureus* ATCC, utilisée comme témoin positif. Le second tube, témoin négatif, n'a reçu aucun ajout. Dans le troisième tube, nous avons introduit des colonies de la souche isolée à tester. Les trois tubes ont été

incubés à 37 °C pendant 24 heures. Le test a été considéré comme positif lorsqu'une coagulation s'est formée, indiquant la présence de *Staphylococcus aureus* à coagulase positive.

II.3.3.2 Test coagulase carte (Staphorex)

Nous avons utilisé ce test pour distinguer rapidement *Staphylococcus aureus* des autres espèces de *staphylocoques*, généralement moins virulentes. Il s'agit d'un test rapide d'agglutination utilisant du latex sensibilisé par du fibrinogène et des IgG, afin de détecter la protéine A et le facteur d'affinité pour le fibrinogène, caractéristiques de *S. aureus*. Nous avons mélangé les isolats de *Staphylococcus aureus* avec le réactif au latex sur une carte d'agglutination. Après homogénéisation, nous avons examiné la carte à l'œil nu : la formation d'agglutinats a indiqué la présence de *Staphylococcus aureus*.

II.4 Galerie biochimique

II.4 .1 Galerie Api 20E

L'objectif principal de la galerie API 20^E est de permettre l'identification précise des bacilles à Gram négatif non exigeants, notamment les entérobactéries, à l'aide de 20 tests biochimiques miniaturisés. Cette méthode est conçue pour être rapide, standardisée et interprétable grâce à une codification numérique.

- **Mode opératoire**

Nous avons préparé une suspension bactérienne à partir d'une colonie isolée dans une solution saline stérile (NaCl 0,85 %), ajustée au standard 0,5 McFarland. La bandelette API 20 E a été placée dans une cuve humidifiée, puis nous avons rempli les cupules : complètement pour les tests ADH, LDC, ODC, H₂S et URE (recouverts de paraffine), partiellement pour les autres, et les tests CIT, VP et GEL ont été remplis dans les deux compartiments (**Figure 7**).

Après incubation à 37 °C pendant 18 à 24 heures, nous avons ajouté les réactifs nécessaires (TDA, IND, VP1/VP2), puis nous avons observé les réactions (changement de couleur ou précipitation). À partir des résultats, nous avons attribué des valeurs codées, généré un code à 7 chiffres, puis l'avons introduit dans la base API web pour identifier l'espèce bactérienne (**bioMérieux, 2022**).

Après incubation à 37 °C pendant 18 à 24 heures, nous avons ajouté les réactifs nécessaires (TDA, IND, VP1/VP2), puis nous avons observé les réactions (changement de couleur ou précipitation). À partir des résultats, nous avons attribué des valeurs codées, généré un code à 7 chiffres, puis l'avons introduit dans la base API web pour identifier l'espèce bactérienne (bioMérieux, 2022).



Figure 7.Préparation de l'Api 20 E .

II.4.2 La Galerie API 10s

L'objectif du test API 10 S est d'identifier les entérobactéries et les bacilles à Gram négatif non exigeants les plus fréquemment isolés dans les prélèvements cliniques ou autres. Il permet une orientation rapide de l'identification bactérienne grâce à une série de tests biochimiques miniaturisés (biomerieux,2023).

- **Mode opératoire**

Une colonie pure de 18 à 24 heures a été émulsionnée dans une solution saline jusqu'à obtenir une turbidité de 0,5 McFarland. La suspension a été répartie dans les puits de la galerie selon les instructions du fabricant, certains étant remplis entièrement et recouverts de paraffine pour des conditions anaérobies (tests ADH, LDC, ODC) (**Figure8**). La galerie a été incubée dans une cuve humidifiée à 36–37 °C pendant 18 à 24 heures. Après incubation, nous avons observé les réactions biochimiques par changement de couleur, avec ajout de réactifs si nécessaire. Les résultats ont été codés puis interprétés à l'aide de la base APIweb pour une identification précise des souches (BioMérieux, 2020).



Figure 8.Préparation de l'Api 10 S.

II.5 Les tests complémentaires

❖ Test de l'indole

Détecte la capacité d'une bactérie à produire de l'indole à partir du tryptophane. Après incubation, l'ajout du réactif de Kovac provoque un anneau rouge en surface si le test est positif. L'absence de changement indique un résultat négatif.

❖ Test de l'uréase

Met en évidence la présence de l'enzyme uréase, capable d'hydrolyser l'urée en ammoniac. Une coloration rose du milieu témoigne d'une réaction positive, tandis que l'absence de couleur indique un résultat négatif.

❖ Test de réduction des nitrates

Permet de vérifier si la bactérie peut réduire les nitrates en nitrites. Une coloration rouge après ajout des réactifs indique un résultat positif. Si aucune couleur n'apparaît, l'ajout de zinc permet de confirmer un résultat négatif si une coloration apparaît.

❖ Test de fermentation du glucose

Distingue les bactéries qui fermentent le glucose de celles qui l'oxydent. Si les deux tubes deviennent jaunes, la fermentation est positive. Si un seul tube change de couleur, cela indique une oxydation. L'absence de changement de couleur indique un résultat négatif.

❖ Test du citrate de Simmons

Évalue la capacité d'une bactérie à utiliser le citrate comme unique source de carbone. Le passage de la couleur verte au bleu indique un test positif. L'absence de changement indique un test négatif.

❖ Test de Voges-Proskauer (VP)

Détecte la production d'acétoïne, un métabolite de fermentation du glucose. Une coloration rouge après ajout des réactifs traduit un résultat positif. L'absence de couleur indique un résultat négatif.

❖ Test de la motilité

Permet d'évaluer si une bactérie est mobile. Une croissance qui s'étend au-delà de la ligne d'inoculation révèle une motilité positive. Une croissance confinée à la piqure indique une motilité négative.

❖ Test de production de H₂S

Permet de détecter la production de sulfure d'hydrogène. L'apparition d'un noircissement dans le tube d'inoculation témoigne d'un résultat positif. L'absence de noircissement indique un test négatif (Labster, 2024)

II.6 Antibiogramme

Nous avons utilisé deux méthodes d'antibiogramme pour évaluer la sensibilité des bactéries : la méthode standard et la méthode automatisée avec le système vitek.

II.6.1 Antibiogramme standard

Nous avons préparé un inoculum standardisé à partir de 3 à 5 colonies isolées, suspendues dans une solution saline stérile, puis ajustées à une turbidité de 0,5 McFarland. L'ensemencement a été réalisé sur gélose Mueller-Hinton à l'aide d'un écouvillon, réparti uniformément en trois passages croisés. Après un temps de repos de 3 à 5 minutes, nous avons déposé jusqu'à six disques antibiotiques par boîte, selon les recommandations de CLSI, en fonction de la souche isolée. Les boîtes ont été incubées à 35 ± 2 °C pendant 16 à 18 heures. Après incubation, nous avons mesuré les diamètres d'inhibition et interprété les résultats selon les normes en vigueur (S, I, R). Des

souches de référence (*E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923) ont été utilisées comme témoins de qualité. L'ensemble des résultats a été rigoureusement consigné et interprété en tenant compte du contexte clinique) (CLSI, 2023).

II.6.2 Vitek automatisée

L'objectif du système VITEK® 2 vise à identifier rapidement les micro-organismes et à déterminer leur sensibilité aux antibiotiques, tout en assurant des analyses standardisées et fiables (bioMérieux, 2023).

Le principe du système VITEK® 2 repose sur l'analyse automatisée des réactions biochimiques et de la croissance bactérienne pour identifier les micro-organismes et évaluer leur sensibilité aux antibiotiques (Figure 9).

- **Mode opératoire**

Nous avons préparé une suspension bactérienne homogène à 0,5 McFarland à partir d'une colonie fraîche cultivée sur gélose au sang. Cette suspension a été introduite dans une carte VITEK (ID ou AST), composée de 64 micro-puits contenant des substrats ou des antibiotiques. L'inoculation s'est faite automatiquement via le module dédié, assurant un remplissage uniforme. Les cartes ont été placées dans l'incubateur du système, où l'analyse s'est déroulée à 35–37 °C. Le VITEK a suivi en temps réel les réactions biochimiques pour l'identification et la croissance bactérienne pour l'antibiogramme. Il a ensuite comparé les résultats à sa base de données pour identifier l'espèce et calculer les CMI. Le module AES a vérifié les profils de résistance et signalé toute anomalie ou résistance particulière.



Figure 9. Inoculation des Cartes VITEK.

II.7 tests complémentaires de synergie (Double Disk Synergy Test – DDST)

Le test de synergie est une méthode phénotypique largement utilisée pour la détection des bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) produites par les entérobactéries. Il repose sur l'observation d'une interaction synergique entre un antibiotique de la famille des céphalosporines de troisième génération (céfotaxime, ceftazidime, ceftriaxone) ou l'aztréonam, et un inhibiteur des bêta-lactamases tel que l'acide clavulanique.

Cette interaction se manifeste par une augmentation de la zone d'inhibition, formant une image en « bouchon de champagne », indiquant l'inhibition de la BLSE par l'acide clavulanique (Rawat et Nair, 2020 ; CLSI, 2023).

- **Mode opératoire**

Pour détecter la production de BLSE, nous avons ensemencé la souche sur gélose Mueller-Hinton, un disque d'amoxicilline-acide clavulanique (AMC 30 µg) a été placé au centre de la boîte, puis, à une distance de 30 mm (centre à centre), nous avons disposé les disques de céfotaxime (CTX 30 µg), ceftazidime (CAZ 30 µg), ceftriaxone (CRO 30 µg) et/ou aztréonam (ATM 30 µg). Après incubation à 35 ± 2 °C pendant 18 à 24 heures, la présence d'une synergie en forme de « bouchon de champagne » entre AMC et les autres disques indiquait une production de BLSE (Bush et Bradford, 2020 ; EUCAST, 2020).

Résultats et discussion

Durant la période de notre, nous avons collecté 208 prélèvements biologiques et non biologiques (107 prélèvements d'urines, 17 prélèvements de pus, 44 d'hémocultures, 20 sondes urinaires (La sonde JJ) et 20 cathéters veineux centraux). Ces échantillons prélevés chez des patients hospitalisés comprenaient des femmes et des hommes de différentes tranches d'âge.

III.1 Répartition des résultats

III.1.1 Selon les cas positifs et négatifs

Sur 208 prélèvements analysés, 107 cas se sont révélés positifs, soit un taux de 51 %, alors que 101 prélèvements sont négatifs, soit un taux de 49 % (**Figure10**).

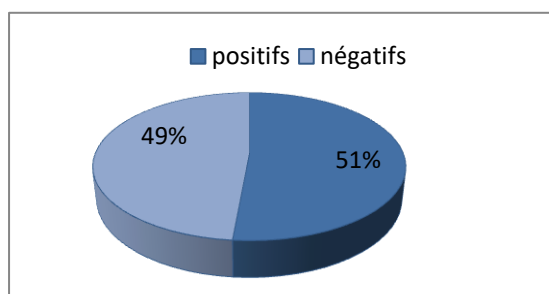


Figure 10. Répartition des cas positifs et négatifs de prélèvement.

III.1.2 Selon la tranche d'âge

La répartition des patients selon l'âge montre une prédominance de personnes âgées plus de 60 ans, représentant 46,60 % de l'ensemble des prélèvements. La tranche d'âge [50–60] ans arrive en deuxième position avec 31,00 %, suivie par les tranches [40–50] (10,30 %) et [30–40] (5,90 %). Les classes d'âge plus jeunes ([20–30] : 3,10 %, [10–20] : 3,70 %) sont peu représentées, tandis qu'aucun prélèvement n'a été effectué chez les enfants de moins de 10 ans (0,00 %). (**Figure11**).

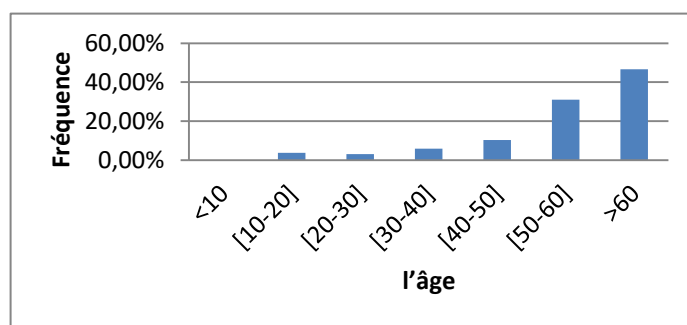


Figure 11. Répartition des prélèvements selon l'âge

L'analyse de la répartition des prélèvements selon la tranche d'âge montre une nette prédominance des cas chez les patients âgés de plus de 60 ans. Ce résultat peut être expliqué par plusieurs facteurs. D'une part, les sujets âgés présentent souvent un système immunitaire affaibli, les rendant plus vulnérables aux infections nosocomiales (**Fulop et al., 2018**). D'autre part, cette population est plus fréquemment hospitalisée pour des pathologies chroniques ou des interventions chirurgicales majeures, augmentant leur exposition aux soins invasifs comme les cathéters, sondes urinaires ou ventilateurs, qui sont des vecteurs potentiels d'infections (**Magill et al., 2018**).

Les résultats concordent avec les données de la littérature. Une étude multicentrique menée en Europe a révélé que l'incidence des infections associées aux soins augmente significativement avec l'âge, particulièrement après 60 ans (**ECDC, 2023**). De plus, les personnes âgées sont souvent polymédiquées, ce qui peut perturber leur microbiote et favoriser l'émergence d'agents pathogènes opportunistes (**O'Toole et Jeffery, 2015**).

Le faible taux d'infections dans les tranches d'âge plus jeunes peut s'expliquer par une meilleure immunocompétence, un moindre recours aux soins hospitaliers prolongés et un moindre usage de dispositifs invasifs.

III.1.3 Répartition des cas positifs selon le sexe

Les 107 cas positifs d'IN que nous avons recensé comprenaient 36 cas de sexe féminin et 71 cas de sexe masculin (**Figure12**).

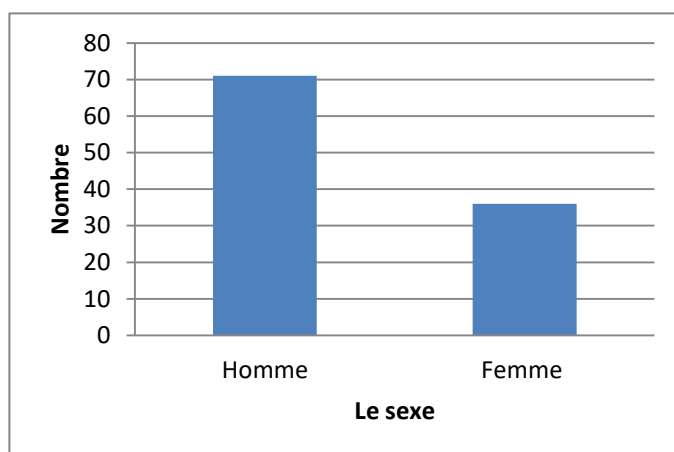


Figure 12.Répartition des cas positifs selon le sexe.

Parmi les 107 cas positifs d'infections nosocomiales (IN) identifiés dans notre étude, 71 concernaient des hommes, contre 36 femmes, soit une prédominance masculine de 66,4 %. Cette tendance peut s'expliquer par plusieurs facteurs cliniques et contextuels.

En effet, dans les services où notre enquête a été menée (néphrologie, urologie, hémodialyse), la prédominance masculine peut refléter la distribution réelle des patients hospitalisés, notamment en urologie, où certaines pathologies telles que l'hypertrophie bénigne de la prostate ou les lithiases urinaires sont plus fréquentes chez l'homme. De plus, l'utilisation de dispositifs invasifs (sondes JJ, cathéters urinaires, fistules pour hémodialyse) est souvent plus prolongée chez les hommes dans ces spécialités, ce qui peut contribuer à un risque infectieux accru (**Nicolle et al., 2022**).

Notre constat rejoint d'autres études régionales ou spécialisées montrant une prévalence plus élevée d'IN chez les patients de sexe masculin, notamment en lien avec des facteurs tels que la comorbidité, l'âge avancé, et la durée d'hospitalisation (**Magill et al., 2023**).

Cependant, cette tendance n'est pas universelle **Sanoussi et al. (2001)**, dans une étude menée au Niger sur 122 cas, ont observé une prédominance féminine, avec 66 femmes contre 56 hommes. Cette variation peut être liée aux différences démographiques, aux habitudes de soins, à la population étudiée ou au type de service concerné. Par exemple, dans les services de gynécologie-obstétrique ou de médecine générale, plusieurs études rapportent une vulnérabilité accrue chez la femme, notamment en raison de l'anatomie urogénitale qui facilite les infections urinaires ascendantes (**Rowe et al., 2021**).

Ainsi, la répartition sexuée des IN semble contextuelle, influencée par la nature des pathologies prises en charge, les actes invasifs pratiqués, et la population hospitalière ciblée. Cela souligne l'importance d'adapter les stratégies de prévention et de surveillance aux spécificités de chaque groupe de patients, en intégrant des données épidémiologiques locales.

III.1.4 Selon les différents services

La prévalence des patients a été plus élevée chez le service néphrologie avec un taux de 67% viennent ensuite le service d'urologie avec un taux de 29 %, tandis que les infections ont été faibles dans le service d'Hémodialyse avec une fréquence de 4 %(**Figure 13**).

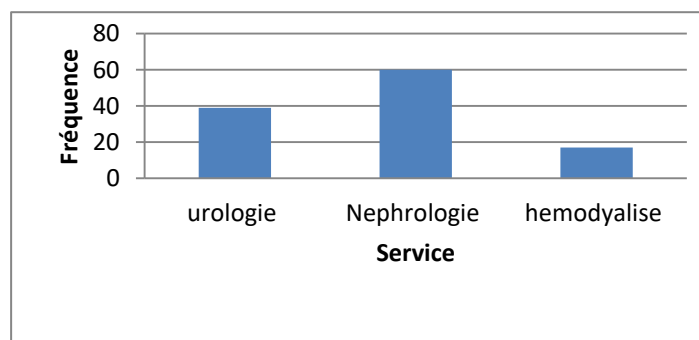


Figure 13.Répartition des patients selon les différents services.

Les patients en néphrologie présentent souvent des affections chroniques (comme l'insuffisance rénale aiguë ou chronique) nécessitant des hospitalisations prolongées, des traitements immunosuppresseurs, ainsi que l'utilisation fréquente de dispositifs invasifs tels que les cathéters veineux centraux, favorisant ainsi le risque d'infection nosocomiale. Plusieurs études confirment que les patients atteints de pathologies rénales sont particulièrement vulnérables aux infections associées aux soins, notamment en raison de leur état immunitaire altéré et de l'exposition répétée aux actes techniques (**De Rosa et al., 2022**).

Dans le service d'urologie, bien que le taux d'infection soit moins élevé (29 %), la manipulation fréquente des voies urinaires (pose de sondes vésicales, sondes JJ, interventions endoscopiques) reste un facteur de risque non négligeable. Ces dispositifs sont souvent impliqués dans des infections urinaires nosocomiales compliquées, principalement causées par des entérobactéries résistantes (**Saint et al., 2019**).

À l'inverse, la fréquence plus faible des infections signalées dans le service d'hémodialyse (4 %) pourrait s'expliquer par plusieurs hypothèses : un nombre réduit d'hospitalisations longues, un encadrement rigoureux du protocole d'asepsie lors des séances de dialyse, et une prise en charge ambulatoire plus fréquente des patients. Toutefois, il ne faut pas sous-estimer le risque infectieux dans cette population : des études soulignent que les patients hémodialisés, bien qu'en grande partie suivis en externe, sont à risque élevé d'infections bactériennes sévères en raison de l'utilisation régulière de fistules artérioveineuses ou de cathéters tunélisés (**Hassan et al., 2021**).

En somme, ces résultats soulignent l'importance de stratégies de prévention ciblées selon les services, en particulier en néphrologie où les taux d'infection restent préoccupants. Il est recommandé de renforcer les mesures d'hygiène, de limiter l'utilisation des dispositifs invasifs au strict nécessaire et de privilégier une surveillance microbiologique régulière pour réduire l'incidence des infections associées aux soins.

III.1.5 Selon le type de prélèvement

L'étude a permis d'analyser un total de 208 prélèvements issus de différentes sources cliniques, répartis entre liquides biologiques (urines, pus, sang) et dispositifs médicaux (sonde JJ et cathéters). Cette répartition a permis de comparer la fréquence des infections selon l'origine du prélèvement (**Tableau III**).

Tableau III. Répartition des prélèvements selon le type et taux de positivité

Type de prélèvement	Nombre total	Nombre de prélèvements positifs	Taux de positivité (%)
Urines	107	46	43.0 %
Pus	17	14	82.4 %
Sang	44	20	45.5 %
Sonde JJ	20	12	60.0 %
Cathéters	20	15	75.0 %

Parmi les 107 prélèvements urinaires, 46 se sont révélés positifs, soit un taux de positivité de 43 %. Ce taux reste élevé, soulignant la fréquence des infections urinaires nosocomiales, en particulier chez les patients sondés. La présence de sondes JJ a renforcé ce constat, avec 12 prélèvements positifs sur 20 (60 %), ce qui confirme leur rôle dans la colonisation ascendante du tractus urinaire. Ces observations concordent avec les travaux de **Saint et al. (2019)**, qui ont démontré une forte association entre les dispositifs urinaires et l'augmentation du risque infectieux.

Les 14 prélèvements de pus ont montré un taux de positivité de 82,4 %, ce qui témoigne de la spécificité de ce type d'échantillon dans la détection d'infections localisées. Un tel taux est attendu dans les contextes cliniques où l'infection est manifeste, et il renforce l'intérêt diagnostique de ce prélèvement en cas de suspicion d'abcès, d'infections cutanées ou post-chirurgicales (**Weiner-Lastinger et al., 2020**).

Concernant les 44 hémocultures, 20 se sont révélées positives, soit 45,5 %, ce qui représente une proportion significative de bactériémies nosocomiales. Ce résultat souligne la gravité de ce type d'infection, souvent lié à des dispositifs intravasculaires ou à la diffusion secondaire à partir d'un foyer infectieux primaire. La littérature actuelle (**WHO, 2023**) considère les bactériémies associées aux soins comme une priorité en matière de prévention des infections hospitalières. Les cathéters ont présenté un taux de positivité de 75 % (15 cas sur 20), soit le plus élevé de tous les types de prélèvements analysés. Ce résultat met en évidence leur implication majeure dans la survenue des infections nosocomiales, notamment en cas de mauvaise manipulation ou de durée de pose prolongée. Comme le souligne **Kourtis et al. (2019)**, les infections liées aux dispositifs invasifs constituent l'un des défis majeurs pour les équipes de prévention des infections hospitalières.

Cette répartition montre que les dispositifs médicaux, en particulier les cathéters et sondes JJ, sont associés à une forte prévalence de positivité bactérienne, dépassant même celle des liquides biologiques. Ces résultats soulignent la nécessité d'un encadrement rigoureux de l'usage des dispositifs invasifs, associé à des protocoles de soins standardisés et à une surveillance microbiologique active afin de limiter l'incidence des infections nosocomiales.

III.2 Résultats de l'examen cytologique

III.2 .1 Etat frais

L'examen à l'état frais révèle la présence de globules rouges visibles dans l'échantillon d'urine (**Figure 14**).

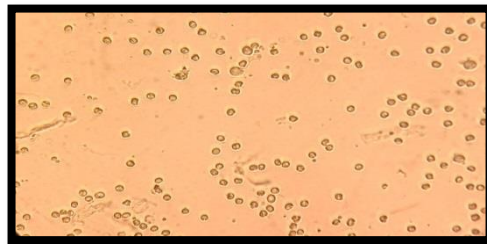


Figure 14. Observation microscopique à l'état frais : Présence de globules rouges dans un échantillon d'urine.

III.2.2 Coloration au bleu de méthylène

L'observation de frottis colorés au bleu de méthylène a permis de mettre en évidence la présence de leucocytes (**Figure15**)

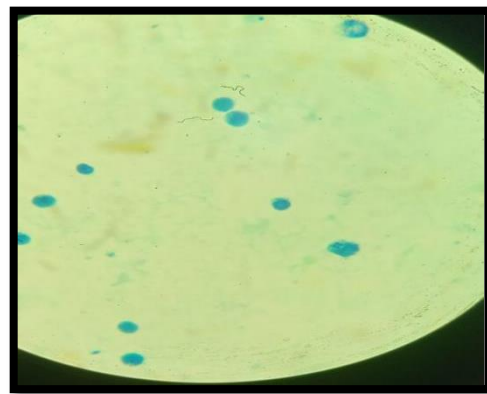


Figure 15. Observation des leucocytes sur frottis colorés au bleu de méthylène.

III.3 Résultats de l'identification des germes

Après incubations, les isolats bactériens ont montré divers aspects cultureux. Des espèces différentes forment des colonies caractéristiques. La forme, la taille, l'aspect, la couleur des colonies et parfois même l'odeur peuvent nous orienter vers un groupe déterminé de bactéries.

L'aspect des colonies caractéristiques observées sur différents milieux de culture sont :

Les colonies grosses, envahissant la surface de la gélose en ondes concentriques sur GN ou HK sont suspectées d'être *Proteus spp.* Cette propriété est liée à la mobilité exceptionnelle que lui confèrent plusieurs centaines de flagelles.

Lorsqu'une colonie présente une pigmentation jaune dorée, une surface lisse, une forme bombée et une taille variable, tout en dégradant le mannitol sur milieu Chapman, elle est suspectée d'être *Staphylococcus aureus*. En revanche, les colonies blanches sont généralement considérées comme des *staphylocoques* à coagulase négative. De plus, toute colonie colorée en orange, vert ou noir sur les milieux Hektoen est suspectée d'être soit une entérobactérie, soit *Pseudomonas aeruginosa*.

III.3.1 Résultats de l'examen macroscopique

Escherichia coli

La lecture des prélèvements a démontré la présence de colonies caractéristiques d'*Escherichia coli* Sur Hektoen décrites comme suit : Colonies arrondie, lisses a bords réguliers de 2 à3 mm de diamètre, d'une couleur jaune souvent et un virage coloré du milieu vers l'orange, lisses, brillantes avec un aspect Œuf sur plat (**Figure16**).



Figure 16.Colonies d'*E.coli*, à gauche sur Hektoen.

Klebsiella pneumoniae

La lecture des prélèvements a démontré la présence de colonies caractéristiques de *Klebsiella pneumoniae* décrites comme suit :

- **Sur Hektoen** : Colonies de couleur jaunes orangées muqueuses, larges, bombées et luisantes, ne provoquent généralement pas d'hémolyse ni ne dégagent d'odeur caractéristique (**Figure17**).
- **Sur GN** : Les observations des boîtes incubées montrent qu'il y a des colonies muqueuses de 3-4 mm de diamètre avec une tendance à la confluence (**Figure17**).

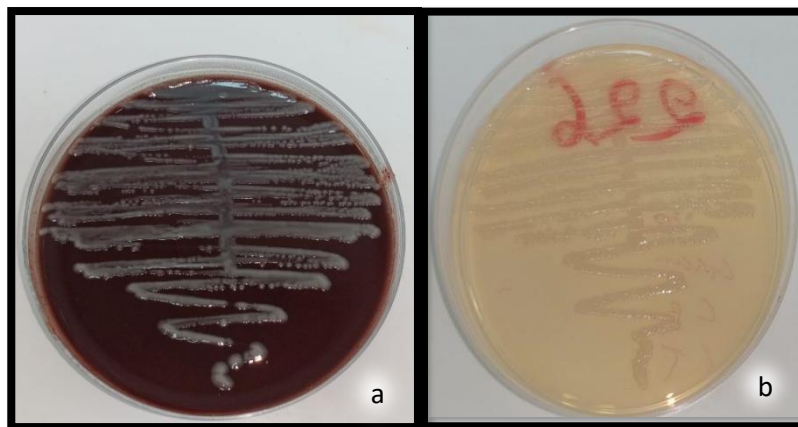


Figure 17.Colonies de *Klebsiella pneumoniae* a) sur gélose au sang, b) sur GN.

Pseudomonas aeruginosa

La lecture des prélèvements a démontré la présence de colonies de *Pseudomonas aeruginosa* décrites comme suit :

- Des colonies verdâtres sur le milieu Hektoen à bord irrégulier, rugueuses, bombées présentant des reflets métalliques (**Figure 18**).
- **Sur gélose au sang cuit et frais** : les colonies sont larges, rugueuses avec un centre plus bombé et un bord irrégulier (**Figure 18**).
- **Odeur** : Caractéristique dite la sergina (senteur d'une fleur, le jasmin).

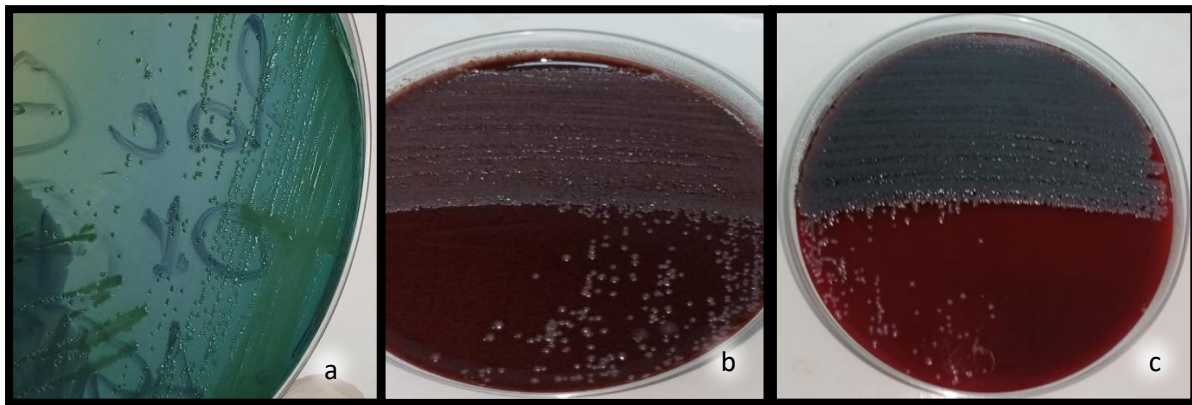


Figure 18. Colonies de *Pseudomonas aeruginosa*, a) sur Hektoen, b) sur GS cuit c) sur GS frais.

Proteus mirabilis

La lecture des prélèvements a démontré la présence de colonies caractéristiques de *Proteus mirabilis* décrites comme suit :

- **Sur GN** : Colonies de 2-3mm de diamètre entourées de plusieurs vagues apparaissent en forme des vagues concentrique, envahissant la gélose, lisses et arrondies à bords régulier (**Figure 20**).
- **Sur gélose au sang** : Colonies grosses, non hémolytiques, diffusent sur le milieu en formant des vagues (**Figure 19**).

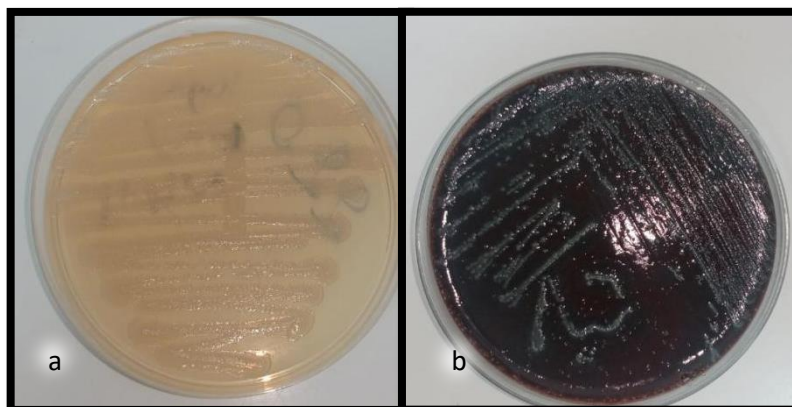


Figure 19. *Proteus mirabilis*, a) sur GN b) sur GS.

Staphylococcus aureus

L'observation macroscopique des prélèvements démontre la présence de colonies caractéristiques de *Staphylococcus aureus* décrite **sur Chapman comme** suit : Colonies jaunes, faisant virer au jaune, dû à la fermentation du mannitol (**Figure 20**).

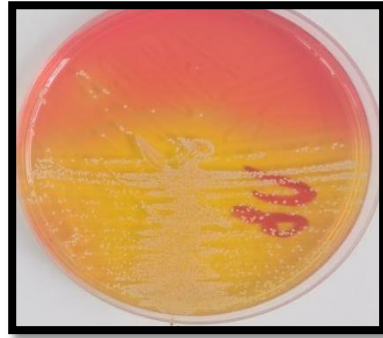


Figure 20. Aspect des colonies de *Staphylococcus aureus* sur milieu Chapman.

III.3.2 Résultats de l'examen microscopique

L'examen microscopique (après coloration de Gram) a été fait pour tous les milieux positifs. Les résultats de coloration représentés par 61% (n = 65) du total des isolats sont des bactéries à Gram négatif, alors que 39% (n = 41) sont des bactéries à Gram positif (**Figure21**).

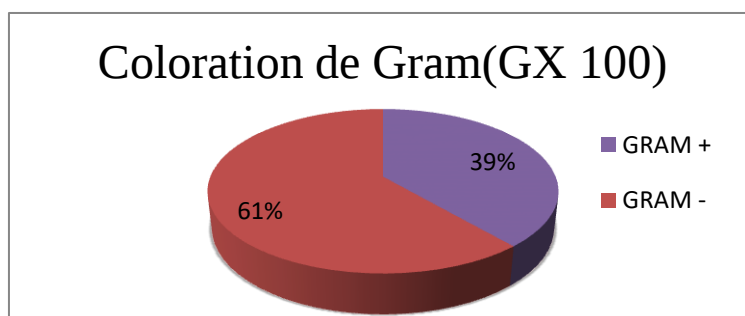


Figure 21. Répartition des résultats selon la coloration de Gram.

Les cultures bactériennes positives ont révélé une prédominance des germes à Gram négatif par rapport aux germes à gram positifs. Ces résultats montrent que les germes gram négatifs ont été la cause de la plupart des infections nosocomiales (**Figure22**).

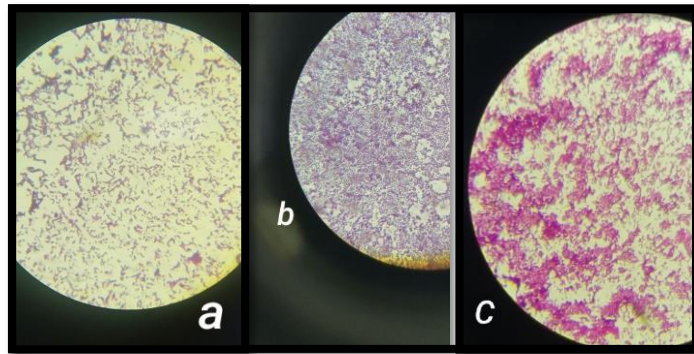


Figure 22.Résultats de coloration de Gram : a) bacilles à Gram positif, b) Cocci à Gram positif, Cocci gram négatif.

III.3.3 Résultats des tests d'orientation

❖ Tests de catalase et d'oxydase

Les résultats des tests de catalase et d'oxydase sont présentés dans le (**Tableau IV**).

- Test de catalase positif : 94
- Test d'oxydase positif : 59

Tableau IV. Résultats des tests positifs de catalase et d'oxydase.

	Test catalase positifs	Test oxydase positifs
Nombre	94	59
Photos originales		

❖ Test de coagulase

Les résultats du test de coagulase montrent 15 coagulase positifs et 16 coagulase négatifs, comme indiqué dans le (Tableau V).

Tableau V. Les résultats du test de coagulase positifs et Coagulase négatifs.

	Coagulase positifs	Coagulase négatifs
Nombre	15	16
Photos originales		

III.3.4 Résultats de l'identification par galerie API

L'identification par galerie API 20E et API 10S a révélé la présence de souches appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* et d'autres bacilles négatif non entérobactéries telles les *Pseudomonas*.

L'interprétation des résultats obtenus par les systèmes API 20E et API 10S était faite à l'aide du logiciel d'identification Excel.

Les espèces bactériennes identifiées par les API systèmes sont démontrées dans les figures ci-dessus :



Figure 23. Résultats de l'identification biochimique d'*E. coli*.



Figure 24.Résultats de l'identification biochimique de *Proteus mirabilis*.



Figure 25.Résultats de l'identification biochimique de *Klebsiella pneumoniae*.

III.3.5 Répartition des résultats selon la nature du germe

Sur les 107 prélèvements positifs au cours des quatre mois de stage *E. coli* était l'espèce bactérienne la plus fréquemment isolée avec (24.5%) de l'ensemble des espèces étudiées suivies de *Staphylococcus* à coagulase négative représentant 15% des isolats, et suivie *Staphylococcus aureus* (14%) et suivie *Enterobacter sp* et *Klebsiella pneumonie* avec un taux (11.2 %) , *Enterococcus faecalis* (8.4%),et *Pseudomonas aeruginosa* (7.4%).*morganella morganii* (2.8%) , *Proteus mirabilis* et *Acinitobacter boumanii* (0.9%) et autre bactéries (3.7 %) (**Figure26**).

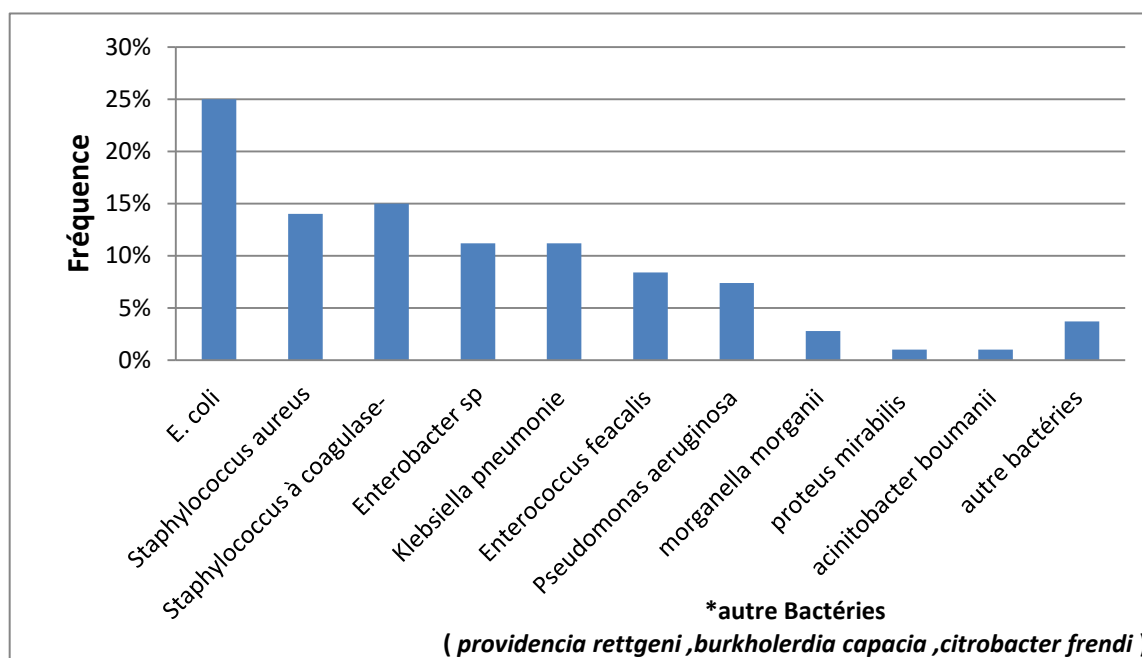


Figure 26. Répartition des résultats selon la nature du germe

III.4 Antibiorésistance

III.4.1 chez *Escherichia coli*

Un total de 26 souches d'*E. coli* ont été isolées. L'analyse des profils de sensibilité montre que la majorité des souches ont présenté une forte sensibilité vis-à-vis de l'Imipénème (IMP) avec un taux de 85,7 %, suivi de la Gentamicine (GM), de l'Amikacine (AN), de la Ciprofloxacine (CIP), de la Céfotaxime (CTX), et du Ceftazidime (CAZ), qui affichent chacune un taux de sensibilité de 78,6 %. De plus, 71,4 % des souches se sont montrées sensibles à la Fosfomycine (FOX), la Méropénème (MRP), et la Tobramycine (TM), tandis que la Triméthoprim+Sulfaméthazole (SXT) a présenté une sensibilité de 64,3% (Figure 27).

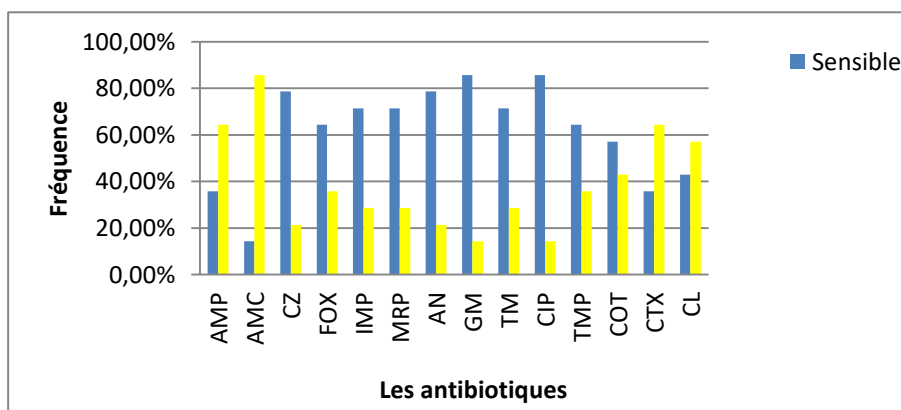


Figure 27. Résultats de l'étude de l'antibiorésistance des souches d'*E. coli*.

En revanche, une résistance notable a été observée vis-à-vis de l'Amoxicilline (AMP) avec 64,3 % de souches résistantes, et surtout de l'Amoxicilline-acide clavulanique (AMC) à laquelle toutes les souches étaient résistantes (100 %). Cette dernière donnée est cohérente avec les travaux de **(Kashef ,2010 en Iran et Kothari ,2008)** en Inde, qui ont également mis en évidence une résistance importante à l'AMC. Concernant les BLSE, quatre souches (soit 15,4 %) ont été identifiées comme productrices de β -lactamases à spectre étendu. Celles-ci se sont révélées résistantes à l'AX, au COT, au CTX, et à la CIP, tout en restant sensibles au CL et à l'ampicilline. Les autres souches non-BLSE se sont révélées sensibles à la majorité des antibiotiques testés, à l'exception de l'AX.

La résistance élevée à l'AMC (100 %) dans notre série pourrait être expliquée par l'usage excessif et parfois inapproprié de cette molécule dans les pratiques médicales, tant en milieu hospitalier que communautaire, comme le suggèrent **Baouta (2001)** et d'autres auteurs. En revanche, la forte sensibilité à l'Amikacine (AN) et à l'Imipénème (IMP) rejoint les résultats rapportés par **Kothari (2008) et Kashef (2010)**, confirmant ainsi l'efficacité persistante de ces molécules dans la prise en charge des infections urinaires et nosocomiales à *E. coli*. L'identification de 4 souches BLSE+ est un signal d'alerte, car ces souches sont souvent impliquées dans des infections nosocomiales sévères et limitent considérablement les options thérapeutiques disponibles.

III.4.2 Chez *klebsiella pneumoniae*

Douze souches de *Klebsiella pneumoniae* ont été isolées. L'analyse de leur profil de sensibilité aux antibiotiques montre une résistance élevée à l'ampicilline (AMP), à l'amoxicilline-acide clavulanique (AMC), à la cefazoline (CZ) et à la ceftioxime (FOX), avec 80 à 90 % des souches résistantes. Ces résultats traduisent une faible efficacité de ces antibiotiques sur les entérobactéries productrices de β -lactamases.

L'imipénème (IMP) s'est révélé être l'antibiotique le plus efficace, avec un taux de sensibilité de 100 %, suivi de la ceftriaxone (CTX) (70 %), de la ciprofloxacine (CIP) (90 %) et du cotrimoxazole (COT) (60 %). Des sensibilités intermédiaires ont été notées pour la gentamicine (GM) (70 %), la tobramycine (TM) (60 %), Triméthoprime+Sulfaméthazole (SXT) (60 %) et la clindamycine (CL) (60 %). L'amikacine (AN) présente une efficacité modérée avec 60 % de souches sensibles.

Deux souches ont été identifiées comme productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE), ce qui limite fortement l'efficacité des céphalosporines de troisième génération, comme observé avec la forte résistance à la ceftriaxone (30 % de souches résistantes). Une seule souche multirésistante a été détectée, avec une résistance simultanée à plusieurs familles d'antibiotiques, y compris les fluoroquinolones, les aminoglycosides et les β -lactamines.

La résistance marquée à l'ampicilline (90 %) est attendue chez *K. pneumoniae*, en raison de la production naturelle de β -lactamases. L'inefficacité de l'amoxicilline-acide clavulanique (90 % de résistance) et de la cefazoline (80 %) suggère également la présence d'enzymes hydrolysant les céphalosporines de première génération.

La sensibilité universelle à l'imipénème (IMP) est conforme à son rôle de dernier recours face aux entérobactéries multirésistantes. Toutefois, cette efficacité doit inciter à une utilisation prudente afin d'éviter l'émergence de souches résistantes aux carbapénèmes. La présence de deux souches BLSE souligne l'importance d'un dépistage systématique en milieu hospitalier pour limiter la dissémination de telles souches, souvent impliquées dans des infections nosocomiales graves (Figure 28).

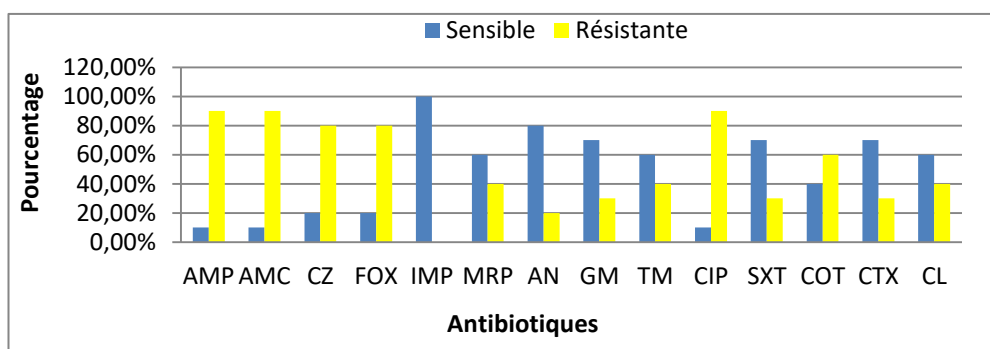


Figure 28. Résultats de l'étude de l'antibiorésistance des souches de *K. pneumoniae*.

La souche multirésistante isolée constitue un signal d'alarme. Sa capacité à résister à plusieurs classes d'antibiotiques, y compris les aminoglycosides et les fluoroquinolones, rend son traitement particulièrement complexe. Ce phénomène a été largement rapporté dans la littérature récente, notamment dans les services de réanimation et d'urologie, où l'usage intensif des antibiotiques favorise l'émergence de souches hautement résistantes (Tzouvelekis et al., 2012).

III.4.3 Antibiorésistance chez *Enterobacter sp*

Dans notre étude, 11 souches d'*Enterobacter sp* ont été isolées. L'analyse de leur profil de sensibilité aux antibiotiques a révélé un taux de résistance particulièrement élevé à l'amoxicilline-acide clavulanique (AMC) (70 %) et à l'ampicilline (AMP) (60 %). La céfazoline (CZ) a montré également un taux de résistance élevé (60 %). En revanche, les carbapénèmes (imipénème (IMP) et méropénème (MRP)) ont présenté une excellente activité avec 90 % de sensibilité pour chaque molécule.

Parmi les aminoglycosides, la gentamicine (GM) a montré une sensibilité de 70 %, tandis que l'amikacine (AN) a atteint 80 %. En ce qui concerne les fluoroquinolones, la ciprofloxacine (CIP) a présenté une sensibilité de 80 %, tandis que la cotrimoxazole (COT) et la ceftriaxone (CTX) ont montré une sensibilité modérée (40 %). Une seule souche (9,1 %) a été identifiée comme productrice de BLSE (**Figure29**).

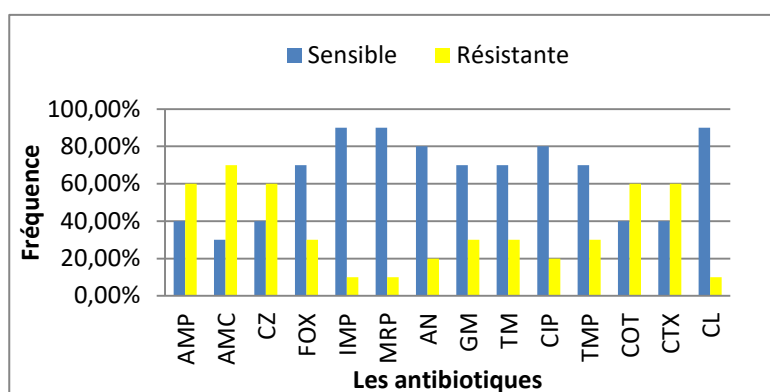


Figure 29. Antibiorésistance chez *Enterobacter sp*.

Les *Enterobacter sp* sont des bacilles à Gram négatif opportunistes fréquemment impliqués dans les infections nosocomiales, en particulier chez les patients immunodéprimés ou hospitalisés sur de longues périodes. La résistance observée à l'ampicilline et à l'amoxicilline-acide clavulanique est attendue, car ces bactéries produisent naturellement des bêta-lactamases chromosomiques de type AmpC (**Jacoby, 2009**).

La faible prévalence des souches BLSE dans notre série (9,1 %) contraste avec certaines études réalisées dans des contextes hospitaliers similaires, où les taux peuvent dépasser 20 % (Shaikh et al., 2015). Néanmoins, la persistance de l'activité des carbapénèmes (90 % de sensibilité) reste rassurante, bien qu'elle souligne la nécessité d'en limiter l'usage pour éviter l'émergence de souches carbapénémase-productrices (Tzouveleakis et al., 2012).

Les bons taux de sensibilité à l'amikacine, à la ciprofloxacine et à la gentamicine sont cohérents avec les résultats d'autres études menées dans des unités de soins intensifs (Mezzatesta et al., 2012). Néanmoins, la vigilance reste de mise face à une évolution rapide des profils de résistance.

III.4.4 Chez *Enterococcus faecalis*

09 souches d'*Enterococcus faecalis* ont été isolées. Les antibiotiques les plus efficaces étaient l'ampicilline (AMP), la fosfomycine (FT) et la teicoplanine (TM), avec des taux de sensibilité respectifs de 77,8 %, 77,8 % et 66,7 %. La gentamicine (GM) a montré une efficacité plus modérée (55,6 %), tandis que l'imipénème (IMP), la vancomycine (VA) et la pristinaamycine (PT) ont tous présenté 33,4 % de souches sensibles.

La résistance la plus marquée a été observée envers l'érythromycine (E), avec 87,5 % de souches résistantes, suivie de la lévofloxacine (LEV) et de la clindamycine (CL), toutes deux à 77,8 % de résistance. La ciprofloxacine (CIP) a montré un profil plus équilibré avec 55,6 % de souches sensibles (Figure 30).

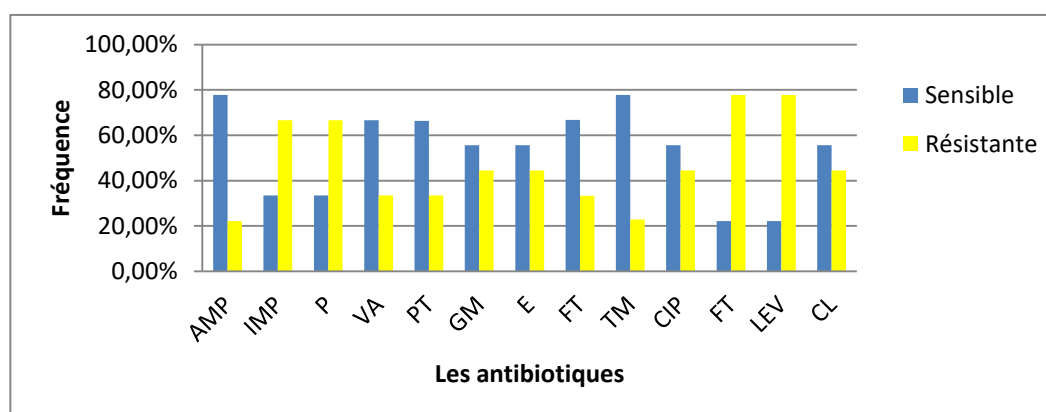


Figure 30. Antibiorésistance chez *Enterococcus faecalis*.

Enterococcus faecalis est une bactérie commensale du tractus gastro-intestinal humain, mais elle devient pathogène opportuniste dans le contexte hospitalier, surtout chez les patients immunodéprimés ou porteurs de dispositifs médicaux invasifs. Sa capacité à résister à de nombreux antibiotiques en fait un pathogène nosocomial préoccupant (**Arias et Murray, 2012**).

Les bons taux de sensibilité à l'ampicilline et à la fosfomycine observés dans notre étude sont encourageants. L'ampicilline reste l'un des traitements de première intention pour les infections entérocoquiques, sauf en cas de résistance acquise par mutation des protéines fixant la pénicilline (**Hollenbeck et Rice, 2012**). La fosfomycine, souvent réservée aux infections urinaires, semble garder une bonne activité sur les souches étudiées.

En revanche, la résistance très élevée à l'érythromycine (87,5 %) est cohérente avec d'autres études, qui rapportent une diffusion importante des gènes de résistance de type ERM chez les entérocoques (**Portillo et al., 2000**). Les fortes résistances à la vancomycine et à l'imipénème sont inquiétantes, en particulier pour la vancomycine, qui représente un pilier thérapeutique dans les infections graves à entérocoques. Bien que notre échantillon montre une résistance à 66,6 %, des souches dites VRE sont de plus en plus signalées dans les hôpitaux (**Cetinkaya et al., 2000**).

Les fluoroquinolones (CIP et LEV) ont montré une efficacité intermédiaire, ce qui pourrait refléter leur usage fréquent en milieu hospitalier, favorisant la sélection de souches résistantes.

III.4.5 Chez *Providencia rettgeri*

Une seule souche de *Providencia rettgeri* a été isolée. Elle est résistante à la clindamycine (CL), au cotrimoxazole (COT) et à la ceftriaxone (CTX), mais sensible à l'ampicilline, à la cefuroxime (CR) et à la ciprofloxacine (CIP).

Providencia rettgeri, bien que moins fréquente, est reconnue pour son potentiel de résistance, notamment en réanimation et chez les patients porteurs de dispositifs invasifs (**O'Hara et al., 2000**). Le profil observé suggère une résistance acquise non-enzymatique, probablement via des mécanismes d'efflux ou de perméabilité réduite.

III.4.6 Chez *Morganella morganii*

Trois souches de *Morganella morganii* ont été isolées. Elles sont toutes résistantes à la clindamycine (CL) et à l'amoxicilline (AX), mais sensibles à la ceftriaxone (CTX), à l'ertapénème (ETP), au cotrimoxazole (COT), à la ciprofloxacine (CIP), à l'ampicilline et au test E-test.

Morganella morganii est naturellement résistante à plusieurs antibiotiques, notamment les colistines et certains bêta-lactamines (**Liu et al., 2020**). Le profil observé dans cette étude reste modéré, avec une sensibilité conservée aux antibiotiques de dernier recours, ce qui est encourageant dans un contexte de surveillance nosocomiale (**Mosaffa et al., 2024**).

III.4.7 Chez *Staphylococcus aureus*

Au total, 15 souches de *Staphylococcus aureus* ont été isolées dans le cadre de cette étude. L'analyse des profils de sensibilité a révélé une résistance importante à plusieurs antibiotiques, notamment à la pénicilline G (PN) avec 62,5 % de souches résistantes, ce qui reste cohérent avec la production fréquente de pénicillinases par cette espèce.

Un élément particulièrement préoccupant est l'identification de trois souches de SARM, soit 20 % des souches isolées. Ces souches ont été détectées grâce à une résistance totale à l'oxacilline (OX), soulignant leur potentiel épidémique en milieu hospitalier et la nécessité d'un suivi rigoureux.

Parmi les autres antibiotiques testés, une bonne sensibilité a été observée à la gentamicine (GM), à la ciprofloxacine (CIP) et à la fosfomycine (FOS), avec 75 % de souches sensibles. L'amikacine (AN), l'érythromycine (E), la clindamycine (CL), la lévofloxacine (LEV), la rifampicine (RA) et la fosfomycine (FOS) ont affiché chacun 62,5 % de sensibilité, tandis que la vancomycine (VA) reste une option efficace avec 75 % de souches sensibles, ce qui confirme son importance en traitement de secours, notamment pour les infections à SARM (**Figure 31**).

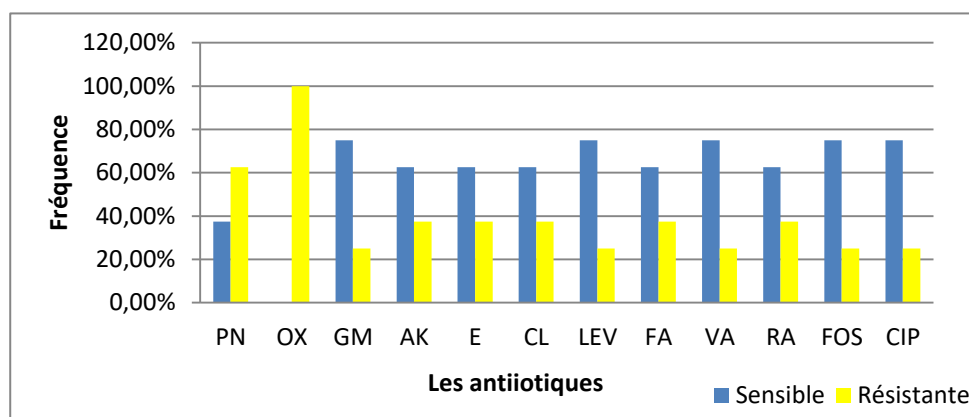


Figure 31. Antibiorésistance chez *Staphylococcus aureus*.

Ces données rejoignent celles rapportées par (Derouiche et al., 2016 et Boukhatem et al., 2020), qui signalent une augmentation notable des souches de SARM dans les établissements de santé algériens, principalement dans les services à risque comme la réanimation ou la chirurgie. Cela met en évidence l'importance de la surveillance microbiologique et de l'usage raisonné des antibiotiques afin de limiter l'émergence de ces bactéries multirésistantes.

III.4.8 Chez *Staphylococcus a coagulase négatifs*

Au total, 16 souches de *Staphylococcus* à coagulase négative ont été isolées. L'analyse des profils de sensibilité montre une résistance marquée à la pénicilline G (90 %) et à l'érythromycine (70 %), traduisant la production fréquente de pénicillinases et de mécanismes de résistance aux macrolides chez ces espèces.

La clindamycine (CL) conserve une bonne efficacité avec 60 % de souches sensibles. La vancomycine (non représentée sur le graphique) reste globalement active, comme attendu, bien qu'aucun test de CMI n'ait été effectué pour confirmer la sensibilité dans notre série. La gentamicine (GM) et la ciprofloxacine (CIP) présentent des sensibilités respectives de 50 % et 60 %, ce qui confirme une certaine variabilité phénotypique selon les espèces de SCN.

Parmi ces 16 souches, 5 ont été identifiées comme porteuses du gène *mecA*, conférant une résistance à la méthicilline. Ces souches de *Staphylococcus* à coagulase négative sont fréquemment associées à une résistance croisée à plusieurs autres familles d'antibiotiques, telles que les aminosides, les fluoroquinolones et les macrolides, ce qui complique leur prise en charge thérapeutique (**Figure 32**).

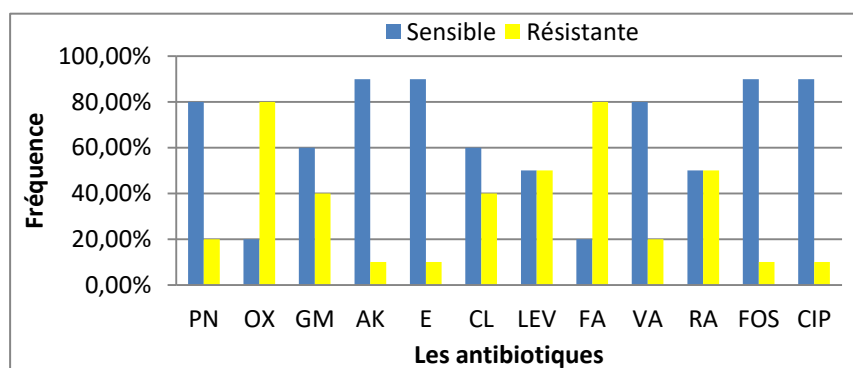


Figure 32. Antibiorésistance chez *Staphylococcus* à coagulase négatifs

Les *Staphylococcus* à coagulase négative (SCN) étaient autrefois considérés comme de simples contaminants cutanés. Toutefois, ils sont aujourd'hui reconnus comme des agents pathogènes opportunistes majeurs, en particulier dans les infections nosocomiales liées aux dispositifs médicaux tels que les cathéters, sondes et implants (**Becker et al., 2014 ; Becker, 2023**).

Dans notre étude, 16 souches de SCN ont été isolées, parmi lesquelles 5 souches (31,25 %) étaient résistantes à la méthicilline. Cette résistance est principalement due à l'acquisition du gène *mecA*, codant pour une protéine de liaison aux pénicillines altérée (PBP2a), qui rend inefficaces la majorité des β -lactamines, y compris les pénicillines et les céphalosporines (**Lee et al., 2022**).

Cette proportion relativement élevée est préoccupante, car les SCN résistants à la méthicilline (MRSCN) sont souvent associés à une multirésistance à d'autres familles d'antibiotiques, telles que les aminosides, les fluoroquinolones et les macrolides (**Koksal et al., 2009 ; Becker, 2023**). Cette multirésistance complique considérablement la prise en charge thérapeutique, surtout chez les patients immunodéprimés ou porteurs de dispositifs invasifs.

Ces résultats mettent en évidence la nécessité de renforcer la surveillance microbiologique, de promouvoir une utilisation raisonnée des antibiotiques, et d'appliquer rigoureusement les mesures de prévention des infections nosocomiales, notamment dans les services à haut risque comme la réanimation ou la néphrologie (Tacconelli et al., 2023 ; WHO, 2022).

III.4.8 Chez *Pseudomonas aeruginosa*

Sur les 8 souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées, les taux de résistance les plus élevés ont été observés pour la ticarcilline (TC), l'aztréonam (ATM), la pipéracilline (PIP), la ceftazidime (CZ) et l'amikacine (AN), avec une résistance allant de 75 % à 87,5 %. L'imipénème (IMP) a montré une sensibilité modérée avec 25 % des souches sensibles, tandis que la gentamicine (GM) et la tobramycine (TM) ont affiché une sensibilité respectivement de 25 % et 37,5 %. Les fluoroquinolones telles que la ciprofloxacine (CIP) et la lévofloxacine (LEV) ont montré une sensibilité intermédiaire avec respectivement 50 % et 62,5 % de souches sensibles (Figure 33).

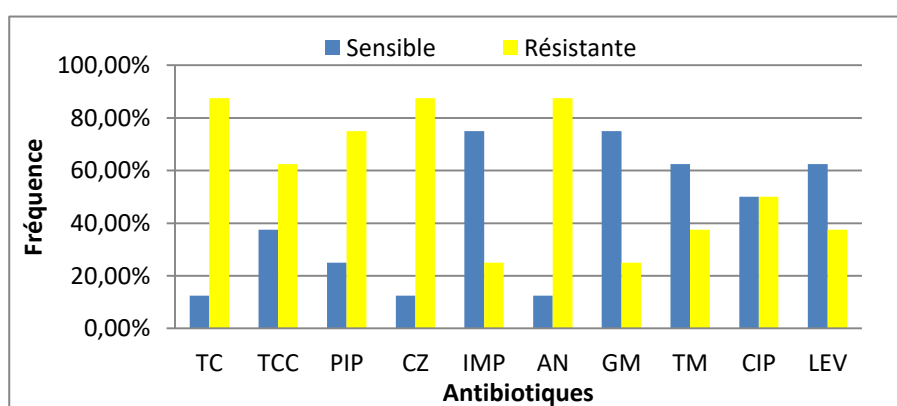


Figure 33. Antibiorésistance chez *Pseudomonas aeruginosa*.

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie opportuniste notoire, fréquemment impliquée dans les infections nosocomiales graves, notamment chez les patients immunodéprimés ou hospitalisés en unités de soins intensifs. Elle se distingue par sa remarquable capacité à développer des mécanismes de résistance intrinsèques et acquis, rendant son traitement particulièrement complexe (Lister et al., 2022).

Dans notre étude, la majorité des souches de *P. aeruginosa* présentaient un profil de multirésistance, en particulier vis-à-vis des β -lactamines classiques telles que la ticarcilline, la pipéracilline et la ceftazidime. Ce profil concorde avec les observations rapportées dans la littérature, qui soulignent la capacité de cette espèce à activer plusieurs mécanismes de résistance,

notamment la production de β -lactamases (AmpC ou carbapénémases), la perte de porines comme OprD, et l'activation des pompes d'efflux telles que MexAB-OprM (Poole, 2011 ; Lister et al., 2022).

La résistance élevée à l'amikacine (87,5 %) observée dans notre série est particulièrement préoccupante, d'autant plus que cet antibiotique est couramment utilisé en association dans la prise en charge des infections sévères. En revanche, une sensibilité partielle à la lévofloxacine (62,5 %) et à la ciprofloxacine (50 %) pourrait encore permettre leur utilisation dans certaines situations cliniques, à condition d'une surveillance microbiologique rigoureuse.

La faible sensibilité à l'imipénème (25 %) reflète une perte progressive de l'efficacité des carbapénèmes, un phénomène largement documenté dans les milieux hospitaliers et souvent lié à l'émergence de carbapénémases de type VIM, IMP ou NDM (Meletis, 2016 ; Tacconelli et al., 2023).

Ces résultats soulignent la nécessité de renforcer les mesures de prévention de la transmission croisée, d'améliorer la gestion de l'antibiothérapie empirique et de promouvoir une surveillance microbiologique continue pour limiter la dissémination de souches de *P. aeruginosa* multi-résistantes.

❖ Répartition des souches SARM selon l'espèce et le type de prélèvement

Dans cette étude, 15 souches de *Staphylococcus aureus* ont été isolées, dont 3 étaient résistantes à la méthicilline (SARM), représentant une prévalence de 20 %. Plus précisément, une souche SARM a été retrouvée dans un prélèvement urinaire et une autre sur un cathéter, ce qui confirme la capacité de *S. aureus* à coloniser divers sites et à provoquer des infections nosocomiales variées (Tableau VI).

Les infections urinaires à SARM, bien que moins fréquentes que celles à bacilles Gram négatif, restent cliniquement significatives, surtout chez les patients sondés (David et Daum, 2017). La présence sur cathéter reflète un risque élevé de bactériémie associée aux dispositifs intravasculaires, nécessitant des mesures strictes de prévention (Kourtis et al., 2019).

Tableau VI. Répartition des souches des souches SARM selon l'espèce et le type de prélèvement.

Espèce	Nombre total	Nombre de SARM	Types de prélèvements (n)
<i>Staphylococcus aureus</i>	15	3 (20 %)	Urine (2), Cathéter (1)
<i>Staphylococcus coagulase négatifs</i>	16	5 (31,25 %)	Urine (1), Pus (3), Cathéter (1)

Parmi les 16 souches de *Staphylococcus coagulase négatif* (SCN) isolées, 5 étaient SARM, soit 31,25 %. Leur répartition par type de prélèvement était la suivante : une souche urinaire, trois souches à partir de pus, et une souche sur cathéter. Les SCN sont des pathogènes opportunistes fréquemment impliqués dans les infections de plaies, d'abcès et de dispositifs médicaux. Leur multirésistance, notamment aux bêta-lactamines, complique la prise en charge thérapeutique et impose souvent l'utilisation de molécules de réserve comme la vancomycine (Becker et al., 2014 ; Otto, 2013).

La détection des SARM dans les prélèvements de pus, en particulier, indique un risque accru d'infections cutanées et des tissus mous difficiles à traiter, souvent prolongées et nécessitant une prise en charge adaptée. De même, la présence de SARM dans les prélèvements urinaires et de cathéters met en évidence l'importance d'une hygiène rigoureuse et d'une surveillance continue pour prévenir la dissémination nosocomiale.

Ces résultats traduisent la pression antibiotique exercée en milieu hospitalier, favorisant la sélection de souches résistantes et limitant ainsi les options thérapeutiques. Ils sont en accord avec les rapports récents de l'OMS (2023), qui considèrent le SARM parmi les priorités majeures de santé publique mondiale, nécessitant des stratégies robustes d'antibiogouvernance et de prévention des infections.

❖ Résultats de tests complémentaires Test de synergie (BLSE)

L'image de synergie « Bouchon de champagne », résultant d'une interaction positive entre les deux antibiotiques (CTX-AMC), a été observée chez deux souches d'*E. coli*, comme l'illustre la (Figure34).

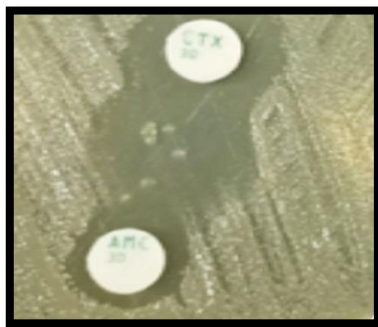


Figure 34. Image de synergie (BLSE) observée chez *E.coli*.

Nos résultats s'alignent avec ceux du **Rapport public annuel (2019)**, qui indique qu'au sein des souches d'entérobactéries testées, 15,33 % étaient des productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE). Parmi les entérobactéries, *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* sont les deux espèces les plus fréquemment porteuses de ce mécanisme de résistance (**Jacoby et Munoz-Price, 2005**).

Dans notre étude, parmi les 12 souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées, 2 étaient BLSE (16,7 %). Plus précisément, l'une de ces souches provenait d'un prélèvement de pus et l'autre d'un prélèvement de cathéter (**Tableau VII**). Ces souches expriment des bêta-lactamases à spectre étendu conférant une résistance aux céphalosporines de troisième génération, limitant ainsi les options thérapeutiques disponibles. De plus, une souche non classée BLSE présentait un profil multirésistant, ce qui représente un danger accru, en particulier en contexte hospitalier où la transmission croisée peut être facilitée (**Pitout et al., 2015**).

Concernant *Escherichia coli*, sur les 26 souches isolées, 3 étaient BLSE (11,5 %), toutes issues de prélèvements urinaires. Bien que ce taux soit inférieur à celui observé pour *K. pneumoniae*, la présence de BLSE chez *E. coli* reste préoccupante car elle compromet le traitement empirique classique des infections urinaires nosocomiales (**Tacconelli et al., 2018**).

Tableau VII. Répartition des souches bactériennes isolées et leur profil de résistance.

Espèce bactérienne	Nombre total de souches	BLSE	Types de prélèvements (n)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	12	2 BLSE	Pus (1), Cathéter (1)
<i>Escherichia coli</i>	26	3 BLSE	Urine (3)

Ces résultats traduisent une pression antibiotique significative au sein de l'établissement, favorisant la sélection de souches résistantes, notamment aux bêta-lactamines. La détection de BLSE, aussi bien dans les prélèvements urinaires que sur les dispositifs médicaux comme les cathéters, confirme la nécessité de renforcer les mesures de prévention des infections nosocomiales, d'optimiser l'utilisation des antibiotiques (antibiogouvernance) et de mettre en place un système de surveillance efficace des résistances bactériennes.

Nos observations sont en accord avec les rapports récents de **l'OMS (2023)**, qui classent les BLSE parmi les menaces les plus sérieuses en matière de santé publique mondiale, nécessitant une action urgente en termes de contrôle et de prévention.

Conclusion

Les infections nosocomiales représentent un enjeu majeur de santé publique, en particulier dans les milieux hospitaliers où les patients sont souvent immunodéprimés et exposés à des actes invasifs. À l'instar des infections du site opératoire, les infections associées aux dispositifs médicaux comme les cathéters et les sondes double J ou les interventions diagnostiques constituent des voies d'entrée privilégiées pour des agents pathogènes opportunistes. Ce travail s'inscrit dans cette problématique en étudiant la prévalence, les caractéristiques épidémiologiques et les profils bactériens des infections nosocomiales sur une période de trois mois à l'EHS TOT Blida.

Nous avons mené une étude descriptive et prospective sur un total de 208 prélèvements cliniques, comprenant des liquides biologiques (urines, du pus, des hémocultures), des dispositifs médicaux (cathéters et des sondes double J), collectés dans les services de néphrologie, urologie et hémodialyse. Les méthodes utilisées comprenaient des techniques classiques (culture, identification biochimique par galerie API) et automatisées (système VITEK®2), accompagnées d'antibiogrammes pour déterminer la sensibilité des souches isolées.

L'hémoculture, bien que minoritaire dans nos prélèvements, a joué un rôle essentiel dans la détection des bactériémies. Grâce au système automatisé BactAlert, nous avons pu identifier précocement les germes responsables, ce qui a permis une orientation rapide et adaptée de l'antibiothérapie.

Parmi les échantillons analysés, 59,13 % se sont révélés positifs. Les infections urinaires dominaient (51 %), suivies des infections liées aux dispositifs (20 %), des hémocultures (21 %) et du pus (8 %). Les pathogènes les plus fréquents étaient *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* (avec 50 % de SARM) et *Enterococcus spp.* Ces résultats confirment la prédominance de la flore hospitalière et endogène dans ces infections.

Le profil de résistance observé montre une efficacité réduite des pénicillines, des céphalosporines de 3^e génération et du cotrimoxazole, contrastant avec une bonne activité de l'imipénème, de la colistine et de l'amikacine. Ces données renforcent l'importance du recours à l'antibiogramme pour guider le traitement.

Nos résultats soulignent l'impact important des dispositifs médicaux comme les cathéters et sondes JJ dans la genèse des infections nosocomiales, et montrent la pertinence des méthodes utilisées pour en assurer une détection fiable.

Pour renforcer la lutte contre les infections nosocomiales à l'EHS TOT de Blida, il serait pertinent d'envisager la mise en place de mesures ciblées, notamment un système de surveillance et stérilisation adapté aux services les plus exposés, comme la néphrologie, l'urologie ou l'hémodialyse.

Références bibliographiques

A

- **Abraham, D. (2018).** Identification des souches d'Escherichia coli dans les selles en rapport avec la malnutrition a DIORO .Thèse de doctorat en Pharmacie .Université de Bamako, 5P.
- **Arias, C. A., & Murray, B. E. (2012).** The rise of the Enterococcus : Beyond vancomycin resistance. Nature Reviews Microbiology, 10(4), 266–278.
<https://doi.org/10.1038/nrmicro2761>
- **Arnold, A., Dupont, B., & Martin, C. (2022).** Impact of catheter-associated infections in ICU patients. Journal of Hospital Infection, 120(3), 145–152.
<https://doi.org/10.1016/j.jhin.2022.01.015>
- **Aymen Mekki, 2007,** « Septicémie et choc septique », université libanaise (Maîtrise en sciences de Laboratoire)

B

- **Bassetti, M., Righi, E., Canelutti, A., Graziano, E., & Russo, A. (2020).** Role of rapid molecular diagnostics in managing hospital-acquired infections. Clinical Microbiology and Infection, 26(6), 713–720.
- **Belil, A., Mazouzi, K., Benkousas, A., 2020.** Contribution à l'étude des infections nosocomiales dans l'environnement hospitalier. 81.
- **Benmahdi, S., Chikhi, I., & Ladjama, A. (2020).** Résistance bactérienne aux antibiotiques dans les hôpitaux algériens : état des lieux. Revue Algérienne de Médecine, 34(1), 45–52.
- **Benzekkour, Nawel Sahraoui Amel, 2018,** « Les Infections Urinaires Nosocomiales Chez Les Malades Hospitalisés A L'hôpital De Medea », Université De Medea Faculté Des Sciences.
- **Berrazeg, M., Diene, S.M., Drissi, M., Kempf, M., Richet, H., Landraud, L., and Rolain, J.L. (2013).** Biotyping of multidrug-resistant Klebsiella pneumoniae clinical isolates from France and Algeria using MALDI-TOF MS. PLoS.One. 8 :e61428.
- **bioMérieux. (2020).** API Identification Products – Technical Manual. Marcy-l'Étoile, France.
- **bioMérieux. (2022).** API 20^E User Manual – Identification of Enterobacteriaceae and Other Gram-negative Rods. Marcy-l'Étoile, France.
- **bioMérieux. (2023).** VITEK® 2 Systems : User Manual. bioMérieux.
- **Blake, P. (2022).** Managing infection in patients with urological devices : A microbiological perspective. Urology and Infection, 38(5), 401–412.

- **Bouvier-Slekovec, C., Hocquet, D., Bertrand, X. 2022.** Infections nosocomiales. EMC-Maladies infectieuses, 39, 1-12
- **Becker, K., Heilmann, C., & Peters, G. (2014).** Coagulase-negative staphylococci. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(4), 870–926. <https://doi.org/10.1128/CMR.00109-13>
- **Brady MF, Jamal Z, Pervin N.** Acinetobacter. [Updated 2023 Aug 8]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430784/>

C

- **Cassir, N., Thomas, G., & Fournier, P. E. (2019).** Les infections nosocomiales : définitions, facteurs de risque et enjeux. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 49(3), 167–172.
- **Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2023).** Diagnostic Tools for Healthcare-associated Infections (HAIs).
- **Cetinkaya, Y., Falk, P., & Mayhall, C. G. (2000).** Vancomycin-resistant enterococci. *Clinical Microbiology Reviews*, 13(4), 686–707. <https://doi.org/10.1128/CMR.13.4.686-707.2000>
- **Chandrashekar, K. D., Lekshmi, M., Girisha, S. K., Nayak, B. B., & Kumar, S. H. (2025).** Quinolone and colistin resistance genes in extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* of diverse phylogenetic groups isolated from seafood in Mumbai, India. *Applied Microbiology*, 5(1), Article 3. <https://doi.org/10.3390/applmicrobiol5010003>
- **Charline D.,** Docteur en pharmacie « Infections nosocomiales.» Inserm Consulté le 14 juin 2018. – Infections nosocomiales : questions réponses. Ministère des Solidarités et de la Santé. Consulté le 14 juin 2018. »**Santé sur le Net, l'information médicale au cœur de votre santé. « Infections nosocomiales : définition, traitement et prévention ».** Consulté le 03 juin 2025. <https://www.sante-sur-le-net.com/maladies/maladies-infectieuses/infections-nosocomiales/>
- **Choukri N. (2019).** Infection du site opératoire en chirurgie digestive. Thèse pour l'obtention du diplôme docteur en médecine. Université Mohamed V de Rabat. Maroc. 99P.Cytobactériologie des Urines (E.C.B.U) ». Institut Pasteur d'Algérie Techniques
- **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2024).** Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 34^e éd., CLSI supplement M100. Wayne, PA : CLSI.

- **CLSI. (2023).** Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. M100, 33^e édition.
- **Croxatto, A., Prod'homme, G., & Greub, G. (2012).** Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology. *FEMS Microbiology Reviews*, 36(2), 380–407.

D

- **D'Andrea, M. M., Arena, F., Pallecchi, L., & Rossolini, G. M. (2019).** CTX-M-type β -lactamases : a successful story of antibiotic resistance. *International Journal of Medical Microbiology*, 309(6), 151–158.
- **David, M. Z., & Daum, R. S. (2017).** Treatment of *Staphylococcus aureus* infections. UpToDate. Retrieved from <https://www.uptodate.com>
- **De Rosa, F. G., D'Avolio, A., Bargiacchi, O., & Di Perri, G. (2022).** Infectious complications in nephrology : risks and preventive strategies. *Journal of Nephrology*, 35(1), 5–15. <https://doi.org/10.1007/s40620-021-01154-w>
- **Delarras C. (2014).** Pratique en microbiologie de laboratoire : recherche de bactéries et de levures-moisissures. Lavoisier, Paris. 772P.
- **Djennane, F., Mohammedi, D., Tiouit, D., et Rahal, K., 2009.** « Livre de l'examen
- **Duchemin, Dorothée.** « Hémoculture : quand, protocole, résultat, normes », 21 janvier 2022. <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-anatomie-et-examens/2774965-hemoculture-def-positive-aerobie-anaerobie-protocole-prelevement-technique-examen/>.

E

- **EUCAST. (2023).** Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters (Version 13.0).
- **EUCAST. (2024).** Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters (Version 14.0).
- **European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). (2023).** Healthcare-associated infections : point prevalence survey in European acute care hospitals 2022–2023.

F

- **Fadel, H., & Taha, A. (2020).** Identification and antimicrobial resistance of uropathogens isolated from catheterized patients. *African Journal of Microbiology Research*, 14(8), 345–352.
- **Fadel, M., & Taha, S. (2020).** Biochemical identification methods in clinical microbiology. *Journal of Medical Microbiology Research*, 8(2), 105–112.
- Ferrari, Justine. « ECBU : à jeun, résultat, comment recueillir les urines ? », 27 janvier 2023. <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-anatomie-et-examens/2547944-ecbu-definition-technique-protocole-indications-analyse-urine/>
- **Farsi, I., Merad, Z., 2021.** Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries nosocomiales à l'hôpital Mohamed Boudiaf à Ouargla. 93.

- **Frank's Hospital Workshop.** (n.d.). VITEK® 2 Instrument User Manual.
- **Frigui S, Bourbiaa Y, Mokline A, Naija H, Messadi AA, Thabet L.** Bactériémies Nosocomiales: Épidémiologie Clinique Et Bactériologique Chez Les Brûlés. *Ann Burns Fire Disasters*. 2021 Mar 31;34(1):10-17. French. PMID: 34054382; PMCID: PMC8126372.
- **Fulop, T., Larbi, A., Dupuis, G., Le Page, A., Frost, E. H., Cohen, A. A., ... & Franceschi, C. (2018).** Immunosenescence and inflamm-aging as two sides of the same coin : friends or foes ? *Frontiers in Immunology*, 8, 1960.

G

- **Gao, P. (2021).** Antibiotic resistance patterns in patients with Double-J stents: implications for treatment. *Journal of Antimicrobial Therapy*, 50(2), 188–195.
- **García-Botello, S. A., Guerrero-Gutiérrez, M. A., Gutiérrez-González, L. H., & García-Méndez, J. (2022).** Catheter-associated urinary tract infections in critically ill patients : Incidence, risk factors, and microbiological profile. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(16), Article 10167. <https://doi.org/10.3390/ijerph191610167>
- **Gavriliță, G.-D., Ungureanu, Ș., Dăescu, E., Gavriliță, M.-N., Țîncu, C.-C., & Enache, A. (2024).** Nosocomial bacterial bronchopneumonia and SARS-CoV-2 pneumonia in patients with traumatic injuries: Imaging aspects and macroscopic and microscopic findings of lung tissue. *Diagnostics*, 14(23), Article 2737. <https://doi.org/10.3390/diagnostics14232737>
- **Ghali Khadîdja & Mostefai Nesrine , 2018/2019 ,** « Isolement, identification et étude de la résistance des souches de Staphylococcus aureus isolés dans différents service de Lakhdaria » ,UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA faculté des sciences de la nature et de vie et des sciences de la terre département de biologie . 04-07-17 pp.
- **Gonthier r.** Infection urinaire du sujet âgé. *Rev. Gériatrie* 2000; 25 :p95-103.
- **Goro, K. (2021).** Résistances bactériennes en Afrique du Nord. *Journal Africain de Microbiologie*, 14(2), 21–30.
- **Granato Paul A., Morton V., Morello Josephine A. (2019).** Laboratory manual and workbook in microbiology: Application to patient care. 12ème edition. McGraw-Hill. United States of America. 321P

H

- **Hassan, M. O., Said, S. M., Elsharkawy, R. M., & Ahmed, M. M. (2021).** Infections in hemodialysis patients : risk factors and outcome. *International Urology and Nephrology*, 53(2), 313–320. <https://doi.org/10.1007/s11255-020-02671-y>

- **Hollenbeck, B. L., & Rice, L. B. (2012).** Intrinsic and acquired resistance mechanisms in *Enterococcus*. *Virulence*, 3(5), 421–433. <https://doi.org/10.4161/viru.21282>

J

- **Jacoby, G. A. (2009).** AmpC β -lactamases. *Clinical Microbiology Reviews*, 22(1), 161–182. <https://doi.org/10.1128/CMR.00036-08>
- **Jacoby, G. A., & Munoz-Price, L. S. (2005).** The new beta-lactamases. *New England Journal of Medicine*, 352(4), 380–391. <https://doi.org/10.1056/NEJMra041359>
- **JAN,V.**Bactériologie(enligne).p54.disponiblesur«<https://www.kuleuven.be/vesaliusonline/UNI%20KONGO.doc> » [consulté le 12/03/2025].
- **John V. Ashurst; Adam Dawson.** Pneumonie à *Klebsiella* : 20 juillet 2023 StatPearls

K

- **Kashef, N., Djavid, G. E., & Shahbazi, S. (2010).** Antimicrobial susceptibility patterns of community-acquired uropathogenic *Escherichia coli* isolates in Iran. *Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation*, 21(4), 632–637.
- **Kelaiaia, H et Zoufoul, A (2014).** « Isolement des bactéries responsables de l'infection nosocomiales à partir d'un milieu hospitalier ». Mémoire de master. Université de Guelma, p11.
- **Kothari, A., & Sagar, V. (2008).** Antibiotic resistance in pathogens causing community-acquired urinary tract infections in India: A multicenter study. *Journal of Infection in Developing Countries*, 2(5), 354–358.
- **Kourtis, A. P., Hatfield, K. M., Baggs, J., Mu, Y., See, I., Epson, E., ... & Jernigan, J. A. (2019).** Vital signs : epidemiology and recent trends in health care–associated infections in US hospitals. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, 68(9), 214–219. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6809e1>

L

- **Labster. (2024).** Biochemical Identification of Bacteria.
- **Lee E, Anjum F.** *Staphylococcus epidermidis* Infection. [Mis à jour le 27 avril 2023]. Dans : StatPearls [En ligne]. L'île au trésor (Floride) : StatPearls Publishing ; 2025 Jan-. Disponible à partir de : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK563240/>
- **Lehmann, M. (2020).** Microbiological diagnosis of urinary tract infections in patients with Double-J stents. *International Journal of Microbiology*, 10(4), 211–217.
- **Lejeune. B., 2003.** « Les infections urinaires nosocomiales de l'adulte ». *Médecine et maladies infectieuses*. (33) : 431–437pp.
- **Ludovic Fournel, avril – juin 2017,** «Les infections du site opératoire».

M

- **Magill, S. S., O’Leary, E., Janelle, S. J., Dumyati, G., & Kainer, M. A. (2023).** Changes in the prevalence of healthcare-associated infections in U.S. hospitals. *New England Journal of Medicine*, 388(6), 556–566. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2200433>
- **Magill, S. S., O’Leary, E., Janelle, S. J., Thompson, D. L., Dumyati, G., Nadle, J., ... & Fridkin, S. K. (2018).** Changes in prevalence of health care–associated infections in U.S. hospitals. *New England Journal of Medicine*, 379(18), 1732–1744.
- **Magiorakos, A. P. (2012).** Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria : an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(3), 268–281.
- **Meftah, N., Triki, M., Hdidane, Y., Cherif, H., Yangui, F., Masmoudi, M., & Charfi, R. (2020).** Particularités de l’infection nosocomiale dans un service de pneumologie. *Revue Des Maladies Respiratoires Actualités*, 12(1), 243–244. doi:10.1016/j.rmra.2019.11.544
- **Miller, J. M., Binnicker, M. J., Campbell, S., Carroll, K. C., Chapin, K. C., Gilligan, P. H., ... & Patel, R. (2020).** A Guide to Specimen Management in Clinical Microbiology (3^e éd.). ASM Press.
- **Mokrani, M., Hacène, A., & Djelouadji, Z. (2020).** Épidémiologie des infections nosocomiales dans les services de néphrologie : étude multicentrique en Algérie. *Revue d’Épidémiologie et de Santé Publique*, 68(3), 179–185.
- **Meziane, M., 2020.** Analyse moléculaire et étude de la résistance aux antibiotiques des souches d’*Escherichia coli* productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées au CHU de Constantine 153.
- **Mosaffa, Fatemeh, Fereshteh Saffari, Mahin Veisi, et Omid Tadjrobehkar.** « Some virulence genes are associated with antibiotic susceptibility in *Enterobacter cloacae* complex ». *BMC Infectious Diseases* 24 (19 juillet 2024): 711. <https://doi.org/10.1186/s12879-024-09608-2>.
- **Matthew Mueller 1, Christopher R.2023.** PMID: 33231968 Bookshelf ID: NBK564298

N

- **Naas, T., Dortet, L., & Iorga, B. I. (2018).** Structural and functional aspects of class A carbapenemases. *Current Drug Targets*, 19(9), 973–982.
- **Nicolle, L. E., Gupta, K., Bradley, S. F., Colgan, R., DeMuri, G. P., & Drekonja, D. (2022).** Clinical practice guideline for the management of asymptomatic bacteriuria : 2022 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*, 74(8), 1361–1367. <https://doi.org/10.1093/cid/ciac173>

O

- **O’Hara, C. M., Brenner, F. W., & Miller, J. M. (2000).** Classification, identification, and clinical significance of *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella*. *Clinical Microbiology Reviews*, 13(4), 534–546. <https://doi.org/10.1128/CMR.13.4.534-546.2000>

- **Oliveira J, Reygaert WC.** Bactéries à Gram négatif. [Mis à jour le 8 août 2023]. Dans : StatPearls [En ligne]. L'île au trésor (Floride) : StatPearls Publishing ; 2025 Jan-. Disponible à partir du : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538213/>
- **Organisation mondiale de la Santé. (2022).** Rapport mondial sur la prévention et le contrôle des infections dans le domaine des soins de santé. <https://www.who.int/fr/publications/i/item/9789240051164>
- **Otto, M. (2013).** Coagulase-negative staphylococci as reservoirs of genes facilitating MRSA infection : Staphylococcus epidermidis and MRSA. Bioessays, 35(1), 4–11. <https://doi.org/10.1002/bies.201200112>
- **Ouamrouche .R,Bekki.N et Dib.A , 2019,** « Infections urinaires.»

P

- **Pitout, J. D. D., Nordmann, P., & Poirel, L. (2015).** Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*, a key pathogen set for global nosocomial dominance. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 59(10), 5873–5884. <https://doi.org/10.1128/AAC.01019-15>
- **Poirel, L., & Nordmann, P. (2017).** Emerging plasmid-encoded antibiotic resistance genes in Gram-negative bacteria. Trends in Microbiology, 25(5), 331–340.
- **Portillo, M. E., Salvà, A., & Soriano, A. (2000).** Evaluation of different methods for detecting biofilm formation in clinical staphylococcal isolates. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 19(10), 767–773. <https://doi.org/10.1007/s100960000372>

R

- **Rapport public annuel. (2019).** La politique des préventions associées aux soins Cour des comptes - www.ccomptes.fr - @Courdescomptes
- **Rowe, T. A., & Juthani-Mehta, M. (2021).** Urinary tract infection in older adults. Aging Health, 17(1), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jamda.2020.12.020>
- **Rutala, W. A., & Weber, D. J. (2016).** Disinfection and sterilization in health care facilities : an overview and current issues. Infectious Disease Clinics, 30(3), 609–637.

S

- **Saint, S., Greene, M. T., Krein, S. L., & Kowalski, C. P. (2019).** Preventing hospital-acquired urinary tract infection in the United States : a national comparative study. JAMA Internal Medicine, 179(9), 1180–1187. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2019.1503>
- **Sanjay Sethi (2019).** «Pneumonie nosocomiale ». Le manuel MSD version pour le grand public. URL:<https://www.msdmanuals.com/fr/professional/troubles-pulmonaires/pneumonie/pneumonie-nosocomiale> consulté le 14/03/2025.

- **Sanoussi S , Gamatie Y , Ikelan A , Sbai C , Abarchi H , Bazira L , 2001 , « Malformation du tube neural au Niger », médecine d'Afrique noire , p510 .**

T

- **Tacconelli, E., Carrara, E., Savoldi, A., Harbarth, S., Mendelson, M., Monnet, D. L., ... & Magrini, N. (2018).** Discovery, research, and development of new antibiotics : the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *The Lancet Infectious Diseases*, 18(3), 318–327. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30753-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30753-3)
- **Takilt Nadia, Taleb Kahina, 2014, «PROFIL EPIDEMIOLOGIQUE DES INFECTIONS URINAIRES AVEC ETUDE DE RESISTANCE DES BACTERIES MULTIRESISTANTES AU CHU Nedir Mohammed », TIZI-OUZOU.**
- **Taylor TA, Unakal CG.** Infection à *Staphylococcus aureus*. [Mis à jour le 17 juillet 2023]. Dans : StatPearls [En ligne]. L'île au trésor (Floride) : StatPearls Publishing ; 2025 Jan-. Disponible à partir du : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441868/>
- **Tian, Xiaolang, Changwu Huang, Xiaoli Ye, Hongyan Jiang, Rufang Zhang, Xiaofang Hu, et Dongshuang Xu.** « Carbapenem-Resistant *Enterobacter cloacae* Causing Nosocomial Infections in Southwestern China: Molecular Epidemiology, Risk Factors, and Predictors of Mortality ». *Infection and Drug Resistance* 13 (10 janvier 2020): 129-37. <https://doi.org/10.2147/IDR.S234678>.
- **Traoré, O. (2019).** Mécanismes de résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries. *Revue Africaine de Biologie*, 23(1), 17–25.
- **Tzouvelekis, L. S., Markogiannakis, A., Psychogiou, M., Tassios, P. T., & Daikos, G. L. (2012).** Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* and other Enterobacteriaceae : An evolving crisis of global dimensions. *Clinical Microbiology Reviews*, 25(4), 682–707. <https://doi.org/10.1128/CMR.05035-11>

V

- **Van Boeckel, T. P., Gandra, S., Ashok, A., Caudron, Q., Grenfell, B. T., Levin, S. A., & Laxminarayan, R. (2015).** Global antibiotic consumption 2000 to 2010 : an analysis of national pharmaceutical sales data. *The Lancet Infectious Diseases*, 14(8), 742–750.

W

- **Weinberger, D. M., Malley, R., & Lipsitch, M. (2020).** Serotype replacement in disease after pneumococcal vaccination. *The Lancet*, 378(9807), 1962–1973.
- **Weiner-Lasting, L. M., Abner, S., Edwards, J. R., Kallen, A. J., Karlsson, M., Magill, S. S., & Dudeck, M. A. (2020).** Antimicrobial-resistant pathogens associated with adult healthcare-associated infections : summary of data reported to the National Healthcare Safety Network, 2015–2017. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 41(1), 1–18. <https://doi.org/10.1017/ice.2019.296>

- **Wilson MG, Pandey S.** *Pseudomonas aeruginosa*. [Mis à jour le 8 août 2023]. Dans : StatPearls [En ligne]. L'île au trésor (Floride) : StatPearls Publishing ; 2025 Jan-. Disponible à partir du : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557831/>
- **Winn, W. C., Allen, S. D., Janda, W. M., Koneman, E. W., Procop, G. W., Schreckenberger, P. C., & Woods, G. L. (2017).** *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology* (7^e éd.). Lippincott Williams & Wilkins.
- **Woerther, P. L., Burdet, C., Chachaty, E., & Andremon, A. (2013).** Trends in human fecal carriage of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in the community : toward the globalization of CTX-M. *Clinical Microbiology Reviews*, 26(4), 744–758.
- **World Health Organization. (2023).** Antibacterial agents in clinical development : an analysis of the antibacterial clinical development pipeline. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240070896>
- **World Health Organization. (2023).** Global report on infection prevention and control. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240072074>

Z

- **Ziegler, M. J., Pellegrini, D. C., & Safdar, N. (2021).** Attributable mortality of central line associated bloodstream infection : Systematic review and meta-analysis. *Infection*, 49(4), 675–684. <https://doi.org/10.1007/s15010-021-01581-2>

ANNEXE

Annexe 1

1. Matériel non biologique utilisés

Tableau .Matériel non biologique utilisés.

Matérielle et appareillage de travail	Milieux de culture	Les réactifs et les colorons
• Deux étuves l'une de grande taille et l'autre de taille moyenne réglée à 37C° • Réfrigérateur à 4 C° ; • Deux microscopes • Les lames et lamelles • Portoir • Pipette Pasteur • Micropipette • Pince métallique • Tubes à essai stériles • becs de bunsen avec des conduits de gaz • Anse calibrée • Boîtes pétries • Becher • Lavabo • Les antibiotiques • Api 20 E • Api 10S • Disques d'antibiotiques • Pied à coulisse • Agitateur "vortex" • Densitomètre • VITEK • HEMOCULTURE	• Gelose nutritive • Gelose au sang • Mueller-Hinton • Gelose hektoen • Gelose chapman • Gelose chromagar • Gelose macconkey • Bouillon cœur cervelle (BHIB) • Flacon d'hémoculture (aero-anaérobie)	• L'alcool • Violet de Gentiane • Lugol • Fuchsine • Huile de cèdre • Réactifs de Kovacs • Bleu de méthylène • Huile à immersion • Huile de vaseline • Voges-Proskauer (VP1) • Voges-Proskauer (VP2) • Tryptophane désaminase (TDA) • L'eau oxygénée • L'eau physiologique • L'eau distillée

2. Composition des milieux de cultures

❖ Gélose nutritive

Composition	Caractéristiques
-Peptone 10 g/l -Extrait de viande 3 g/l -Extrait de levure 3 g/l -Chlorure de sodium 5 g/l ▪ Agar 18 g/l ▪ 29g par litre d'eau distillée ▪ Autoclaver 15 min à 121 °C ▪ PH = 7,3 +/- 0,2	La gélose nutritive est un milieu général qui permet la croissance de nombreux organismes non fibreux. Elle est souvent utilisée car elle favorise le développement de différentes bactéries et champignons, grâce aux nutriments qu'elle contient.

❖ Gélose Chapman MSA (milieu complexe gélosé, à la fois sélectif et différent)

Composition	Caractéristiques
-Extrait de viande 3 g/l -Extrait de levure 3 g/l -Tryptone 5g/l -Peptone bactériologique 10g/l -Chlorure de sodium 70 g/l -Mannitol 10 g/l -Rouge de phénol 0,05 g/l -Agar 18 g/l Autoclaver 15 min à 121°C pH = 7,4 +/- 0,1	Utilisé pour isoler les Staphylocoques pathogènes, qui produisent des colonies jaunes en fermentant le mannitol, provoquant un virage du rouge de phénol. Sa forte teneur en chlorure de sodium empêche la croissance de la plupart des autres espèces.

❖ Gélose Hektoen

Composition	Caractéristiques
Peptone pepsique de viande (15 g/l) Extrait de viande (3 g/l) Extrait de levure (3 g/l) Lactose (12g/l) Salicine (2 g/l) Saccharose (12 g/l) Chlorure de sodium (5 g/l) Sels biliaires (4g/l) Bleu de Bromothymol (0,064 g/l) Fuchsine acide (0,1 g/l) Agar (18g/l) Eau distillé (1000 ml) Autoclaver 15 min à 121°C pH = 7,4 +/- 0,2 Refroidit aux environ de 45°C, 5 ml de l'additif Hektoen sont rajoutés au 225 ml de la gélose Hektoen.	Milieu sélectif et différentiel pour les bactéries entéro-pathogènes, en particulier Salmonella et Shigella. Sa composition permet de différencier les colonies selon leur capacité à fermenter rapidement l'un des trois sucres et/ou à produire de l'H ₂ S, visible par un centre noir.

❖ Gélose au sang

Composition	Caractéristiques
-Peptone 15,0 g -extrait de viande. 3,0 g -extrait de levure 3,0 g -lactose 15,0 g -désoxycholate de sodium 1,0 g -cristal violet 0,005 g -bleu de bromothymol ,080 g - thiosulfate de sodium. 1,0 g -agar-agar 11,0 g	Ce milieu enrichi de sang est un milieu qui permet l'isolement des bactéries exigeantes sans interférer avec leurs réactions d'hémolyse.

❖ Gélose Muller-Hinton

Photo	Composition	Caractéristiques
	– Infusion de viande de bœuf (300 ml) – Peptone de caséine (17,5 g/l) – Amidon de maïs (1,5 g/l) – Agar (10 g/l) -37 g par litre de l'eau distillé -Autoclaver 15 min à 116°C -pH = 7,4	C'est un milieu de référence utilisé pour tester la sensibilité des germes aux antibiotiques et aux sulfamides.

❖ Bouillon cœur cervelle (BHIB)

Photo	Composition	Caractéristiques
	Peptone de gélatine (16g) -Peptone de caséine (10g) -Cétrimide (0.2g) -Sulfate de potassium (10g) -Chlorure de magnésium (1,4g) -Agar (10g) ▪ pH = 7,1	Est un milieu nutritif tamponné ; à la base d'infusion de tissus de cœur et de cervelle et de peptones ; qui apporte les protéines et les autres nutriments nécessaires à la croissance des microorganismes exigeants.

Annexe 02

➤ Nos Fiches de renseignements

Établissement hospitalier spécialisé de transplantation d'organes de tissus _ Blida_

Service de biologie médicale (Professeur Boudjella Mohamed Lotfi)

Unité de microbiologie

FICHE DE RENSEIGNEMENTS DE DÉPISTAGE DES INFECTIONS NOSOCOMIALES

Nom et Prénom : N° d'ordre :

Age : Médecin :

Sexe :

Hospitalisation : Date d'admission : Motif d'hospitalisation :

Service :

Date de prélèvement : Heure de prélèvement :

Nature de prélèvement :

Les symptômes : date de début des symptômes :

☐ Fièvre ☐ Diarrhée ☐ Douleurs abdominales ☐ Vomissements

Autres :

Traitement avant le prélèvement ☐ Oui ☐ Non

si oui la durée :

Arrêt depuis :

Traitement d'antibiotiques : ATB 1 :

ATB2 :

ATB 3 :

ATB 4 :

Bilan biologique :

☐ VS ☐ CRP ☐ FNS(GB) ☐ HbA1c

☐ Glycémie ☐ Urée ☐ Créatinine ☐ Albumine

1

FEUILLE DE RÉSULTATS DE DES EXAMENS CYTOBACTÉRIOLOGIQUES DE

Examen Direct

Examen à l'état frais :

• Cytologie: GB:

GR:

Cellules épithéliales:

• Autres éléments : Cristaux :

Cylindres :

• Micro-organismes : Parasites :

Levures :

• Frottis colorés :

• Coloration de Gram :

• Coloration de MGG :

• Coloration de bleu de méthylène :

Culture Positive ☐ Négative ☐

Numérotation :UFC /MI (unité format colonies).

Identification

Espèce bactérienne n° 1 :

Espèce bactérienne n° 2 :

Espèce bactérienne n° 3 :

Interprétation et commentaires

.....

.....

.....

2

➤ Fiche de résultats d'antibiogramme

RESULTATS D'ANTIBIOGRAMME

Nom et Prénom : Age : Sexe :

Service : N° d'ordre :

Nature de prélèvement :

Germe isolé :

Commentaire :

Antibiotiques	Siège	Résultats	Concentrations Critiques Mg/L
Beta_lactamines			
Pénicilline	PN		
Oracilline	OX		
Ampicilline	AM		
Amoxicilline	AMX		
Ticarcilline	TIC		
Pipracilline	PIP		
Pipracilline/Tazobactam	PIP/TAZ		
Amoxi-Ac clavulanique	AMC		
Céfazoline/Céfalexine	CZ/CN		
Cefoxime	FOX		
Cefotaxime/Ceftazidime	CTX/CRD		
Imipénème	IPM		
Aztréonam	ATM		
Ertapénem / Méropénem	ERT/M		
Aminosides			
Gentamicine	GM		
Amikacine	AN		
Tobramycine	TM		
Netilmicine	NET		
Streptomycine HN	SHN		
Gentamicine HN	GHN		
Macrolides			
Erythromycine	E		
Clindamycine	CM		
Pristinamycine	PT		

Antibiotiques	Siège	Résultats	Concentrations Critiques Mg/L
Quinolones			
Acide nalidixique	NA		
Ofloxacin	OFX/P		
/Ofloxacin	EF		
Ciprofloxacine	CIP		
Levofloxacine	LEV		
Glycopeptides			
Vancomycine	VA		
Teicoplanine	TEC		

Antibiotiques	Siège	Résultats	Concentrations Critiques Mg/L
Tétracyclines			
Tétracycline	TE		
Colistine	CS		
Cotrimoxazole	SXT		
Furanes	FT		
Acide Fusidique			
Acide Fusidique	FA		
Rifamycine	RA		
Fosfomycine	FOS		
Metronidazole	MTR		

3

Annexe 03

1/ Tableau de lecture de la galerie API 20E

TABLEAU DE LECTURE DE LA GALERIE MINIATURISÉE API 20E						
Microtube	Substrat :	Caractère recherché	Révélateur	Lecture directe ou indirecte Test (si nécessaire)	Résultat -	Résultat +
ONPG	ONPG = Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	Béta galactosidase		Lecture directe		
ADH LDC ODC	Arginine Lysine Ornithine	Arginine Dihydrolase Lysine Décarboxylase Ornithine Décarboxylase	Rouge de phénol	Lecture directe		
CIT	Citrate	Utilisation du citrate	BBT	Lecture directe		
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S	Fe III	Lecture directe		
URÉ	Urée	Uréase	Rouge de Phénol	Lecture directe		
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase		Lecture indirecte		
IND	Tryptophane	Tryptophanase ou production d'indole		Lecture indirecte	 	
VP	Pyruvate de sodium	production d'acétoïne (3-hydroxybutanone)		Lecture indirecte		
GEL	Gélatine	gélatinase	Particules de charbon	Lecture directe		
GLU à ARA = zymogramme	Substrat carboné (glucide)	Utilisation de substrats carbonés (glucides)	BBT	Lecture directe		
NO ₂ ⁻ /N ₂	Nitrates (NO ₃ ⁻)	Nitrate réductase		Lecture indirecte		

2/Tableau de lecture de la galerie API10 s

TABLEAU DE LECTURE					
TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
ONPG	2-nitrophényl-βD-galactopyranoside	0,223	β-galactosidase (Ortho-NitroPhényl-βD-Galactopyranosidase)	incolore	jaune (1)
GLU	D-glucose	1,9	fermentation / oxydation (GLUcose) (3)	bleu / bleu-vert	jaune / jaune-gris
ARA	L-arabinose	1,9	fermentation / oxydation (ARAbinose) (3)	bleu / bleu-vert	jaune
<u>LDC</u>	L-lysine	1,9	Lysine DéCarboxylase	jaune	rouge / orangé
<u>ODC</u>	L-ornithine	1,9	Ornithine DéCarboxylase	jaune	rouge / orangé
<u>[CIT]</u>	trisodium citrate	0,756	utilisation du CITrate	vert pâle / jaune	bleu-vert / bleu (2)
<u>H₂S</u>	sodium thiosulfate	0,075	production d'H ₂ S	incolore / grisâtre	dépôt noir / fin liseré
<u>URE</u>	urée	0,76	UREase	jaune	rouge / orangé
TDA	L-tryptophane	0,38	Tryptophane DésAminase	TDA / immédiat jaune	marron-rougeâtre
IND	L-tryptophane	0,19	production d'INDole	JAMES / immédiat incolore vert pâle / jaune	rose
OX	(voir notice du test oxydase)	-	cytochrome-OXYdase	(voir notice du test oxydase)	
NO ₂	(tube GLU)	-	production de NO ₂	NIT 1 + NIT 2 / 2-5 min jaune	rouge

(1) Une très légère couleur jaune est également positive.
 (2) Lecture dans le cupule (zone aérobie).
 (3) La fermentation commence dans la partie inférieure des tubes, l'oxydation commence dans la cupule.

- Les quantités indiquées peuvent être ajustées en fonction des titres des matières premières.
- Certaines cupules contiennent des composants d'origine animale, notamment des peptones.

Annexe 04

1/Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibitions selon l'EUCAST 2018

✚ Pour les *Entérobactéries* :

Extrait de l'EUCAST 2018 : « Afin de simplifier les tableaux CA-SFM / EUCAST, la catégorie intermédiaire n'est pas listée. Elle est interprétée comme étant la valeur entre les concentrations critiques S et R. Par exemple, pour des concentrations critiques présentées $S \leq 1$ mg/L et $R > 8$ mg/L, la catégorie intermédiaire est 2-8 (techniquement $>1-8$). Pour des diamètres critiques présentés $S \geq 22$ mm et $R < 18$ mm, la catégorie intermédiaire est 18-21 mm ».

<i>Enterobacteriaceae</i>	Charges du disque (µg)	Diamètres critiques (mm)		Concentrations critiques (mg/L)	
		S ≥	R <	S ≤	R >
Ampicilline	10	14	14	8	8
Amoxicilline	20	19	19	8	8
Amoxicilline + Ac. clavu	20	19	19	8	8
Ticarcilline	75	23	20	8	16
Ticarcilline + Ac. clavu	75	23	20	8	16
Céfotaxime	5	20	17	1	2
Ceftazidime	10	22	19	1	4
Ceftriazone	30	25	22	1	2
Ertapénème	10	25	22	0,5	1
Imipénème	10	22	16	2	8
Ciprofloxacine	5	26	24	0,25	0,5
Acide nalidixique	30	19	14	16	16
Norfloxacine	10	22	19	0,5	1
Gentamicine	10	17	14	2	4

✚ Pour *Staphylococcus aureus* :

<i>Staphylococcus spp.</i>	Charges du disque (µg)	Diamètres critiques (mm)		Concentrations critiques (mg/L)	
		S ≥	R <	S ≤	R >
Pénicilline G	1 U	26	26	0,12	0,12
Céfoxitine (Cf. cours)	30	22	22	-	-
Ciprofloxacine	5	24	24	1	1
Norfloxacine	10	17	17	-	-
Gentamicine	10	18	18	1	1
Erythromycine	15	21	18	1	2
Tétracycline	30	22	19	1	2
Chloramphénicol	30	18	18	8	8
Rifampicine	5	26	23	0,06	0,5

✚ *Enterococcus* sp

<i>Enterococcus spp.</i>	Charges du disque (µg)	Diamètres critiques (mm)		Concentrations critiques (mg/L)	
		S ≥	R <	S ≤	R >
Ampicilline	2	10	8	4	8
Imipénème	10	21	18	4	8
Norfloxacine (voir cours)	10	12	12	Recherche résistance aux fluoroquinolones Détection de résistance à haut niveau (Cf. cours)	
Gentamicine	30	8	8		
Streptomycine	300	Détection de résistance à haut niveau (Cf. Eucast p 68)			
Vancomycine (voir cours)	5	12	12	4	4
Erythromycine	15	23	14	0,5	4
Tétracycline	15	18	15	0,25	0,5
Chloramphénicol	30	18	13	8	16

2/ Résultat d'identification et antibiogramme avec l'automate Vitek

Type de carte : AST-N365 Code barres : 8151615503702158 Instrument de test : 000015F26783 (11801)
Technicien : Laboratory Administrator(Labadmin)

Numération : Germe sélectionné : Escherichia coli

Commentaires :

Informations sur l'identification	
Origine du germe	Technicien
Germe sélectionné	Escherichia coli
Entré le :	11 avr. 2022 14:33 WAT Par : Labadmin
Commentaire sur l'ident. :	

Résultats Antibiogramme	Carte :	AST-N365	N° de lot :	8151615503	Péréemption :	29 avr. 2022 12:00 WAT
	Terminée le :	12 avr. 2022 01:28 WAT	État :	Final	Heure de l'analyse :	10,93 heures
Antibiotique	CMI	Interprétation	Antibiotique	CMI	Interprétation	
Ampicilline	4	S	Amikacine	<= 2	S	
Amoxicilline/acide clavulanique	4	S	Gentamicine	<= 1	S	
Pipéracilline/tazobactam	<= 4	S	Ciprofloxacine	<= 0,25	S	
Céfazoline	<= 4	S	Fosfomycine	<= 16	S	
Céfoxitine	<= 4	S	Nitrofurantoïne	<= 16	S	
Céfotaxime	<= 0,25	S	Chloramphénicol	<= 2	S	
Ceftazidime	<= 0,12	S	Colistine			
Ertapénème	<= 0,12	S	Triméthoprim/sulfaméthoxazole	<= 20	S	
Imipénème	<= 0,25	S				

+ = Antibiotique déduit * = Modification AES ** = Modification Utilisateur

Résultats AES :	Dernière modification :	3 nov. 2021 21:57 WAT	Normes/Phénotype :	Global CLSI-based+Natural Resistance
Niveau de fiabilité :	Concordant			

Version de VITEK 2 Systems installée : 08.01
Norme d'interprétation des CMI : Global CLSI-based Politique d'interprétation thérapeutique : NATURAL RESISTANCE
Nom du jeu de paramètres AES : Global CLSI-based+Natural Resistance Dernière modification du paramètre AES : 3 nov. 2021 21:57 WAT

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Saad Dahleb Blida -1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

Mémoire de fin d'étude

En vue d'obtention du diplôme Master en Biologie

Option : Microbiologie

Sous le thème :

Évaluation des méthodes et des techniques de détection des infections associées aux
soins: Expérience de l'établissement hospitalier spécialisé de transplantation
d'organes et de tissus Blida

Soutenu le : 02 / 07 / 2025.

Réalisé et présenté par :

Mme Boumaza Lina

Mme Midegue Abir

Devant le jury :

Mr Guetarni. D	professeur	Université Blida -1- Président
Mme Mouhamed ahmoud. F	MCA	Université Blida-1- Examinatrice
Mr BOUDJELLA .M.L	Professeur	Université Blida -1- Promoteur
Mme AIT SAADI .N	MCA	Université Blida -1- Co-Promotrice

Promotion : 2024-2025