

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA

Faculté de la science de la nature et de la vie, biologie
Département de biologie et physiologie cellulaire



MEMOIRE DE FIN D'ETUDE EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLOME MASTER EN SCIENCE DE LA NATURE ET DE LA VIE

SPECIALITE :

Microbiologie –bactériologie

PRESENTEE PAR :

BOUKHALFA BENNAI Sara Asma

SERRADJ Souha

THEME :

Les infections bactériennes dans un service d'orthopédie :
isolement identification et profil de résistance

Devant le jury composé de

Mr Guedioura A M	Maitre-assistant	Président
Mme Boudjema N	Maitre assistante	Examinatrice
Mme Meklate Atika		Promotrice

Blida, septembre 2017

Remerciements

Au terme de ce travail, On tient à remercier Dieu de nous avoir donné les efforts pour arriver à ce stade du succès et de nous orienter vers la lumière de la science et du savoir.

*J'ai l'honneur et le plaisir de présenter ma profonde gratitude et mes sincères remerciements à Notre encadreur **Mme Meklate Atika**, pour sa précieuse aide, ces orientations et le temps qu'il m'a accordé pour mon encadrement. Sans oublier **Mr Amine YAKOUR** qui a facilité la tâche par ses recommandations et ses orientations.*

*Nous remercions par ailleurs vivement les membres du jury **MR GUEDIOURA A M** et **MME BOUDJEMA N** de nous avoir fait l'honneur de juger notre travail et d'assister à la soutenance.*

Finalement, nous remercions toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la concrétisation de ce mémoire.

Dédicace

Je dédie ce travail à mes parents qui m'ont soutenu durant ma formation.

Mon père Mohamed Pour m'avoir soutenu moralement et matériellement jusqu'à ce jour, pour son amour, Et ses encouragements. Que ce travail, soit pour vous, un faible témoignage de ma Profonde affection et tendresse. Qu'ALLAH le tout puissant te préserve, t'accorde Santé, bonheur et te protège de tout mal.

A ma mère Houria Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études. Qu'ALLAH te protège et te donne la santé, le bonheur et longue vie.

A mes frères : Ismaïl, Ibrahim

Ma sœur Amina et mon beau-frère Mourad

A mon petit chéri : Yakoub, Ayoub

Mes cousines : Ihcène, Meriem, Hanane, Wedad

Pour leurs encouragements et leurs patiences

En particulier à mon binôme Souha et tout sa famille

Mes chers amis : Ibtissem, Chaïma, hanane

Mon fiancé : Mourad

Et tous les personnes qui mon aidé pour réaliser ce travail

Sara Asma

Dédicace

Je dédie ce travail A ma mère Fatiha Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études. Qu'ALLAH te protège et te donne la santé, le bonheur et longue vie.

A mes frères : Sifou, Mohamed, Ahmed

Ma belle-mère et mon beau père

Mon cher marié : Sid Ali

Pour leurs encouragements et leurs patiences

En particulier à mon binôme Sara et tout sa famille

Mes chers amis : Ibtissem, Chaïma, sara

Et tous les personnes qui mon aidé pour réaliser ce travail

Souha

Résumé

Résumé

Notre travail consiste à évaluer le niveau d'hygiène atteint dans le service **d'orthopédie traumatologie** au niveau de l'hôpital frantz fanon par l'isolement des bactéries à partir de plusieurs sites de l'environnement, de bloc opératoire, des instruments, de patient, et de personnel. La présence des bactéries en grand nombre va permettre leur transmission directe ou indirecte au malade ce qui engendre l'apparition des infections nosocomiales. Parmi 488 prélèvements provenant à partir différents sites et analysés dans le laboratoire des analyses bactériologiques de l'hôpital frantz fanon nous avons constaté que 30,94% des cas ont été positifs, et 69,06% des prélèvements ont été négatifs.

Nous avons obtenu une très grande diversité des bactéries isolées à partir de différent site de prélèvement. Il y a plusieurs genres qui ont été isolées (23 genres). Le genre *Staphylococcus* est le prédominant, en particulier *S. aureus* (99 souches) et *S. epidermidis* (23 souches), suivie par les entérobactéries (33souches), *Acinetobacter baumannii* (10 souches) et *Pseudomonas aeruginosa* (09 souches).

L'évaluation de la résistance des bactéries majoritairement isolées (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, entérobactéries, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*) a montré une variabilité selon les antibiotiques testés. Nous notons une prévalence relativement importante de la résistance des souches isolées mais certains antibiotiques restent toujours efficaces contre ces bactéries.

Mots clés : Bactéries, résistance, infection nosocomiale, hygiène, transmission directe, transmission indirecte, antibiotiques.

Summary

Summary

Our work consists in evaluating the level of hygiene achieved in the orthopedic traumatology department at the Frantz Fanon hospital by the isolation of bacteria from several environmental sites, operating theater, instruments, patient, and staff. The presence of bacteria in large numbers will allow their direct or indirect transmission to the patient, which leads to the emergence of nosocomial infections. Among 488 specimens from different sites and analyzed in the laboratory of bacteriological analyzes at the Frantz Fanon hospital we found that 30.94% of the cases were positive, and 69.06% of the samples were negative.

We obtained a very wide diversity of bacteria isolated from different sampling sites. Several genera have been isolated (23 genres). The genus *Staphylococcus* is predominant, in particular *S. aureus* (99 strains) and *S. epidermidis* (23 strains), followed by enterobacteria (33 souches), *Acinetobacter baumannii* (10 strains) and *Pseudomonas aeruginosa* (09 strains).

Evaluation of the resistance of predominantly isolated bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, Enterobacteriaceae, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*) showed variability according to the antibiotics tested. We note a relatively high prevalence of the resistance of isolated strains, but some antibiotics are still effective against these bacteria.

Key words: Bacteria, resistance, nosocomial infection, hygiene, transmission direct, transmission indirect, antibiotics.

الملخص

يتمثل عملنا في تقييم مستوى النظافة في قسم جراحة العظام والرضوض بمستشفى فرانتز فانون و ذلك عن طريق عزل البكتيريا من عدة مواقع مختلفة غرف العمليات، الأدوات الجراحية، المرضى، موظفي القسم. ان وجود البكتيريا بأعداد كبيرة تسمح انتقالها سواء بطريقة مباشرة أو غير مباشرة إلى المرضى، الأمر الذي يؤدي إلى ظهور عدوى المستشفيات. من بين 488 عينة مأخوذة من عدة مواقع مختلفة و التي قمنا بتحليلها في مختبر التحاليل البكتريولوجي بمستشفى فرانتز فانون وجدنا أن 30.94% من الحالات كانت إيجابية، و 69.06% من العينات كانت سلبية

لقد تحصلنا على تنوع واسع جدا من البكتيريا المعزولة بمختلف مواقع. حيث تم عزل العديد من الأجناس (23 نوعا) بحيث جنس مكورات العنقودية هو السائد اكثر خاصة جنس المكورات العنقودية الذهبية (99) المكورات العنقودية الجلدية (23) تليها مجموعة البكتيريا المعوية (33) الراكدة البومانية (10) الزائفة الزنجارية (09)

وأظهر تقييم للمقاومة معظم البكتيريا المعزولة (جنس المكورات العنقودية الذهبية المكورات العنقودية الجلدية تليها مجموعة البكتيريا المعوية الراكدة البومانية الزائفة الزنجارية) هناك غالبا تباين وفقا للمضادات الحيوية التي تم اختبارها. نلاحظ انتشارا نسبي مهم لمقاومة سلالات معزولة، ولكن بعض المضادات الحيوية لا تزال فعالة ضد هذه البكتيريا.

الكلمات المفتاحية: البكتيريا، المقاومة، عدوى المستشفيات، انتقال مباشر، انتقال غير مباشر، النظافة، المضادات الحيوية.

Table des matières

Table des matières

Remerciement

Dédicace

Résumé

Abstract

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction	01
1-Définition de l'infection nosocomiale.....	02
2- Bactéries fréquemment impliquées dans les infections nosocomiales.....	02
2-1- Cocci Gram positif.....	02
2-1-1- Staphylococci.....	02
2-1-2-Les <i>Streptococci</i>	03
2-1-3- Les Entérocoques.....	03
2-2 –Bacilles Gram négatifs.....	03
2-2-1- <i>Enterobactériaceae</i>	03
2-2-2 – <i>Pseudomonadaceae</i>	05
2-2-3- <i>Acinetobacter</i>	05
2-2-4- <i>Aeromonadaceae</i>	06
2-2-5- <i>Pasteurellaceae</i>	06
2-2-6- <i>Alcaligenaceae</i>	06
4-Facteur de risque des infections du site opératoire.....	06
4-1- Facteurs de risque, liés au patient.....	06
4-1-1- Age extrême.....	06

4-1-2- Obésité.....	07
4-1-3- Infection à distance.....	07
4-1-4-Contamination per-opératoire.....	07
4-1-5- Séjour préopératoire prolongé.....	07
4-2- Facteurs de risque liés aux caractéristiques de l'intervention.....	07
5-Mode de contamination.....	08
5-1-Auto-infection.....	08
5-2- Hétéro infection.....	08
5-3- Xéno-infection.....	08
5-4- Exo-infection.....	08
6-Antibiotique et Antibiorésistances.....	08
6-1-Définition.....	08
6-2- classification.....	09
6-2-1-Beta lactamines.....	09
6-2-2- Glycopeptide.....	09
6-2-3- Fosfomycine.....	10
6-2-4- Polymixines.....	10
6-2-5- Aminosides (Oligosaccharides).....	10
6-2-6- Acide Fusidique (Fucidine).....	10
6-2-7- Phenicolés (Antibiotique bactériostatique).....	10
6-2-8-Tétracycline.....	10
6-2-9- Macrolides et apparentés.....	11
6-2-10- Quinolones.....	11
6-2- 11-Rifampicine.....	11
6-2-12-Imidazoles.....	11
6-3-Mécanisme d'action.....	11

6-3-1-Action sur la paroi bactérienne.....	12
6-3-2-Action sur la membrane cytoplasmique.....	12
6-3-3-Action sur la synthèse des protéines.....	12
6-3-4-Action sur les acides nucléiques.....	12
6-3-5--Action sur la synthèse des métabolites bactériens.....	12
6-4 -Résistance aux antibiotiques.....	13
6-4-1-Définition.....	13
6-4-2-Types de résistance.....	13
6-4-2-1-Résistance naturelle (innée).....	13
6-4-2-2-Résistance acquise.....	13
6-4-3-1-Inactivation enzymatique de l'antibiotique.....	14
6-4-3-2-Diminution de la perméabilité.....	14
6-4-3-3-Modification de la cible d'antibiotique.....	14
6-4-3-4-Excrétion de l'antibiotique par un mécanisme d'efflux.....	14
6-4-3-5-Développement d'une voie métabolique et remplacement (substitution de la cible)..	14

Matériel et méthodes

I. Matériel.....	15
1-Matériel non biologique.....	15
2-Matériel biologique.....	15
II. Méthodes.....	15
1- Méthodes de prélèvement.....	15
1-1- Prélèvement au niveau des surfaces et du personnel soignant.....	15
1-2- Prélèvement au niveau des plaies infectées.....	15
1-3-Fiche de renseignement et transport.....	16
2-Examen bactériologique.....	16
2-1-Mise en culture et isolement.....	16
2-2-Coloration de Gram.....	17
2-3-Identification biochimique des bactéries.....	18

2-3-1-Identification des bacilles a Gram négatif.....	18
2-3-1-1-Test d'oxydase.....	18
2-3-1-2-Identification des entérobactéries à l'aide du système API 20 E.....	19
2-3-1-3-Identification des autres bacilles a Gram négatif à l'aide du système API 20 NE.....	20
2-3-1-4-Identification des espèces <i>Haemophilus</i> à l'aide du système API NH.....	21
2-3-2-Identification des cocci à Gram positif.....	22
2-3-2-1-Recherche de la catalase.....	23
2-3-2-2-Test spécifiques aux Staphylocoque.....	23
2-3-2-3-Identification des staphylocoques a coagulase négatif.....	24
2-3-2-4-Identification des entérocoques.....	25
2-4-Etude de la résistance des bactéries aux antibiotiques.....	26
2-5-Recherche de la résistance des staphylocoques à la méticilline (SARM).....	28

Résultat et discussion

1-Répartition des résultats selon la positivité et la négativité des différents prélèvements.....	29
2-Répartition des résultats selon les différents sites de prélèvements.....	29
3-fréquence générale des bactéries isolées.....	30
4-Répartition des espèces identifiées selon les différents sites de prélèvement.....	31
4-1- Fréquence des bactéries isolées à partir des patients.....	31
4-2-Fréquence des bactéries isolées à partir des instruments.....	32
4-3-Fréquence des bactéries isolées au niveau du bloc opératoire.....	33
4-4-Fréquence des bactéries à partir du personnel.....	34
4-5-Fréquence des bactéries isolées à partir de l'environnement hospitalier.....	34
5-Répartition de la résistance de souches isolées selon l'antibiotique testé.....	35
5-1 Profil de résistance des souches de <i>Staphylococcus aureus</i>	35
5-1-1 Profil de résistance des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> provenant des patients.....	36
5-1-2 Profil de résistance des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> provenant des instruments..	36
5-1-3 Profil de résistance des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> provenant du bloc opératoire.....	36

5-1-4 Profil de résistance des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> provenant du personnel de l'hôpital.....	36
5-1-5 Profil de résistance des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> provenant de l'environnement hospitalier.....	37
5-2 Profil de résistance des souches de <i>Staphylococcus epidermidis</i>	38
5-2-1 Profil de résistance des souches de <i>Staphylococcus epidermidis</i> provenant des patients.....	38
5-2-2 Profil de résistance des souches de <i>Staphylococcus epidermidis</i> provenant des instruments.....	39
5-2-3 Profil de résistance des souches de <i>Staphylococcus epidermidis</i> provenant du bloc opératoire.....	39
5-2-4 Profil de résistance des souches de <i>Staphylococcus epidermidis</i> provenant du personnel de l'hôpital.....	39
5-2-5 Profil de résistance des souches de <i>Staphylococcus epidermidis</i> provenant de l'environnement hospitalier.....	39
5-3 Profil de résistance des souches des entérobactéries.....	40
5-3-1 Profil de résistance des souches des entérobactéries provenant des patients.....	41
5-3-2 Profil de résistance des souches des entérobactéries provenant du bloc opératoire.....	41
5-3-4 Profil de résistance des souches des entérobactéries provenant du personnel de l'hôpital.....	41
5-3-4 Profil de résistance des souches des entérobactéries provenant de l'environnement hospitalier.....	42
5-4 Profil de résistance des souches d' <i>Acinetobacter baumannii</i>	42
5-4-1 Profil de résistance des souches d' <i>Acinetobacter baumannii</i> provenant des patients.....	43
5-4-2 Profil de résistance des souches d' <i>Acinetobacter baumannii</i> provenant du bloc opératoire.....	43
5-4-3 Profil de résistance des souches d' <i>Acinetobacter baumannii</i> provenant du personnel de l'hôpital.....	43

5-4-4 Profil de résistance des souches d' <i>Acinetobacter baumannii</i> provenant de l'environnement hospitalier.....	44
5-5 Profil de résistance des souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	45
5-5-1 Profil de résistance des souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> provenant des patients...	45
5-5-2 Profil de résistance des souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> provenant de l'environnement hospitalier.....	45

Discussion

Conclusion.

Bibliographies

Annexe

Liste des figures

Liste de figure

Figure 01 : Répartition des résultats selon la positivité et la négativité des différents prélèvements.....	29
Figure 02 : Répartition des résultats positifs et négatifs selon les différents sites de prélèvements.....	30
Figure 03 : fréquence générale des bactéries isolées.....	31
Figure 04 : Répartition des espèces identifiées chez les patients.....	32
Figure 05 : Répartition des espèces identifiées au niveau des instruments.....	33
Figure 06 : Répartition des espèces identifiées au niveau du bloc opératoire.....	33
Figure 07 : Répartition des espèces identifiées chez le personnel.....	34
Figure 08 : Répartition des espèces identifiées au niveau de l'environnement.....	35
Figure 09 : Répartition des résultats de l'antibiorésistances chez les souches des <i>S.aureus</i>	37
Figure 10 : répartition des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> selon la résistance à la méticilline.....	38
Figure 11 : Répartition des résultats de l'antibiorésistances chez les souches des <i>S.epidermidis</i>	40
Figure 12 : Répartition des résultats de l'antibiorésistances chez les souches d'entérobactéries.....	42
Figure 13 : Répartition des résultats de l'antibiorésistances chez les souches des <i>A.baumani</i>	44

Liste des Tableaux

Liste des Tableaux

Tableau 01 : Site et nombre de prélèvements.....	15
Tableau au 2 : Répartition des résultats selon la positivité et la négativité des différents prélèvements.....	29
Tableau 03 : profil de l'antibiorésistances chez les souches des <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	45

Liste abréviation

Liste abréviation

<i>A.baumannii</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>
ADH	Arginine dihydrolase
AIP	Acide indole pyruvique
API	Analytical profil Index
API NH	Analytical profil Index <i>Neisseria, Haemophilus</i>
AMD	Amidon
AMY	Amygladine
ARA	Arabinose
ATB	Antibiotique
ATCC	American Type Culture Collection
CIT	Citrate perméase
CO₂	Dioxyde de carbone
ESC	Esculine citrate de fer
GGT	Glutamyl-4-méthoxy- β-naphtylamide
GLYG	Glycogène
Fru	Fructose
HIP	Acide hippurique
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
H₂S	Sulfure d'hydrogène
IND	Indole
INO	Inositol
INU	inuline
LDC	Lysine
LAC	Lactose
LAP	L-leucine-β-naphtylamide
<i>M.morganii</i>	<i>Morganella morganii</i>
Man	Mannitol
Mel	Melibiose
MRSA	Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus
NCCLS	National Comite For Clinical Laboratory Standard

NaCl	Chlorure sodium
NIT 1	Naphtyl-1-amine
NIT 2	Naphtyl-1-amine
No3	Nitrates
O₂	Oxygen
ODC	Ornithine Decarboxylase
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
ONPG	Orthonitrophényl-β-D-galactopyrannoside
<i>P.aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
β GAL	β galactose
PAL	2-naphtyl phosphate
PEN	Potassium benzylpenicilline
PNPG	Nitrophenyl β-D-glucopyranoside
ProA	L-proline-4-méthoxy- β-naphtylamide
PYRA	Acide pyroglutamique- β-naphtylamide
S	Sensible
<i>S.epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>S.aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SARM	Staphylococcus aureus résistante à la méticilline
SOR	Sorbitol
R	Résistant
RAF	Raffinose
RHA	Rhamnose
RIB	Ribose
TDA	Tryptophane désaminase
TRE	Tréhalose
TRP	Tryptophane
URE	Uréase
Vp	Reaction de Voges –Proskauer
ZYM	Fast blue BB 2-méthoxy-éthanol

Introduction

Introduction

Introduction

L'hygiène hospitalière est un problème très fréquent qui se pose dans tous les services de l'hôpital et le mal respect de cette mesure va conduire à des maladies ou des dégâts sanitaires dans l'hôpital ce qu'on appelle les infections nosocomiales **(CTIN, 1999)**.

Les infections nosocomiales touchent 3 à 5 % des malades hospitalisés par an, elles sont essentiellement d'origine bactérienne, leurs fréquences et leurs gravités croissent avec la sévérité des pathologies traités, l'âge du patient et le nombre des actes invasifs **(Lucet et Astagnau, 1998)**.

L'infection du site opératoire en chirurgie orthopédique est une complication très grave, elle peut remettre en cause le bénéfice d'une intervention à améliorer la fonction d'une articulation ou réparer les conséquences d'un traumatisme. Elle est facilitée par la présence de matériel étranger, l'hématome ainsi que par l'ischémie et la nécrose tissulaire. Cette infection conduit à des réinterventions et à une prolongation de l'hospitalisation majorant le coût de cette chirurgie **(Lidwell et al., 1982)**.

De nombreuses données montrent que les agents pathogènes à l'origine des infections du site opératoire proviennent, soit de la propre flore du sujet, soit d'une source (contact) environnementale (individu, objet, ou lieu) **(Perl et al., 2002)**. Dans ce contexte nous nous sommes intéressés à déterminer les germes responsables des infections des plaies opératoires des patients du service d'orthopédie de l'hôpital Frantz Fanon et à la vérification du niveau d'hygiène atteint dans ce service et déterminer la sensibilité aux antibiotiques des espèces dominantes.

*Partie
bibliographie*

Partie bibliographie

1-Définition de l'infection nosocomiale

Une infection est dite nosocomiale si elle apparaît au cours ou à la suite d'une hospitalisation et si elle était absente (ni symptomatique ni en incubation) à l'admission. Lorsque la situation à l'admission n'est pas connue, un délai d'au moins 48 heures après l'admission (ou un délai supérieur à la période d'incubation lorsque celle-ci est connue) est communément accepté pour distinguer une infection d'acquisition nosocomiale d'une infection communautaire. Toutefois, il est recommandé d'apprécier, dans chaque cas douteux, la plausibilité du lien causal entre hospitalisation et infection.

Pour les infections du site opératoire on considère comme nosocomiales les infections survenues dans les 30 jours suivant l'intervention, ou celles survenues dans les 90 jours en cas d'infection virale et celles survenues dans les 365 jours s'il y a eu mise en place d'une prothèse ou d'un implant (**Beaucaire, 1997 ; Berche, Gallard et Simonnet, 1991 ; Bouvet et Crimont, 1989 ; Popi, 2003 ; Schaffner, 1984**).

2- Bactéries fréquemment impliquées dans les infections nosocomiales

Les bactéries sont les responsables les plus fréquents des infections nosocomiales.

Elles peuvent être des bactéries pathogènes comme *Staphylococcus aureus* mais on trouve plus souvent les bactéries opportunistes : des entérobactéries, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter*, *Entérocoques*...etc (**Béraud, 2000 ; Nauciel, 2000**).

2-1- Cocci Gram positif

2-1-1- Staphylococci

Le genre *Staphylococcus* appartient à la famille des *Micrococaceae* il regroupe des espèces bactériennes constituées des cellules cocci, immobiles, disposées en amas, à la façon d'une grappe de raisin (**Faucher et Loup, 2003**). Les espèces les plus impliquées dans les infections nosocomiales sont :

Staphylococcus aureus

C'est un germe ubiquitaire retrouvé dans le sol, l'air et l'eau et un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme. On le trouve à l'état normal dans l'oropharynx, les fosses nasales, dans les selles, au niveau de périnée ou des aisselles.

Des épidémies de caractère nosocomial peuvent survenir, donc *S. aureus* est un agent majeur d'infection nosocomiale (**Sylvie et al., 2002**).

Staphylococcus epidermidis

C'est une espèce commensale de la peau et des muqueuses, elle peut contaminer des prélèvements superficiels et même des prélèvements obtenus par ponction transcutanée (comme les hémocultures). *S. epidermidis* peut se comporter comme une bactérie opportuniste et provoquer des infections chez les sujets porteurs du matériel étranger (cathéter intra vasculaire, dérivation ventriculaire, prothèse ostéo-articulaire). Cette bactérie a en effet la propriété de former des biofilms sur du matériel étranger. Les souches acquises en milieu hospitalier sont souvent très résistantes aux antibiotiques (Nauciel, 2000).

2-1-2-Les Streptococci

Le genre *Streptococcus* appartient à la famille de *Streptococaceae*. Ce genre est caractérisé par des cellules en cocci disposées en chainettes. Les Streptocoques sont ubiquitaire. Certains d'entre eux sont rencontrés dans le sol, l'air, l'eau et vivent à l'état commensal chez l'animal et chez l'homme ou ils sont retrouvés au niveau des téguments et des muqueuses (Avril et al., 2000).

2-1-3- Les Entérocoques

Le genre *Enterococcus* appartient à la famille d'*Enterococcaceae*. Ce genre rassemble des espèces constituées de cocci ovoïdes disposées par paires ou en chainettes. Les *Enterocoques* sont des bactéries intestinales, ils sont également présents sur les muqueuses génitales et sont plus accessoirement retrouvés dans l'oropharynx et sur la peau. Résistants à des conditions hostiles, les *Entérocoques* peuvent être trouvés dans l'environnement, dans la poussière, sur les végétaux et dans l'eau. *E.faecalis*, *E.faecium* sont l'espèce les plus souvent rencontrées chez l'homme (Faucher and Loup, 2003).

2-2 –Bacilles Gram négatifs

2-2-1-Enterobactériaceae

Entérobactéries sont pour la plupart des bactéries qui colonisent l'intestin, en dehors du tube digestif, elles peuvent être transitoirement présentent sur différentes parties du vêtement cutanéomuqueuse. Dans les pays à faible niveau d'hygiène, les eaux consommées par la population peuvent être contaminées par des bactéries d'origine fécale (Nauciel, 2000).

E.coli

Cette espèce est un hôte normal du tube digestif de l'homme et des animaux, sa présence dans l'environnement est le témoin d'une contamination fécale c'est pourquoi on procède systématiquement à sa détection dans les eaux d'alimentation (Faucher et Loup, 2003 ; Joly et Reynaud, 2003).

Citrobacte

Cette bactérie est isolée à partir de l'eau, des égouts, des aliments et les fèces de l'homme et des animaux. Ils sont considérés comme des hôtes normaux du tube digestif ; ils peuvent survivre facilement dans l'eau (**Nauciel, 2000**).

Klebsiella

Est un germe très répandu dans la nature (l'eau, le sol, la poussière) est une commensale du tube digestif (l'oropharynx).

Le portage digestif de *Klebsiella* est plus important chez les malades hospitalisés que dans la population normale, sur les mains du personnel et sur les objets de l'environnement dans les services hospitaliers. Donc la transmission des *Klebsiella* d'un malade à l'autre est habituellement manuelle (**Mollet et al., 1997 ; Faucher et Loup, 2003 ; Nauciel, 2000**).

Enterobacter

Les espèces du genre *Enterobacter* sont généralement mobiles. Sont des hôtes habituels du tube digestif. Ce sont des pathogènes opportunistes trouvés dans l'environnement hospitalier.

E.cloacae et *E.aerogenes* sont les plus souvent isolés (**Mirabaud, 1996; Faucher and Loup, 2003**).

Serratia

Les *Serratia* sont des bactéries ubiquitaires qui se trouvent dans le sol, l'eau, et le tube digestif de l'homme et des animaux. Ce sont parmi les *Entérobactéries* les plus résistantes aux agents physiques et chimiques.

Les *Serratia* sont des bacilles mobiles et protéolytiques et produisent de nombreuses enzymes. Deux espèces sont fréquemment rencontrées en bactériologie médicale. *S.marcescens* et *S.liquefaciens* (**Monnet et Freney, 2000 ; Faucher and Loup, 2003**).

Proteus

On les trouve partout, sur le sol, dans les eaux d'égout (**avril et al., 2000**). Ils vivent en saprophytes sur la peau et la muqueuse, ce sont des commensaux de l'intestin (**Aeyquem et al., 1998**).

Morganella morganii

M.morganii est présent dans l'intestin humain, elle est également présente dans le sol et l'eau, et a été observé chez d'autre mammifère comme les chiens et les chats (**Kwon Oy et al., 2011**).

Pantoea

Ils se produisent dans de nombreux habitats écologiques, y compris en association avec le sol, l'eau, les produits laitiers, la viande, le poisson, les humains et les animaux (**Bouaichi et al., 2015 ; Walterson et Stavrinides, 2015**).

Cedecea

Les souches du genre *Cedecea* sont rarement isolées de l'environnement, on peut les trouver ainsi à l'intérieur des insectes (mouches), les poissons, les intestins des animaux, sur les légumes, dans les plaies, les abcès, et les tissus ulcérés. Chez les humains, la *Cedecea* a été localisée dans le sang et la salive (**Staskevich, 2014**).

2-2-2 -*Pseudomonadaceae*

Les bactéries du genre *Pseudomonas* sont essentiellement saprophytes ou commensales, certaines espèces peuvent acquérir un pouvoir pathogène, généralement favorisé par un terrain débilisé (tel que : *P. aeruginosa*) (**Pilet, 2000**).

Dix genres dans cette famille dont les genres *Pseudomonas*, *Flavimonas* et *Chryseomonas*

• *P. aeruginosa*

On la trouve dans l'environnement hospitalier où elle peut contaminer le matériel médical (sondes, trocarts, cathéters) ou chirurgical (instruments, matériels de prothèse), les solutions antiseptiques, les solutions injectables, des produits médicamenteux ou cosmétiques (**Avril et al., 2000 ; Faucher and Loup, 2003**).

Leurs transmissions peuvent se faire à partir des sources environnementales, soit directement par l'intermédiaire du matériel, elles peuvent aussi être interhumaines à partir d'un sujet colonisé.

P. aeruginosa est peu virulente pour les sujets en bonne santé mais très pathogène pour les sujets immunodéprimés ou ayant une maladie grave sous-jacente, hémopathie ou cancer (**Bejot, 2003 ; Faucher and Loup, 2003 ; Nauciel, 2000**).

2-2-3-*Acinetobacter*

Acinetobacter est un coccobacille, ubiquitaire en diplococcoides. Cette morphologie est identique à celle des *Moraxella* mais la réaction d'oxydase, qui est négative avec *Acinetobacter* sépare les deux genres. *Acinetobacter spp* est un genre retrouvé dans les sols, l'eau potable les eaux de surface ainsi que dans diverses denrées alimentaires, on estime que jusqu'à 25 % de la

population est porteuse d'*Acinetobacter* au niveau de la flore cutanée plus particulièrement au niveau des aisselles, de la région inguinale ainsi que dans les espaces interdigitaux des orteils. *Acinetobacter baumannii* est l'espèce la plus souvent en cause dans les infections chez l'homme retrouvée au sein de la flore cutanée commensale de 25 % des individus.

Elle est très répandue dans l'environnement hospitalier et peut se développer dans les solutions antiseptiques dans les savons liquides et coloniser les appareils médicaux, les mobiliers, les sols ; les souches peuvent être véhiculés par le personnel (**Eberlin, 1997 ; Avril et al., 2000**).

2-2-4-Aeromonadaceae

Aeromonas

Les *Aeromonas* sont amobiles mésophiles se produisent largement dans l'eau, les boues et les eaux usées. Ils proviennent aussi de nourriture ou de la flore intestinale (**Geert, 2004**).

2-2-5- Pasteurellaceae

Coccoïde, en forme de tige, trouvé sur les muqueuses des voies respiratoires et digestives supérieures des mammifères (rarement les hommes) et des oiseaux. Ils agissent comme coexistant dans la cavité buccale et isolé à partir de la salive. Ils peuvent survivre pendant un certain temps dans l'environnement, mais ne se développe pas (**Christensen et al., 2014**).

2-2-6-Alcaligenaceae

Bordetella

Des parasites pathogènes, obligatoires et hautement transmissibles, de l'homme et des animaux. Son habitat naturel se trouve dans la muqueuse respiratoire humaine, peuvent survivre à l'extérieur du corps pendant quelques jours et peuvent donc être transmise par des objets contaminés (**Finger et Von, 1996**).

3-origine des germes

Les microorganismes qui sont responsables d'infection du site chirurgical peuvent être acquis par voie endogène, à partir de la flore microbienne du patient ou par voie exogène, à partir de l'environnement ou du personnel de salle d'opération. Des données à la fois clinique et expérimentales suggèrent qu'après 24 à 48 heures de l'opération, le site chirurgical est suffisamment cicatrisé pour devenir résistant à toute infection d'origine exogène (**Francioli et al., 1996**).

4-Facteur de risque des infections du site opératoire

4-1- Facteurs de risque, liés au patient

4-1-1- Age extrême

L'âge influence le taux d'infection du site opératoire qui augmente aux âges extrêmes de la vie, au-dessous d'un an et au-dessus de 65 ans, en raison de la défaillance dans le système immunitaire (Avril et Carlet, 1998 ; Kitzis et Andreassian, 1993 ; Mangram et al.,1999).

4-1-2- Obésité

Il est établi que l'obésité (supérieur à 20% du poids idéal) est un facteur de risque lié à la survenue de l'infection du site opératoire, mais il n'est pas prouvé que la restauration d'un état nutritionnel idéal diminue ce risque (Avril et Carlet, 1998 ; Kitzis et Andreassian, 1993 ; Mangram et al., 1999).

4-1-3- Infection à distance

Il est prouvé que la présence d'une infection à distance augmente le risque d'infection du site opératoire. La contamination du site opératoire peut se faire par voie hématogène, lymphatique, par voie aérienne ou par contact direct en cas d'erreur d'asepsie (Francioli ,1996 ; Mangram et al., 1999).

4-1-4-Contamination per-opératoire

Le malade s'infecte avec ses propres germes (la flore bactérienne cutanée), a la faveur d'un acte invasif et/ou en raison d'une fragilité particulière (Institut de veille sanitaire, 1999 à 2005 ; Mangram et al., 1999).

4-1-5- Séjour préopératoire prolongé :

L'allongement de la durée d'hospitalisation avant l'intervention est un facteur augmentant le risque d'infection de l'incision allant de 1% pour une durée inférieure à un jour, à 4% pour une durée supérieure à 14 jours. Ceci peut être expliqué par la colonisation par des germes hospitaliers et l'administration des divers médicaments (stéroïdes, antibiotique) Aussi, le fait de la modification de la flore microbienne cutanée qui survient en 3 à 4 jours (Avril et Carlet, 1998 ; Francioli, 1996 ; Mangram et al., 1999).

4-2- Facteurs de risque liés aux caractéristiques de l'intervention

- Douche antiseptique avant l'intervention
- Rasage
- Absence de préparation cutanée en per opératoire
- Hygiène des mains et avant-bras de l'opérateur
- Duré de l'intervention
- Absences d'antibioprophylaxie
- Hygiène en salle d'opération

- Asepsie et technique chirurgicale
(Avril et Carlet, 1998 ; Francioli, 1996 ; Ittah Desmeulles, 2004 ; Kitzis et Andreassian ,1993 ; Mangram et al., 1999 ; Veysier, Domart et Liebbe, 1998 ; OMS, 2002).

5-Mode de contamination

5-1-Auto-infection

C'est lorsque le malade s'infecte par ses propres germes *in situ*. Ces infections sont dues généralement aux germes saprophytes qui deviennent pathogènes à la suite d'une antibiothérapie itérative ou d'un traitement immunosuppresseur (**Berche, Gallard et Simonnet, 1991 ; Tasseau et Baron, 1989**).

5-2- Hétéro infection

On parle d'hétéro-infection lorsqu'un agent infectieux est transporté d'un malade à un autre provoquant une infection dite croisée ou hétéro-infection.

L'agent infectieux est rarement transmis par contact direct ou par voie aérienne.

Le plus souvent le vecteur est le personnel soignant par ses mains, et ou ses instruments de travail. On parle d'infection manu portée ou d'infection transmise par le matériel d'exploration ou de soin. C'est le mode de contamination majeure lors de nombreuses épidémies et probablement le plus sensible aux mesures prophylactiques (**Berche, Gallard et Simonnet, 1991 ; Tasseau et Baron, 1989**).

5-3- Xéno-infection

Ce sont des infections qui sévissent sous forme endémique ou épidémique dans la population extrahospitalière. Les agents infectieux sont importés à l'hôpital par les malades, le personnel soignant, ou les visiteurs qui en sont atteints ou qui sont en phase d'incubation. Ils se transmettent par voie aérienne, par contact direct ou indirect et trouvent à l'hôpital des patients particulièrement réceptifs et des conditions de transmission facilitées (**Berche, Gallard et Simonnet, 1991 ; Tasseau et Baron, 1989**).

5-4- Exo-infection

Cette infection est liée à des avaries techniques (stérilisation inefficace, filtre à air non stérile, eau polluée). Les matériaux à usage paramédical ou domestique sont utilisés auprès des malades ; ils sont susceptibles d'être contaminés et peuvent ainsi provoquer des infections nosocomiales souvent épidémiques (**Berche, Gallard et Simonnet, 1991 ; Tasseau et Baron, 1989**).

6-Antibiotique et Antibiorésistances

6-1-Définition

Les antibiotiques sont des molécules qui inhibent sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effet toxique pour les organismes supérieurs. Cette propriété les distingue des micro-organismes, mais on inclut généralement parmi eux les dérivés semi synthétiques et les produits entièrement synthétiques (**Nauciel, 2001**).

6-2- classification

Selon Talbert et Willoquet (2004), la classification s'appuie sur les critères suivants :

- ✓ Le spectre d'activité antibactérien,
- ✓ Le mécanisme d'action.
- ✓ La structure chimique.

Classification des antibiotiques selon la structure chimique

6-2-1-Beta lactamines

Sont des antibiotiques inhibiteurs de la synthèse du peptidoglycane et ont une activité bactéricide. Elle très diversifiée, le squelette commun que possèdent ces antibiotiques est un « Cycle Beta lactame », mais très rarement on peut trouver un cycle Beta lactone.

Il existe 3 groupes d'antibiotiques, dans cette famille, selon le type de noyau :

- ✓ Si le cycle commun est associé à un cycle Thiazolique pour former l'acide 6-amino-pénicillanique (6-APA) : noyau commun des pénicillines
- ✓ Si le cycle commun est associé à un cycle Dihydrothiazine pour former l'acide 7-aminocéphalosporamique (7-ACA) : noyau des céphalosporines.
- ✓ Si le cycle commun n'est associé à des autres molécules (Monobactams) ces antibiotiques ont un noyau limité au Beta lactame, ils agissent sur les bacilles Gram négatif principalement sur *P.aeruginosa* et entérobactéries (**Kezzal, 1993 ; Mecum et Vade, 2014**).

6-2-2- Glycopeptide

Les polypeptides sont, isolés d'un *Streptomyces*, les molécules les plus grosses des antibiotiques. Ils possèdent une structure comportant une partie glucidique et plusieurs acides

aminés. Ces antibiotiques ont un spectre d'action étroit et sont actifs surtout sur les bactéries à Gram positifs (staphylocoques). Les glycopeptides agissent également sur la paroi bactérienne en séquestrant la queue pentapeptidyl (D-Ala-D-Ala) libre sur les unités d'acide N-acétylmuramique, ce qui rend impossible l'assemblage du peptidoglycane. (**Kezzal, 1993 ; Mecum et Vade, 2014**).

6-2-3- Fosfomycine

C'est l'acide L cis 1,2 époxy-phosphorique. Cet antibiotique a une action bactéricide et possède un aminocyclitol proche des aminosides ; antibiotique à large spectre mais particulièrement actif sur les bacilles à Gram négatifs (**Kezzal, 1993**).

6-2-4- Polymixines

Ces antibiotiques ont un pouvoir bactéricide ; Elle s'insère dans la membrane favorisant la création de pores artificiels et donc perturbant ainsi la perméabilité de la membrane (**Kezzal, 1993**).

6-2-5- Aminosides (Oligosaccharides)

Sont des hétérosides formés d'un ou plusieurs glycosides liés à un aminocyclitol. Ce sont des antibiotiques qui agissent sur la sous unité 30S inhibant donc la synthèse protéique et sont bactéricides (**Kezzal, 1993**).

6-2-6- Acide Fusidique (Fucidine)

Ces antibiotiques agissent sur la sous unité 50S du ribosome pour bloquer les facteurs d'élongation favorisant ainsi la mort de la cellule bactérienne. Il est le seul antibiotique **stéroïdien** utilisé en thérapeutique et est actif sur les bactéries à Gram positifs, sur les coques Gram négatifs et surtout sur les staphylocoques (**Kezzal, 1993**).

6-2-7- Phenicolés (Antibiotique bactériostatique)

La molécule du Chloramphénicol agit sur la sous unité 50s afin de bloquer les peptides transférases. Elle comporte un noyau Nitrobenzène et deux atomes de chlore. C'est un

antibiotique à large spectre, actif sur les Gram positifs, les Gram négatifs et même les spirochètes (**Kezzal, 1993**).

6-2-8-Tétracycline

Cet antibiotique bactériostatique se fixe sur la petite sous unité 30S et bloque le site A, cette action se fait chez les bacilles à Gram négatifs, les staphylocoques, les Mycoplasmes et beaucoup d'autres bactéries. Ils possèdent un squelette « Quatre cycles hexagonaux » accolés pour former un tétracycle (**Kezzal, 1993**).

6-2-9- Macrolides et apparentés

Ils ont une structure chimique très hétérogène soit composé d'une lactone macrocyclique liée par une liaison glucosidique à un ou molécules de sucre (Macrolides Vrais) ou soit, chez les Synergistines, un mélange de plusieurs composés appartenant aux groupe Streptogramine A (lactone *macrocyclique*) et Streptogramine B (polypeptides cyclique ayant des fonctions lactones).

Ces antibiotiques ont un pouvoir bactériostatique et agissent sur la sous unité 50s pour inhiber la synthèse protéique. (**Kezzal, 1993**). Leur spectre étroit est comparable à celui de la pénicilline G (Bacilles à Gram positifs, Coques à Gram positifs et à Gram négatifs), inactifs sur les bacilles à Gram négatifs sauf Haemophilus (**Joffin et Leyral, 2014**).

6-2-10-Quinolones

Les quinolones inhibent la synthèse et le fonctionnement de l'ADN en se liant avec l'ADN gyrase. Leur pouvoir bactéricide leur permet d'être très actifs sur les bactéries à Gram positifs (pneumocoque, streptocoque) et les Gram négatif sauf *P.aeruginosa*. Les quinolones sont réparties en deux générations (l'acide Nalidixique qui correspond à la 1^{ère} génération et les Fluoroquinolones qui correspondent à la 2^{ème} génération) (**Kezzal, 1993 ; Joffin et Leyral, 2014**).

6-2- 11-Rifampicine

Grace à son activité bactériostatique, la rifampicine Inhibe la transcription de l'ADN, elle est caractérisée par sa structure qui comporte un macrocycle et un cycle aromatique. Grace à son

pouvoir bactéricide, La Rifamycine est très active sur les Staphylocoques et exceptionnellement sur *Mycobacterium tuberculosis* (Kezzal, 1993 ; Joffin et Leyral, 2014).

6-2-12-Imidazoles

Antibiotiques à action bactéricide, ils possèdent un spectre limité aux Clostridium, Helicobacter, pyloï, bacilles Gram négatif. Les imidazoles ont une structure très complexe (Kezzal, 1993 ; Larpent et Sanglier, 1989).

6-3-Mécanisme d'action

Les antibiotiques agissent sur les micro-organismes par plusieurs manières dont certains sont connus.

6-3-1-Action sur la paroi bactérienne

Des antibiotiques interviennent à différentes phases de la synthèse du peptidoglycane et perturbent la paroi par différents mécanismes. Les β -lactamines font partie de cette catégorie (Robert, 1995).

6-3-2-Action sur la membrane cytoplasmique

Ces antibiotiques se fixent sur les phospholipides de la membrane cytoplasmique, entraînant une altération de la perméabilité, à cause d'une désorganisation de cette membrane, et donc une fuite des constituants intracellulaires, ce qui aboutit à la mort cellulaire (Prescott, Harley et Klein, 2003).

6-3-3-Action sur la synthèse des protéines

Ces antibiotiques agissent au niveau du ribosome bactérien, soit au niveau de la sous-unité 30S, soit au niveau de la sous-unité 50S. Les tétracyclines, les aminoglycosides, les macrolides et les lincosamides font partie de cette catégorie (Bergogne-Berezin, 1999).

6-3-4-Action sur les acides nucléiques

Les Rifampicines, sulfamides, quinolones et triméthoprimes inhibent la synthèse ou même le fonctionnement des acides nucléiques de différente façon selon les familles d'antibiotiques :

- Inhibition de la réplication de l'ADN

- Inhibition de la transcription /ARN polymérase
- Diminution de la synthèse des précurseurs nucléotidiques (**pergogne berezin 1999**).

6-3-5--Action sur la synthèse des métabolites bactériens

Les antimétabolites agissent par inhibition compétitive grâce à leurs analogies structurales aux acides aminés, aux nucléotides et à d'autres substances bactériennes. C'est le cas des sulfamides et le triméthoprim (Robert, 1995 ; Nauciel 2001).

6-4 -Résistance aux antibiotiques

6-4-1-Définition

Une souche bactérienne est dite résistante à un antibiotique quand elle est capable de se développer en présence d'une concentration élevée de cet antibiotique (Lavigne, 2007).

La résistance bactérienne aux antibiotiques est un facteur majeur compliquant la chimiothérapie antibactérienne. Elle se caractérise par son caractère naturel ou acquis, son mécanisme et son support génétique (Androu et Mainardi, 2003).

6-4-2-Types de résistance

6-4-2-1-Résistance naturelle (innée)

Cette résistance affecte d'emblée toutes les souches d'une même espèce bactérienne sans jamais être en contact avec l'antibiotique, son support génétique est le chromosome : la souche est donc qualifiée de sauvage (Fauchere et Avril, 2002).

6-4-2-2-Résistance acquise :

La résistance acquise affecte des souches d'espèce normalement sensible. Cette résistance est évolutive au cours du temps, elle est due soit à la modification de l'information génétique

« endogène » par mutation chromosomique, soit à l'acquisition de matériel génétique « exogène » par les plasmides ou les transposons (**Figarella, Leyral et Terret, 2004**).

*Il existe deux supports essentiels :

Un support chromosomique : mutation ponctuelle soit dans un gène de régulation (ex : hyper production d'enzyme inactivant les antibiotiques) soit dans le gène de structure modifiant le spectre d'une enzyme. Un support extra chromosomique ou l'information génétique est portée par des plasmides transférables à d'autres bactéries (**Roussel et Vallez, 2001**).

6-4-3-Mécanisme de résistance

Cinq mécanisme permet aux bactéries d'être résistance à l'action des antibiotiques :

6-4-3-1-Inactivation enzymatique de l'antibiotique

C'est le mécanisme le plus fréquent en pathologie infectieuse. Cette résistance concerne les Beta -lactamines, les aminosides et les chloramphénicols. Ce mécanisme est présent naturellement chez beaucoup d'entérobactéries et certains *Acinetobacter* ou *Pseudomonas* (**Fauchere et Avril, 2002**).

6-4-3-2-Diminution de la perméabilité

La baisse de la perméabilité peut être due soit à la diminution quantitative d'un ou de plusieurs types de porines, soit à une modification de la structure d'une des porines essentielles (**Fauchere et Avril, 2002**).

6-4-3-3-Modification de la cible d'antibiotique

Comme chaque antibiotique agit sur une cible spécifique, une résistance peut apparaitre lorsque cette cible est absente (résistance naturelle) ou modifiée (résistance acquis) (**Jehl et al., 2003**).

6-4-3-4-Excrétion de l'antibiotique par un mécanisme d'efflux

Certaines bactéries présentent dans leur membrane plasmique des pompes effluentes qui expulsent les antibiotiques. Ces pompes sont non spécifiques et agissent sur des nombreux

antibiotiques différents comme les tétracyclines, ce système est observé chez : *E.coli*, *P.aeruginosa* et *S.aureus* (Jehl et al., 2003).

6-4-3-5-Développement d'une voie métabolique et remplacement (substitution de la cible)

Les bactéries résistantes peuvent soit développer une voie métabolique visant à remplacer la voie bloquée par l'antibiotique, soit augmenter la production du métabolite cible (Robert ,1995).

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

Notre travail a été effectué dans le service d'orthopédie traumatologie durant 4 mois (de 22 janvier jusqu'à 26 mai 2017).

I. Matériel

1-Matériel non biologique

Il consiste en différents milieux de culture, verrerie et autres (**Annexe 01**).

2-Matériel biologique

Il consiste en plusieurs prélèvements (pus ou surfaces) provenant des patients et de son entourage hospitalier dont le nombre est indiqué dans le tableau 1 les méthodes des prélèvements seront détaillées en ci-dessous (Partie méthodes).

Site de prélèvements	Patient	Instruments	Bloc	Personnel	Environnement
Nombre de prélèvement	273	57	56	72	28

Tableau 1 : Site et nombre de prélèvements

II. Méthodes

1- Méthodes de prélèvement

1-1- Prélèvement au niveau des surfaces et du personnel soignant

Les prélèvements ont été effectués à partir des instruments utilisés pour soigner les patients, de la surface de plusieurs endroits au niveau du bloc opératoire et des services dans lequel le patient a séjourné et les mains du personnel soignants. La méthode de prélèvement consiste en un écouvillonnage des sites choisis (Mains, surface, drap, lit, table ...etc.). Ces prélèvements subissent un enrichissement par introduction des écouvillons précédents dans le B.G.T suivi d'une incubation à 37C° pendant 24 heures.

1-2- Prélèvement au niveau des plaies infectées

Les prélèvements de pus ont été effectués en respectant les conditions d'aseptise afin de prévenir la contamination. La désinfection des zones de prélèvement été effectué par de l'eau physiologique et de la Bétadine Scrub 4% ou Septidine dermique (solution moussantes pour application cutanée). Lorsqu'il s'agit d'une plaie fermée ou un abcès ; aspirer le pus à l'aide

d'une seringue stérile, et lorsqu'il s'agit des plaies ouvertes ; le prélèvement dans ce cas est fait à l'aide d'un écouvillon stérile. Nous notons que :

- ✓ Le prélèvement doit être réalisé en absence d'antibiothérapie (préalablement 3-4 jours après l'arrêt de tout antibiotique).
- ✓ L'utilisation de deux écouvillons au minimum pour prélèvement (un pour l'examen direct et l'autre pour la culture).
- ✓ Il faut éviter que le prélèvement contienne du sang.

1-3-Fiche de renseignement et transport

Les prélèvements ont été réalisés au service d'orthopédie traumatologie au CHU de Blida, les écouvillons contenant du pus sont immédiatement et correctement étiquetés, une fiche de renseignement doit accompagner chaque prélèvement sur laquelle sont mentionnés : le nom, le prénom, l'âge, la date d'hospitalisation, le site de prélèvement, le traitement et le diagnostic clinique du malade s'il existe, l'acheminement des prélèvements au laboratoire doit être faite le plus tôt possible (**Annexe 02 et Annexe 03**).

2-Examen bactériologique

Il permet l'identification bactérienne par la mise en culture, et l'étude des caractères biochimiques des bactéries.

2-1-Mise en culture et isolement

C'est l'étape la plus importante dans le diagnostic bactériologique, il est effectué par ensemencement sur des milieux gélosés solides.

a-Ensemencement

L'isolement des bactéries à partir de tous les prélèvements a été effectué sur trois milieux de culture sélectifs à savoir :

- ✓ **Milieu hektoen** : utilisé pour l'isolement des bacilles à Gram négatif surtout les entérobactéries grâce à la présence des sels biliaires qui assurent le pouvoir sélectif en limitant le développement des autres bactéries.
- ✓ **Milieu Chapman** : c'est un milieu destiné pour l'isolement des staphylocoques grâce à un taux élevé de NaCl.
- ✓ **Milieu au sang cuit** : milieux d'enrichissement pour les bactéries exigeantes, qui permet en portant le sang à une température voisine de 75°C, une libération des facteurs de croissance dans le milieu grâce au chauffage.

b-Technique

On dépose dans les trois milieux d'isolement une goutte de pus ou de milieu d'enrichissement préalablement ensemencé par les prélèvements de différentes surfaces analysées. La goutte est ensuite ensemencée à la surface du milieu de culture à l'aide d'une pipette Pasteur stérile en utilisant la méthode des quadrants (**Annexe 04**).

c-Incubation

Les boîtes de pétri ensemencées sont placées à l'étuve à 37°C pendant 24 heures, après les avoir bien fermés.

Pour le milieu Chapman l'incubation peut continuer jusqu'à 48 heures si les germes ne poussent pas pendant les 24 heures d'incubation.

La gélose au sang cuit est mise en atmosphère riche en CO₂ (en anaérobiose) à l'aide d'une jarre vidée d'oxygène, l'incubation peut aussi continuer jusqu'à 48 heures (**Annexe 04**)

d-Lecture

Après 24 heures d'incubation, retirer les boîtes de l'étuve, observer la culture bactérienne et remarquer la présence des colonies sur les milieux solides, noter les cultures positives et négatives.

Dans le cas des cultures poly microbiennes (2 types de colonies ou plus), on ré-isole de préférence chaque type de colonie pour obtenir une culture pure dans chaque milieu sélectif.

2-2-Coloration de Gram

a-Principe

La coloration de Gram est la méthode de coloration la plus utilisée en bactériologie médicale; elle permet de colorer les bactéries et de les distinguer à l'examen direct par leur aptitude à fixer le violet de gentiane (Gram positif) ou la fuschine (Gram négatif). L'intérêt de cette coloration est de donner une information rapide et médicalement importante.

b-Technique

• Préparation de frottis

Déposer sur une lame une goutte d'eau physiologique stérile ; et à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, prélever une colonie bien isolée, puis étaler bien la goutte sur la lame par un mouvement régulier et circulaire ; laisser sécher le frottis en flambant sur le bec bunsen.

-Coloration

-Coloration primaire :

- recouvrir le frottis par la solution de violet de Gentiane
- laisser agir pendant 1 min
- rejeter le violet de Gentiane puis rincer à l'eau de robinet

-Mordantage :

-recouvrir la lame avec le lugole et laisser agir pendant 2 minutes.

-Décoloration différentielle :

- décolorer à l'aide de l'alcool à 95% pendant 30 secondes.

- rincer à l'eau courant.

-Contre coloration :

-recouvrir la lame par la fuschine.

-laisser agir pendant 1 minute.

-rejeter la fuschine et laver à l'eau.

-sécher la lame dans l'étuve pour quelques minutes.

c-Lecture

Déposer une goutte d'huile à immersion sur la lame et observer au microscope photonique au grossissement 100.

Les bactéries colorées en violet ont gardé leur coloration primaire grâce à leur paroi épaisse et pauvre en lipide, qui ne laisse pas l'alcool passer, ce sont la bactérie à Gram positif.

Les bactéries colorées en rose ont perdus leur première coloration à cause de leur paroi riche en lipides, qui laisse diffuser l'alcool qui à son tour décolore le contenu intracellulaire ; ce sont les bactéries Gram négatif.

2-3-Identification biochimique des bactéries

2-3-1-Identification des bacilles a Gram négatif

2-3-1-1-Test d'oxydase

-Principe

La recherche de l'oxydase est le caractère de base de la différenciation entre les entérobactéries et les *Pseudomonas* ; le test d'oxydase met en évidence la présence d'une cytochrome-oxydase qui oxyde la cytochrome C réduit, grâce à des réactifs ayant le même potentiel d'oxydo-réduction que le cytochrome C, selon la réaction suivante :

Cytochrome oxydase + réactif (l'oxalate de dimethyl-paraphenyle diamine) → leur violet

-Technique

Placer un disque imprégné d'oxalate de dimethyl-paraphenyle diamine sur une lame porte objet, l'imbiber avec une goutte d'eau distillée stérile.

A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, prélever une colonie de la culture à étudier et la déposer sur disque.

-Lecture

La réaction est instantanée, l'apparition en 10 à 30 secondes d'une couleur allant de violet à pourpre indique un test positif, la bactérie est dite oxydase positive.

La réaction tardive ou l'absence de couleur indique un test négatif, donc la bactérie est dite oxydase négative.

2-3-1-2-Identification des entérobactéries à l'aide du système API 20 E

API 20 E est un système standard pour l'identification facile et précise des entérobactéries comprenant 20 tests biochimiques miniaturisés.

- **Principe**

La galerie API 20 E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés, les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests (la suspension bactérienne introduite dans le tube dissout les substrats déshydratés).

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs.

- **Préparation de la galerie**

Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la sortie de la galerie de son emballage.

Déposer la galerie dans la boîte d'incubation.

- **Préparation de l'inoculum**

L'inoculum est préparé de façon à obtenir après incubation des colonies justes confluentes. Il est obtenu à partir d'une culture jeune de 18 à 24 heures. Prélever au moins 3 colonies de la bactérie et émulsionner dans 5 ml de l'eau physiologique stérile. Ajuster la concentration de la suspension à 0,5 MC.

- **Inoculation de la galerie**

Selon les tests, la suspension bactérienne doit être placée uniquement dans le tube ou dans le tube et la cupule.

Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide de la même pipette. Pour éviter la formation des bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte vers l'avant.

Remplir complètement le tube et la cupule des tests (signe de test est encadré) : CIT, VP, et GEL avec la suspension bactérienne.

Remplir uniquement les tubes des autres tests : ONPG, TDA, IND, GLU, MAN, INO, SOR, RHA, SAC, MEL, AMY, ARA, ADH, LDC, ODC, URE, et H₂S avec l'inoculum.

Créer une anaérobiose dans les tests (signe de test est souligné) : ADH, LDC, ODC, URE, et H₂S, en remplissant leur cupule par l'huile de vaseline stérile.

Renfermer la boîte d'incubation et la placer à l'étuve à 37°C pendant 18-48 heures.

Ne pas jeter l'excédent de suspension bactérienne (voir réalisation de l'antibiogramme).

- **Lecture**

Après incubation, lire les réactions conformément au Tableau de Lecture (**Annexe 05**) en ajoutant 1 goutte de chacun des réactifs suivants :

Test VP : VP 1 et VP 2. Attendre 10 minutes.

Test indole : réactif de Kovacs. Attendre 10 minutes.

Test TDA : réactif TDA. Lecture immédiat

2-3-1-3-Identification des autres bacilles à Gram négatif à l'aide du système API 20 NE

API 20 NE (Figure 11) est un système standardisé pour l'identification des bacilles à Gram négatif non enterobactéries et non fastidieux (ex. *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, etc.).

- **Principe**

La galerie API 20NE est composée de 20 microtubes (surmontés de cupules) contenant des substrats déshydratés, qui permettent de réaliser 20 tests biochimiques dont 8 tests conventionnels et 12 tests d'assimilation. Le test oxydase constitue le 21^{ème} test d'identification à effectuer hors galerie. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

- **Préparation de la galerie**

La préparation de cette galerie se fait de la même manière que la galerie API 20E.

- **Préparation de l'inoculum**

Deux milieux sont fournis avec cette galerie pour préparer l'inoculum :

API NaCl 0,85% Medium en ampoule de 2 ml

API AUX Medium (milieu minimum = contenant entre autres des vitamines et des oligoéléments)

A partir d'une culture pure de 18 à 24 heures d'un bacille Gram négatif (non entérobactérie et non fastidieux) sur une gélose Hektoen (par exemple), prépare une suspension

bactérienne homogène d'opacité égale à 0,5 MC Farland dans une ampoule d'API NaCl 0,85% Medium ou dans un tube contenant 2 ml de solution saline à 0,85% sans additifs.

- **Inoculation de la galerie**

Remplir les microtubes (et non les cupules) des tests NO₃ à PNPG avec la suspension préparée bien ajustée à 0,5 Mc Farland.

Transférer ensuite 200 µL environ de la suspension précédente dans une ampoule d'API AUX Medium et Homogénéiser avec la pipette en évitant la formation de bulles. Remplir les microtubes et les cupules des tests GLU à PAC.

Remplir d'huile de paraffine des cupules des trois tests soulignés (GLU, ADH, URE) afin d'obtenir une anaérobiose.

Incuber la galerie dans sa boîte d'incubation à 29 ± 2°C pendant 24 ± 2 heures.

- **Lecture**

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au Tableau de Lecture (Annexe 06).

La révélation des deux tests NO₃ et TRP doit se faire en mettant les tests d'assimilation

- Test NO₃ : ajouter une goutte de réactifs NIT 1 et NIT 2 dans la cupule NO₃. Après 5 mn, une couleur rouge indique une réaction positive, à noter sur la fiche de résultats. Une réaction négative peut être due à la production d'azote, ajouter 2-3 mg de réactif Zn dans la cupule NO₃. - Après 5 mn, une cupule restée incolore indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats. Si la cupule devient rose-rouge, la réaction est négative car les nitrates encore présents dans le tube ont alors été réduits en nitrites par le zinc.

- Test TRP : ajouter une goutte de réactif JAMES. Une couleur rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive.

2-3-1-4-Identification des espèces *Haemophilus* à l'aide du système API NH

API NH est un système standardisé pour l'identification des *Neisseria*, *Haemophilus* (et genres apparentés) et *Moraxella catarrhalis* (*Branhamella catarrhalis*) comprenant des tests miniaturisés, ainsi qu'une base de données.

- **Principe**

La galerie API NH comporte 10 microtubes contenant des substrats déshydratés, pour réaliser 12 tests d'identification (réactions enzymatiques ou fermentations de sucres), ainsi que la recherche d'une pénicillinase (notamment chez *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Moraxella catarrhalis* (*Branhamella catarrhalis*) et *Neisseria gonorrhoeae*). Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

- **Préparation de la galerie**

La préparation de cette galerie se fait de la même manière que la galerie API 20E.

- **Préparation de l'inoculum**

Ouvrir une ampoule d'API NaCl 0,85 % Medium (2 ml) (ampoule sans bouchon compte-gouttes).

A l'aide d'un écouvillon, prélever plusieurs colonies bien isolées et réaliser une suspension d'opacité égale à celle de l'étalon 4 de McFarland, en veillant à bien homogénéiser.

Utiliser préférentiellement des cultures jeunes (18-24 heures).

- **Inoculation de la galerie**

Répartir la suspension bactérienne précédente dans les cupules en évitant la formation de bulles (pour cela, incliner la boîte d'incubation vers l'avant et placer la pointe de la pipette sur le côté de la cupule) :

Remplir uniquement la partie tube des 7 premiers microtubes (PEN à URE) : 50 µl environ.

Remplir tube et cupule des 3 derniers microtubes, LIP/ProA, PAL/GGT, βGAL/IND : 150 µl environ, en veillant à ne pas créer un ménisque convexe.

Recouvrir les 7 premiers tests (PEN à URE) d'huile de paraffine (tests soulignés

Refermer la boîte d'incubation. Incuber 2 à 2 H 15 à 36°C en atmosphère aérobie.

- **Lecture**

Après incubation, lire les réactions en se reportant au Tableau de Lecture (**Annexe 07**) de la notice technique : Lire les réactions spontanées et les noter sous forme de positif ou négatif sur la fiche de résultats.

Les 3 derniers microtubes sont bifonctionnels et permettent la réalisation de 2 réactions dans le même tube : LIP (réaction spontanée) / ProA (réaction après addition de réactif).

PAL (réaction spontanée) / GGT (réaction après addition de réactif).

βGAL (réaction spontanée) / IND (réaction après addition de réactif).

Les résultats des réactions LIP, PAL et βGAL doivent être notés avant l'addition de réactif.

Ajouter 1 goutte de réactif ZYM B dans les microtubes: LIP/ProA et PAL/GGT.

Ajouter 1 goutte de réactif JAMES dans le microtube 1: βGAL/IND.

Attendre 3 minutes et lire les réactions en se référant au Tableau de Lecture de la notice technique.

2-3-2-Identification des cocci à Gram positif

A partir des colonies isolées sur Chapman et Gélose au sang cuite et selon l'observation sous microscope (mode de regroupement) on peut s'orienter s'il s'agit de streptocoques (cocci Gram positif en chaînette) ou de staphylocoques (cocci Gram négatif en amas), la confirmation se fait par le test de catalase, si les bactéries sont catalase négative ce sont donc des streptocoques, par contre si les bactéries possèdent une catalase nous orienterons vers les staphylocoques.

2-3-2-1-Recherche de la catalase

- **Principe**

Le test de catalase est effectué dans le cas des bactéries à Gram positif et spécifiquement pour les cocci.

La catalase est une enzyme du système respiratoire présente chez la plupart des bactéries aérobies ou anaérobies ayant un métabolisme oxydatif. Elle empêche l'accumulation de l'eau oxygénée toxique apparaissant au cours de certaines réactions métaboliques, selon la réaction suivante :



- **Technique**

-Déposer sur une lame propre, une goutte d'eau oxygénée.

-Prélever un petit fragment de la colonie à étudier à l'aide d'une pipette Pasteur, le déposer sur la lame et mélanger (éviter de prélever à partir de gélose au sang, car les GR ont leur propre catalase qui peut fausser le résultat).

- **Lecture**

S'il ya dégagement de bulle de gaz, cela indique que le test est positif, donc la bactérie est catalase positive.

Par contre s'il n'y a pas de dégagement de bulle de gaz cela indique un test négatif, donc la bactérie est catalase négative.

2-3-2-2-Test spécifiques aux Staphylocoque

Test de coagulase

- **Principe**

Ce test permet la différenciation entre l'espèce *Staphylococcus aureus* et les autres espèces de staphylocoques.

Le *Staphylococcus aureus* possède une coagulase (enzyme) capable de coaguler le plasma humain par transformation de fibrinogène en fibrine.

- **Technique**

Dans un tube à essai, on met 2 ml de plasma humaine, puis on ajoute 2 ml d'une suspension bactérienne, puis on l'incube dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures.

Un tube témoin va servir comme un contrôle du test et pour valider le résultat (pour confirmer que le plasma est incapable de se coaguler seule).

- **Lecture**

Lire au bout de 2h, si c'est négatif laisser jusqu'à 24h, s'il ya une coagulation de plasma ; le fibrogène a été transformé en fibrine. La bactérie est dite coagulase positive.

2-3-2-3-Identification des staphylocoques a coagulase négatif

- **Galerie API Staph**

API Staph est un système standardisé pour l'identification des genres *Staphylococcus*, *Micrococcus* et *Kocuria* comprenant des tests biochimiques miniaturisés ainsi qu'une base de données.

- **Principe**

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

- **Préparation de la galerie**

La préparation de cette galerie se fait de la même manière que la galerie API 20E.

- **Préparation de l'inoculum**

Ouvrir une ampoule d'API Staph Medium. Préparer une suspension bactérienne homogène, d'opacité égale à 0,5 de McFarland.

Utiliser préférentiellement des cultures jeunes (18-24 heures).

- **Inoculation de la galerie**

A l'aide d'une pipette ou d'une pipette, remplir les tubes de la galerie avec API Staph Mediumensemencé. Ne remplir que les tubes et non les cupules, sans dépasser le niveau du tube.

Pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant.

Créer une anaérobiose dans les tests ADH et URE en remplissant leur cupule d'huile de paraffine pour former un ménisque convexe.

Renfermer la boîte d'incubation.

Incuber à 36° C pendant 18-24 heures.

- **Lecture de la galerie**

Après incubation, lire les réactions conformément au Tableau de Lecture (**Annexe 08**) en ajoutant 1 goutte de chacun des réactifs suivants :

Test VP : VP 1 et VP 2. Attendre 10 minutes.

Test NIT : NIT 1 et NIT 2. Attendre 10 minutes.

Test PAL : ZYM A et ZYM B. Attendre 10 minutes.

2-3-2-4-Identification des entérocoques

- **Galerie API 20 Strep**

API 20 Strep est un système standardisé associant 20 tests biochimiques qui présentent un grand pouvoir discriminant. Il permet de faire un diagnostic de groupe ou d'espèce pour la plupart des streptocoques, entérocoques et pour les germes apparentés les plus courants.

- **Principe**

La galerie API 20 Strep comporte 20 microtubes contenant les substrats déshydratés pour la mise en évidence d'activités enzymatiques ou de fermentation de sucres. Les tests enzymatiques sont inoculés avec une suspension dense, réalisée à partir d'une culture pure, qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. Les tests de fermentation sont inoculés avec un milieu enrichi (contenant un indicateur de pH) qui réhydrate les sucres. La fermentation des carbohydrates entraîne une acidification se traduisant par un virage spontané de l'indicateur coloré.

- **Préparation de la galerie**

La préparation de cette galerie se fait de la même manière que la galerie API 20E.

- **Préparation de l'inoculum**

Ouvrir une ampoule d'API Suspension Medium (2 ml) comme ou utiliser un tube contenant 2 ml d'eau distillée sans additif.

A l'aide d'un écouvillon, prélever toute la culture préalablement préparée.

Réaliser une suspension très dense : opacité supérieure à 4 de McFarland.

- **Inoculation de la galerie**

Dans la première moitié de la galerie (tests VP à ADH) répartir la suspension précédente en évitant la formation de bulles (pour cela, incliner la boîte d'incubation vers l'avant et placer la pointe de la pipette sur le côté de la cupule) :

- pour les tests VP à LAP : environ 100 µl dans chaque cupule.
- pour le test ADH : remplir uniquement le tube.

Dans la deuxième moitié de la galerie (tests RIB à GLYG) :

- ouvrir une ampoule d'API GP Medium comme et y transférer le reste de la suspension, soit 0,5 ml au minimum. Bien homogénéiser.
- répartir cette nouvelle suspension dans les tubes uniquement. Remplir les cupules des tests soulignés ADH à GLYG avec de l'huile de paraffine en formant un ménisque convexe.

Refermer la boîte d'incubation. Incuber à $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ en aérobiose pendant 4 heures à 4 heures et 30 minutes pour une première lecture et 24 heures si nécessaire pour une deuxième lecture.

- **Lecture**

Lecture de la galerie Après 4 heures d'incubation : Ajouter les réactifs :

- test VP : 1 goutte de VP 1 et VP 2.
- test HIP : 2 gouttes de NIN.
- tests PYRA, DGAL, β GUR, β GAL, PAL, LAP : 1 goutte de ZYM A et ZYM B.

Attendre 10 minutes, puis lire toutes les réactions en se référant au Tableau de Lecture (Annexe 09).

2-4-Etude de la résistance des bactéries aux antibiotiques

Cette étude est réalisée par l'antibiogramme.

- **Principe**

Antibiogramme est un examen de laboratoire courant, qui consiste en la détermination de la sensibilité d'une bactérie aux antibiotiques. La méthode de diffusion dite « des disques » en milieu solide est la plus simple. Elle est réalisée dans une boîte de Pétri et consiste à ensemercer en surface un milieu solide par inondation de la souche à tester. Des quantités connues des composés antimicrobiens sont déposées sur des disques de papier-filtre qui sont ensuite placés en surface de la gélose. Le développement ou non des bactéries autour du disque renseigne sur la sensibilité de la bactérie à l'antibiotique testé (**Crouzilles, 2012 ; Madigan et Martinko, 2007 ; Rahal, 2008**).

- **Technique**

L'antibiogramme est pratiqué selon la méthode de NCCLS (National Comite For Clinical Laboratory Standard) recommandé par l'OMS (Organisation Mondiale de la santé) sur le milieu choisi Mueller-Hinton (MH) ensemencé par la suspension bactérienne à étudier.

Nous avons utilisé le milieu Mueller-Hinton seul pour toutes les bactéries sauf celles qui sont exigeants pour lesquelles nous avons utilisé le même milieu supplémenté du sang. Les milieux ont été coulé en boites de pétri sur une épaisseur de 4 mm et séché avant l'emploi.

- **Préparation de l'inoculum**

L'inoculum est préparé de façon à obtenir après incubation des colonies juste confluentes. Il est obtenu à partir d'une culture jeune de 18 à 24 heures. Prélever au moins 3 colonies de la bactérie et émulsionner dans 5 ml de l'eau physiologique stérile. Ajuster la concentration de la suspension à 0,5 MC.

- **Ensemencement**

Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.

L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin décharger au maximum.

Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrée.

Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boite de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boites de pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois (**Rahal ,2008**).

- **Application des disques d'antibiotiques**

Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boite de 90 mm (Figure14).

Pour les bactéries exigeantes (*Streptococcus* spp, *Haemophilus* spp), ne pas mettre plus de 4 disques par boite de 90 mm.

Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces bactériologiques stériles et ne pas déplacer les disques après application (**Rahal, 2008**).

Les antibiotiques testés différent selon la bactérie isolée (**Annexe 10**).

- **Condition d'incubation**

Respecter la température, l'atmosphère et la durée d'incubation recommandée pour chaque bactérie (voir partie identification biochimique des bactéries).

- **Lecture**

Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition (Figure 15) à l'aide d'un pied à coulisse.

Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes (**Annexe 11, 12, 13**).

Classer la bactérie dans l'une des catégories Résistant (R), Intermédiaire (I), Sensible(S) (**Rahal, 2008**).

2-5-Recherche de la résistance des staphylocoques à la méticilline (SARM)

- **Technique**

La résistance du staphylocoque a l'oxacilline est recherchée à l'aide d'un disque de céfoxitine (30 ug) dans les conditions standard de l'antibiogramme pour l'identification de caractère MRSA, car cet antibiotique semble favoriser l'expression de la résistance à la méticilline chez les souches de staphylocoques **Selon Rahal (2008)**.

- **Lecture**

La lecture d'un diamètre d'inhibition doit se faire à l'aide d'un pied à coulisse en se référant à la table de lecture (**Annexe 11**) :

- ✓ Si le diamètre de céfoxitine est inférieur ou égale 19 mm, la souche est dite MRSA.
- ✓ Si le diamètre de céfoxitine est supérieur ou égale 20 mm, la souche est dite sensible à l'oxacilline.

Résultat et discussion

Résultat et discussion

Résultat et discussion

1-Répartition des résultats selon la positivité et la négativité des différents prélèvements

Les résultats obtenus durant notre travail au laboratoire d'analyse bactériologique de l'hôpital Frantz Fanon, montrent que sur 488 prélèvements effectués à partir des différents sites, 151 se sont révélés positifs avec un taux de 30,94%, les 337 prélèvements restants représentent un taux de 69,06%, ces derniers sont négatifs (Tableau 02, Figure 01).

Tableau 02 : Répartition des résultats selon la positivité et la négativité des différents prélèvements.

Positivité et Négativité	Prélèvements positifs	Prélèvements négatifs	Total
Nombre de prélèvements	151	337	488
Pourcentage (%)	30,94	69,06	100

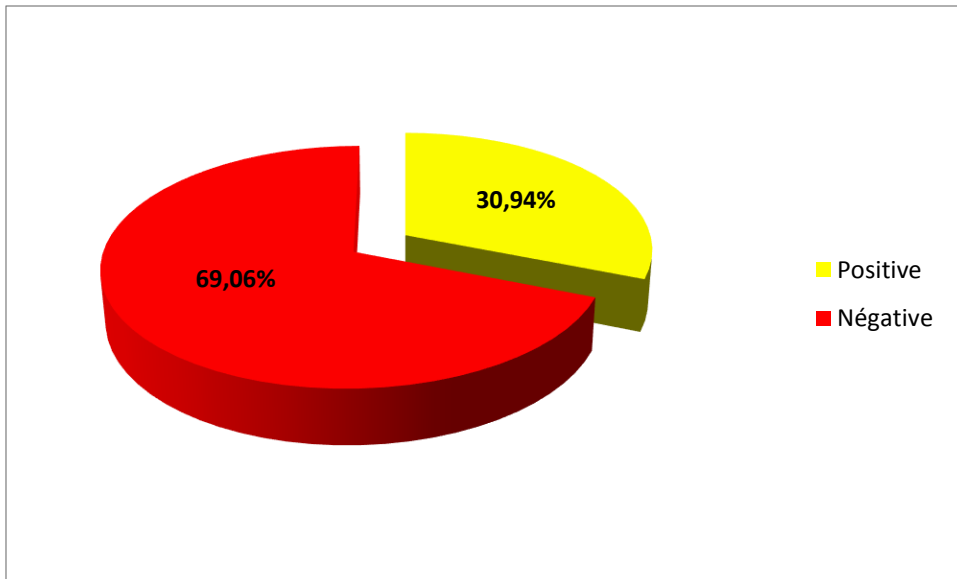


Figure 01 : Répartition des résultats selon la positivité et la négativité des différents prélèvements.

2-Répartition des résultats selon les différents sites de prélèvements

Nous avons obtenu un taux de positivité variable selon les sites de prélèvement. On a constaté que l'environnement représente le taux de positivité le plus élevée avec un taux de 100%, suivi par le bloc opératoire 62,5%, le personnel occupe la troisième position avec un taux de 50%, les instruments et les patients occupent la dernière position avec un taux plus faible de 26,31% ,12,82% respectivement (**Figure 002**).

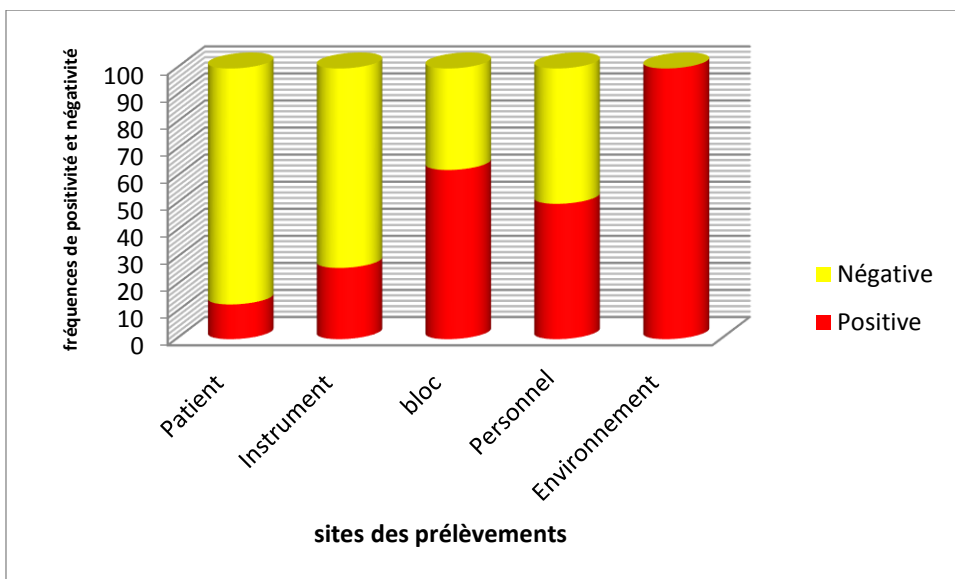


Figure 02 : Répartition des résultats positifs et négatifs selon les différents sites de prélèvements.

3-fréquence générale des bactéries isolées

Nous avons obtenu une très grande diversité des bactéries sur l'ensemble des souches isolées à partir de différent site de prélèvement. Nous avons identifié environ 23 genres et plusieurs espèces. La dominance du genre *Staphylococcus* est très remarquable avec 122 souches isolées. Ces souches sont réparties sur les espèces *Staphylococcus aureus* (99 souches) et *Staphylococcus epidermidis* (23 souches). En deuxième position on trouve les entérobactéries (33 souches) dont les espèces dominantes sont *Enterobacter cloacae* avec 10 souches, et *Klebsiella pneumoniae* avec 6 souches. En troisième position on note la présence *Acinetobacter baumannii* (10 souches) et *Pseudomonas aeruginosa* (9 souches). Les autres genres identifiés sont rarement isolés (1 à 2 souches par genre) (Figure 03).

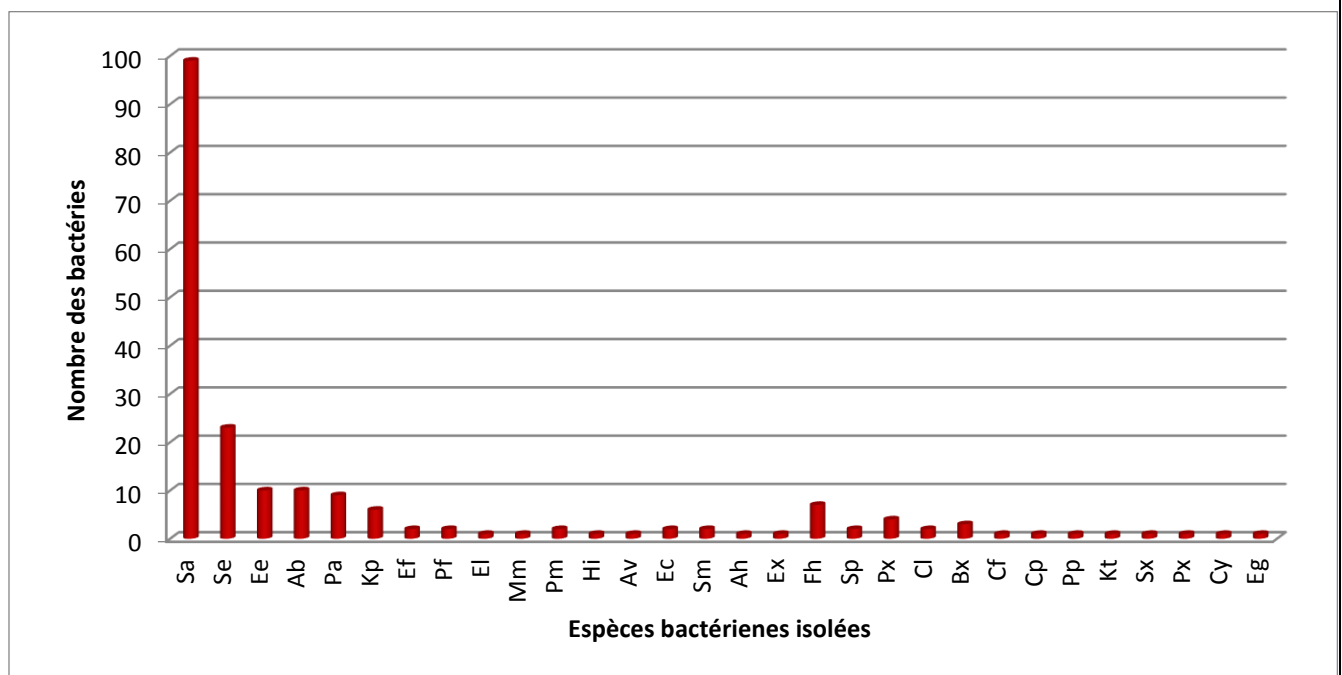


Figure 03 : fréquence générale des bactéries isolées.

Sa : *Staphylococcus aureus* , **Se** : *Staphylococcus epidermidis*, **Ee** : *Enterobacter cloacae*, **Ab** : *Acinetobacter baumannii*, **Pa** : *Pseudomonas aeruginosa*, **Kp** : *Klebsiella pneumoniae*, **Ef** : *Enterococcus faecium*, **Pf** : *Pseudomonas fluorescens*, **El** : *Enterococcus faecalis*, **Mm** : *Morganella morganii*, **Pm** : *Proteus mirabilis*, **Hi** : *Haemophilus influenzae*, **Av** : *Aeromonas*

viridans, **Ec** : *Escherichia coli*, **Sm** : *Serratia marcescens*, **Ah** : *Aeromonas hydrophila*, **Ex** : *Enterococcus sp*, **Fh** : *Flavimonas oryzihabitans*, **Sp** : *Serratia plymuthyca*, **Px** : *Pantoea spp 3*, **Cl** : *Chryseomonas lutesla*, **Bx** : *Bordetella sp*, **Cf** : *Citrobacter freundii*, **Cp** : *Cedecea lapagei*, **Pp** : *Pasteurella pneumotropica*, **Kt** : *klebsiella terrigena*, **Sx** : *streptococcus sp*, **Px'** : *Pantoea spp1*, **Cy** : *citrobacter yongae*, **Eg** : *Enterobacter cancerogenus*.

4-Répartition des espèces identifiées selon les différents sites de prélèvement

4-1- Fréquence des bactéries isolées à partir des patients

Nous avons obtenu une très grande diversité des bactéries isolées à partir des patients. On constate que *S. aureus* occupe la première position de l'ensemble des germes isolés avec un pourcentage de 31,481%. En deuxième position vient *Acinetobacter baumannii* et *Enterbacter cloacae* (11,111%) suivie de *Pseudomonas aeruginosa* (9,259%) et *Klebsiella pneumoniae* (7,407%). D'autres espèces bactériennes ont été isolées avec des taux relativement faibles à savoir *S. epidermidis*, *S. marescens* et *E. faecium* (3,704%) et *H. influenzae*, *P.fluorescens*, *E.faecalis*, *M.morganii*, *A. viridans*, *S.marcescens*, *A.hydrophila*, *Enterococcus sp* et *E.coli* (2,04%) (Figure 04).

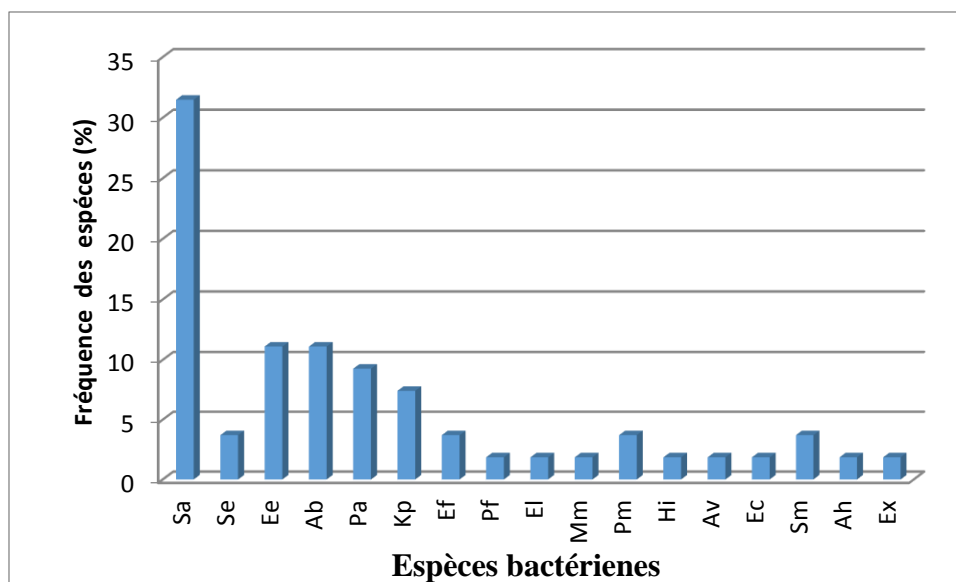


Figure 04 : Répartition des espèces identifiées chez les patients.

Sa : *Staphylococcus aureus*, **Se** : *Staphylococcus epidermidis*, **Ee** : *Enterobacter cloacae*, **Ab** : *Acinetobacter baumannii*, **Pa** : *Pseudomonas aeruginosa*, **Kp** : *Klebsilla pneumoniae*, **Ef** : *Enterococcus faecium*, **Pf** : *Pseudomonas fluorescens*, **El** : *Enterococcus faecalis*, **Mm** :

Morganella morganii, **Pm** : *Proteus mirabilis*, **Hi** : *Haemophilus influenzae*, **Av** : *Aeromonas viridans*, **Ec** : *Escherichia coli*, **Sm** : *Serratia marcescens*, **Ah** : *Aeromonas hydrophila*, **Ex** : *Enterococcus sp.*

4-2 Fréquence des bactéries isolées à partir des instruments

Les bactéries isolées à partir des instruments ont été affiliées à deux espèces des genres *Staphylococcus* uniquement qui sont *S.aureus* (80%) et *S.epidermidis* (20%) (Figure 05).

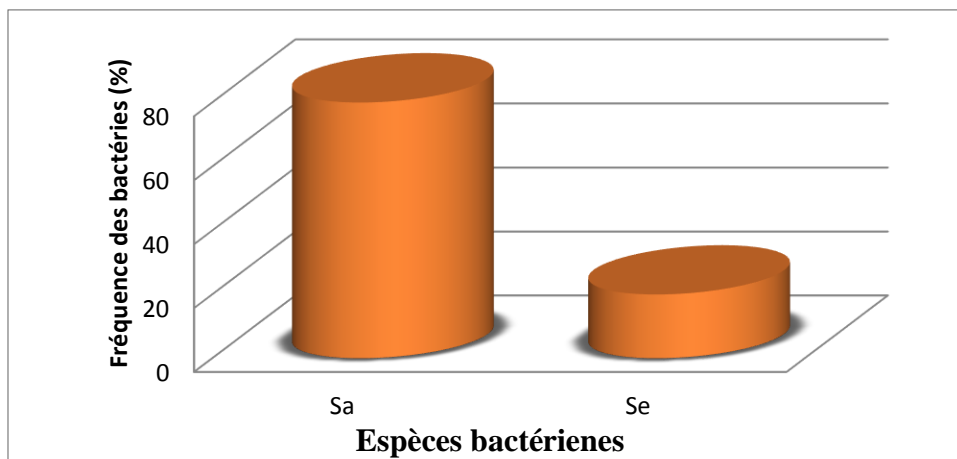


Figure 5 : Répartition des espèces identifiées au niveau des instruments.

Sa : *Staphylococcus aureus*, **Se** : *Staphylococcus epidermidis*.

4-3-Fréquence des bactéries isolées au niveau du bloc opératoire

L'ensemble des bactéries isolées au niveau du bloc opératoire sont rattachées à 7 espèces différentes. *S. aureus* occupe toujours la première place (62,85%) suivie de *S. epidermidis* (17,14%). Les autres espèces sont présentes avec des taux plus faibles. Nous avons enregistré un taux de 5,71% pour *Acinetobacter baumannii* et *Bordetella spp* et un taux 2,85% de pour *Serratia plymuthyci* *citrobacter yongae*, *enterobacter cancerogenus* (Figure 06).

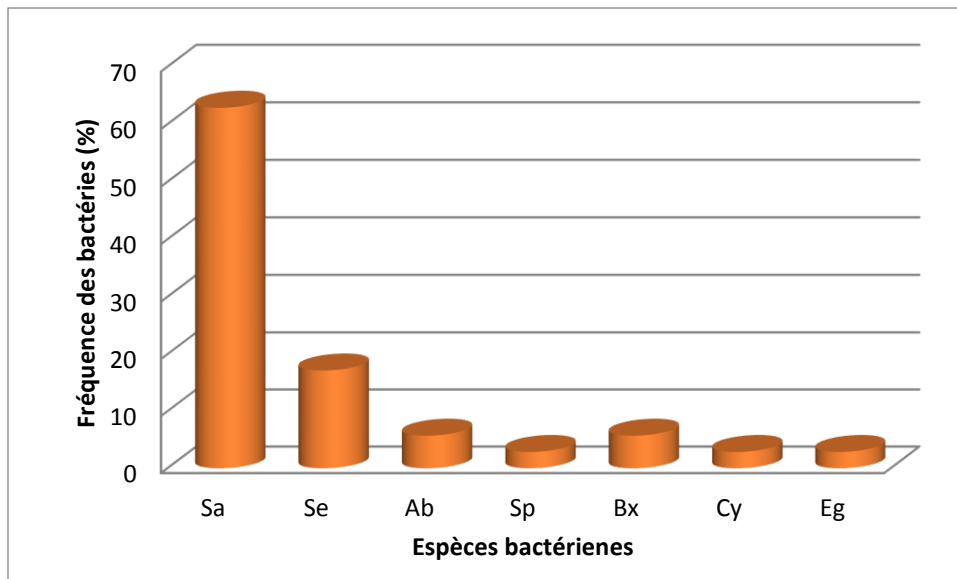


Figure 06 : Répartition des espèces identifiées au niveau du bloc opératoire.

Sa : *Staphylococcus aureus*, **Se** : *Staphylococcus epidermidis*, **Ab** : *Acinetobacter baumannii*, **Sp** : *Serratia plymuthica*, **Bx** : *Bordetella sp*, **Cy** : *Citrobacter yongae*, **Eg** : *Enterobacter cancerogenus*.

4-4-Fréquence des bactéries à partir du personnel

Un total de 46 bactéries a été isolé à partir du personnel de l'hôpital Frantz fanon. La majorité de ces bactéries appartient à l'espèce *S.aureus* (60,86%). Les autres espèces identifiées sont *S.epidemidis* (13,04%), *F.orizihabitans* (10,86%) *Pantoea spp* (4,347%), *Serratia plymuthica*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bordetella sp.*, *Chryseomonas lutesla* (2,17% pour chaque espèce) (Figure 07).

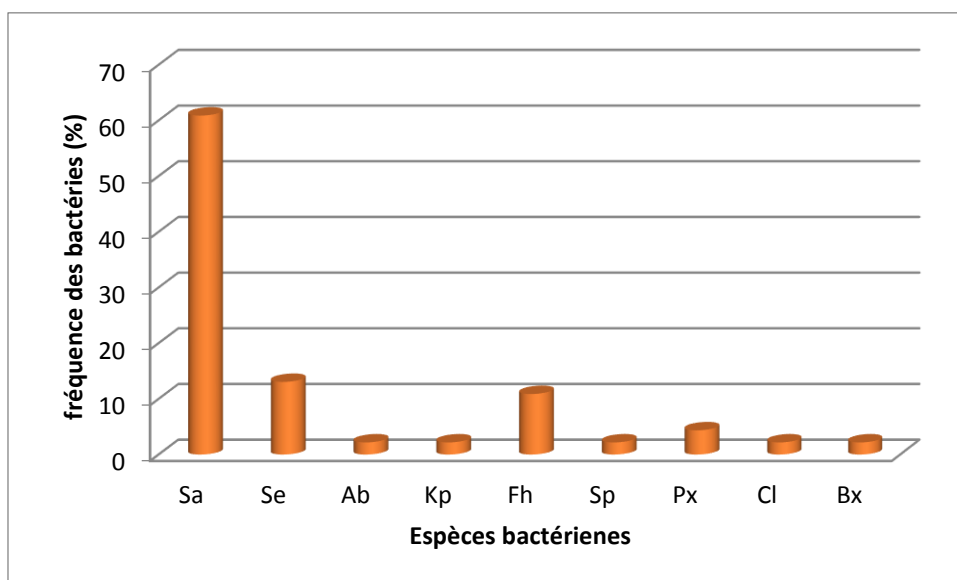


Figure 07 : Répartition des espèces identifiées chez le personnel.

Sa : *Staphylococcus aureus*, **Se** : *Staphylococcus epidermidis*, **Ab** : *Acinetobacter baumannii*, **Kp** : *Klebsilla pneumoniae*, **Fh** : *Flavimonas oryzihabitans*, **Sp** : *Serratia plymuthyca*, **Px** : *Pantoea spp 3*, **Cl** : *Chryseomonas lutesla*, **Bx** : *Bordetella sp.*

4-5-Fréquence des bactéries isolées à partir de l'environnement hospitalier

S. aureus domine dans l'environnement hospitalier (40,81%) suivie de *S. epidermidis* (12,24%). D'autres espèces bactériennes ont été détectées à savoir *E.cloacae*, *P.aeruginosa* (8,16 % pour chaque espèce) *F. oryzihabitans*, *Pantoea sp.* (4,08 %) et *A.baumannii*, *K.pneumoniae*, *P.fluorescens*, *E.coli*, *C. lutesla*, *C. freundii*, *C. lapagei*, *P.pneumotropica*, *K.terrigena*, *Streptococcus sp*, *Pantoea spp1* (2,04 % pour chaque espèce) (Figure 08).

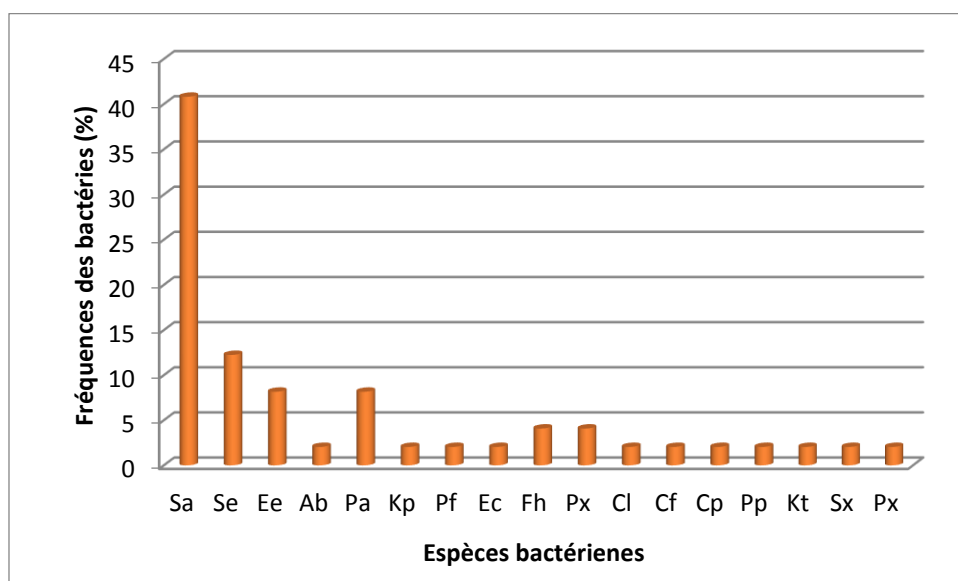


Figure 08 : Répartition des espèces identifiées au niveau de l'environnement.

Sa : *Staphylococcus aureus*, **Se** : *Staphylococcus epidermidis*, **Ee** : *Enterobacter cloacae*, **Ab** : *Acinetobacter baumannii*, **Pa** : *Pseudomonas aeruginosa*, **Kp** : *Klebsilla pneumoniae*, **Pf** : *Pseudomonas fluorescens*, **Ec** : *Escherichia coli*, **Fh** : *Flavimonas oryzihabitans*, **Sp** : *Serratia plymuthyca*, **Px** : *Pantoea spp 3*, **Cl** : *Chryseomonas lutesla*, **Cf** : *Citrobacter freundii* ,

Cp ; *Cedecea lapagei* , **Pp** : *Pasteurella pneumotropica*, **Kt** : *klebsiella terrigena*, **Sx** ; *streptococcus sp*, **Px'** : *Pantoea spp1*

5-Répartition de la résistance de souches isolées selon l'antibiotique testé

5-1 Profil de résistance des souches de *Staphylococcus aureus*

L'ensemble des souches de *S. aureus* (99 souches) ont montré une résistance totale contre la pénicilline et une sensibilité totale vis-à-vis le chloramphénicol. Cependant, une variabilité dans la résistance a été enregistrée contre les autres antibiotiques testés. On note que 8% des souches de *S. aureus* présente une résistance vis-à-vis de tous les antibiotiques testés à l'exception de chloramphénicol (Figure 09).

5-1-1 Profil de résistance des souches de *Staphylococcus aureus* provenant des patients

Les 17 souches de *S.aureus* isolés à partir des patients ont montré :

Une faible résistance vis-à-vis la cotrimoxazole (12,5%), la rifamycine (25%), la clindamycine (25%), la gentamicine (25%), l'erythromycine (31,25%), la ciprofloxacine (31,25%).

Une résistance moyenne vis-à-vis de la l'oxacilline, la céfoxitine et l'acide fusidique (56,25%) (Figure 09).

5-1-2 Profil de résistance des souches de *Staphylococcus aureus* provenant des instruments

Les 12 souches isolées du *S.aureus* à partir des instruments montrent:

Une faible résistance vis-à-vis la rifamycine (8,33%), de l'oxacilline (8,33%), la céfoxitine (8.33%), la ciprofloxacine (16.16%), la gentamicine (25%), la cotrimoxazole (33,33%), la clindamycine (41.66%), l'erythromycine (41.66%).

Une résistance moyenne des souches vis-à-vis de l'acide fusidique avec un taux de (58,33%) (Figure 09).

5-1-3 Profil de résistance des souches de *Staphylococcus aureus* provenant du bloc opératoire

Les 22 souches isolées du *S.aureus* à partir du bloc opératoire montrent:

Une faible résistance vis-à-vis de la rifamycine (22,72%), la ciprofloxacine (22,72%), l'oxacilline (40,90%), le céfoxitine (40,90%) la gentamicine (40,90%).

Une résistance moyenne des souches vis-à-vis de l'acide fusidique (50%), l'érythromycine (50%), la clindamycine (54,54%), la cotrimoxazole (59,09%) (Figure 09).

5-1-4 Profil de résistance des souches de *Staphylococcus aureus* provenant du personnel de l'hôpital

Les 28 souches du *S.aureus* isolés chez le personnel montrent:

Une faible résistance vis-à-vis de la rifamycine (17,85%), la ciprofloxacine (17,85%), l'oxacilline (32,14%), la céfoxitine (32,14%) la gentamicine (35,71%), la cotrimoxazole (35,71%), l'érythromycine (42,85%).

Une résistance moyenne des souches vis-à-vis de l'acide fusidique (57,14%), la clindamycine (53,57%) (Figure 09).

5-1-5 Profil de résistance des souches de *Staphylococcus aureus* provenant de l'environnement hospitalier

Les 20 souches isolées du *S.aureus* à partir de l'environnement montrent:

Une faible résistance vis-à-vis de la rifamycine (20%), la ciprofloxacine (25%), l'oxacilline (35%), la céfoxitine (35%) la gentamicine (45%).

Une résistance moyenne des souches vis-à-vis de l'érythromycine (60%). L'acide fusidique (55%), la clindamycine (55%), la cotrimoxazole (55%) (Figure 09).

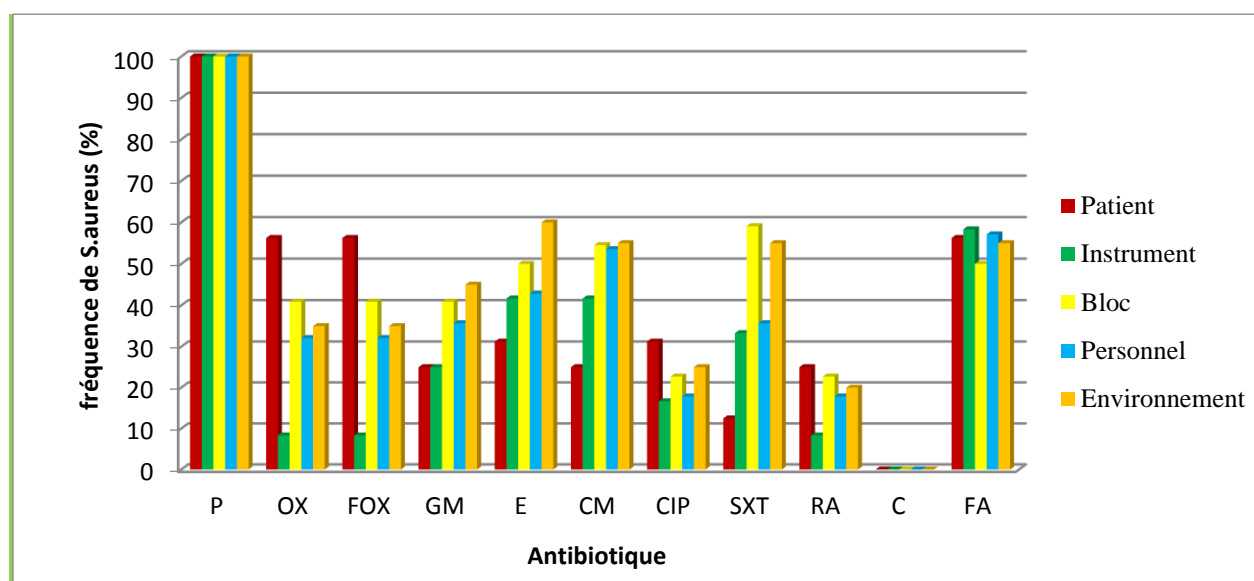


Figure 09 : Répartition des résultats de l'antibiorésistances chez les souches des *S.aureus*.

P : Pénicilline G, **OX** : Oxacilline, **FOX** : Céfoxitine, **GM** : Gentamicine, **C** : Chloramphénicol, **E** : Erythromycine, **CM** : Clindamycine, **FA** : Acide fusidique, **RA** : Rifamycine, **CIP** : Ciprofloxacine, **SXT** : Cotrimoxazole.

- **Résistance des *staphylococcus aureus* a la métticillines (SARM)**

Sur l'ensemble des souches de *S. aureus* (99 souches) isolées 21 souches ont montré une résistance totale contre la métticilline avec un taux de 21,21% (Figure 10).

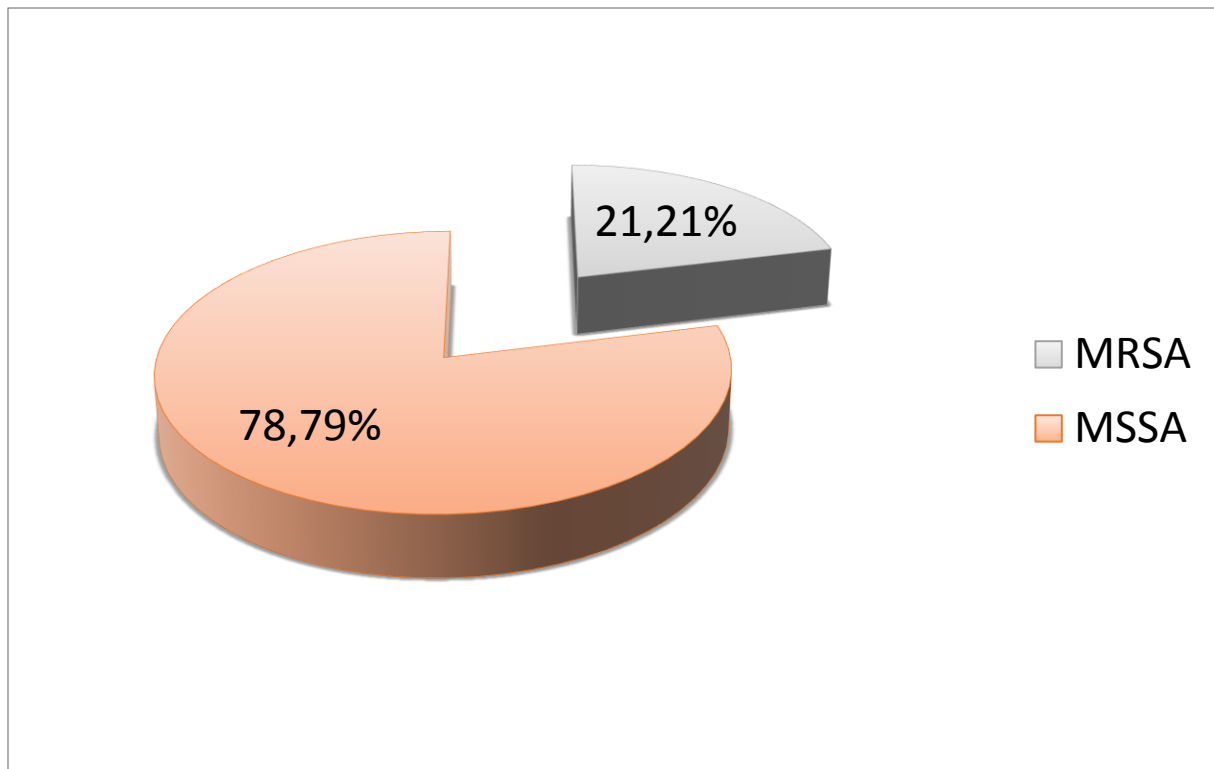


Figure 10 : répartition des souches de *Staphylococcus aureus* selon la résistance à la méticilline.

5-2 Profil de résistance des souches de *Staphylococcus epidermidis*

L'ensemble des souches de *S. epidermidis* (23 souches) ont montré une résistance totale contre la pénicilline et une sensibilité totale vis-à-vis le chloramphénicol la rifamycine, la ciprofloxacine. Cependant, une variabilité dans la résistance a été enregistrée contre les autres antibiotiques testés (Figure 11).

5-2-1 Profil de résistance des souches de *Staphylococcus epidermidis* provenant des patients

Les 02 souches de *S. epidermidis* isolées à partir du patient montrent :

Une sensibilité total vis-à-vis la clindamycine.

Une faible résistance vis-à-vis la cotrimoxazole (33,33%), la gentamicine (33,33%).

Une résistance moyenne des souches vis-à-vis de la l'oxacilline, la céfoxitine l'erythromycine et l'acide fusidique avec un taux de (66,66%) (Figure 11).

5-2-2 Profil de résistance des souches de *Staphylococcus epidermidis* provenant des instruments

Les 03 souches isolées du *S.epidermidis* à partir des instruments montrent :

Une sensibilité total vis-à-vis l'oxacilline, la céfoxitine. Une faible résistance vis-à-vis la cotrimoxazole (33,33%), la clindamycine (33,33%).

Une résistance moyenne des souches vis-à-vis de la gentamicine (66,66%), et l'acide fusidique (66,66%). Une résistance très élevée des souches vis-à-vis l'érythromycine (100%) (Figure 11).

5-2-3 Profil de résistance des souches de *Staphylococcus epidermidis* provenant du bloc opératoire

Les 06 souches isolées du *S.epidermidis* à partir du bloc opératoire montrent :

Une faible résistance vis-à-vis l'oxacilline (33,33%), la céfoxitine(33,33%), la gentamicine (33,33%), et l'acide fusidique (33,33%)

Une résistance moyenne des souches vis-à-vis de la clindamycine (50%), la cotrimoxazole (50%), l'érythromycine (66,66%) (Figure 11).

5-2-4 Profil de résistance des souches de *Staphylococcus epidermidis* provenant du personnel de l'hôpital

Les 06 souches isolées du *S.epidermidis* à partir du personnel montrent :

Une faible résistance vis-à-vis l'oxacilline (16,16%), la céfoxitine (16,16%), la gentamicine (33,33%), et l'acide fusidique (33,33%), la cotrimoxazole (33,33%).

Une résistance moyenne des souches vis-à-vis de l'érythromycine (50%), la clindamycine (66,66%) (Figure 11).

5-2-5 Profil de résistance des souches de *Staphylococcus epidermidis* provenant de l'environnement hospitalier

Les 06 souches isolées du *S.epidermidis* à partir de l'environnement montrent :

Une faible résistance vis-à-vis l'oxacilline (33,33%), la céfoxitine (33,33%), la clindamycine (33,33%), la cotrimoxazole (33,33%).

Une résistance moyenne des souches vis-à-vis de l'érythromycine (66,66%), la gentamicine (50%), et l'acide fusidique (50%) (Figure 11)

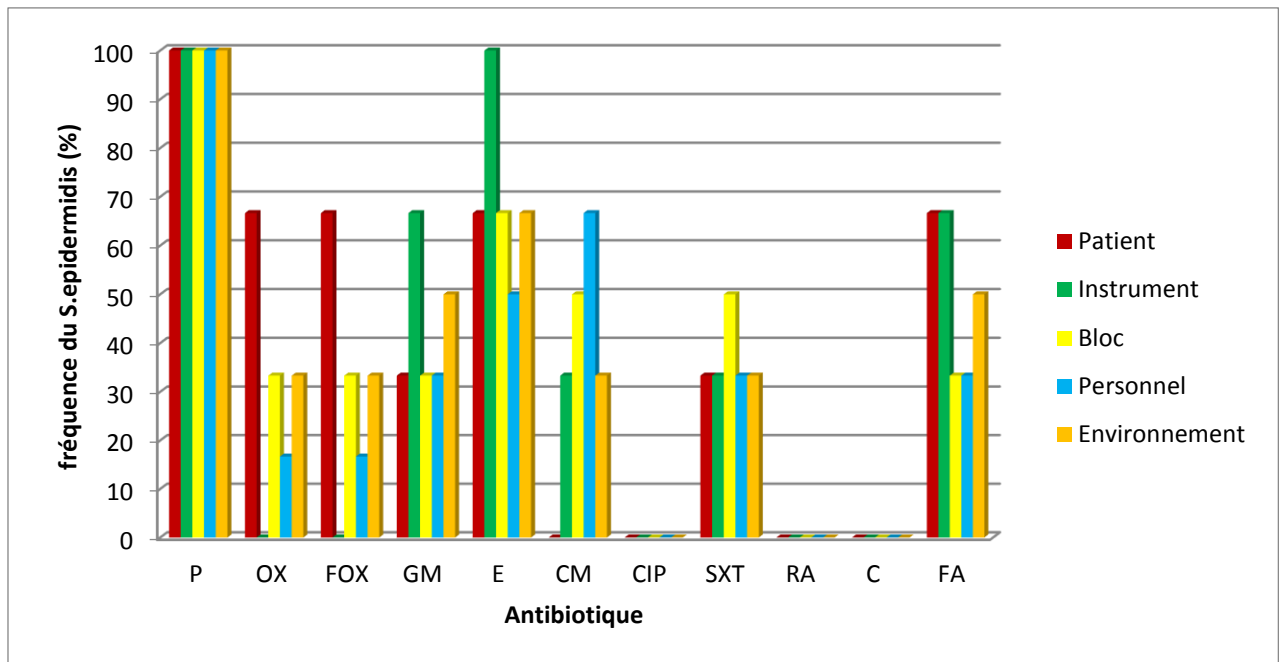


Figure 11 : Répartition des résultats de l'antibiorésistances chez les souches des *S.epidermidis*.

P : Pénicilline G, **OX** : Oxacilline, **FOX** : Céfoxitine, **GM** : Gentamicine, **C** : Chloramphénicol, **E** : Erythromycine, **CM** : Clindamycine, **FA** : Acide fusidique, **RA** : Rifamycine, **CIP** : Ciprofloxacine, **SXT** : Cotrimoxazole.

5-3 Profil de résistance des souches des entérobactéries

L'ensemble des souches isolées des entérobactéries (33 souches) ont une variabilité dans la résistance contre les antibiotiques testés. On note que 6% des souches des entérobactéries présentent une résistance vis-à-vis de tous les antibiotiques testés pour les patients, et au niveau de bloc opératoire, et environ 8 % des souches présentent une résistance vis-à-vis de tous les

antibiotiques testés à l'exception de chloramphénicol pour le personnel de l'hôpital et au niveau de l'environnement hospitalier (Figure 12).

5-3-1 Profil de résistance des souches des entérobactéries provenant des patients

Les 16 souches isolées d'entérobactéries à partir du patient montrent :

Une grande résistance à l'ampicilline (93,75%), l'amoxicilline + l'ac.clavulanique (93,75%), la cotrimoxazole (75%), le céfazoline (75%).

Une résistance moyenne a été notée vis-à-vis la gentamicine (62,5%), la céfotaxime (50%), et l'acide nalidixique (50%).

Une faible résistance des souches envers la ciprofloxacine (37,5%), la chloramphénicol (25%), l'imipénème (6,25%) (Figure 12).

5-3-2 Profil de résistance des souches des entérobactéries provenant du bloc opératoire

Les 3 souches isolées d'entérobactéries à partir du bloc opératoire montrent :

Une grande résistance à l'amoxicilline + l'ac.clavulanique, l'ampicilline, la cotrimoxazole, l'acide nalidixique (100%).

Une résistance moyenne a été notée vis-à-vis la céfazoline (66,66%) le chloramphénicol (66,66%).

Une faible résistance des souches envers la céfotaxime (33,33%), l'imipénème (33,33%). La gentamicine (33,33%), la ciprofloxacine (33,33%) (Figure 12).

5-3-4 Profil de résistance des souches des entérobactéries provenant du personnel de l'hôpital

Les 3 souches isolées d'entérobactéries à partir du personnel montrent :

Une grande résistance à l'amoxicilline + l'ac.clavulanique (100%), l'ampicilline (100%), la céfotaxime (75%), la céfazoline (75%), la cotrimoxazole (75%), l'acide nalidixique (75%).

Une résistance moyenne a été notée vis-à-vis la chloramphénicol (50%), l'imipénème (50%), la gentamicine (50%). Une sensibilité totale vis-à-vis de la ciprofloxacine (Figure 12).

5-3-4 Profil de résistance des souches des entérobactéries provenant de l'environnement hospitalier

Les 11 souches isolées d'entérobactéries à partir de l'environnement montrent :

Une grande résistance à l'amoxicilline + l'ac.clavulanique (100%), l'ampicilline (91,66%), la céfazoline (75%).

Une résistance moyenne a été noté vis-à-vis la céfotaxime (66,66%), et cotrimoxazole (50%).

Une faible résistance des souches envers le chloramphénicol (8,33%), l'imipénème (8,33%). La gentamicine 25% l'acide nalidixique (41,66%). Une sensibilité totale vis-à-vis de la ciprofloxacine (Figure12).

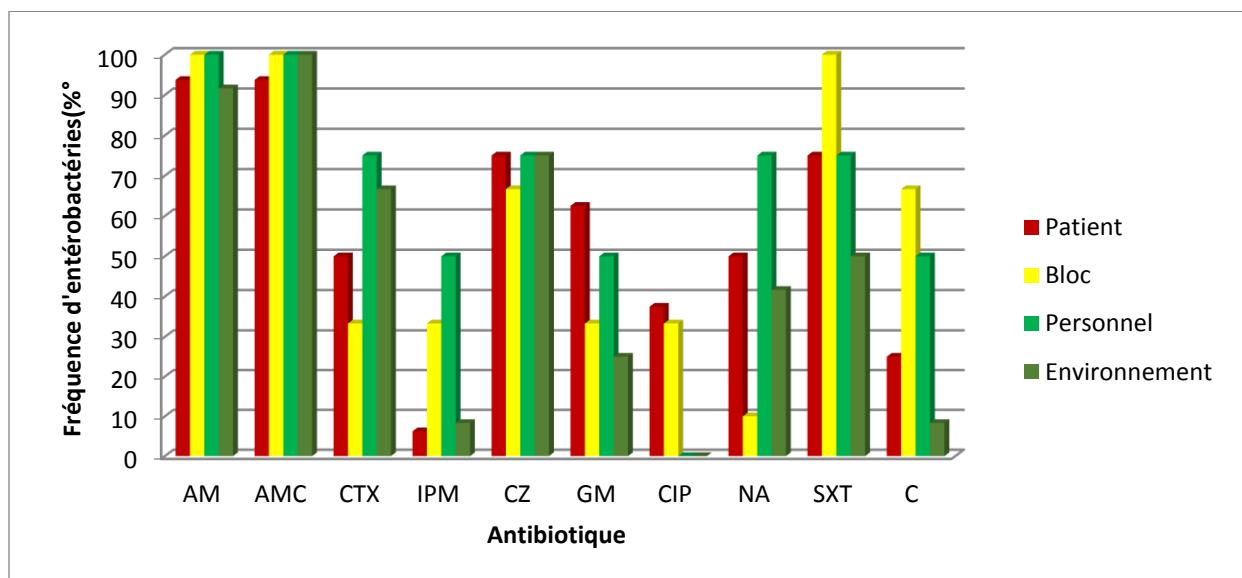


Figure 12 : Répartition des résultats de l'antibiorésistances chez les souches d'entérobactéries.

AM : Ampicilline, **AMC** : Amoxicilline + l'ac.clavulanique, **CTX** : Céfotaxine, **IPM** : Imipénème, **CZ** : Céfazoline, **GM** : Gentamicine, **CIP** : Ciprofloxacine, **NA** : Acide nalidixique, **C** : Chloramphénicol, **SXT** : Cotrimoxazole .

5-4 Profil de résistance des souches d'*Acinetobacter baumannii*

L'ensemble des souches isolées d'*Acinetobacter baumannii* (10 souches) une variabilité dans la résistance contre les antibiotiques testés. On note que 50% des souches *A. baumannii* présentent une résistance vis-à-vis de tous les antibiotiques testés (chez les patients) (Figure 13).

5-4-1 Profil de résistance des souches d'*Acinetobacter baumannii* provenant des patient Les 06 souches d'*Acinetobacter baumannii* isolées à partir du patient montrent :

Une résistance moyenne des souches vis-à-vis l'imipénème (50%), la ciprofloxacine (50%), la levofloxacine (50%), l'aztréonam (50%), la tobramycine (66,66%).

Une résistance très élevée des souches vis-à-vis la ticarcilline, la pipéracilline, la gentamicine, la cotrimoxazole avec un taux de (83,33%) et la ceftazidime, amox+ac clavulanique (100%) (Figure 13).

5-4-2 Profil de résistance des souches d'*Acinetobacter baumannii* provenant du bloc opératoire

Les 02 souches d'*Acinetobacter baumannii* isolées à partir du bloc opératoire montrent :

Une sensibilité total vis-à-vis de l'imipénème, l'aztréonam, la ciprofloxacine, la levofloxacine.

Une résistance moyenne des souches vis-à-vis la tobramycine (50%), la ceftazidime (50%), l'amox+ac clavulanique(50%).

Une résistance très élevée des souches vis-à-vis la ticarcilline, la pipéracilline, la gentamicine, la cotrimoxazole (100%) (Figure 13).

5-4-3 Profil de résistance des souches d'*Acinetobacter baumannii* provenant du personnel de l'hôpital

La souche d'*Acinetobacter baumannii* isolée à partir du personnel montre :

Une sensibilité total vis-à-vis de l'imipénème, la ceftazidime, l'aztréonam, l'amox+ac clavulanique, la tobramycine , la ciprofloxacine, la levofloxacine .

Une résistance très élevée de la souche vis-à-vis la ticarcilline, la pipéracilline, la gentamicine, la cotrimoxazole (100%) (Figure 13).

5-4-4 Profil de résistance des souches d'*Acinetobacter baumannii* provenant de l'environnement hospitalier

La souche d'*Acinetobacter baumannii* isolée à partir de l'environnement montre :

Une sensibilité total vis-à-vis de l'imipénème, la ceftazidime, l'aztréonam, l'amox+ac clavulanique, la tobramycine, la ciprofloxacine, la levofloxacine.

Une résistance très élevée de la souche vis-à-vis la ticarcilline, la pipéracilline, la gentamicine, la cotrimoxazole (100%) (Figure 13).

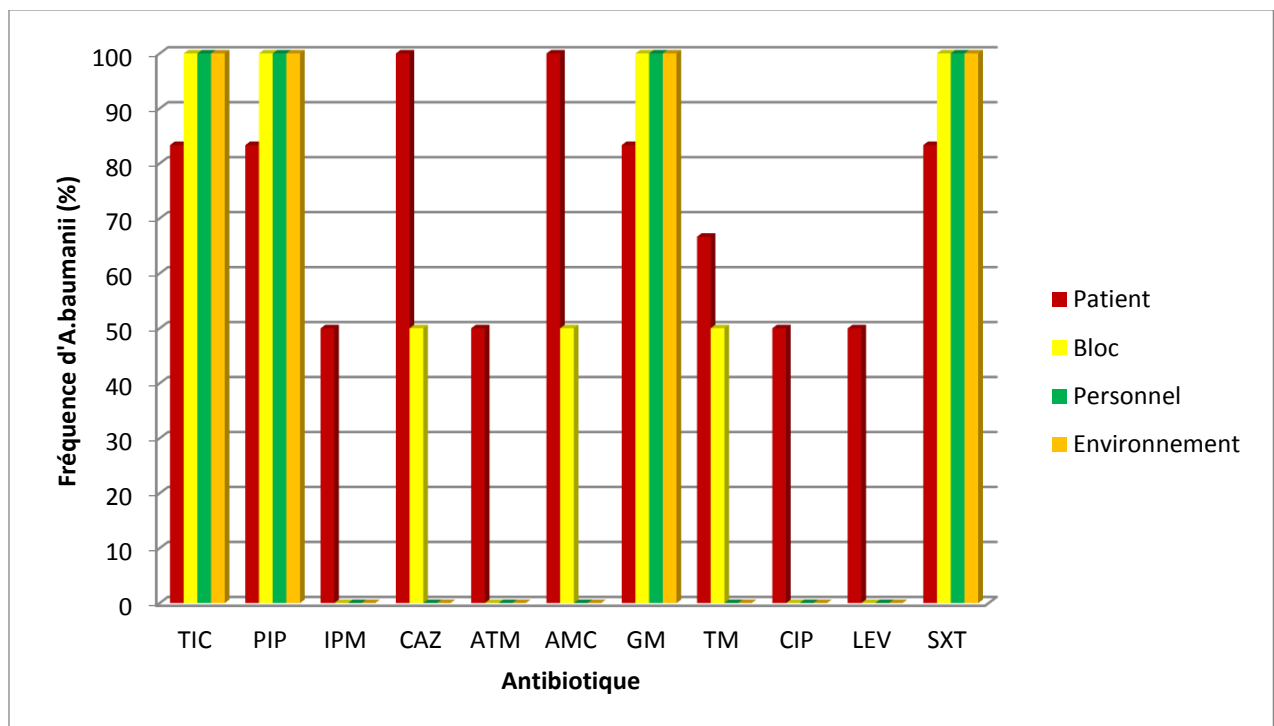


Figure 13 : Répartition des résultats de l'antibiorésistances chez les souches des *A.baumannii*.

TIC : Ticarcilline, **PIP** : Pipéracilline, **IPM** : Imipénème, **CAZ** : Ceftazidime, **ATM** : Aztréonam, **GM** : Gentamicine, **TM** : Tobramycine, **CIP** : Ciprofloxacine, **LEV** : Levofloxacine, **SXT** : Cotrimoxazole, **AMC** : Amoxicilline + l'ac.clavulanique.

5-5 Profil de résistance des souches de *Pseudomonas aeruginosa*

L'ensemble des souches isolées de *Pseudomonas aeruginosa* (9 souches) ont montré et une sensibilité totale vis-à-vis de la pipéracilline, l'imipénème, la ceftazidime, l'aztréonam, la gentamicine, la tobramycine, la ciprofloxacine, la levofloxacine, la cotrimoxazole, l'amoxicilline + l'acide clavulanique. Cependant, une variabilité dans la résistance a été enregistrée contre la ticarcilline (tableau 03).

5-5-1 Profil de résistance des souches de *Pseudomonas aeruginosa* provenant des patients

Les 05 souches des *Pseudomonas aeruginosa* isolées chez les patients montrent :

Une résistance moyenne des souches vis-à-vis à la ticarcilline 60% (tableau 03).

5-5-2 Profil de résistance des souches de *Pseudomonas aeruginosa* provenant de l'environnement hospitalier

Les 04 souches des *Pseudomonas aeruginosa* isolées à partir de l'environnement montrent :

Une résistance moyenne vis-à-vis la ticarcilline (50%) (tableau 03).

Antibiotique	TIC	PIP	IPM	CAZ	ATM	AMC	GM	TM	CIP	LEV	SXT
Souche 1	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Souche 2	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Souche 3	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Souche 4	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

Tableau 03 : profil de l'antibiorésistances chez les souches des *Pseudomonas aeruginosa*.

TIC : Ticarcilline, **PIP** : Pipéracilline, **IPM** : Imipénème, **CAZ** : Ceftazidime, **ATM** : Aztréonam, **GM** : Gentamicine, **TM** : Tobramycine, **CIP** : Ciprofloxacine, **LEV** : Levofloxacine, **SXT** : Cotrimoxazole, **AMC** : Amoxicilline + l'ac.clavulanique.

S : sensible, **R** : résistante.

Discussion

Les infections nosocomiales sont un problème majeur de santé publique dans le monde entier car leur survenue est fréquente et la résistance bactérienne est souvent très importante. Celles-ci aggravent de façon significative la morbidité et la mortalité hospitalières.

Dans la grande majorité des cas, la chirurgie est un acte programmé, souvent effectué chez un patient en bon état général, non infecté. Dans ce contexte, la survenue d'une infection du site opératoire est considérée une défaillance dans la prise en charge du patient. Les infections du site opératoire constituent donc un indicateur de qualité pertinent aux yeux des usagers des services de chirurgie.

Notre étude prospective a concerné tous les patients opérés et de son entourage hospitalier sur une période consécutive de quatre mois dans le service de chirurgie orthopédique et traumatologique de l'hôpital Frantz Fanon.

Sur 273 interventions réalisées, 35 infections du site opératoires ont été observées. L'incidence globale était de 12,82%. Nos résultats corroborent avec ceux des études munies par Thu et al. (2005) qui ont rapporté une incidence de 12,5 %. Cette incidence des infections du site opératoire en chirurgie orthopédie est moins élevée par rapport à l'incidence rapportée dans l'étude de Bercion et al. (2007) et Ablo et al., (2009) qui ont constaté une incidence de 18% et 23,2% respectivement. Cependant, nos taux sont très élevés par rapport à ceux obtenues dans certains pays développés (1,2 à 1,4 %) (Lecuire et al., 2003 ; Savey et al. 2000 ; Gastmeier et al. 2005) et dans certains pays en voie de développement (1,4 à 5,76%) (Kasatpibal et al. 2005 ; Khan et al., 2008). L'analyse porté sur 57 boîtes des instruments chirurgicaux ont montré un taux de contamination de 26,31% nos taux sont élevés par rapport à ceux obtenues dans l'étude de Bonnin et al. (2000) qui ont constaté un taux de 20%.

Sur 56 prélèvements effectués au niveau du bloc opératoire on a constaté un taux de contamination de 62,5% nos résultats sont très élevés par rapport à ceux obtenues dans l'étude de Rodriguez et al., (2018) qui ont montré un taux de 34%.

L'analyse porté sur 72 prélèvements provenant de personnel hospitalier ont montré un taux de contamination de 50 %. Cette incidence est moins élevée par rapport à l'incidence rapportée dans l'étude de Ghenaout-Benchouk (2014) qui a constaté un taux de 80%.

Concernant l'environnement hospitalier, sur 28 échantillons analysés on a constaté une incidence de 100%. Nos résultats corroborent avec ceux des études menées par Bouaziz et Ramdane (2006) qui ont rapporté une incidence de 100%.

- Nous avons obtenu une très grande diversité des bactéries sur l'ensemble des souches isolées à partir de différents sites de prélèvement. Les souches identifiées ont été rattachées à 23 genres et plusieurs espèces. On a constaté surtout la prédominance du genre *Staphylococcus*. *S. aureus* représente la majeure partie des germes isolés. Nos résultats corroborent avec ceux des études menées par Nicole Desplaces (2000) et celle de Bouaziz et Ramdane (2006).
- *S. aureus* prédomine chez les patients, elle représente 31,48% de l'ensemble des bactéries isolées. Les travaux de Bouaziz et Ramdane (2006) ont montré la présence de cette espèce chez tous les patients étudiés au niveau de l'hôpital Mohamed Boudiaf (Ouargla). Par contre, la prédominance des autres espèces isolées est différente. En effet dans notre étude la deuxième position est occupée par *A. baumannii*, *E. cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae* alors qu'elle est occupée par *Citrobacter* sp dans l'étude de Bouaziz et Ramdane (2006).

Les staphylocoques sont fréquemment isolés de la peau et volontiers responsables d'infection, en particulier *S. aureus* même si *S. aureus* peut être d'origine exogène (personnel du bloc opératoire), le plus souvent une infection du site opératoire à ce germe est liée à sa présence sur la peau du malade, parfois par défaut de préparation cutanée préopératoire. Sans oublier la colonisation nasale à *S. aureus* précède dans la grande majorité des cas l'infection cette espèce bactérienne est une commensale des fosses nasales antérieures de l'homme, ce portage constitue un risque accru d'infections postopératoires chez les malades porteurs. Plus le portage est dû à des souches résistantes, plus les souches isolées d'infections postopératoires le sont selon Ghernaout-Benchouk (2013).

- L'analyse des prélèvements provenant du personnel montre également la prédominance de *S. aureus* (60,86%) suivi par *S. epidermidis* et (13,04%) *F. orizihabitans* (10,86%) par contre dans l'étude de Bouaziz et Ramdane (2006). *S. epidermidis* occupe la première position suivi par *S. aureus*, *Pseudomonas*, *Enterobacter* et *Serratia*. Le personnel hospitalier constitue un facteur de transmission (une source exogène) des bactéries aux patients, environnement hospitalier et matériaux chirurgicaux on signale

surtout la prédominance de *S. aureus* (potage cutanée colonisation nasal) et *S.epidermidis* cela est due au fait que cette bactérie est dotée d'une forte capacité à s'adhérer à des biomatériaux que le soignant est en contact direct avec eux selon Guetarné(2014).

- Concernant l'environnement hospitalier, le germe le prédominant dans notre étude est *S. aureus* suivi de *S. epidermidis* et *F. orizihabitans* par contre dans l'étude de Madani et Chahed (2001) *S.epidermidis*, *E.coli*, *Pseudomonas*, *S.aureus* sont les prédominants.
- Ces bactéries présentes dans l'environnement constitué un facteur majeur de contamination aux patients selon Guetarné (2014).
- L'analyse des prélèvements provenant de bloc opératoire ont montré que le *S.aureus* (62,85%) occupe la première position vu que c'est une espèce bactérienne commensale des fosses nasales antérieures de l'homme. Suivie de *S.epidermidis* (17,14%), *Acinetobacter baumannii*(5,71%) et *Bordetella.spp* (5,71%). Le bloc opératoire est une unité de soins sécurisée, organisée en dehors du flux des personnes, construite selon des normes architecturales spécifiques et dont le fonctionnement est régi par des procédures particulières. Les risques de contamination de la plaie opératoire liés à l'environnement que constitue le bloc opératoire sont liés à de nombreux facteurs dont les plus importants sont la conception du bloc opératoires, les dysfonctionnements au niveau de méthode de stérilisation, les dysfonctionnements au niveau des comportements du personnel, de la circulation des personnes, des patients, du matériel et des déchets peuvent être à l'origine d'infections nosocomiales selon Migaud et al. (2015).
- Concernant les instruments analysés nous avons constatés dans la première classe le *S. aureus* avec un taux très élevé (80%) à la seconde place vient le *S. epidermidis* un taux faible (20%). Tous les instruments de chirurgie doivent être stériles avant l'intervention et mis à décontaminer à la fin de l'intervention et acheminés vers le service de stérilisation (Migaud et al., 2015).
- D'après ce que on a vu précédemment on trouve que l'espèce *S.aureus* est l'espèce la prédominante dans la plupart des sites de travail (environnement, patient, personnel, bloc opératoire, instrument).
- Les *S. aureus* sont les principales espèces retrouvées dans notre étude et sa a été montré dans l'étude de Lecuire et al, (2003), et de Bercion et al. (2007). D'après Astagneau et al., (1998) l'infection à *S. aureus* est souvent d'origine endogène, mais la transmission

directe manuporté d'homme à homme est relativement fréquente, de même que la transmission indirecte par l'environnement contaminé. Cette espèce est en première position devant autres germes puisque c'est une bactérie commensale de l'homme (l'oropharynx...) et qui se transmet à l'environnement ; de plus c'est une bactérie qui résiste à la dessiccation. Les chirurgies orthopédique et traumatologique se trouvent parmi les services hospitaliers les plus menacés par cette espèce.

- En deuxième position vient les entérobactéries qui sont des bactéries qui colonisent l'intestin, en dehors du tube digestif, elles peuvent être transitoirement présentes sur différentes parties du vêtement cutanéomuqueuse, et qui peuvent se transmettre à l'environnement. Elles peuvent être présentes sur les mains du personnel et sur les objets de l'environnement hospitalier. De même on a trouvé que *Pseudomonas aeruginosa* qui fréquemment isolée après des hospitalisations de longue durée, leurs transmissions peuvent se faire à partir des sources environnementales, soit directement par l'intermédiaire du matériel, elles peuvent aussi être interhumaines à partir d'un sujet colonisé.
- *A.baumannii*, se classe en troisième position qui est très répandue dans l'environnement hospitalier et peut se développer dans les solutions antiseptiques dans les savons liquides et coloniser les appareils médicaux, les mobiliers, les sols ; les souches peuvent être véhiculés par le personnel (Eberlin, 1997; Avril et al., 2000 ; Faucher and Loup, 2003).
- L'évaluation de la résistance des espèces bactériennes dominantes à différents antibiotiques nous a permis de constater une résistance faible chez *Pseudomonas*, moyenne chez *S. aureus* et *S. epidermidis*, relativement élevée chez les entérobactéries et *Acinetobacter*. Cette résistance pose un problème majeur dans la prise en charge des patients et la décontamination de son entourage au niveau de l'hôpital.
- Les 99 souches des *S. aureus* et les 23 souches de *S. epidermidis* ont présenté une résistance aux B-lactamines (100%). La résistance de *S. aureus* et *S. epidermidis* aux B-lactamines s'explique par deux mécanismes principaux : la production de pénicillinase et la modification des cibles d'action de ces antibiotiques (Laurant et Loïc, 2006).

Le chloramphénicol © était l'antibiotique le plus efficace sur les 99 souches isolées de *S. aureus* avec une sensibilité de 100%.

Le chloramphénicol, la rifamycine, la ciprofloxacine étaient les antibiotiques les plus efficaces sur les 23 souches isolées de *S. epidermidis* avec une sensibilité de 100%.

- 21,21% de *S.aureus* sont des SARM (*staphylococcus aureus* résistants à la méticilline). La propagation des staphylocoques résistants à la méticilline (SARM), souvent résistants à de multiples antibiotiques, illustre le problème actuel des infections difficiles à traiter dans les centres de soins de santé et plus particulièrement en ce qui concerne les infections du site opératoire. Les infections causées par des souches résistantes comme le SARM, peuvent avoir des conséquences graves pour les patients subissant une chirurgie orthopédique, (Ghernaout-Benchouk, 2013).

La résistance à la méticilline est due à la synthèse d'une protéine supplémentaire, la PLP2a, pour laquelle les bêta-lactamines n'ont qu'une très faible affinité, la synthèse de cette protéine est liée à la présence d'un gène chromosomique, le gène *mecA*, la résistance conférée touche. L'ensemble des beta-lactamines, de plus, il existe souvent une corésistance à d'autres familles d'antibiotiques (macrolides, aminosides...etc) (Bajolet et Brasme, 2003)

- La majorité des entérobactéries étaient hautement résistantes à l'ampicilline, l'amoxicilline + l'acide.clavulanique (environ 90%). Des résultats similaires ont été retrouvés par Gangoué (2006), environ 87% des souches d'entérobactéries isolées résistantes à l'amoxicilline, 73% résiste au l'amoxicilline + l'acide.clavulanique.

Selon Ebongue (2015), Plus de 44% de résistent aux céphalosporines de troisième génération (céfotaxime et céfazoline) cela confirme les résultats obtenu dans notre étude qui montre une résistance de 30%. Contrairement aux résultats de l'étude de Hashemi et al (2013) qui montre une sensibilité de près de 75%.

Environ 6% Des souches d'entérobactéries résiste à l'imipénème. Par contre Hashemi et al. 2013 ont trouvé des taux plus élevés de résistance qui est de l'ordre de 19%. Cette molécule est de plus en plus utilisée à cause de l'inefficacité des autres aminosides (gentamicine, tobramycine et netilmicine), notamment dans les infections sévères (Ebongue, 2015).

- La majorité des souches d'*Acinetobacter baumannii* isolées dans notre étude étaient hautement résistantes à la ticarcilline, la pipéracilline, la gentamicine et le Triméthoprime+ sulfaméthoxazole cela a été aussi montré dans l'étude de Decré (2012). Cette résistance aux bêta-lactamines (la ticarcilline, la pipéracilline) est dominée par la production de bêta-lactamases à la fois chromosomiques ou acquises. Par contre la résistance aux aminosides (la gentamicine) est essentiellement liée à la production d'enzymes inactivatrices (Dominique Decré, 2012).

- La pipéracilline, l'imipénème, la ceftazidime, l'aztréonam, la gentamicine, la tobramycine, la ciprofloxacine, la levofloxacine, la cotrimoxazole, l'amoxicilline + l'ac.clavulanique étaient les antibiotiques les plus efficaces sur les 09souches isolées de *P. aeruginosa* avec une sensibilité de 100%. Selon l'étude Mérens (2011) environ 35% des souches *P. aeruginosa* résiste à la ticarciline cela confirme les résultats obtenu dans notre étude qui montre une résistance de 30%.

Conclusión

Conclusion

Conclusion

Notre étude nous a permis de connaître les germes prédominants au niveau des différents sites de prélèvement dans le service d'orthopédie traumatologie de l'hôpital Frantz Fanon.

Sur les 488 prélèvements réalisés, 151 prélèvements étaient positifs soit un taux de 30,94%. Les 337 prélèvements restant étaient négatifs soit un taux de 69,06%.

Les différents prélèvements effectués montrent que les principaux germes isolés et qui peuvent être en cause des infections nosocomiales sont dominés par : *S. aureus* (99 isolats), *S. epidermidis* (23 isolats), certaines espèces d'entérobactéries (33 isolats) (particulièrement *E. cloacae*) suivi d'*A. baumannii* (10 isolats) et *P. aeruginosa* (9 isolats).

L'ensemble des souches isolées ont présenté une variabilité dans la résistance contre les antibiotiques testés. Toutes les souches de *S. aureus* (99 souches) *S. epidermidis* ont montré une résistance contre la pénicilline et une sensibilité vis-à-vis le chloramphénicol. Toutes les souches de *S. epidermidis* ont montré également une sensibilité envers la rifamycine, la ciprofloxacine. Sur l'ensemble de *s.aureus* 21,21% représentent des souches résistantes à la méticilline ce qui pose des problèmes thérapeutiques vis l'émergence des souches multirésistantes.

La majorité des souches des entérobactéries ont montrés une résistance élevée envers l'ampicilline et l'amoxicilline + l'acide clavulanique.

Certaines souches de *Pseudomonas* ont montré une résistance vis-à-vis la ticarciline.

L'état d'hygiène à l'hôpital est influencé par manque de formation pour les personnel hospitalier, le manque de politique d'hygiène et le non-respect des normes de sécurité par ces personnels (agents de ménage, aides soignants, médecins) ce qui favorise l'apparition des infections nosocomiales.

Pour éviter toute défaillance du côté hygiène et diminuer les risques infectieux dans le milieu hospitalier nous proposons les solutions suivantes :

- Impliquer l'administration hospitalière dans la lutte contre l'infection et le facteur favorisant.
- Organiser des campagnes régulières pour sensibiliser les personnels concernant la lutte contre l'infection nosocomiale et ces facteurs de risque.

- Organiser des stages de formation pour les agents de ménage.
- Obliger la direction de l'hôpital d'effectuer des prélèvements réguliers pour évaluer la qualité de l'air ambiant et des eaux.
- Effectuer des visites régulières d'inspection.

Ces résultats ont une réalité dans le service d'orthopédie traumatologie et de ce fait le ministère de santé, les autorités publiques et l'administration hospitalière doivent y pauser sérieusement, ceci afin qu'elles puissent axer leur programme de lutte contre les infections nosocomiales sur d'abord la prévention de la propagation de ces infections avec tous ce que cela implique par respect des règles d'hygiène ...

Bibliographie

Liste bibliographie

Liste bibliographie

- 1.** A. Abalo, A. Walla, G. Ayouba, M. Ndjani, W. Agouké, A. Dossim Infection du site opératoire en chirurgie orthopédique dans un pays en voie de développement le : 17 novembre 2009
- 2-**Aeyquem, Alouf J, Montagnier L.1998. Traité de microbiologie clinique. Ed : PICIN : Paris, 277p
- 3-**Androu M, Mainardi JL.2003. Que doit-on connaître de la microbiologie pour prescrire un antibiotique .Revue de praticien. N° : 23,274p.
- 4-Avril** JL. , Dabernat H., Denis F., Monteil H. 2000.Bactériologie clinique Ed : 3ème édition : Ellipses .Paris 275p
- 5-Avril** J-L, Carlet J. les infections nosocomiales et leur prévention. Ellipses 1998, chapitre1 : 33-7.
- 6-**Beaucaire G. Infections nosocomiales. Epidémiologie, critères du diagnostic, prévention et principe de traitement. Rev Prat, 1997, 47:201 – 209.
- 7-**Bejot J.2003. La résistance bactérienne. Encyclopédie France UNIVS. A. Universalis. 9^{ème} Ed.
- 9-** Berche P, Gallard J. L, Simonnet M. les infections nosocomiales d'origine bactérienne et leur prévention. Bactériologie des infections humaines de la biologie à la clinique. Paris : Flammarion, 1991 : 64-71.
- 10-**Bergogne- berezin E. 1999. Les résistances bactériennes. Ed : phase 5, Paris. Pp : 102 W

11-Bercion R, Gaudeuille A, Mapouka PA, Behoude T, Guetahoun Y. Surgical site infection survey in the orthopaedic surgery department of the “Hôpital communautaire de Bangui” Central African Republic. *Bull Soc Pathol Exot* 2007;100: 197—200.

12-Bouaichi (INRA Meknès et Université Kénitra), R. Benkirane (Université Kénitra), A.AMEUR (Université Mohammedia), S.SADIK (Université Meknès), A. Benbouazza (INRA Meknès) et E.H. Achbani (INRA Meknès), Characterization of *Pantoea agglomerans* Strains Isolated from Olive Knot disease in Morocco, publié le 26 juin 2015 par N. BAHRI

13-Bouvet P J M Et Crimont Pad. *Acinetobacter*. In : Le MINOR L et VERON M, eds. *Bactériologie Médicale*. Paris : Flammarion, 1989 ; 599-604.

14-Cavallo JD, Hocquet D, Plésiat P, Fabre R, Roussel-Delvallez M on behalf of GERPA. Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* to antimicrobials; à 2004 French multicentre hospital study. *J Antimicrob Chemother* 2007;59:1021-4

15-Carbonnelle B., Denis F., Marmonier A., Pinon G., Vagues R. 1990.*Bactériologie médicale, technique visuelles*. Ed : Simep Paris. pp : 330.

16-Charles Nauciel – Masson – Pris 2000-*Bactériologie médicale* .pp : 83-86-65,68-125-203.

Charles Nauciel 2001-*Bactériologie médicale*. Ed ; Masson – Paris .pp : 39-276

17-C. Pilet, JL. Bourdon, b. toma, n. marchal, c. balbastre. *Bactériologie médicale et vétérinaire* pp : 38-53-55-152-166-167-190-170-171-230-248.14 méthodes de diagnostic. Ed:TEC ans DOC. Paris. pp : 356-366-369.

18-Comité technique des infections nosocomiales. 100 recommandations pour la surveillance et la prévention des infections nosocomiales. Paris: CTIN; 1999.

19-Eberlin T. 1997. *Les infections microbiennes, tome 2 : (agent infectieux)*. Ed : Nathan. Paris. 129p.

20-Faria S, Sodano L, Gjata A, Dauri M, Sabato AF, Bilaj A, et al. The first prevalence survey of nosocomial infections in the University Hospital Centre ‘Mother Teresa’ of Tirana, Albania. *J Hosp Infect* 2007;65:244—50.

21-Fauchere JL et Avril JL.2002. *Bactériologie générale et médicale*. Ed : Elipses, Paris. Pp : 38-40, 366, 543

22-Figarella J, Leyral G, Terret M. 2004. Microbiologie générale et appliquée. Ed : Delagrave, Paris. Pp :285.

23-[Finger H, von Koenig CHW. Medical Microbiology. 4th edition. Galveston \(TX\): University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996. Chapter 31. NCBI](#)

24-Francioli et al., 1996. Infection du Site chirurgical. Revu : Swiss-Noso, volume 3, numéro 1, Mars 1996

25.-Gangoue-Piéboji J, Koulla-Shiro S, Ngassam P, Adiogo D, Ndumbe P. Antimicrobial activity against gram negative bacilli from Yaounde Central Hospital, Cameroon. African Health Sciences. 2006 Dec;6(4):232–5. [[Article PMC gratuit](#)] [[PubMed](#)]

26- Gastmeier P, Sohr D, Brandt C, Eckmanns T, Behnke M, R. üden H. Reduction of orthopaedic wound infections in 21 hospitals. Arch Orthop Trauma Surg 2005;125: 526—30

27-Gilles Brucker, Novembre 1998. Infections nosocomiales et environnement hospitalier. pp : 6-12-22-23-24.

28-Groupe d'étude de la résistance de Pseudomonas aeruginosa aux bêta-lactamines (GERPB). Évolution de la résistance aux antibiotiques de Pseudomonas aeruginosa en France de 1994 à 1998. Lett Infectiol 2000;15:18-23

29-Hashemi SH, Esna-Ashari F, Tavakoli S, Mamani M. The prevalence of antibiotic Resistance of Enterobacteriaceae strains isolated in community and Hospital acquired in infections in teaching hospital of Hamadan, west of Iran. Journal of research in Health Sciences. 2013;13(1):75–80.

30-Institut de veille sanitaire. Surveillance des infections du site opératoire en France 1999 a 2005. Réseau ISO-Raisin, Résultats. Maladies infectieuses.

31-Ittah Desmeulles H. Prévention des infections du site opératoire, préparation cutanée de l'opéré : état actuelle des connaissance, EMC N°2 avril 2004.

32-Jacque Béraud.Le technicien d'analyse biologique. 2000 pp : 870,881-883-884-886,891-1150-1157,1161.

33-Jean-Louis Faucher / Jaen-Loup. Avril 2002. Bactériologie générale et médicale. pp :199,214-239,244-249-252-260-298-306-307.

34-Jean-Paul Larpent et Jean-Jacques Sanglier, Biotechnologie des Antibiotiques, édition 1989, Masson Paris p1-23.

- 35-**Jean-Noël Joffin et Guy Leyral, Microbiologie technique, édition 2014, p15-22.
- 36-**Jehl F, Chomarai M, Weber M, Gerard A. 2003. De l'antibiogramme à la prescription. 2^{ème}Ed : Flammarion médecine sciences. Paris. Pp : 356-366-369.
- 37-**Kasatpibal N, Jamulitrat S, Chongsuvivatwong V. Standardized incidence rates of surgical site infection : à multicenter study in Thailand. *Am J Infect Control* 2005;33: 587—94.
- 38-** Khan MS, Ur Rehman S, Ali MA, Sultan B, Sultan S. Infection in orthopedic implant surgery, its risk factors and outcome. *J Ayub Med Coll Abbottabad* 2008;20:23—5.
- 39-**Kezzal, les antibiotiques (Classification,Mode d'action, resistance ; action invitro), 1993è editon, office des publications universitaires : 1.place centrale de Ben Aknoun (Alger).
- 40-**Kwon OY, Lee JS, Choi HS, Hong HP, Ko YG. Infected abdominal aortic aneurysm due to *Morganella morgani*: CT findings. *Abdom Imaging*. 2011 Feb. 36(1):83-5.
- 41-**KitzisM, Andreassian. Risques infectieux en chirurgie. Ellipses 1993.
- 42-**Lavigne JP.2007. Effet des antibiotique, mécanismes de résistance. Faculté de Médecine science. Paris. Pp : 4-62.
- 43-**Lecuire F, Gontier D, Carrere J, Giordano N, Rubini J, Basso M. Ten-year surveillance of nosocomial surgical site infections in an orthopedic surgery department. *Rev Chir Orthop* 2003;89:479—86
- 44-**Lidwell OM, Lowbury E JL, Whyte W, Blowers R, Stanley SJ, Lowe D. Effect of ultraclean air in operating roomson deep sepsis in the joint after total hip or knee joint replacement : à randomized study. *BMJ* 1982; 285: 10—4.
- 45-**Livermore DM. Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* : our worst nightmare? *Clin Infect Dis* 2002;34:634-40
- 46-**Lucet J-C, Astagnau P. Transmission des infections nosocomiales. Principes et prévention. In : Brucker G. infections nosocomiale et environnement hospitalier. Edition Médecine-Sciences. Flammarion, 1998: 6-10.

47-Mangram A J, Horan T C, Pearson M L, Silver L C, Jarvis W R. Guideline for prevention of surgical site infection, 1999. Infection control and hospital epidemiology . Vol 20. No 4.

48-Maksimović J, Marković-Denić L, Bumbasirević M, Marinković J, Vlajinac H. Surgical site infections in orthopedic patients : prospective cohort study. Croat Med J 2008;49:58—65.

49-Mirabaud M.1996. Entérobactéries à bêta-lactamases a spectre élargi en pédiatrie en 1996. Thèse de doctorat. Ed : Faculté de Médecine de l'Université de Genève. pp : 07.12.

50-Mollet C., Drancourt M., and Raouf D., 1997 sequence analysis as a novel basis for bacterial identification : Mol microbial 26. In Joly B et Reynaud. Ed : Academic press. A.

New York : pp : 1005- 1011

51-Monnet et Freney J.2000 Serratia In Précis de bactériologie clinique : J. Freney et al. Ed : ESKA, Paris : pp : 1183-1192.

52-Organisation mondiale de la santé. Prévention des infections nosocomiales. Guide pratique. 2^{ème} édition. WHO/CDS/CSR/EPH. 2002

53-Perl TM, Cullen JJ, Wenzel RP, Zimmerman MB, Pfaller MA, et al. Intranasal mupirocin to prevent postoperative *Staphylococcus aureus* infections. N Engl J Med 2002; 346(24):1871-750.

54-Prescott LM, Harley J.P et Klein D A. Microbiologie 2^{ème} Ed : Broeck et Lacier. pp : 1137. 2003

55-Rahal, 2008 Standardisation des tests de sensibilités aux antibiotiques à l'échelle mondiale

56-Robert –Denet S. 1995. Antibiotique et antibiogramme. Ed : Masson, Paris. Pp : 35-115.

57-Roussel D Vallez M. 2001. Bactéries multirésistantes : doit-on rester optimiste ?

58- Schaffner William. Les infections nosocomiales. CECIL Traité de médecine interne. 1^{ère} édition française. ch : 267. P 1548-1555. (05M49 thèse g)

59-Sylvie Giot, Hervé Gomila, Micheline Le Heurt, Isabelle Pividori, Septembre 2002. Nouveau cahier de l'infirmier (hygiène). 2^{ème} ed, pp : 9-20-25-73-53.

60-Staskevich AS. *CEDECEA sp isolé de Piometra Canina Communication d'une affaire* (pp. 133 à 137), 2014 (ISSN 1515-1883)

61-Savey A, Hajjar J, Caillat-Vallet E, Fabry J. Iso Sud-Est : réseau de surveillance des infections du site opératoire. Rapport général 1999—2000C. Clin Sud-Est.

62-Tasseau F. Et Baron D. Infections nosocomiales. In : BRUKER Get FASSIN D, eds. Santé publique. Paris : Ellipses, 1989 ; 478-79.

63-Thu LT, Dibley MJ, Ewald B, Tien NP, Lam LD. Incidence of surgical site infections and accompanying risk factors in Vietnamese orthopaedic patients. J Hosp Infect 2005;60:360—7.

64-Eugene Rosenberg Edward F. DeLong Stephen Lory Erko Stackebrandt Fabiano .2014.*the prokaryotes* (H. Christensen P. Kuhnert N. Nørskov-Lauritsen P. J. Planet M. Bisgaard pp 535-564) ,(Geert Huys 27-57). Laboratory of Microbiology & BCCM/LMG Bacteria Collection, Faculty of Sciences, Ghent University

65-Veyssier P, Domart Y, Liebbe A. Infection nosocomiale, Abrégé Masson, 1998. Page : 83-90.1998

66-Von Eiff C, Becker K, Machka K, Stammer H, Peters G. Nasal carriage as a source of *Staphylococcus aureus* bacteremia. New Engl J Med 2001; 344(1):11-648.

67-Walterson et Stavrinides, 2015.Pantoea: insights into a highly versatile and diverse genus within the Enterobacteriaceae. Ed [FEMS Microbiol Rev.](#)

Annexes

Annexes

Annexe 1 :

Tableau : Milieux et matériel utilisés dans notre travail.

*Matériels utilisés :	<ul style="list-style-type: none">- Ecouillons stériles.- Boîtes Pétri.- Anse de platine.- Microscope optique.- Pipette Pasteur stérile.- Lame et lamelle.- Tube à essai.-Anse de platine- Portoirs.- Tube sec, tube à vis.- Etuve réglée à 37°.-réfrigérateur à 4°C- Autoclave.-Stérilisateur
------------------------------	---

	-Distributeur des disques d'antibiotiques
*réactif et solution	<ul style="list-style-type: none"> - Eau physiologique stérile. -Eau distillée stérile -Eau oxygénée (H2O2) -alcool à 95° -Violet de gentiane -Lugol -Fuschine -Bleu de méthylène -Réactif de kovacs -Réactif voges-proskauer VP1 et VP2 -Réactif TDA -Réactif JAMES -Réactifs NIT 1 et NIT 2 -Réactif ZYM A, ZYM B -Réactif NIN. -Plasma humaine -Huile d'immersion -Huile de vaseline
* Milieu d'enrichissement :	- B.G.T
Milieus d'isolement	-Gélose nutritive,gélose chapmen, gélose hektoen , gélose au sang (cuit)
* Milieux d'identification :	- Galerie biochimique (API 20 E , API 20 NE , API Staph, API 20 Strep, API NH)
*Milieux d'antibiogramme	<ul style="list-style-type: none"> -Gélose Mueller-Hinton -Gélose Mueller-Hinton+sang
*Disque imprégnés	<ul style="list-style-type: none"> -Disques d'antibiotique -Disque d'oxydase

Annexe 02 :**Tableau : les différents renseignements accompagnés du prélèvement des patients.**

Nom et prénom des patients	Age	Date d'hospitalisation	Lieu d'intervention (site de prélèvement)
Bakalam mohamed	19ans	24 /1/2017	Fracture au niveau de cuisse
Benmiloud khira		24/2 /17	Fracture au niveau de bassin
Ferradj djazia	19ans	31/1/ 17	Ostéosarcome
Mansouri said	19 ans	2/ 2 /17	Polyfracture au niveau de bras
Bouchomli merouane	30ans	11/2 /17	amputé cuisse
Arabe mohand	30 ans	10/2/2017	Fracture au niveau de fémur
Belounis abdelaziz	19 ans	décembre 2016	Ostéosarcome 2éme infection
Mansori said	19 ans	2/2/2017	Polyfracture 2eme infection
kerifa djillali	53 ans	07/2/17	Ostéosarcome
Gharbi mohamed	64ans	19/2/2017	Fracture au niveau de fémur
Laamach mohamed	58ans	12/2/2017	Fracture au niveau de jambe

			Embo +fixateur
Talanora amar	24 ans	15/2/2017	Osteosarcome
Amroune boualem	45	5/3/2017	Fracture trochantéro-dia
Maghlaoui amine	46 ans	10/3/2017	Cuisse en sepsis Amputé
Gazali oualid	32 ans		
Harazi bahia	32 Ans	14/4/2017	Fracture au niveau de cheville
Khoumari zakaria	22 ans	11/4/2017	Poly fracture
Bougar abdekader	49 ans	23/4 /2017	Fracture au niveau de fémur

Annexe 03 :

Tableau : les différents renseignements accompagnés du prélèvement des patients

Nom et prénom des patients	Age	Date d'hospitalisation	Lieu d'intervention (Site de prélèvement)
Boukabel med	45ans	12/2/2017	Polyfracture

Otmani omar	41 ans	29/3/2017	Amputé
Daouaoui ali	59ans	27/2/2017	Osteosarcome
Boulimani ahmed	43 ans	25/4/2017	Fracture au niveau de jambe
Bouchel aicha	40 ans	25/4/2017	Porteur d'un fixateur
Kacéri nacéra	38 ans	2/4/2017	Ostéosarcome
Khelli said	53 ans	15/4/2017	Plaie au niveau de pied
Bouhouia djalloul	35 ans	18/4/2017	Poly Fracture au niveau de bras
Garbache mouloud	39 ans	26/3/2017	fixateur externe
Amroune boualem (2^{ème} infection)		5/3/2017	Fracture trochantéro-dia
Boulenouar saad	34 ans	21/3/2017	Polyfracture au niveau de bras
Hamama linda	35 ans	5/4/2017	Osteosarcome
Oumedah ahmed	27 ans	10/4 /2017	Fracture au niveau de pied et cheville
Abdeekader younes	40 ans	29/3/2017	Fracture au niveau de jambe
Bouchdouch	70 ans	4/2/2017	Fracture de cotyle

Abstout belkacem	75 ans	23/3/2017	Amputé Jambe
Bendjamel abde al karim	29 ans	20/02/2017	Osteosarcome
Bouhamedi merouane	30 ans	11 /2/2017	Fracture au niveau de Fémur
Boulenouan saad	34 ans	18 / 4 /2017	Porteur de fixateur externe

Annexe 04 :

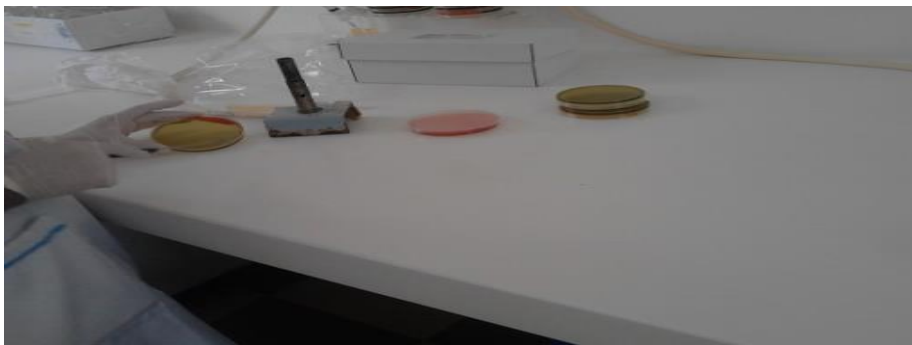


Figure 01 : Technique d'ensemencement sur milieu Hektoen.



Figure 02 : Technique d'ensemencement sur milieu Chapman.

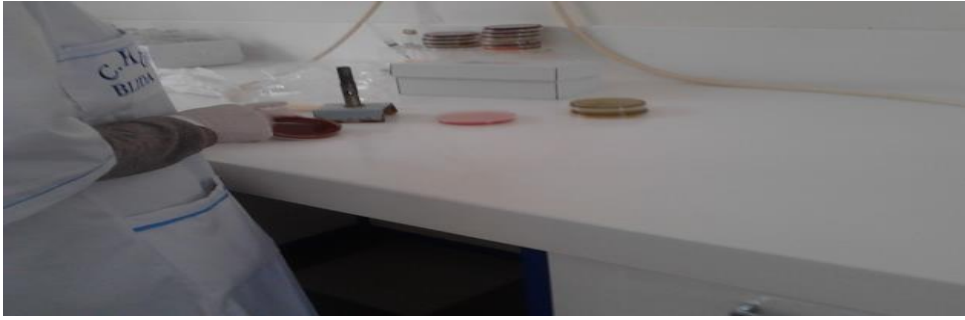


Figure 03 : Technique d'ensemencement sur milieu gélose au sang cuit



Figure 04 : Incubation de boîtes ensemencées à l'étuve à 37°C pendant 24 heures.

Annexe 05

Tableau de lecture des tests de la galerie API 20 E

TABLEAU DE LECTURE

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
ONPG	2-nitrophényl-β-D-galactopyranoside	0,223	β-galactosidase (Ortho NitroPhényl-β-D-Galactopyranosidase)	incolore	jaune (1)
ADH	L-arginine	1,9	Arginine DiHydrolase	jaune	rouge / orangé (2)
LDC	L-lysine	1,9	Lysine DéCarboxylase	jaune	rouge / orangé (2)
ODC	L-ornithine	1,9	Ornithine DéCarboxylase	jaune	rouge / orangé (2)
[CIT]	trisodium citrate	0,756	utilisation du CITrate	vert pâle / jaune	bleu-vert / bleu (3)
H ₂ S	sodium thiosulfate	0,075	production d'H ₂ S	incolore / grisâtre	dépôt noir / fin liseré
URE	urée	0,76	UREase	jaune	rouge / orangé (2)
TDA	L-tryptophane	0,38	Tryptophane DésAminase	jaune	<u>TDA / Immédial</u> marron-rougeâtre
IND	L-tryptophane	0,19	production d'INDole	incolore vert pâle / jaune	<u>JAMES / Immédial</u> rose
[VP]	sodium pyruvate	1,9	production d'acétone (Voges Proskauer)	incolore / rose pâle	<u>VP 1 + VP 2 / 10 min</u> rose / rouge (5)
[GEL]	gélatine (origine bovine)	0,6	Gélatinase (GELatine)	non diffusion	diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	1,9	fermentation / oxydation (GLUcose) (4)	bleu / bleu-vert	jaune / jaune gris
MAN	D-mannitol	1,9	fermentation / oxydation (MANnitol) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
INO	inositol	1,9	fermentation / oxydation (INOsitol) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
SOR	D-sorbitol	1,9	fermentation / oxydation (SORbitol) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
RHA	L-rhamnose	1,9	fermentation / oxydation (RHAmmose) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
SAC	D-saccharose	1,9	fermentation / oxydation (SACcharose) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
MEL	D-mélibiose	1,9	fermentation / oxydation (MELbiose) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
AMY	amygdaline	0,57	fermentation / oxydation (AMYgdaline) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
ARA	L-arabinose	1,9	fermentation / oxydation (ARAbinose) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
OX	(voir notice du test oxydase)		cytochrome-OXydase	(voir notice du test oxydase)	

(1) Une très légère couleur jaune est également positive.

(2) Une couleur orange apparaissant après 36-48 H d'incubation doit être considérée négative.

(3) Lecture dans la cupule (zone aérobie).

(4) La fermentation commence dans la partie inférieure des tubes, l'oxydation commence dans la cupule.

(5) Une légère coloration rose apparaissant après 10 minutes doit être lue négative.

- 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 06 :

Tableau de lecture de la galerie API 20NE

TABLEAU DE LECTURE

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
NO ₃	potassium nitrate	0,136	réduction des Nitrates en nitrites	NIT 1 + NIT 2 / 5 min incolore rose-rouge	
			réduction des Nitrates en azote	Zn / 5 min rose incolore	
TRP	L-tryptophane	0,2	formation d'indole (TRYPTOPHANE)	JAMES / Immédiat incolore vert pâle / jaune rose	
GLU	D-glucose	1,92	fermentation (GLUCOSE)	bleu à vert	jaune
ADH	L-arginine	1,92	Arginine DIHydrolase	jaune	orange / rose / rouge
URE	urée	0,76	UREase	jaune	orange / rose / rouge
ESC	esculine citrate de fer	0,56 0,072	hydrolyse (β -glucosidase) (ESCuline)	jaune	gris / marron / noir
GEL	gélatine (origine bovine)	0,6	hydrolyse (protéase) (GELatine)	pas de diffusion du pigment	diffusion du pigment noir
PNPG	4-nitrophényl- β -D- galactopyranoside	0,22	β -galactosidase (Para-NitroPhényl- β -D- Galactopyranosidase)	incolore	jaune
[GLU]	D-glucose	1,56	assimilation (GLUCOSE)	transparence	trouble
[ARA]	L-arabinose	1,4	assimilation (ARABINOSE)	transparence	trouble
[MNE]	D-mannose	1,4	assimilation (MANNOSE)	transparence	trouble
[MAN]	D-mannitol	1,36	assimilation (MANNITOL)	transparence	trouble
[NAG]	N-acétyl-glucosamine	1,28	assimilation (N-ACÉTYL-GLUCOSAMINE)	transparence	trouble
[MAL]	D-maltose	1,4	assimilation (MALTOSE)	transparence	trouble
[GNT]	potassium gluconate	1,84	assimilation (potassium GLUCONATE)	transparence	trouble
[CAP]	acide caprique	0,78	assimilation (acide CAPRIQUE)	transparence	trouble
[ADI]	acide adipique	1,12	assimilation (acide ADIPIQUE)	transparence	trouble
[MLT]	acide malique	1,56	assimilation (MALATE)	transparence	trouble
[CIT]	trisodium citrate	2,28	assimilation (trisodium CITRATE)	transparence	trouble
[PAC]	acide phénylacétique	0,8	assimilation (acide PHÉNYLACÉTIQUE)	transparence	trouble
OX	(voir notice du test oxydase)	-	cytochrome-oxydase	(voir notice du test oxydase)	

- Les quantités indiquées peuvent être ajustées en fonction des titres des matières premières.
- Certaines cupules contiennent des composants d'origine animale notamment peptone bovine/porcine.

Annexe 07 :

Tableau de lecture de la galerie NH

TABLEAU DE LECTURE					
TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
1) <u>PEN</u>	potassium benzylpenicilline	1,36	PENicillinase	bleu (absence de pénicillinase)	jaune jaune-vert jaune-bleu (présence de pénicillinase)
2) <u>GLU</u>	D-glucose	0,5	acidification (GLUcose)	rouge rouge-orangé	jaune orange
3) <u>FRU</u>	D-fructose	0,1	acidification (FRUctose)		
4) <u>MAL</u>	D-maltose	0,1	acidification (MALtose)		
5) <u>SAC</u>	D-saccharose	0,5	acidification (SACcharose)		
6) <u>ODC</u>	L-ornithine	0,552	Ornithine DéCarboxylase	jaune-vert gris-vert	bleu
7) <u>URE</u>	urea	0,41	UREase	jaune	rose-violet
8a) <u>LIP</u>	5-bromo-3-indoxyl-caprate	0,033	LIPase	incolor gris pâle	bleu (+ précipité)
9a) <u>PAL</u>	4-nitrophényl-phosphate 2CHA	0,038	Phosphatase ALcaline	incolor jaune pâle	jaune
10a) <u>βGAL</u>	4-nitrophényl-βD-galactopyranoside	0,04	β GALactosidase	incolor	jaune
8b) <u>ProA</u>	L-proline-4-méthoxy-β-naphtylamide	0,056	Proline Arylamidase si LIP est +, ProA est toujours -	<u>ZYM B / 3 min</u> jaune orange pâle (brun si LIP +)	
9b) <u>GGT</u>	γ-glutamyl-4-méthoxy-β-naphtylamide	0,049	Gamma-Glutamyl Transférase	<u>ZYM B / 3 min</u> jaune orange pâle (jaune-orange si PAL +)	
10b) <u>IND</u>	L-tryptophane	0,036	INDole	<u>JAMES / 3 min</u> incolor rose	

- 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 08 :

Tableau de lecture de la galerie API Staph

TABLEAU DE LECTURE

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

Les tests d'acidification doivent être lus comparativement aux témoins négatif (0) et positif (GLU).

* Les tests MNE et XLT peuvent être oranges, lorsqu'ils sont entourés ou précédés de tests positifs. On doit alors les considérer comme négatifs.

- 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 09 :

Tableau de lecture de la galerie API 20 Strep

api® 20 Strep

07625J - fr - 2009/01

TABLEAU DE LECTURE

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

Annexe 10 :

Tableau : listes des antibiotiques testés durant le stage pour les bactéries isolées.

Entérobactéries	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Acinetobacter</i>	Staphylocoques
Ampicilline (10 µg) Amoxicilline+l'ac.Clavulanique (20/10 µg) Céfotaxine (30 µg) Imipéneme (10 µg) Céfazoline (30 µg) Gentamicine (10 µg) Ciprofloxacine (5 µg) Acide Nalidixique (30 µg) Chloramphénicol (30 µg) Triméthoprim+ sulfaméthoxazole (1.25/23.75) µg	Ticarcilline (75 µg) Pipéracilline (100 µg) Imipéneme (10 µg) Ceftazidime (30 µg) Aztréonam (30 ug) Gentamicine (10 µg) Tobramycine (10 µg) Ciprofloxacine (5 µg) Levofloxacine (5 µg) Amoxicilline+l'ac. Clavulanique (20/10 µg). Triméthoprim+ sulfaméthoxazole(1.25/23.75 µg)	Pénicilline G (10 µg) Oxacilline (1 µg) Céfoxitine (5 µg) Gentamicine (10 µg) Chloramphénicol (30 µg) Erythromycine (15 µg) Clindamycine (2 µg) Acide Fusidique (10 µg) Rifamycine (5 µg) Ciprofloxacine (5 µg) Triméthoprim+ sulfaméthoxazole(1.25/23.75 µg)

Annexe 11 :

Table des valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibitions pour *staphylococcus*.

Antibiotique Testés		Charge de disque	Diamètre critiques		
			Résistant	Intermédiaire	Sensible
		10 µg	≤ 28		≥ 29
Oxacilline	s. aureus	1 µg	≤ 10	11-12	≥ 13
	S. epidermidis		≤ 17		≥ 18
Céfoxitine	s. aureus	5 µg	≤ 19		≥ 20
	S. epidermidis		≤ 24		≥ 25
Gentamicine		10 µg	≤ 12	13-14	≥ 15
Chloramphénicol		30 µg	≤ 12	13-17	≥ 18
Erythromycine		15 µg	≤ 13	14-22	≥ 23
Clindamycine		2 µg	≤ 14	15-20	≥ 21
Acide Fusidique		10 µg	≤ 24	-	≥ 24
Rifamycine		5 µg	≤ 16	17-19	≥ 20
Ciprofloxacine		5 µg	< 15	16-20	> 21
Triméthoprime+ sulfaméthoxazole(1.25/23.75 µg	≤ 10	11-15	≥ 16



Annexe 12 :

Table des valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibitions pour les entérobactéries.

Antibiotique Testés	Charge de disque	Diamètre critiques		
		Résistant	Intermédiaire	Sensible
Ampicilline	10 µg	≤ 13	14-16	≥ 17
Amoxicilline+l'ac.Clavulanique	20/10µg	≤13	14-17	≥18
Céfotaxine	30µg	≤ 14	15-17	≥ 18
Gentamicine	10 µg	≤ 12	13-14	≥ 15
Chloramphénicol	30 µg	≤ 12	13-17	≥ 18
Imipéneme	10 µg	≤13	14-15	≥16
Céfazoline	30µg	≤ 14	15-17	≥ 18
Acide Nalidixique	30 µg	≤ 13	14-18	≥ 19
Ciprofloxacine	5 µg	< 15	16-20	> 21
Triméthoprim+ sulfaméthoxazole(1.25/23.75 µg	≤ 10	11-15	≥ 16

Annexe 13

Table des valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibitions pour *P.aeruginosa* et *Acinetobacter sp*

Antibiotique Testés		Charge de disque	Diamètre critiques		
			Résistant	Intermédiaire	Sensible
Ticarcilline	<i>P. aeruginosa</i>	75µg	≤ 14	-	≥ 15
	<i>Acinetobacter sp</i>		≤ 14	15-19	≥ 20
Pipéracilline	<i>P. aeruginosa</i>	100µg	≤ 17	-	≥ 18
	<i>Acinetobacter sp</i>		≤ 17	18-20	≥ 21
Ceftazidime		30µg	≤ 14	15-17	≥ 18
Amoxicilline+l'ac.Clavulanique		20/10µg	≤ 13	14-17	≥ 18
Gentamicine		10 µg	≤ 12	13-14	≥ 15
Aztréonam		30 µg	≤ 15	16-21	≥ 22
Imipéneme		10 µg	≤ 13	14-15	≥ 16
Tobramycine		10µg	≤ 12	13-14	≥ 15
Levofloxacin		5µg	≤ 13	14-16	≥ 17
Ciprofloxacine		5 µg	< 15	16-20	> 21
Triméthoprime+ sulfaméthoxazole(1.25/23.75 µg	≤ 10	11-15	≥ 16

