

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Saad Dahleb de Blida



Faculté des Sciences Agro-Vétérinaires et Biologiques

Département de Biologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Sciences de la nature et de
la vie

Option: Microbiologie / Bactériologie

Thème :

*Identification et étude de la sensibilité
aux antibiotiques de certaines bactéries responsables
d'infections nosocomiales
au niveau du service de maternité à
l'hospital de Boufarik*

Présenté par :

Mlle FERRAG Fatima Zohra

Soutenu le 27 juin 2013 devant les membres de jury :

Mme SAADI .	MAA	USDB	Présidente
Mme AIT SAADI N.	MAA	USDB	Examinatrice 1
Mme KESKAS S.	MAB	USDB	Examinatrice 2
Mme AZROU Chellali S.	Pharmacienne MA	USDB	Promotrice

Promotion : 2011/2012

REMERCIEMENTS



Je remercie le bon dieu tout puissant de m'avoir donné le courage et la patience pour réaliser ce modeste travail.

Mes remerciements les plus sincères sont adressés à :

Mme AZROU Chellali S.

Qui m'a fait l'honneur d'encadrer mon travail.

Qu'elle trouve ici l'assurance de mon profond respect et le témoignage de ma reconnaissance pour sa grande disponibilité et ses précieux conseils.

Profonde gratitude.

Mme LASSAS K.

Mon encadreur au sein de l'hôpital de Boufarik, qui a manifesté un intérêt particulier à ce sujet pour sa disponibilité, temps et patience qu'elle m'a accordé.

Mme SAADI.

Qui m'a fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.

Hommage respectueux.

Mme AIT SAADI N. et Mme KESKAS S.

Qui ont fait l'honneur et la gentillesse de participer au jury de ce mémoire.

Toute ma gratitude.

Je remercie tous mes enseignants et enseignantes.

Ainsi que tous les membres du personnel de l'hôpital de Boufarik qui étaient très gentils et serviables avec moi à la réalisation de ce modeste travail.

« Merci infiniment »

DÉDICACES



Chaque personne rêve d'atteindre son objectif tant attendu, et voilà le jour où j'ai enfin arrivé.

Je dédie ce modeste travail comme preuve de respect, de gratitude et de reconnaissance à :

***Mes parents** pour leur amour, et soutien. Sans vous tout aurait été plus difficile.*

*Ma très chère sœur **Amina**, mes frères **Sidali & Ziad & Bachir**, Je vous souhaite plein de bonheur.*

*Ma chère cousine **Abir** que j'aime, merci pour ton encouragement et tes conseils.*

*Mon chère **Hakim**, mon futur mari, merci pour ton soutien, ton encouragement, ta gentillesse sans égal, ton profond attachement m'ont permis de réussir mes études.*

*Mes amies **Radia, Nabila, Zola et Nessrine** merci pour votre aide, temps et encouragements.*

Et un gros merci à toute ma promotion de Master 2011-2012.

« A tous ce qui ont contribué de près ou bien de loin à la réalisation de ce modeste travail, merci infiniment. »

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des photos

Liste des abréviations

Glossaire

Résumé en 03 langues

SOMMAIRE

INTRODUCTION

01

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : INFECTIONS NOSOCOMIALES

I.1- Historique de l'infection nosocomiale	02
I.2- Définition de l'infection nosocomiale	02
I.3- Epidémiologie de l'infection nosocomiale	03
I.4- Différents types de l'infection nosocomiale	03
I.5- Bactéries responsables de l'infection nosocomiale	04
I.6- Physiopathologie de l'infection nosocomiale	04
I.6-1-Mode de transmission des agents infectieux	04
I.6-2-Agent réceptif	08
I.6-3-facteurs de risque de l'infection nosocomiale	09

Chapitre II : INFECTIONS NOSOCOMIALES ET L'ENVIRONNEMENT HOSPITALIER

I.1- Environnement hospitalier	10
I.2- Risques infectieux liés à l'environnement	10
I.2.1-L'environnement, réservoir potentiel d'organismes impliqués dans les infections nosocomiales	10
I.2.2-Les liens entre la contamination de l'environnement et la survenue d'infections nosocomiales	12
I.2.3- La bio-contamination de l'environnement hospitalier	13
I.3- Classification des locaux selon le risque infectieux	16
I.4- Prévention des infections nosocomiales	17
I.5- Résistance des bactéries en milieu hospitalier	20

Chapitre III : LES ANTIBIOTIQUES ET L'ANTIBIORESISTANCE

I- Définition des antibiotiques	22
II- Classification des antibiotiques	22
III- Résistance bactérienne aux antibiotiques	25
III.1- Définition de la résistance	25
III.2- Origines de la résistance	25
III.3- Mécanismes de la résistance	25

ETUDE EXPERIMENTALE

Chapitre I : MATÉRIEL ET MÉTHODES

I.MATÉRIEL	27
II.MÉTHODES	27
II.1- Le prélèvement	27
II.2- Méthode de prélèvement	28
II.3- Examen microbiologique des prélèvements	29
II.3.1- Examen macroscopique	29
II.3.2- Examen microscopique à l'état frais	29
II.3.3- Subculture Bactérienne	30
II.3.4- Identification des germes isolés	32
II.3.4.1-Examens après coloration	32
II.3.4.2-Tests biochimiques	35
II.3.5- Antibiogramme	45

Chapitre II : RÉSULTATS ET DISCUSSION

I. Répartition globale des prélèvements	50
II. Répartition des prélèvements selon leurs sites	53
III. Répartition des souches bactériennes isolées	59
IV. Antibiorésistance des souches bactériennes isolées	68

CONCLUSION	72
-------------------	----

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	74
------------------------------------	----

ANNEXES	
----------------	--

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Mécanismes d'action des antibiotiques.	16
Tableau 2 : Zones à risques à l'hôpital.	23
Tableau 3 : Les sites de prélèvements.	27
Tableau 4 : Répartition des prélèvements selon les sites.	28
Tableau 5 : Répartition des résultats selon les sites des prélèvements avant et après la désinfection.	53
Tableau 6 : Taux et fréquence des prélèvements positifs selon le site de prélèvement avant la désinfection.	55
Tableau 7 : Taux et fréquence des prélèvements positifs selon le site de prélèvement après la désinfection.	57
Tableau 8 : Taux des bactéries avant et après la désinfection.	59
Tableau 9 : Répartition des souches bactériennes isolées selon le site de prélèvement avant la désinfection.	61
Tableau 10 : Répartition des souches bactériennes isolées selon le site de prélèvement après la désinfection.	62
Tableau 11: Les principaux microorganismes responsables d'infection hospitalière. Annexe 2	
Tableau 12 : Désignation des différentes familles d'antibiotiques.	Annexe 3
Tableau 13 : Tableau de lecture de la galerie api 20E.	Annexe 4
Tableau 14 : Listes des antibiotiques utilisés en disques.	Annexe 5
Tableau 15 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour Entérobactéries.	Annexe 6
Tableau 16 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Annexe 6
Tableau 17 : Valeurs critiques pour des molécules d'antibiotiques ne figurant pas sur les tables du CLSI.	Annexe 6

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Transmission endogène (Auto-infection).	05
Figure 2 : Transmission exogène (Hétéro infection).	06
Figure 3 : Transmission de l'infection hospitalière.	08
Figure 4 : Sites d'action de différents types d'antibiotiques.	23
Figure 5 : Les étapes de l'identification bactérienne.	49
Figure 6 : Répartition des résultats des prélèvements effectués avant et après la désinfection.	50
Figure 7 : Taux des prélèvements positifs effectués avant et après la désinfection.	51
Figure 8 : Répartition des résultats des prélèvements effectués avant la désinfection.	51
Figure 9 : Répartition des résultats des prélèvements effectués après la désinfection.	52
Figure 10 : Profil qui représente la Répartition des résultats positifs selon les sites des prélèvements avant et après la désinfection.	54
Figure 11 : Taux des prélèvements positifs selon le site de prélèvement avant la désinfection.	56
Figure 12 : Taux des prélèvements positifs selon le site de prélèvement après la désinfection.	58
Figure 13 : Taux de différentes souches bactériennes isolées.	60
Figure 14 : Profile qui montre les différentes souches bactériennes isolées avant et après la désinfection.	60
Figure 15 : Profile de l'Antibiorésistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	68
Figure 16 : Profile de l'Antibiorésistance des Entérobactéries.	70

LISTE DES PHOTOS

Photo 1 : Écouvillon stérile.	28
Photo 2 : Aspect du bouillon stérile à droite et bouillon non stérile à gauche (culture bactérienne).	29
Photo 3 : Ensemencement des prélèvements sur les milieux de cultures (gélose nutritive, Hektoen, Chapman).	30
Photo 4 : L'aspect des milieux de cultures après l'incubation (Croissance bactérienne).	31
Photo 5 : Observation microscopique(Gx100) des bactéries après coloration au bleu de méthylène.	33
Photo 6 : Observation microscopique (G x100) des bactéries après coloration de Gram.	34
Photo 7 : Test d'oxydase.	35
Photo 8 : Mini-galerie biochimique avant l'ensemencement.	36
Photo 9 : Identification des entérobactéries sur Gélose TSI.	37
Photo 10 : Lecture de Citrate de Simmons.	38
Photo 11 : Lecture du test VP et le test RM.	39
Photo 12 : Lecture de l'Urée tryptophane.	41
Photo 13 : Galerie API 20E avant l'utilisation.	42
Photo 14 : Test de catalase positif. (Dégagement de bulle d'O ₂).	43
Photo 15 : Test de coagulase libre.	44
Photo 16 : Lecture d'antibiogramme des Entérobactéries.	46
Photo 17 : Test du double disque (test espagnol) pour une Entérobactérie qui possède une β LSE +.	48
Photo 18 : Culture de Staphylocoque blanc et Staphylocoque doré sur milieu de Chapman.	64
Photo 19 : Culture des Entérobactéries sur milieu Hektoen.	67

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ATB : Antibiotique.

BGN : Bacilles à Gram Négatif.

BGP : Bactéries à Gram Positif.

BGT : Bouillon Glucosé Tamponné.

BMR: Bactéries multi-résistantes.

BN : Bouillon Nutritif.

CGP : Cocci à Gram positif.

C.H.U : Centre Hospitalier Universitaire

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

EPH : Etablissement Publique Hospitalier.

GSC : Gélose au sang cuit.

GSF : Gélose au sang frais.

H₂O₂ : Eau Oxygénée.

H₂S : Hydrogène Sulfureux.

IN : Infections Nosocomiales.

KP : *Klebsiella pneumoniae*

LAC : Lactose.

MH : Muler Hinton.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

PLP : Protéine Liant les Pénicillines.

RE : Robinets Électroniques.

RM : Rouge de Méthyle.

SARM : *Staphylococcus aureus* sensible à la méthicilline.

SCN : Staphylocoque à Coagulase Négative.

TDA : Tryptophane Désaminase.

TSI : Triple Sugar Iron.

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine.

VP : Voges Proskauer.

βLSE: Béta-lactamases à spectre élargie.

RÉSUMÉ

Les infections nosocomiales ou infections survenant au cours ou à la suite d'une hospitalisation constituent un problème majeur de santé publique au niveau des hôpitaux algériens du fait de leur fréquence, gravité et de leur coût humain considérable et également économique. Pour cela notre objectif été d'identifier les bactéries incriminées dans ces infections et étudier leur antibiorésistance.

Le service de maternité au niveau de l'hôpital de Boufarik est parmi les sites qui sont touchés par ces infections, et qui a fait l'objet de notre étude avec un taux de positivité de 52.22% des infections nosocomiales.

La fréquence de ces infections au niveau du service de maternité a été répartie comme suit : 24.24% au niveau des salles de réanimation de l'unité de néonatalogie, 21.6% au niveau des salles d'accouchements et 16.28 % au niveau de la salle de bloc opératoire de gynécologie.

Ces résultats sont représentés par une forte présence des bactéries. Les souches isolées sont les Staphylocoques à coagulase négative au premier lieu avec une fréquence de 70.64%, suivie par les Entérobactéries 18.29% ; les Bacillus 4.99% ; les Pseudomonas 2.77% ; les Bactéries gram négatif oxydatifs 2.49 % et en dernier lieu les Streptocoques avec une fréquence de 0.83%.

Le problème de la résistance aux antibiotiques est considéré comme strictement hospitalier réservé aux bactéries responsables d'infections nosocomiales.

Le non respect des mesures d'hygiène au niveau de l'hôpital est la cause principale de l'évolution des bactéries ce qui explique ces résultats.

Mots clés : infection nosocomiale, antibiorésistance, hôpital de boufarik, maternité.

ABSTRACT

Nosocomial infections or infections occurring during or after hospitalization are a major public health problem in Algerian hospitals because of their frequency, severity and also considerable economic and human cost. That's why our objective was to identify the bacteria implicated in these infections and their antibiotic resistance study.

The maternity ward at boufarik hospital is among sites that are affected by these infections, and has been the subject of our study with a positive rate of 52.22% of nosocomial infections.

The incidence of these infections in the maternity ward was distributed as follows: 24.24% in rooms resuscitation neonatal unit, 21.6% in the delivery rooms and 16.28% at the room block operative of gynecology.

These results are represented by a strong presence of bacteria. The isolates strains were Staphylococcus in the first place with a frequency 70.64%, followed by Enterobacteriaceae 18.29%, Bacillus 4.99%, Pseudomonas 2.77%, oxidative bacteria Gram negative 2.49% and finally Streptococcus with a frequency 0.83%.

The problem of antibiotic resistance is considered strictly reserved for hospital bacteria responsible for nosocomial infections.

Failing of hygiene at the hospital is the leading cause of bacterial evolution that which explains these results.

Keywords: nosocomial infections, antibiotic resistance, boufarik hospital, maternity.

الملخص

عدوى المستشفيات أو العدوى التي تحدث أثناء أو بعد العلاج في المستشفيات هي مشكلة صحية عامة رئيسية في المستشفيات الجزائية بسبب تكررها وشدتها و تكلفتها الاقتصادية الكبيرة والبشرية أيضا. لهذا كان هدفنا التعرف على البكتيريا المسؤولة عن هذه الالتهابات و دراسة مقاومتها للمضادات الحيوية. جناح التوليد على مستوى مستشفى بوفاريك هو من بين المواقع التي تأثرت بهذه الالتهابات والذي كان موضوع دراستنا مع معدل إيجابي 52.22% من عدوى المستشفيات. وقد تم توزيع شدة الإصابة بهذه العدوى في جناح التوليد على النحو التالي: 24.24% في غرف الإنعاش بوحدة حديثي الولادة, 21.6% في غرف الولادة و 16.28% في غرفة العمليات بقسم أمراض النساء. وتتمثل هذه النتائج بوجود قوي للبكتيريا. في المقام الأول نجد المكورات العنقودية بنسبة 70.64%, تليها البكتيريا المعوية 18.29%, البكتيريا العصوية 4.99%, البكتيريا الزائفة 2.77%, البكتيريا التأكسدية 2.49% وأخيرا بكتيريا المكورات العقدية بنسبة 0.83%. تعتبر مقاومة المضادات الحيوية مشكلة خاصة بالمستشفى و هي مرتبطة بالبكتيريا المسؤولة عن عدوى المستشفيات. نقص النظافة في المستشفيات هو السبب الرئيسي لنشوء و تطور البكتيريا, وهذا ما تفسره النتائج.

كلمات المفتاح: عدوى المستشفيات, مقاومة المضادات الحيوية, مستشفى بوفاريك, جناح التوليد.

Les infections dites « nosocomiales » (du grec nosos : maladie et komein : prendre soin de...) existent depuis que l'on a regroupé géographiquement les malades pour tenter de leurs porter assistance (**SAID, 2005**).

Les infections nosocomiales ou infections survenant au cours ou à la suite d'une hospitalisation constituent un problème majeur de santé publique. Elles représentent non seulement un coût humain considérable mais également économique.

Fréquemment favorisées par la situation médicale du patient, elles sont en partie liées aux actes invasifs nécessaires au traitement de la pathologie (**CARINE SOULARD, 2003**).

Selon **BRUNO RIPOCHE (1994)**, Les infections nosocomiales représentent une cause importante de morbidité, de mortalité et de surcoût.

Les formes cliniques les plus fréquentes sont les infections urinaires, les infections de plaies opératoires, les infections sur cathéters intra-vasculaires, les bactériémies et les broncho-pneumopathies. Chacune de ces formes cliniques présente des caractères particuliers: épidémiologiques, diagnostiques, bactériologiques ainsi que ses propres facteurs de risque. La réduction de la fréquence des infections nosocomiales nécessite une surveillance adaptée et des mesures de préventions efficaces, selon les services, selon les sites infectés et selon les germes.

Objectif :

Ce travail a pour objectif de :

- ✚ Déterminer la microflore pathogène au niveau du service de maternité (salles d'accouchements et la salle de bloc opératoire de gynécologie et les salles de réanimation de l'unité de néonatalogie) avant et après l'opération de la désinfection pour une meilleure lutte contre les infections nosocomiales sachant que ces sites hospitalisent une population fragilisée (femmes enceintes - nouveau-nés)
- ✚ L'étude de la sensibilité aux antibiotiques de certaines bactéries isolées et qui sont responsables d'infections nosocomiales.

ETUDE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

INFECTIONS NOSOCOMIALES

CHAPITRE II

INFECTIONS NOSOCOMIALES ET L'ENVIRONNEMENT HOSPITALIER

CHAPITRE III

LES ANTIBIOTIQUES

ET L'ANTIBIORESISTANCE

INTRODUCTION

I.1-Historique de l'infection nosocomiale

Pendant de nombreux siècles, les notions d'infections communautaires et d'infections nosocomiales n'ont pas nécessité de discriminations sémantiques.

Les premiers hôpitaux étaient organisés en salles communes et il existait une grande promiscuité dans les établissements de soin ce qui augmentait la probabilité pour les malades de contracter une infection nosocomiale.

Dans ces premiers hôpitaux, ce sont les germes communautaires qui décimaient les malades hospitalisés : variole, choléra, tuberculose, typhoïde, peste etc....

Cette situation va perdurer jusqu'au début du 19ème siècle où des progrès médicaux et architecturaux vont permettre de limiter le développement des infections hospitalières **(SAID, 2005)**.

I.2- Définition de l'infection nosocomiale

On appelle infection nosocomiale une maladie infectieuse (bactérienne, fongique, parasitaire, virale) identifiable par la clinique ou le laboratoire et acquise dans une structure de soins. elle peut concerner soit un patient qui a été hospitalisé ou qui a subi des soins en ambulatoire dans la structure de soins, soit un personnel soignant dans la cadre de son activité professionnelle.

Le délai d'acquisition est variable selon le type d'infection mais il est habituellement admis qu'un minimum de 48 heures entre l'admission et les premiers symptômes est nécessaire pour parler d'infection nosocomiale.

A l'inverse, il n'existe pas de limite supérieure : une infection nosocomiale peut se manifester après ,voire longtemps après, la sortie de l'établissement de soins **(ÉRIC PICHARD, 2002)**.

Pour les infections du site opératoire, on considère comme nosocomiales les infections survenues dans les trente jours suivant l'intervention, ou, s'il ya mise en place d'une prothèse ou d'un implant, dans l'année qui suit l'intervention **(FRANÇOIS DENIS, 2002)**.

I.3-Epidémiologie de l'infection nosocomiale

Le taux d'incidence des infections nosocomiales est compris entre 5 et 10% du total des admissions hospitalières, le taux de prévalence entre 7 et 12%, et on estime que la mortalité par infection nosocomiale est de l'ordre de 1 décès pour 5000 admissions (MALEK *et al.*, 1996).

Les conséquences des infections nosocomiales sont nombreuses :

- La mortalité et la morbidité
- Augmentation de la durée de séjour hospitalier
- Le surcoût.
- La désaffection des populations pour les hôpitaux où surviennent de nombreuses infections nosocomiales.
- La sélection des germes multi résistants.
- Les conséquences médico-légales : La responsabilité médico-légale en ce qui concerne les infections nosocomiales n'est engagée que lorsqu'il peut être démontré que le médecin ou le personnel soignant a été négligent dans l'adhésion aux soins appropriés standards et que l'infection est le résultat d'une défaillance des procédures de références (SAID,2005).

I.4-Différents types de l'infection nosocomiale

Selon LEHOT et ARVIEUX (2010), il existe plusieurs types d'infections nosocomiales :

- 1) Les infections urinaires nosocomiales **IUN (40%)**.
- 2) Les infections pulmonaires nosocomiales **IPN (20%)**.
- 3) Les infections post-opératoires **ISO (15%)**.
- 4) Les infections sur cathéters intraveineux **(15%)**.
- 5) Bactériémie nosocomiales **(5%)**.
- 6) Autres infections nosocomiales **(5%)**.

Les sites anatomiques d'infections nosocomiales par ordre de fréquence la plus importante sont : l'appareil urinaire, les voies respiratoires, le site opératoire (intervention chirurgicale) et le système sanguin (bactériémie, septicémie). La fréquence n'est pas synonyme de gravité. Toutes les infections nosocomiales ne présentent pas le même caractère de gravité. Ainsi, les infections urinaires très fréquentes sont le plus souvent anodines malgré la gêne occasionnée. A l'inverse, des infections survenant lors de chirurgie osseuse sont plus graves (ANONYME 1, 2008).

I.5- Bactéries responsables de l'infection nosocomiale

Selon LEHOT et ARVIEUX (2010), Les infections nosocomiales sont majoritairement d'origine bactérienne.

➤ **Les bactéries à Gram négatif** : sont les germes le plus fréquemment à l'origine d'infections nosocomiales (60 à 80% des infections identifiées) :

Escherichia coli, *Pseudomonas spp* (pyocyanique), *Proteus spp*, *Klebsiella spp*, *Acinetobacter spp*, *Enterobacter spp*.

➤ **Les bactéries à Gram positif** : sont aussi responsables d'infections nosocomiales : Surtout le *Staphylococcus aureus* (dont 20 à 40% de phénotype méthicilline-R), Staphylocoque coagulase (-) et les Entérocoques.

Ces germes sont particulièrement virulents parce qu'ils présentent souvent une résistance multiple aux antibiotiques (objectivation par l'antibiogramme), ce phénomène est en grande partie du à l'utilisation de l'antibiothérapie à large spectre (pression de sélection). Ces dernières années, les microbiologistes ont mis en évidence de nouveaux types de résistance : certaines bactéries sécrètent des Béta-lactamines (Klebsielles : La production de β -lactamase confère la résistance aux amino-, carboxy- et uréido-pénicillines. L'activité de ces β -lactamines est restaurée lors de l'association avec un inhibiteur de β -lactamase.) Entérocoques résistants à la vancomycine, Staphylocoques résistants à la gentamycine et à la méthicilline, *Pseudomonas* résistants aux aminosides... Mais on a vu aussi émerger des infections causées par des espèces considérées jusqu'alors comme saprophytes : *Xanthomonas maltophila*, *Flavobacterium meningosepticum*, *Alcaligenes spp...*

Cette émergence inquiétante et la multiplication des résistances rendent d'autant plus nécessaire une surveillance épidémiologique étroite des fluctuations de la flore nosocomiale (dans un service ou à l'échelle d'un hôpital) (MALEK *et al.*, 1996).

(Voire annexe 2 : pour les principaux microorganismes responsables d'infection hospitalière.)

I.6-Physiopathologie de l'infection nosocomiale

I.6-1-Mode de transmission des agents infectieux

a) - Auto-infection :

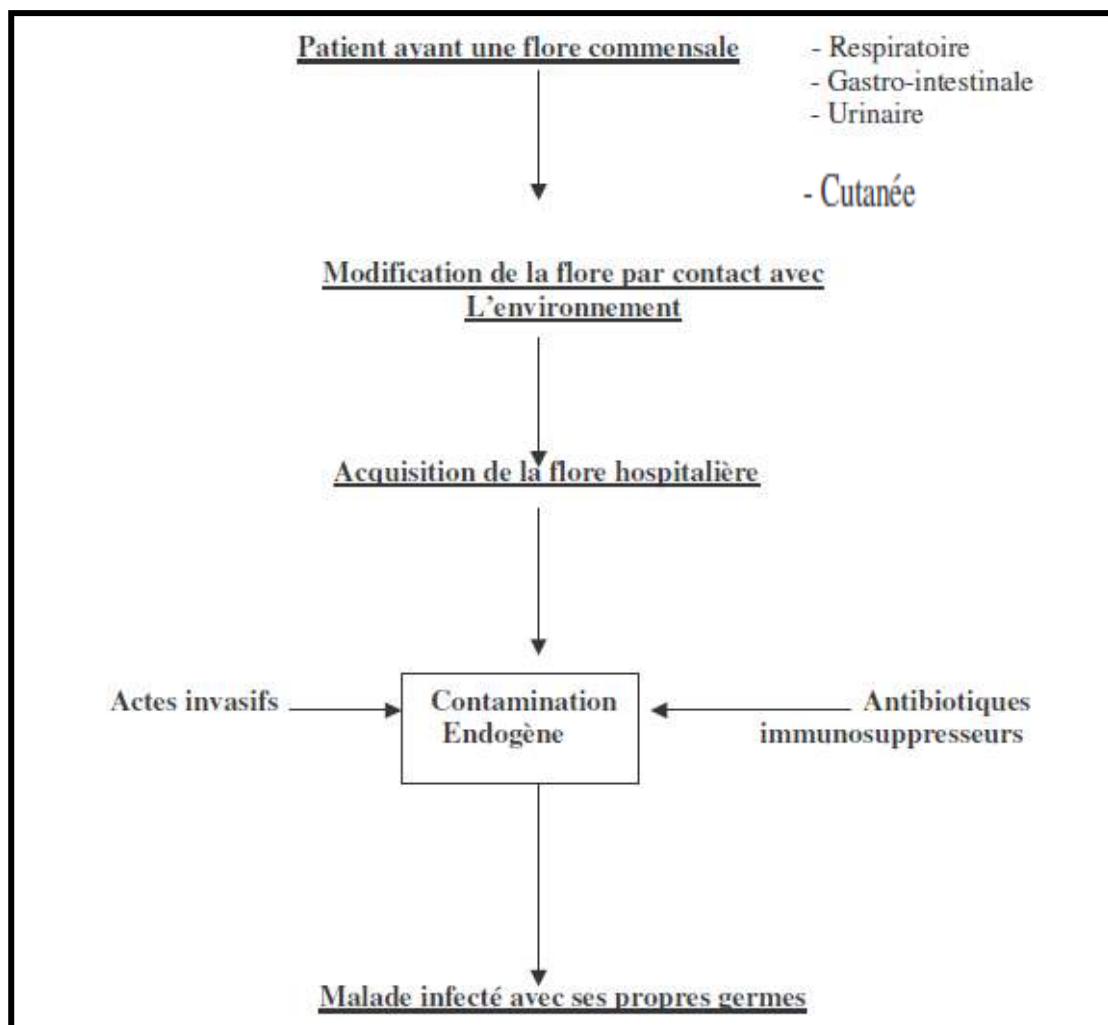
C'est lorsque le malade s'infecte soit par ses propres germes in situ soit à partir de l'environnement immédiat (surface de la peau, vêtement, lit).

Ces infections sont dues généralement aux germes saprophytes qui deviennent pathogènes à la suite d'une antibiothérapie itérative ou d'un traitement immunosuppresseur.

Les complications infectieuses respiratoires liées au décubitus et ses conséquences sur le drainage des voies aériennes peuvent être des auto-infections.

Enfin certains malades immunodéprimés (aplasie médullaire, SIDA) peuvent avoir des bactériémies dues aux germes intestinaux qu'ils hébergent. Ces infections rigoureusement endogènes sont aussi des auto-infections (SAID, 2005).

Figure 1 : Transmission endogène (Auto-infection).



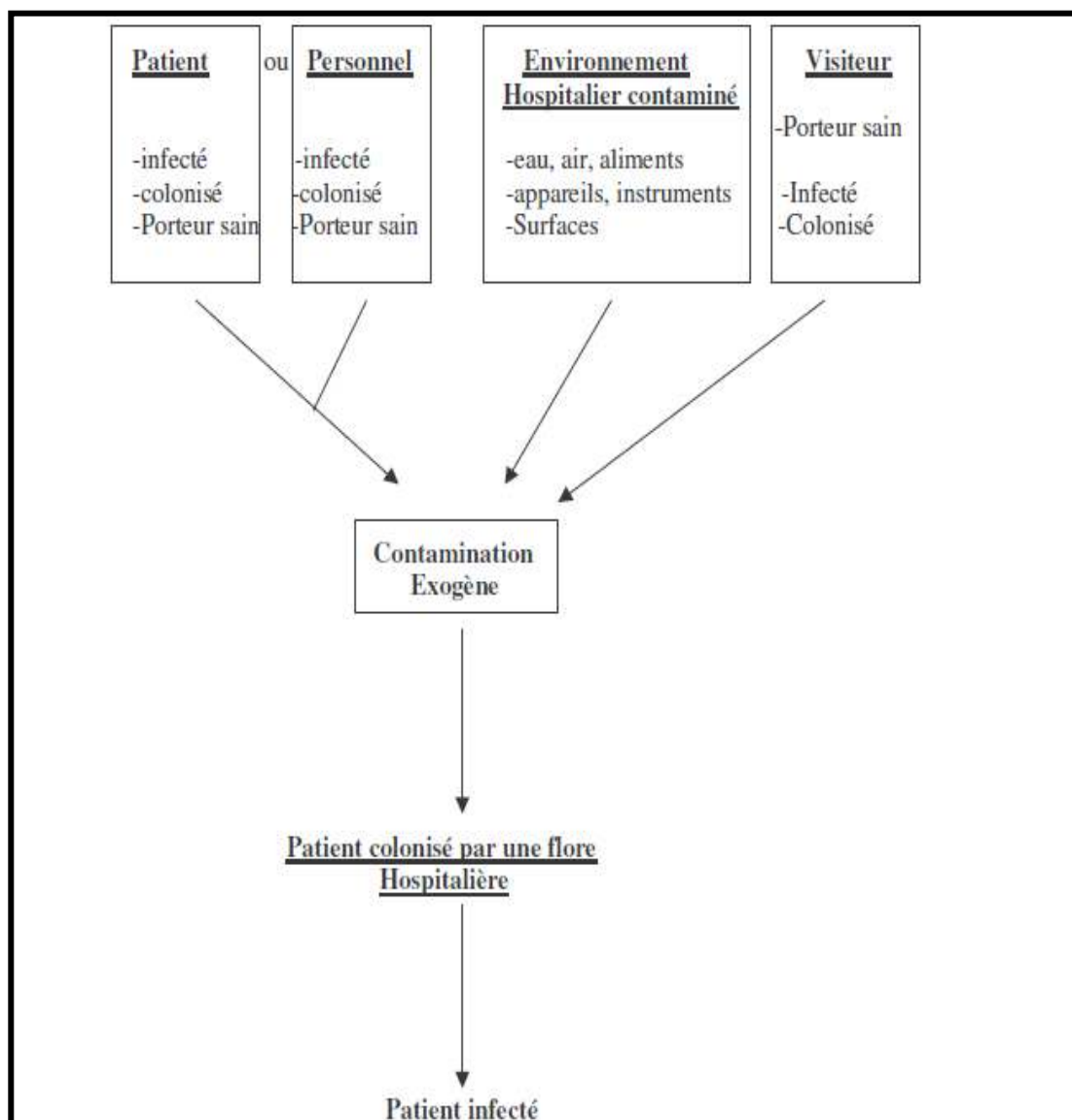
(SAID, 2005)

b) - 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 manuportée 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 (SAID, 2005).

Figure 2 : Transmission exogène (Hétéro infection).



(SAID, 2005)

c)- Xéno-infection :

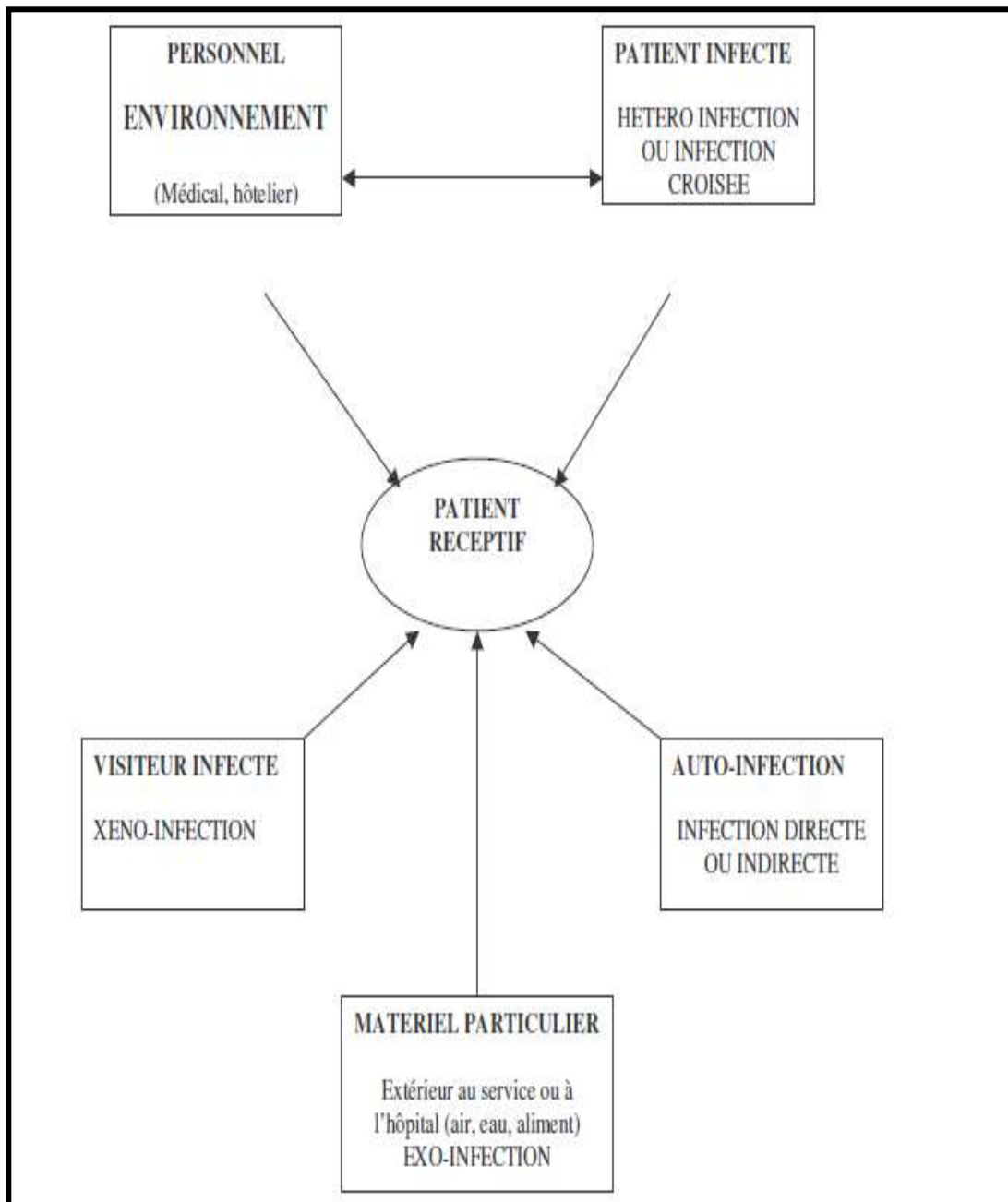
Ce sont des infections qui sévissent sous forme endémique ou épidémique dans la population extrahospitalière. Les agents infectieux sont importés à l'hôpital par les malades, le personnel soignant, ou les visiteurs qui en sont atteints ou qui sont en phase d'incubation. Ils se transmettent par voie aérienne, par contact direct ou indirect et trouvent à l'hôpital des victimes particulièrement réceptives et des conditions de transmission facilitées. Lorsque la maladie infectieuse est le seul motif d'hospitalisation, les mesures immédiates d'isolement peuvent être prises. Mais dans certains cas l'infection est indépendante du motif d'hospitalisation (**SAID, 2005**).

d)- 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 (**SAID, 2005**).

I.6-2-Agent réceptif :

Certaines pathologies entraînent une légère immunodépression : les malades à risque sont : les brûlés, les grabataires avec des escarres étendues, les polytraumatisés et les porteurs de dispositifs invasifs (assistance respiratoire, sonde urinaire, cathéters divers), les insuffisants respiratoires, les vieillards et surtout les nouveaux nés prématurés. Ils sont donc exposés à une infection nosocomiale (SAID, 2005).

Figure 3 : Transmission de l'infection hospitalière.

(SAID, 2005)

I.6-3- Facteurs de risque de l'infection nosocomiale

Une revue de 1022 épidémies d'infections nosocomiales survenues de 1966 à 2002, indique que la cause de l'épidémie est dans :

25,7% des cas, le patient.

11,9% l'équipement et les dispositifs médicaux.

11,6% le personnel.

39,9% des cas, non déterminée. (YVON, 2012)

Selon MALEK *et al.*, (1996) :

Les principaux facteurs de risque nosocomiaux sont les suivants :

- **Gestes et techniques invasives** : cathéters vasculaires (vénaux et artériels), cathétérisme urinaires, intubation-ventilation artificielles, endoscopie, coelioscopie, biopsie d'un organe (moelle, foie,...), mise en place de perfusion.
- **Etat général de patient** : les patients les plus exposés à l'infection nosocomiale sont ceux âgés de plus de 60 ans, touchés par une affection grave (polytraumatisé, brûlés,...) grabataires (pathologie des décubitus), immunodéprimés (cancers, chimiothérapie, SIDA...) ou déjà infectés.
- Patients recevant une antibioprofylaxie à large spectre.
- Présence de patients contaminés ou infectés par un germe nosocomial, notamment dans une unité de soins intensifs.
- Certains auteurs rapportent que le risque d'infections opératoire et lié à la durée d'interventions (risque 1% si l'intervention ne dure que 30 min, risque de 14% en cas d'intervention durant 3h30minutes).
- **Type de structure hospitalière** : une enquête de prévalence, réalisée en 1993 en France sur 39 hôpitaux, a montré que le taux d'infection nosocomiales les plus élevées sont enregistrés dans les hôpitaux universitaires (CHU, plus de 500 lits), et les hôpitaux généraux de 150 à 300 lits.
- **Type de service hospitalier** : l'infection nosocomiale est globalement plus fréquente en chirurgie qu'en médecine. Les services les plus touchés par l'infection nosocomiale sont l'anesthésie-réanimation, les services de grands brûlés et la néonatalogie.
- Mauvaise formation du personnel (paramédical et médical) à l'hygiène élémentaire.

I.1- Environnement hospitalier

L'allongement de la durée de l'hospitalisation, la croissance de la consommation en antibiotiques, l'augmentation de la morbidité voire de la mortalité hospitalière sont les conséquences directes de l'importance des infections nosocomiales dans les établissements de santé. Ces constatations incitent à pratiquer une politique de soin intégrant les facteurs de risques infectieux liés à l'environnement hospitalier.

En effet, dès son admission et jusqu'à sa sortie de l'établissement, le malade – baigne- dans cet environnement. La surveillance de l'environnement hospitalier constitue un élément important du programme du contrôle des infections par les informations qu'elle apporte, mais beaucoup plus par la sensibilisation qu'elle entretient au sein du personnel.

L'environnement hospitalier est composé de divers éléments, à la fois distincts intriqués, au sein de l'architecture hospitalière : l'air, le sol, et les surfaces, les eaux, le matériel médical, les aliments, le linge... (N. Hygis, 1998).

I.2- Risques infectieux liés à l'environnement

I.2.1-L'environnement,réservoir potentiel d'organismes impliqués dans les infections nosocomiales

L'environnement hospitalier est largement contaminé par des micro-organismes d'origine humaine ou spécifiquement environnementaux.

Cette contamination varie qualitativement et quantitativement dans le temps, d'un établissement à un autre et, au sein d'un même établissement, en fonction des services, des patients, des soins et techniques pratiqués.

Les microorganismes présents dans l'environnement hospitalier sont extrêmement variés (bactéries, levures, champignons filamenteux, virus et parasites) et peuvent appartenir aussi bien aux espèces opportunistes qui ne manifestent leur virulence que sur un organisme dont les défenses immunitaires sont affaiblies, qu'aux espèces habituellement pathogènes pour l'homme. La capacité de créer une infection découle d'une combinaison de facteurs associant le niveau d'expression des facteurs de virulence du microorganisme, sa quantité ou sa concentration, le mode de contamination (aérienne,hydrique...) et la réceptivité de l'hôte. (CAVALLO.JD, ANTONIOTTI.G *et al.*, 2002).

❖ Les bactéries

Deux types de bactéries peuvent être retrouvés dans l'environnement des patients :

- ✓ **Des bactéries d'origine humaine** (peau, muqueuses) parmi lesquelles des bactéries multi résistantes aux antibiotiques comme *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline, les entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre élargi ou les *Enterococcus* résistants à la vancomycine.
- ✓ **Des bactéries d'origine environnementale** dont certaines ont de fréquentes résistances naturelles aux antibiotiques, notamment les bacilles à Gram négatif comme *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia*, *Legionella pneumophila* ou les mycobactéries atypiques.

Lorsque les patients sont colonisés et surtout lorsqu'il existe une infection patente, leur environnement immédiat est en général fortement contaminé par ces microorganismes.

La survie et éventuellement la multiplication de ces bactéries conditionnent la nature, l'importance de la colonisation environnementale et la capacité de l'environnement à devenir un réservoir dans lequel le micro-organisme persiste et éventuellement une source à partir de laquelle le micro-organisme va pouvoir être transmis. Cette survie dans l'environnement, favorisée par la formation de biofilms au niveau des surfaces, varie selon les bactéries et la nature des surfaces contaminées. *Staphylococcus aureus* et *Acinetobacter baumannii* sont les espèces parmi les plus résistantes à la dessiccation et peuvent survivre plusieurs semaines sur des surfaces sèches, devant *Pseudomonas aeruginosa*, certaines entérobactéries comme *Serratia marcescens* et les entérocoques qui peuvent survivre plus d'une semaine.

Escherichia coli, entérobactérie la plus fréquente dans les infections nosocomiales est beaucoup moins résistante à la dessiccation.

Des survies particulièrement longues, atteignant plus de 6 mois sont décrites, en particulier avec certaines souches épidémiques de *S.aureus* résistant à la méticilline. Dans des conditions d'humidité et en présence de matières organiques, la survie est encore plus longue. La capacité de sporuler propre à certaines bactéries comme *Clostridium difficile* leur assure une très longue persistance dans l'environnement. (CAVALLO.JD, ANTONIOTTI.G *et al.*, 2002).

I.2.2-Les liens entre la contamination de l'environnement et la survenue d'infections nosocomiales

La contamination de l'environnement par des micro-organismes fait poser la question de leur responsabilité dans la genèse des infections nosocomiales.

Lors d'infections nosocomiales survenant sur un mode épidémique, le microorganisme responsable de l'épidémie peut être retrouvé dans l'environnement. Si ce dernier peut être une source de transmission à l'homme, la preuve formelle de sa responsabilité exclusive dans la genèse de l'infection reste difficile à apporter.

En effet, les épidémies d'infections nosocomiales sont presque toujours associées à une transmission interhumaine, ou à la contamination de dispositifs médicaux ou d'un liquide normalement stérile. La place de la transmission directe interhumaine est reconnue comme prépondérante par rapport à la transmission liée à l'environnement.

Le rôle de l'air dans la survenue des infections du site opératoire a essentiellement été étudié dans les interventions de chirurgie orthopédique prothétique. Lidwell a démontré que le niveau de contamination de la plaie opératoire ainsi que le taux d'infection post-opératoire en chirurgie orthopédique prothétique étaient liés au niveau de contamination de l'air du bloc opératoire.

Si l'aérobiocontamination a pu être impliquée comme source d'infections nosocomiales du site opératoire, il n'existe pas d'arguments pour mettre en cause l'environnement inerte du bloc opératoire comme les sols, les murs ou les autres surfaces.

L'implication de l'environnement dans la transmission des infections nosocomiales doit être prise en compte. La maîtrise de l'environnement apparaît indispensable dans les établissements de santé, afin de protéger les patients, en particulier les plus fragiles, ainsi que le personnel. Cette maîtrise repose sur la mise en œuvre de démarches d'analyse des risques qui s'appuient sur la définition de niveaux de qualité requis adaptés à chaque type de situation. **(CAVALLO.JD, ANTONIOTTI.G *et al.*, 2002).**

I.2.3-La biocontamination de l'environnement hospitalier

I.2.3.1-Contamination de l'eau

Les infections nosocomiales reliées à l'eau contaminée sont abondamment citées dans la littérature scientifique. Parmi les organismes pathogènes les plus fréquemment rapportés, il faut mentionner *Legionella*, *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) et plus rarement *Aspergillus* et *Fusarium*. Des études récentes reconnaissent qu'environ 30 à 40 % des infections nosocomiales à *P. aeruginosa* dans les unités de soins intensifs seraient reliées à l'eau. La formation de biofilms dans les réseaux de distribution et de drainage des eaux est à la base de cette contamination. Les robinets, les aérateurs et les drains des lavabos sont particulièrement propices à la formation de ces biofilms.

Les robinets électroniques (RE), d'abord installés dans les aires commerciales et publiques, ont fait leur entrée dans les centres hospitaliers au début des années 90. La promotion de ces derniers a reposé sur la diminution de la consommation de l'eau et sur la promotion de l'hygiène en évitant le contact avec les mains. Aucune étude à ce jour n'a cependant démontré un lien entre l'installation de RE et la diminution du taux d'infections nosocomiales ou du taux de colonisation des patients. Quelques études ont par ailleurs rapporté une contamination plus facile et plus fréquente des RE par les bactéries dont *Pseudomonas* et *Legionella* et une contamination résistante aux biocides et aux désinfectants (**Céline Laferrière et Benoit Barbeau., 2009**).

I.2.3.2-Contamination de l'air

L'air véhicule de nombreux micro-organismes (bactéries, virus, levures, moisissures) dont la grande majorité ne présente pas de pathogénicité pour le sujet sain.

Les germes présents dans l'air ont une double origine : environnementale correspondant à la flore saprophyte, et humaine composée de bactéries de la flore commensale humaine constituant la flore accidentelle.

En l'absence de tuberculose aérienne, les germes sédimentent spontanément : la courbe de densité des germes dans l'air décroît régulièrement et devient négligeable en quatre à cinq heures. Lorsque l'air de la pièce est agité (ouverture de porte, de fenêtre, mouvements de personne), les germes sont remis en suspension.

Les germes présents dans l'air ont un devenir variable suivant la température, la lumière, le degré d'hygrométrie. La durée de survie des bactéries est également variable suivant les espèces : les bactéries à Gram négatif, plus fragiles et sensibles à la dessiccation, ont une durée de vie plus courte que les bactéries à Gram positif.

La transmission aérienne des infections nosocomiales serait responsable de 10 à 20 % des infections nosocomiales endémiques. Certaines sites de l'hôpital sont plus exposés aux infections liées à l'environnement aérien, en particulier les blocs opératoires et les unités onco-hématologie accueillant des patients aplasiques.

Plusieurs études ont montré l'impact de la contamination bactérienne de l'air sur l'incidence des infections post-opératoires. Les risques sont majorés lors de la mise en place de matériel prothétique, ou lorsque la contamination aérienne est importante. Ces constatations ont conduit à l'utilisation d'installations complexes comme les enceintes à flux laminaire lors de la mise en place de prothèses en chirurgie orthopédiques, réduisant le taux d'infections post-opératoires.

Diverses publications ont mis en évidence la relation entre les travaux de rénovation de bâtiments et la survenue d'infections pulmonaires à *Aspergillus* chez les immunodéprimés ou aplasiques.

D'autres études ont rapporté les risques d'infections pulmonaires à *Legionella pneumophila* par les systèmes de climatisation (N. Hygis, 1998).

I.2.3.3-Contamination des surfaces

La contamination du sol dépend en partie de la contamination aérienne.

En effet, la biocontamination des surfaces se fait par contact (chaussures, roues de chariot) ou par sédimentation des particules en suspension dans l'air.

La contamination crée sur les surfaces une flore de contamination -transitoire- facilement accessible aux procédés simples de nettoyage, et de prélèvements.

Certains étapes du nettoyage avec des produits sans activité antibactérienne sont susceptibles de remettre en suspension de nombreux micro-organismes entraînant une contamination transitoire des surfaces.

Selon les conditions de température, l'hygrométrie, la présence de matières nutritives permettant la culture bactérienne, une colonisation des surfaces par une flore plus résistante peut se produire. Les bactéries se fixent alors aux surfaces et deviennent plus difficiles à objectiver et à éradiquer (N. Hygis, 1998).

I.2.3.4-Le matériel médical

Le milieu hospitalier offre une grande variété d'instruments et de matériels divers utilisés à but thérapeutique ou diagnostique. ce matériel à trois catégories différentes :

- Matériel à usage unique devant être jeté après une première utilisation
- Matériel réutilisable pouvant être stérilisé
- Matériel réutilisable ne pouvant être stérilisé

Ce matériel comprend humidificateurs, respirateurs, endoscopes, matériel de coelioscopie, instruments chirurgicaux, matériel de drainage...

De nombreux exemples de la littérature rapportent des épisodes d'infections nosocomiales liées à l'utilisation de matériel médical.

Le risque infectieux lié à l'endoscopie digestive a été montré lors de la réalisation de biopsies gastriques (*helicobacter pylori*), de colonoscopies (salmonelles), de biopsies coliques (virus de l'hépatite C). la fibroscopie bronchique a également été à l'origine d'infections nosocomiales pulmonaires à mycobactéries et à bacilles à Gram négatif (N. Hygis, 1998).

I.3- Classification des locaux selon le risque infectieux

Tableau 1 : Zones à risques à l'hôpital.

Zone 1 Risques minimales	Zone 2 Risques moyens	Zone 3 Risques sévères	Zone 4 Très hauts risques
-Halls -Bureaux -Services administratifs -Services techniques -Maison de retraite	-Maternité -Soins de suite et de réadaptation -Soins de longue durée -Salle de rééducation fonctionnelle -Etablissement d'hébergement pour personnes âgées dépendantes(EHPAD) -Psychiatrie -Consultation externe -Crèche -Laboratoires -Stérilisation centrale (zone lavage) -Pharmacie -Blanchisserie -Dépotoire -Offices -Sanitaires -Ascenseurs -Escaliers -Salle d'attente -Circulations	-Soins intensifs -Réanimation -Urgences -Salle de surveillance poste interventionnelle -Salles d'accouchement -Pédiatrie -Chirurgie -Médecine -Hémodialyse -Radiologie -Exploration fonctionnelle -Nurserie -Biberonnerie -Stérilisation centrale(zone de conditionnement) -Salle d'autopsie	-Néonatalogie -Salle d'intervention -Service de greffe -Service de brûlés
Nettoyage quotidien	Nettoyage-désinfection quotidien	Nettoyage-désinfection quotidien voire pluriquotidien	Nettoyage-désinfection pluriquotidien et étape de désinfection

(VERDIL.X, 2005)

I.4- Prévention des infections nosocomiales

Selon ANONYME 2 (2003), la prévention des infections nosocomiales est assurée par l'hygiène hospitalière qui prend en compte l'ensemble des aspects cliniques, microbiologiques et épidémiologiques des infections mais également l'organisation des soins, la maintenance des équipements hospitaliers, la gestion de l'environnement, la protection du personnel. Elle constitue un indicateur de qualité des soins et de sécurité.

En voici quelques règles de base :

a) Le lavage des mains :

- Lavage simple des mains :

L'objectif est de prévenir la transmission manuportée et éliminer la flore transitoire

- Lavage antiseptique des mains :

Les objectifs sont d'éliminer la flore transitoire et de diminuer la flore commensale

- Lavage chirurgical des mains :

Les objectifs sont d'éliminer la flore transitoire et de réduire la flore commensale de façon significative.

b) Le port de gants :

Il est nécessaire lors de tout contact avec un liquide biologique (sang, urines, ...) afin de prévenir le risque infectieux et de protéger le personnel soignant. Le port de gants n'exclut pas le lavage des mains avant et après leur utilisation. Ils doivent être changés entre chaque patient et entre chaque soin.

c) La tenue professionnelle :

Elle doit être changée quotidiennement et à chaque fois qu'elle est souillée. Les ongles doivent être courts et sans vernis. Les mains et poignets doivent être nus et les cheveux longs attachés. Toutes ces mesures sont destinées à réduire le risque de transmission des germes car ces endroits favorisent leur « accueil ». Pour la prise des repas, la tenue est remplacée par la tenue de ville afin de la protéger des souillures et limiter les voies de transmission des micro-organismes dont elle est porteuse.

d) Les isolements :

- Les mesures d'isolement ont pour objectif d'établir des barrières à la transmission des micro-organismes :
 - d'un patient à un autre patient.
 - d'un patient à une personne soignante.
 - d'une personne soignante à un patient.
 - de l'environnement au patient.
- On distingue les mesures d'isolement septique et les mesures d'isolement protecteur.

Isolement protecteur :

Il est mis en place pour protéger un patient fragile ou immunodéprimé (ex : patients brûlés ou en aplasie médullaire)

Isolement septique :

Il est indiqué à chaque fois qu'un patient est atteint d'une maladie contagieuse ou porteur d'un agent infectieux susceptible de disséminer lors de gestes de soins.

- Quelques soient les mesures d'isolement, des précautions standards sont requises parmi lesquelles : l'hygiène des mains, le port des gants, la surblouse, les lunettes et/ou masque s'il existe un risque de projection ou d'aérolisation de sang ou tout autre produit d'origine humaine.
- Parfois, des précautions particulières sont nécessaires en complément des précautions standards. Elles sont définies en fonction de l'agent infectieux (réservoirs, modes de transmission, résistance dans le milieu extérieur...) et de l'infection (localisation, gravité...).
- Il existe donc différents types d'isolements septiques :
 - Isolement respiratoire
 - Isolement cutané
 - Isolement entérique
 - Isolement Bactérie Multi Résistante
- Ces précautions peuvent comporter :
 - l'isolement géographique en chambre individuelle
 - la limitation des déplacements
 - un renforcement du lavage des mains

- le port de vêtements de protection (gants, surblouse, lunettes, masque)
- le renforcement des précautions lors de l'élimination des déchets.

e) Elimination des déchets :

- Pour prévenir le risque infectieux, les déchets hospitaliers doivent être éliminés selon certaines procédures.
- Les sacs noirs sont utilisés pour des déchets assimilables aux ordures ménagères. Les sacs jaunes sont utilisés pour les déchets d'activité de soins à risque infectieux :
 - tous les objets ou instruments ayant été en contact avec les patients infectés ou à risque
 - tous les objets ou instruments souillés par des liquides biologiques
 - tous les objets ou instruments provenant de la préparation et de l'administration de produits

Parmi les sacs plastiques utilisés pour l'élimination des déchets hospitaliers, il n'existe aucune législation officielle concernant le choix des couleurs, cependant, selon les recommandations européennes, les couleurs noir et jaune sont privilégiées.

- Les sacs se trouvant dans les chambres des patients sont réservés à leur usage personnel.
- les collecteurs pour déchets perforants sont utilisés pour l'élimination de tous les déchets coupants et tranchants (ex : aiguilles, ampoules...).

f) Les antiseptiques :

L'antiseptie : Opération au résultat momentané permettant au niveau des tissus vivant dans la limite de leur tolérance, d'éliminer ou de tuer les micro-organismes et/ou d'inactiver les virus.

Un antiseptique : Produit ou procédé utilisé pour l'antiseptie dans les conditions définies.

Les antiseptiques s'utilisent uniquement au niveau des tissus vivants. Ce sont des médicaments. Un bon antiseptique doit être soluble dans l'eau ou l'alcool, être stable dans le temps, avoir un large spectre d'activité, incapacité à induire des résistances, absence d'effets secondaires. Les antiseptiques sont bactériostatiques/bactéricides et/ou virucides et/ou fongicides.

Règles d'utilisation :

- Ne s'appliquent que sur une peau propre
- A conserver 8 à 10 jours après son ouverture
- Ne jamais mélanger 2 gammes d'antiseptiques différentes
- Les antiseptiques moussants doivent être rincés après usage
- Respecter les flacons d'origine, préférer les uni doses
- Vérifier date de péremption
- Temps de contact : 1 minute

g) Les désinfectants :

La décontamination est une opération au résultat momentané permettant d'éliminer les microorganismes. Elle s'adresse uniquement au matériel souillé.

La désinfection est une opération au résultat momentané permettant d'éliminer les microorganismes et/ ou d'inactiver les virus portés par les milieux inertes (voir annexe 7). Elle s'adresse uniquement au matériel décontaminé (rincer). (contrairement aux antiseptiques).

I.5-Résistance des bactéries en milieu hospitalier :

Selon ANONYME 3 (2012), Il y a quelques années encore, la multirésistance était rencontrée presque exclusivement à l'hôpital où la sélection de bactéries résistantes est élevée, puisqu'en un même lieu sont associés une concentration élevée de personnes et une utilisation massive d'antibiotiques.

Le phénomène est inquiétant car désormais, la résistance est sortie des murs de l'hôpital et est fréquemment observée en pratique de ville.

Le pneumocoque responsable des infections pulmonaires et des otites moyennes est devenu résistant à la pénicilline G (50% des souches) et aussi à l'érythromycine. Ces deux résistances se trouvent associées dans 70% des cas. La médecine de ville commence à être démunie face à cette bactérie très pathogène dont la résistance connaît une dissémination au niveau mondial. Le bacille de la tuberculose a également développé, en dehors de l'hôpital, des résistances aux antibiotiques de référence (isoniazide et rifampicine).

L'hôpital présente les conditions les plus propices au développement de la résistance aux antibiotiques : une prescription élevée d'antibiotiques (chez 30 à 40% des patients) favorise l'émergence de bactéries résistantes et la concentration de population favorise la dissémination rapide, par transmission interhumaine, des souches résistantes. De ce fait, les infections nosocomiales constituent un risque important en terme de santé publique puisque selon une récente enquête nationale, leur prévalence s'élève en France à 7,6% ; elles ont aussi un coût socio-économique élevé.

À l'hôpital, on constate par exemple, qu'environ 57% des souches de staphylocoque doré sont résistantes à la méthicilline. Plus inquiétante encore est la découverte depuis 1997 de souches à sensibilité diminuée à la vancomycine, qui reste l'un des seuls antibiotiques actifs sur ces souches résistantes à la méthicilline. Cette nouvelle résistance vient s'ajouter, à la multirésistance du staphylocoque qui est déjà résistant à la plupart des antibiotiques ou familles d'antibiotiques.

Plus la résistance est élevée, et plus l'on prescrit des antibiotiques nouveaux favorisant l'émergence de nouvelles résistances et la survenue des infections nosocomiales. On assiste à une sorte de spirale infernale de la résistance avec ses conséquences en termes médicaux et économiques. Cependant, des programmes de prévention bien conçus sont à même de réduire les infections acquises dans les hôpitaux.

I- Définition des antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances antibactériennes d'activité sélective et non toxique sur une catégorie d'agents microbiens : les bactéries. Ils ont un site d'action bien défini et un mécanisme précis permettant leur utilisation dans le traitement de la majorité des infections et il a le pouvoir d'exercer un effet bactériostatique (il inhibe la prolifération bactérienne) et un effet bactéricide (il détruit les bactéries) (MANUELLE, 2008).

II- Classification des antibiotiques

Actuellement, il existe plus de 10 000 molécules d'antibiotiques, mais seulement une centaine (dont un quart sont des pénicillines) sont efficaces et utilisables pour des applications thérapeutiques. Les autres sont trop toxiques, trop instables ou ont une biodisponibilité insuffisante chez l'Homme (DINH, 2012).

Ils sont classés en famille en fonction de leurs origines (naturel ou synthétique), nature chimique, mode d'action.

a) Selon la nature chimique :

Parmi celles-ci, qui sont les plus importants :

- les β -lactamines
- les tétracyclines
- les aminoglycosides
- les macrolides
- les glycopeptides
- les sulfamides
- les fluoroquinolones. (KUMMERER, 2009)

Pour la désignation des différentes familles d'antibiotiques...(Voire annexe 3).

b) Selon leur mode d'action :

Les antibiotiques ont plusieurs mécanismes d'action qui leur permettent d'être opératifs sur la gamme entière des bactéries (STORA, 2010).

(Exemples d'antibiotiques... Voir Tableau 2)

-Action sur la paroi :

L'antibiotique bloque l'assemblage des éléments protidiques et lipidiques constituant la paroi de la bactérie (STORA, 2010).

-Action sur l'ADN :

Pour se multiplier, la bactérie a besoin de fabriquer en doubles ses chromosomes. L'antibiotique bloque l'ouverture de l'ADN et empêche son dédoublement (STORA, 2010).

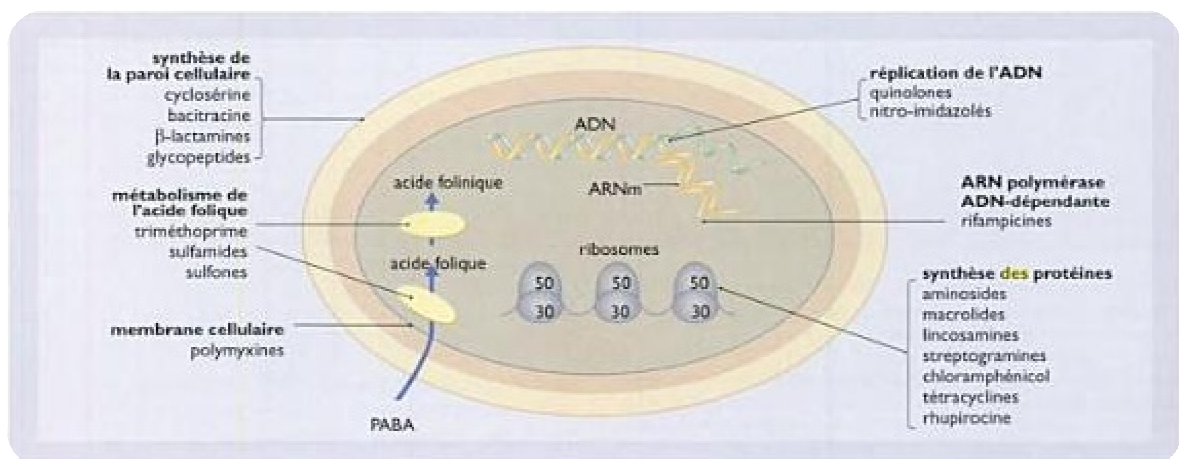
-Action sur la synthèse protéique :

A partir d'une information provenant du chromosome (ARN messenger), le ribosome (lieu de la synthèse protéique) lit cette information et fabrique une protéine. L'antibiotique perturbe la lecture de l'information au niveau de ribosome. Les protéines ainsi fabriqués ne sont pas utilisables : la bactérie ne peut ni se vivre ni se développer (STORA, 2010).

-Les antimétabolites :

Une bactérie a besoin d'éléments pour reconstituer son ADN. Si l'on apporte des substances qui ressemblent aux acides nucléiques nécessaires à la bactérie, celle-ci les intègre, mais le génome ainsi constitué illisible (STORA, 2010).

Figure 4 : Sites d'action de différents types d'antibiotiques.



(CLIVE P, 1999)

Tableau 2 : Mécanismes d'action des antibiotiques.

Antibiotiques	Mécanismes	Bactériostase	Bactéricidie
	Inhibition de la synthèse du peptidoglycane		
β-lactamines	Inhibition des PLP (activité transpeptidase), par analogie structurale du cycle β-lactamine avec le dipeptide terminal D-Ala-D-Ala du précurseur disaccharide-pentapeptide.		+
Glycopeptides	Fixation sur le dipeptide terminal D-Ala-D-Ala du disaccharide-pentapeptide empechant, par encombrement stérique, l'action des transglycosylases.	+	
Fosfomycine	Inhibition de la pyruvyl-transférase cytoplasmique, qui permet la formation d'acide N-Acétyl Muramique.		+
	Inhibition de la synthèse protéique		
Aminosides	Fixation sur la sous-unité 30S et/ou 50S du ribosome ; inhibition de la translocation du peptide en formation .		+
Tétracyclines	Fixation de la sous-unité 30S du ribosome ; inhibition de la fixation de l'aminocyl-tARN sur son site ribosomal.	+	
Phénicol	Fixation sur la sous-unité 50S ; inhibition de la liaison peptidique.	+	
Macrolides Lincosamides Streptogramines	Fixation de la sous-unité 50S ; inhibition de la fixation de l'aminocyl-tARN, de la liaison peptidique, ou de la translocation .	+	±
	Altération des membranes		
Polymyxines	Désorganisation membranaire par fixation sur les phospholipides des membranes externes et cytoplasmiques.		+
	Inhibition de la synthèse des acides nucléiques		
Quinolones	Formation d'un complexe ADN-Gyrase-Quinolone ; arret de la synthèse de l'ADN.		+
Triméthoprim Sulfamides	Inhibition de la synthèse des folates, précurseurs des bases puriques.	+	
Rifamycines	Inhibition de la synthèse des ARN messagers par fixation sur l'ARN polymérase.	+	±
Nitroimidazolés	Fixation sur l'ADN et fragmentation.		±

(FLANDROIS, 1997)

III- Résistance bactérienne aux antibiotiques

La résistance des micro-organismes vis-a-vis des agents destinés à les combattre pose de graves problèmes, surtout dans le domaine médical et, en particulier en milieu hospitalier ou, souvent, 99% des souches isolées présentent des résistances (**MEYER *et al.*, 2004**).

III.1- Définition de la résistance

Un micro-organisme est dit résistant lorsque, pour l'une des raisons évoquées, il est capable de se développer en présence d'un taux d'antibiotique significativement plus élevé que le taux habituel (**MEYER *et al.*, 2004**).

III.2- Origine de la résistance

Sur le plan génétique, la résistance des bactéries aux antibiotiques résulte soit d'une résistance naturelle soit d'une résistance acquise.

a) La résistance naturelle : ou intrinsèque est un caractère d'espèce qui touche toutes les cellules de toutes les souches. La résistance naturelle est stable, transmise à la descendance mais pas ou peu transmissible sur un mode horizontal.

b) La résistance acquise : est un caractère qui ne concerne que quelques (ou parfois de nombreuses) souches d'une espèce donnée. La résistance acquise est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien (**BAUDRY et BREZELLE., 2006**).

III.3- Mécanismes de la résistance

Les conditions de l'activité d'un antibiotique peuvent être décrites de la manière suivante : l'antibiotique doit pénétrer dans la cellule, trouver la cible moléculaire de son action, y parvenir sous forme active et maintenir le contact de la cible à une concentration suffisante pour inhiber l'agent pathogène (**PRESCOTT *et al.*, 2003**).

Selon **VAUBOURDOLLE (2007)**, les phénomènes de résistance reposent sur quatre types de mécanismes biochimiques conduisant à l'inefficacité des antibiotiques :

a- Modification enzymatique des antibiotiques

Avant que l'antibiotique atteigne la cible, il est inactivé ou détruit par des enzymes. Les Entérobactéries, par exemple les souches de *Klebsiella sp*, produisent une **β -lactamase** naturelle inactivant les amino-, carboxy- et uréido-pénicillines.

b- Réduction de la concentration intracellulaire de l'antibiotique

Par ce mécanisme parfois l'antibiotique est empêché de pénétrer dans la cellule par une altération de son système de transport (imperméabilité).

c- Modification de la cible

Le site d'action de l'antibiotique sur la cible est altéré de façon à empêcher la fixation de l'antibiotique tout en conservant la fonction cellulaire de la cible.

d- Substitution de la cible

La bactérie peut devenir résistante par la synthèse additionnelle d'une « cible alternative » qui ne réagit pas avec l'antibiotique tout en exerçant la fonction de la cible originale (qui continue à être synthétisée).

ETUDE
EXPÉRIMENTALE

CHAPITRE I

MATÉRIEL ET MÉTHODES

CHAPITRE II

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

ANNEXES

CONCLUSION

Cette étude a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie de l'EPH de Boufarik, durant une période de 4 mois (du mois de Mars jusqu'au mois de Juin 2012).

Elle consiste à identifier et à étudier la sensibilité de certaines bactéries responsables d'infections nosocomiales au niveau des salles d'accouchements et de la salle opératoire du service de gynécologie et de l'unité de néonatalogie de cet hôpital.

I.MATÉRIEL

I.1-Matériel biologique : est le prélèvement qui est effectué à partir de l'environnement hospitalier.

I.2-Matériel non biologique : représenté principalement par des verreries, des appareillages, des milieux de cultures et des réactifs... (Voire annexe 1).

II.MÉTHODES

II.1- Le prélèvement

Deux types de prélèvements ont été effectués :

- **Prélèvements avant la désinfection :** Prélèvement pour la mesure de contamination.
- **Prélèvements après la désinfection :** Prélèvement pour le contrôle de nettoyage.

Les prélèvements ont été effectués chaque semaine au niveau des salles d'accouchements, des salles de réanimation de l'unité de néonatalogie et de la salle du bloc opératoire (gynécologie).

Les prélèvements consistent à écouvillonner les surfaces du matériel et les dispositifs à analyser.

Maternité		
Service de gynécologie		Salles de réanimation de l'unité de néonatalogie
Salles d'accouchements	Salle du bloc opératoire	
- Lits de la salle prés travail. - Tables d'accouchements. - Tables chauffantes. - Table d'instruments. - La couveuse. - Le berceau. - Pèse bébé. - Scialytiques. - Chariots à tiroirs.	- Table opératoire. - Respirateur électrique. - Scialytique. - Stéri-bloc. - Table de maillot. - Chariot d'anesthésies. - Bistouri électrique. - Table d'instruments.	- Berceaux. - Couveuses. - Plaques chauffantes. - Tables d'instruments. - Tables de réanimations multifonctionnelles. - Chariots à tiroirs. - Photothérapeuses intensifs. - Sources d'oxygène.

Tableau 3 : Les sites de prélèvements

C'est ainsi, que nous avons recueilli au total **540** prélèvements effectués **avant et après la désinfection** répartis comme l'indique le tableau ci-dessous :

Lieux de prélèvements		Nombre de prélèvements	
Maternité		Avant la désinfection	Après la désinfection
Service de gynécologie	Salles d'accouchements	68	73
	Salle du bloc opératoire	91	91
Salles de réanimation de l'unité de néonatalogie		105	112

Tableau 4 : Répartition des prélèvements selon les sites.

II.2- Méthode de prélèvement

1-Prélèvement avant la désinfection :

Les prélèvements ont été effectués par un écouvillon stérile humidifié par l'eau physiologique stérile sur des surfaces qui ne sont pas encore désinfectées par mouvement de rotation, sur le point à contrôler pendant 10 secondes puis noter le point prélevé sur le tube. (L'écouvillon est humidifié par but de garder les germes récoltés en vie le temps de déplacer du lieu de prélèvement jusqu'au laboratoire puis les ensemençer)

❖ Les échantillons prélevés sont directement ensemençés sur des boîtes de Pétri contenant des milieux de culture en étalant les écouvillons puis les incuber à 37°C pendant 24 h dans l'étuve.

2-Prélèvement après la désinfection :

Les prélèvements ont été effectués par un écouvillon stérile sec sur des surfaces sèches après la désinfection par mouvement de rotation, sur le point à contrôler pendant 10 secondes puis noter le point prélevé sur le tube.

❖ Les échantillons prélevés sont recueillis dans des tubes à essais contenant le milieu BN (bouillon nutritif) ou milieu B.G.T (Bouillon Glucose Tamponné) afin d'enrichir le prélèvement puis les incuber à 37°C pendant 24 h dans l'étuve.

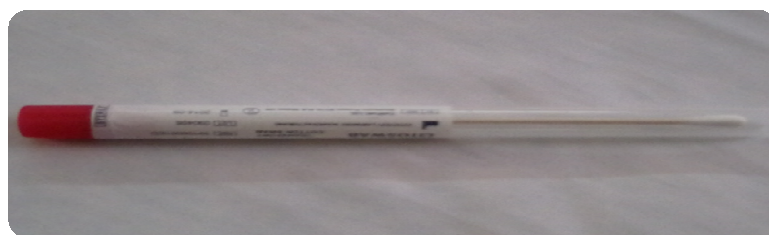


Photo 1 : Écouvillon stérile. (Photo originale)

II.3- Examen microbiologique des prélèvements

II.3.1- Examen macroscopique

Les prélèvements réalisés **après la désinfection** puis incubés doivent faire l'objet d'une observation macroscopique (à l'œil nu).

Cette observation permet de déterminer la présence ou l'absence d'une culture bactérienne. La croissance microbienne se traduit par l'apparition d'un trouble dans le bouillon, voile ou un dépôt blanchâtre donc l'aspect varie selon les espèces, ces tubes troubles vont faire l'objet d'une observation microscopique.



Photo 2 : Aspect du bouillon stérile à droite et bouillon non stérile à gauche (culture bactérienne). **(Photo originale)**

II.3.2- Examen microscopique à l'état frais

Les tubes à essais troubles vont subir un examen microscopique en mettant une goutte de bouillon entre lame et lamelle. Cette observation microscopique se fera à l'objectif x40 avec peu de lumière pour ne pas tuer les bactéries. (cet examen donne une idée du type de bactéries prévu).

L'examen microscopique consiste à déterminer :

- La forme des bactéries (cocci, bacilles).
- Le mode de regroupement des bactéries (en amas, chaînette...).
- La mobilité des germes.
- La quantité approximative des bactéries par champ microscopique.

II.3.3- Subculture Bactérienne

Les tubes troubles vont être ensemencés sur des milieux de culture en boîtes de Pétri en déposant une goutte de BGT à l'aide d'une pipette Pasteur stérile puis à l'aide d'une anse de platine préalablement stérilisée à la flamme et l'étaler par un mouvement régulier et circulaire puis les incuber à 37°C pendant 24 h dans l'étuve.

Chaque milieu de culture est spécifique pour une famille bactérienne (isolement sélectif).

Gélose nutritive : Milieu universel pour la culture et la croissance des germes peu exigeants (prototrophes) dans les eaux, les boissons et les produits biologiques.

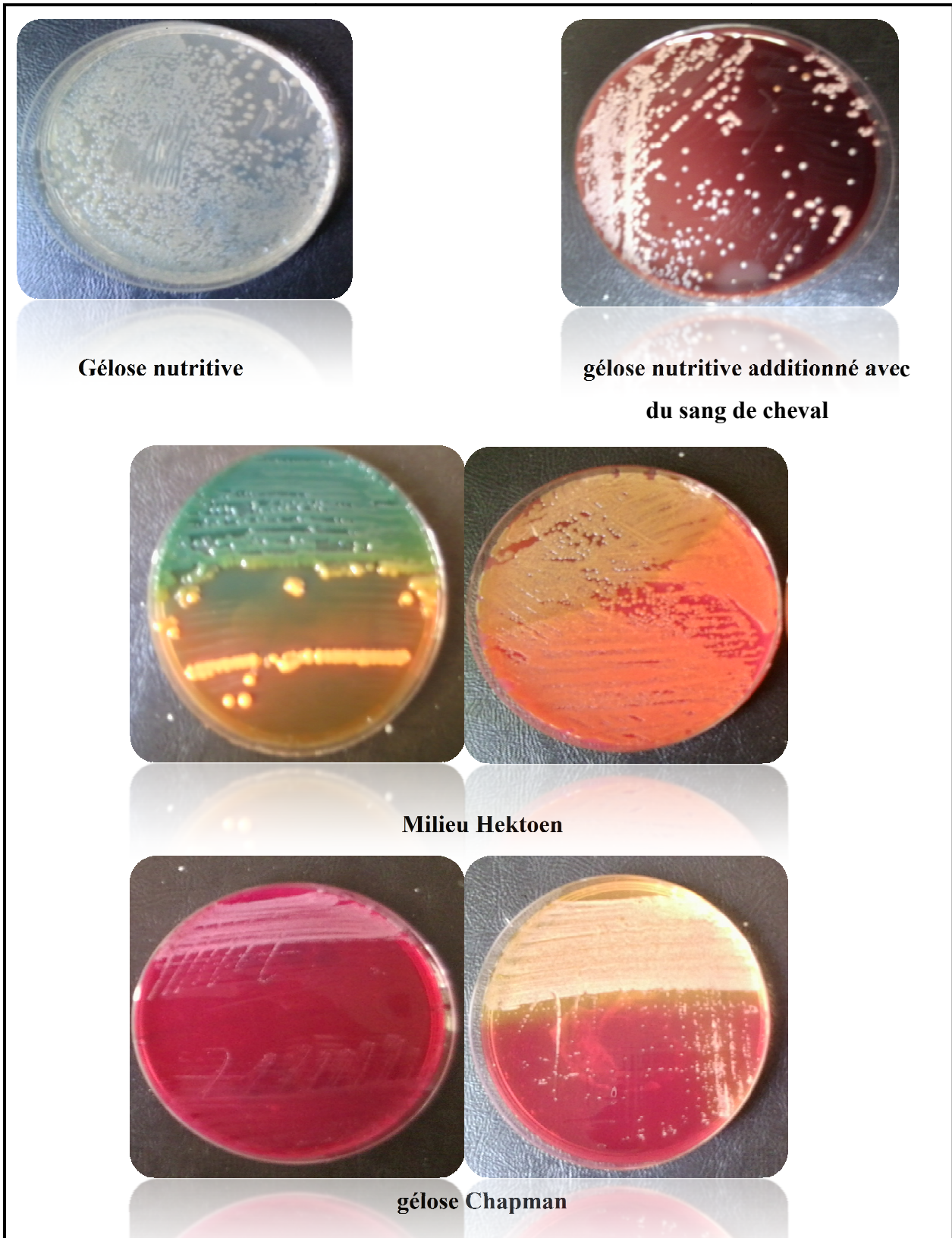
Milieu Hektoen : Milieu sélectif pour l'isolement et la différenciation des bacilles à Gram négatif (BGN) pathogènes à partir des prélèvements les plus divers.

gélose Chapman: Milieu sélectif pour l'isolement et l'enrichissement des Staphylocoques pathogènes dans les produits biologiques en microbiologie médicale.

gélose nutritive additionné avec du sang de cheval : Ce mélange va donner la gélose au sang cuit ou au sang frais qui est un milieu spécifique pour les Streptocoques hémolytiques et les Staphylocoques.



Photo3 : Ensemencement des prélèvements sur les milieux de cultures (gélose nutritive, Hektoen, Chapman et la gélose au sang frais). **(Photo originale)**



**Photo 4 : L'aspect des milieux de cultures après l'incubation (Croissance bactérienne).
(Photos originales)**

II.3.4-Identification des germes isolés

Les colonies bactériennes obtenues après culture de 24 h des prélèvements **avant et après la désinfection**, vont subir des tests de colorations et des tests biochimiques.

II.3.4.1-Examens après coloration

L'examen après coloration permet d'observer sur une lame de verre des bactéries tuées et fixées puis colorées par un ou plusieurs colorants.

Parmi les colorations, on a :

- **La coloration simple au bleu de méthylène.**
- **La coloration différentielle type Gram.**

Avant de réaliser ces colorations, les frottis doivent être d'abord **étalés** en couche mince et régulière, puis **séchés** et **fixés**.

- **Etalage sur lame de verre :**

Déposer sur une lame propre une goutte d'eau physiologique stérile à l'aide d'une pipette Pasteur stérile puis prélever une colonie bactérienne isolée à l'aide d'une anse de platine préalablement stérilisée à la flamme et l'étaler par un mouvement régulier .

- **Séchage :**

Laisser sécher la lame à l'air libre jusqu'à ce que le frottis présente un aspect mat.

- **Fixation du frottis sec :**

La fixation de la lame séchée s'effectue par la chaleur, la lame tenue par une pince (frottis situé sur le dessus) est passée quelques fois (3 à 4 fois) dans la flamme du bec Bunsen. Cette étape consiste à tuer les bactéries et à les coller sur la lame, sans en altérer la structure puis laisser refroidir avant d'entreprendre une coloration.

➤ **Coloration simple au bleu de méthylène :**

But :

Identification de la morphologie bactérienne

Technique :

1/ Recouvrir le frottis fixé et refroidi avec le bleu de méthylène.

2/ Laisser agir quelques minutes (30s à 2 min)

3/ Rincer abondamment la lame à l'eau du robinet jusqu'à élimination du colorant en excès.

4/ Laisser sécher à l'air ou sur une platine chauffante.

5/ Observer au microscope optique (Gx100) après avoir ajouté sur la lame de l'huile à immersion.

Résultat :

Les bactéries sont colorées en bleu sombre.

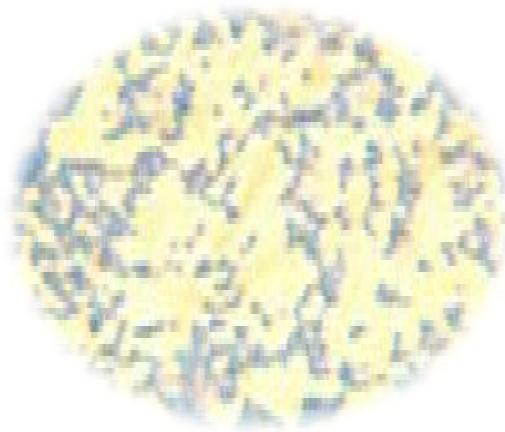


Photo 5 : Observation microscopique(Gx100) des bactéries après coloration au bleu de méthylène. **(Photo originale)**

➤ **Coloration Différentielle de Gram :**

But :

C'est la coloration de base en bactériologie qui permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne et de classer rapidement les bactéries selon leur morphologie (cocci, bacille...).

Technique :

1/ Coloration du frottis fixé et refroidi avec le Violet de Gentiane ; laisser en contact 1 min ensuite rinçage avec l'eau.

2/ Fixation au lugol pendant 45 secondes, ensuite rinçage avec l'eau.

3/ Contre coloration (décoloration) avec l'alcool pendant 30 secondes ensuite rinçage avec l'eau.

4/ Recoloration avec la fuchsine pendant 1 min ensuite rinçage avec l'eau.

Laisser sécher la lame à l'air ou au dessus de la flamme d'un bec Bunsen puis observer au microscopique optique (Gx40) puis ajouter une goutte d'huile à immersion et observer au microscopique optique (G x 100).

Résultats :

- **Gram+** : Les bactéries sont colorées en violet foncé (sont des cocci).

- **Gram-** : Les bactéries sont colorées en rose ou en rouge pâle (sont des bacilles).

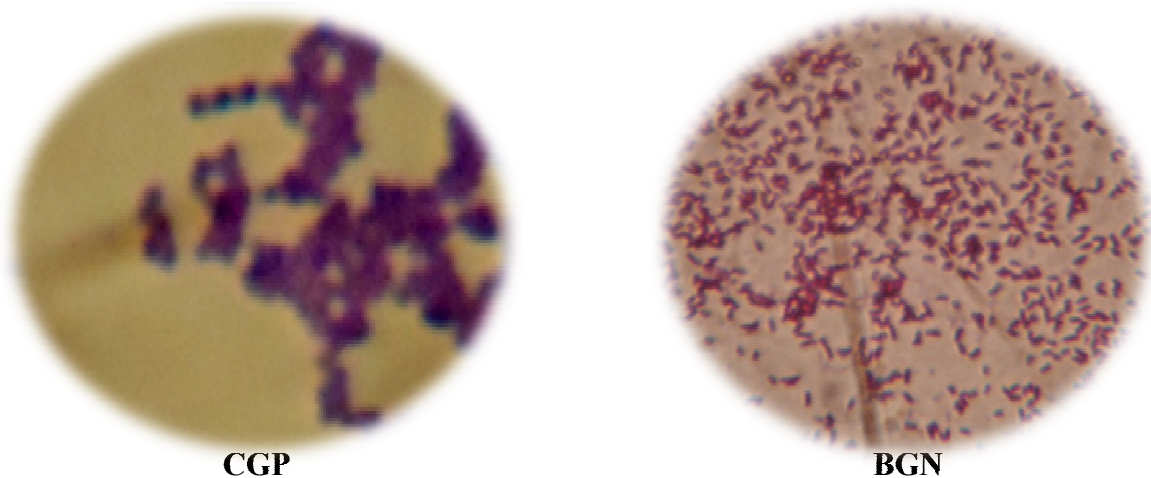


Photo 6 : Observation microscopique (G x100) des bactéries après coloration de Gram.

(Photo originale)

II.3.4.2-Tests biochimiques

1) Identification des Bactéries à Gram négatif:

➤ Test d'oxydase :

But :

Ce test est à la base de l'identification des Bactéries à Gram négatif, il permet de mettre en évidence une enzyme : la phénylène diamine oxydase des bactéries, qui est capable d'oxyder un réactif : le N diméthyl paraphénylène diamine.

Technique:

Sur une lame ou une boîte Pétri propre, déposer un disque d'oxydase imprégné par le réactif et à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée stérile prendre une colonie bactérienne isolée et la gratter sur le disque.

Lecture :

Oxydase + : Le disque prend une coloration violette foncée apparaît immédiatement sur le disque ou en quelques secondes puis vire au noir.

Oxydase - : Le disque reste incolore.

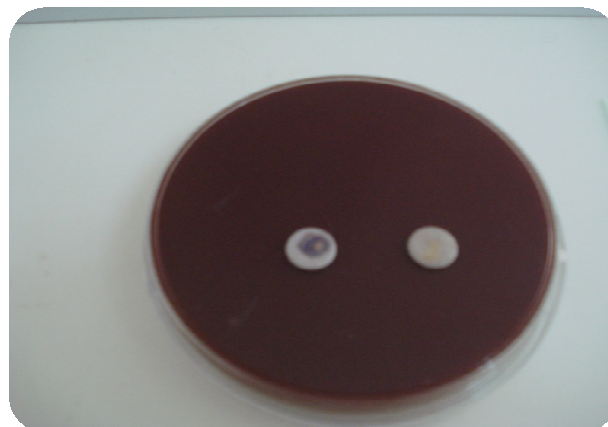


Photo 7: Test d'oxydase. (Photo originale)

➤ **Tests biochimiques classiques d'orientation (la galerie biochimique) :**

La galerie biochimique utilisée est une mini galerie classique pour l'identification des Entérobactéries (BGN).

Elle comprend les tests suivants : TSI, Citrate de Simmons, VP, Urée Indole.



Photo 8 : Mini-galerie biochimique avant l'ensemencement. **(Photo originale)**

❖ **Gélose TSI**

But :

L'identification rapide pour les entérobactéries. Il permet de mettre en évidence en 24 heures la fermentation du lactose, du saccharose, du glucose avec ou sans dégagement de gaz ainsi que la production d'hydrogène sulfuré.

Technique :

- Prélèvement des colonies bactériennes à partir d'un milieu d'isolement sélectif.
- Ensemencer la surface inclinée de la gélose par des stries et le culot par piqûre centrale à l'aide d'une pipette Pasteur.
- Incuber à 37°C pendant 24 heures (bouchon desserré ; de manière à favoriser les échanges gazeux dans l'étuve).

Lecture :

Se fait au niveau du culot pour le glucose, la production de gaz et d'hydrogène sulfuré et au niveau de la pente pour le lactose et /ou le saccharose ; donc la lecture de la gélose TSI donne quatre renseignements principaux :

1-Fermentation de glucose :

- Culot rouge : glucose non fermenté par le germe.
- Culot jaune : glucose fermenté par le germe.

2-Fermentation du lactose et /ou saccharose :

- Pente inclinée rouge : lactose et saccharose non fermentés.
- Pente inclinée jaune : lactose et/ou saccharose fermenté(s).

3-Production de gaz :

- Apparition de gaz dans le culot.

4-Production d'hydrogène sulfuré :

- Formation d'une coloration noire de sulfure de fer entre le culot et la pente ou le long de la piquête.

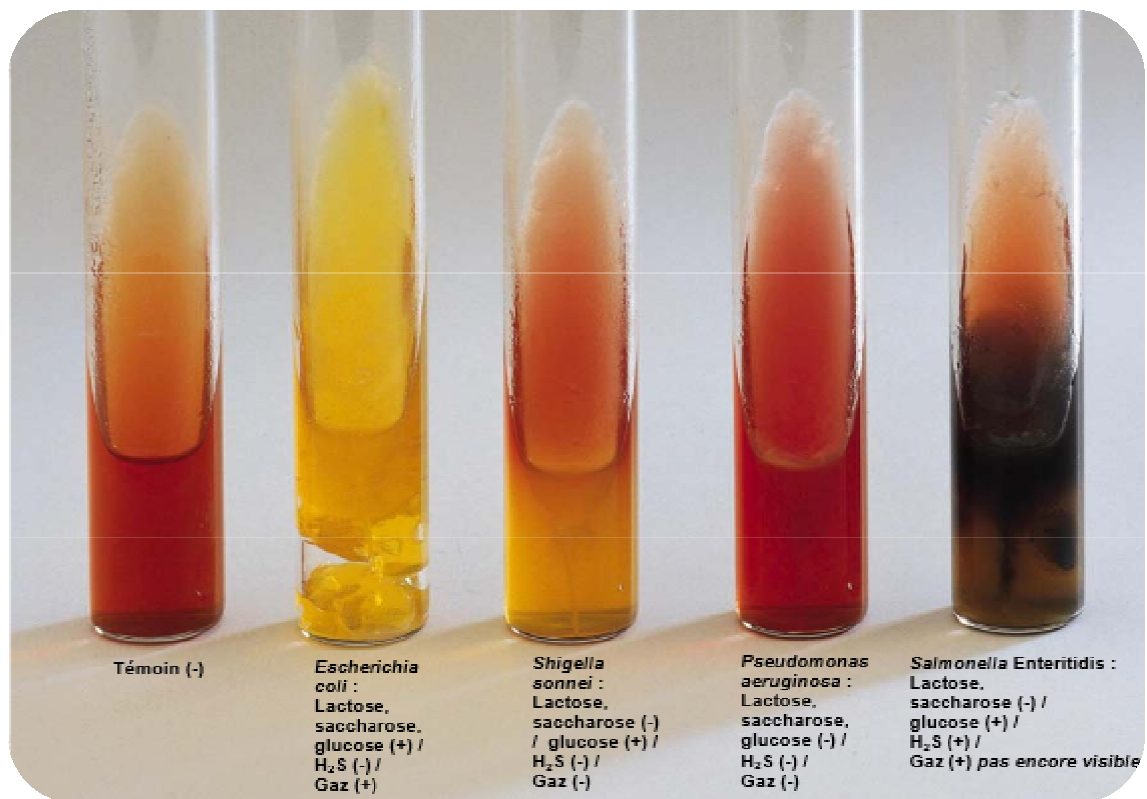


Photo 9 : Identification des entérobactéries sur gélose TSI. ANONYME 5, (2010)

❖ Agar Citrate de Simmons :**But :**

La gélose Citrate de Simmons est un milieu synthétique pour la différenciation des Entérobactéries sur la base de l'utilisation du citrate comme seule source de carbone, seules les bactéries possédant un citrate perméase sont capables de se développer.

Technique :

- La pente estensemencée par une série de stries longitudinales, réalisées par pipette Pasteur à partir des colonies bactériennes prélevées d'un milieu d'isolement sélectif.
- Incuber à 37°C pendant 24 heures, le bouchon de tube doit être débloqué pour l'incubation, l'oxygène de l'air est nécessaire pour la culture de bactéries sur ce milieu.

Lecture :

- **La souche est citrate + :** présente une culture sur la pente avec l'alcalinisation du milieu (virage de l'indicateur de pH au bleu).
Par exemple : *Serratia*, *Enterobacter* (la plupart des espèces), *Klebsiella*, *Proteus* et *Providencia*.
- **La souche est citrate - :** aucune culture sur le milieu, il n'ya pas eu alcalinisation du milieu (Pas de virage de l'indicateur de pH au bleu, il garde sa couleur d'origine (verte)).
Par exemple : *E.coli*, *Shigella*, *Yersinia* et *Edwardsiella*.



Citrate -



Citrate +

Photo 10 : Lecture de Citrate de Simmons. (Photo originale)

❖ Bouillon Clark et Lubs :**But :**

Le bouillon Clark et Lubs est un bouillon glucosée utilisé pour la différenciation des Entérobactéries, au moyen des réactions au rouge de méthyle et de Voges-Proskauer.

1) Test RM (rouge de méthyle) :

Pour la mise en évidence, grâce au rouge de méthyle, des bactéries produisant des acides organiques (éthanoïque...) par la voie des acides mixtes.

2) Test VP (Voges-Proskauer) : Voges Proskauer

Pour la mise en évidence par une réaction colorée, le butanediol et l'acétoïne.

Technique :

1/ Prélever à l'aide d'une pipette Pasteur quelques colonies bactériennes à partir d'un milieu d'isolement sélectif et les mettre dans le bouillon Clark et Lubs et incuber à 37°C pendant 24h.

2/ Après l'incubation, partager le volume sur deux tubes à essais:

- **Le test VP :** ajouter 10 gouttes de VP1 (alpha naphthol) et 10 gouttes de VP2 (soude concentrée ou de potasse) puis incliner le tube sans le bouchon pour permettre une bonne oxygénation pendant 20 min ensuite on fait la lecture.

- **Le test RM :** ajouter 2 à 3 gouttes de rouge de méthylène, la lecture est immédiate.

Lecture :

Bouillon Clark et Lubs
Témoin(-)



VP+ : Anneau rouge
en surface



RM+ : Milieu rouge

Photo 11 : Lecture du test VP et le test RM. (Photo originale)

❖ Urée tryptophane :**But :**

Appelé improprement milieu Urée Indole qui est un milieu synthétique. C'est un milieu complexe qui fournit un ensemble de résultats utiles à l'identification des bactéries à Gram -. Il permet la recherche de trois enzymes qui sont : l'uréase, la tryptophane désaminase et la tryptophanase.

Technique :

1/ Ensemencer le milieu Urée tryptophane avec quelques colonies bactériennes prélevées à partir d'un milieu d'isolement sélectif puis incubé à 37°C pendant 18 à 24h.

2/ Après l'incubation, on fait directement la lecture de l'uréase ensuite la lecture de l'indole après l'ajout de quelques gouttes du réactif de Kovacs.

3/ Si une uréase active a été observée on ramène le pH du milieu à une valeur proche de la neutralité (couleur initiale du bouillon) en ajoutant 1 goutte de HCl 0.1M. Ajouter ensuite quelques gouttes de perchlorure de fer (réactif API TDA).

Lecture :***Uréase :**

Test uréase+ : La coloration rouge traduit une alcalinisation du milieu, suite à l'hydrolyse de l'urée et formation de carbonate d'ammonium.

Test uréase - : Si le milieu persiste orange alors pas d'alcalinisation.

***TDA :**

TDA + : Obtention d'un précipité brun foncé.

TDA - : Absence de précipité.

***Indole :**

Indole + : formation d'un anneau rouge.

Indole - : absence d'anneau rouge.



**Urée tryptophane
Témoin (-)**

uréase+

Indole +

Photo 12 : Lecture de l'Urée tryptophane. (P.Y. Guillaume, 2004)

➤ **Galerie biochimique miniaturisé (API 20E) :**

La galerie API 20E est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif comprenant 21 tests biochimiques miniaturisés. La galerie API 20E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés.

Technique :

1) Préparation de la galerie :

Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et remplir environ 5 ml d'eau distillée stérile dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide, ensuite déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

2) Préparation de l'inoculum :

Prélever à l'aide d'une pipette Pasteur stérile quelques colonies pures, bien isolées et parfaitement identiques et les mettre en suspension dans un tube contenant de l'eau physiologique stérile jusqu'à obtenir la même opacité que l'étalon Mac Farland 0.5. la suspension peut être ajustée en ajoutant, soit de la culture si le trouble est trop faible, ou bien en ajoutant de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

3) Inoculation de la galerie :

Introduire la suspension bactérienne dans les microtubes de la galerie à l'aide de la même pipette.

- Pour les tests : CIT, VP, GEL remplir les tubes et les cupules avec la suspension bactérienne.
- Pour les autres tests remplir uniquement les tubes.
- Pour les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H₂S créer une anaérobiose en remplissant leur cupule d'huile de vaseline.
- Refermer la boîte d'inoculation et l'incuber à 37°C pendant 18 à 24 heures.



Photo 13 : Galerie API 20E avant l'utilisation. (Photo originale)

Lecture :

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

- Test TDA : ajouter 1 goutte de réactif TDA. Une couleur marron-rougeâtre indique une réaction positive.
- Test IND : ajouter 1 goutte de réactif Kovacs. Une couleur rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive.
- Test VP : ajouter 1 goutte des réactifs VP 1 et VP 2. Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose ou rouge indique une réaction positive. Une faible coloration rose apparaissant après 10 minutes doit être considérée négative.

La lecture de ces réactions se fait selon le tableau de lecture de la galerie API 20E. (Voir annexe 4).

Au moment de la lecture, on remplit la fiche d'identification par des signes + ou -, ensuite faire le total des résultats positifs par rapport aux numéros de chaque colonne et on décode par un catalogue.

2) Identification des Cocci à Gram positif :

➤ Test de catalase :

But :

Certaines bactéries, pendant la respiration aérobie, produisent du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), celui-ci est très toxique et certaines bactéries sont capables de le dégrader grâce à une catalase qu'elles synthétisent. Le test de catalase permet de différencier entre les *staphylocoques* et les *streptocoques*.

La catalase est une enzyme qui catalyse :



Technique :

- Sur une lame propre et sèche déposer deux gouttes d'eau oxygénée (H_2O_2).
- A l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée et stérile, ajouter une colonie bactérienne isolée à une des deux gouttes et la deuxième goutte servira de témoins positif ou négatif.
- observer immédiatement.

Lecture:

- Catalase + : Dégagement de bulle d' O_2 .
- Catalase – : Absence de bulles d' O_2 .



Photo 14 : Test de catalase positif. (Dégagement de bulle d' O_2) (P.Y. Guillaume, 2004)

➤ **Identification différentielle des Staphylocoques :**

➤ **Test de coagulase libre:**

But :

Ce test permet la mise en évidence de la coagulase ou staphylocoagulase, qui est une enzyme capable de faire coaguler le plasma sanguin, dans un bouillon de culture de *Staphylococcus* pour l'identification de *Staphylococcus aureus*.

Technique :

-Dans trois tubes à essai sec :

- Le premier tube est le témoin négatif qui ne contient que le plasma (pour confirmer que le plasma est incapable de se coaguler seul).
- Le deuxième tube est le témoin positif : le plasma humain recueilli sur tube citraté est ensemencé par une souche de *Staphylococcus aureus*.
- Le troisième tube est le tube test : le plasma humain citraté est ensemencé par quelques colonies bactériennes à tester.

-Puis incuber les trois tubes à 37°C pendant 18 à 24h.

Lecture :

- Témoin négatif : reste inchangé.
- Témoin positif : une prise en masse par inclination du tube.
- Le tube test est :
 - **Coagulase positif** : formation d'un coagulum de fibrine. Le fibrinogène (soluble) a donc été transformé en fibrine (insoluble). Il s'agit donc de *Staphylococcus aureus*.
 - **Coagulase négatif** : pas de formation d'un coagulum de fibrine. Il s'agit donc de *Staphylococcus epidermidis* ou *Staphylococcus saprophyticus*.



Aspect avant Ensemencement



Aspect du test positif



Aspect du test négatif

Photo 15 : Test de coagulase libre. (P.Y. Guillaume, 2004)

II.3.5- Antibiogramme

But :

Technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une souche bactérienne envers un ou plusieurs antibiotiques supposés ou connus. Le principe consiste à placer la culture de bactéries en présence d'un ou de plusieurs antibiotiques et à observer les conséquences sur le développement et la survie de celle-ci.

L'antibiogramme est également un bon outil d'orientation pour certaines souches difficiles à identifier et à la surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne.

➤ **Antibiogramme standard :**

Matériel :

- Une gélose Mueller-Hinton en boîte de Pétri.
- Disques d'antibiotiques, ou un distributeur permettant le dépôt standardisé des disques sur la gélose MH.
- Une souche pure de la bactérie à étudier.
- Pipette Pasteur et un écouvillon stérile.
- Étalon de Mac Farland 0.5.
- Eau physiologique stérile...

Étapes :

1 / Réalisation d'une suspension :

- Prélever à l'aide d'une pipette Pasteur stérile quelques colonies pures, bien isolées et parfaitement identiques et les mettre en suspension dans un tube contenant de l'eau physiologique stérile jusqu'à obtenir la même opacité que l'étalon Mac Farland 0.5.
- la suspension peut être ajustée en ajoutant, soit de la culture si le trouble est trop faible, ou bien en ajoutant de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

2 / Préparation de la gélose :

- Tremper l'écouvillon stérile dans la suspension bactérienne, enlever l'excès d'inoculum par pression sur les bords du tube, écouvillonner régulièrement la gélose de Mueller-Hinton, sèche, en tournant la boîte 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 MH, laisser sécher de 3 à 5 minutes.
- Déposer les disques d'antibiotiques (5 à 6 disques par boîte).
- Incuber pendant 24 h à 37°C.

Pour La Liste des antibiotiques utilisés en disques... (Voire annexe 5).

3 / Lecture des résultats :

Après incubation mesurer les diamètres des zones d'inhibition par pied à coulisse et comparer les résultats aux valeurs critiques figurant dans les tableaux de lecture (Voire annexe 6).

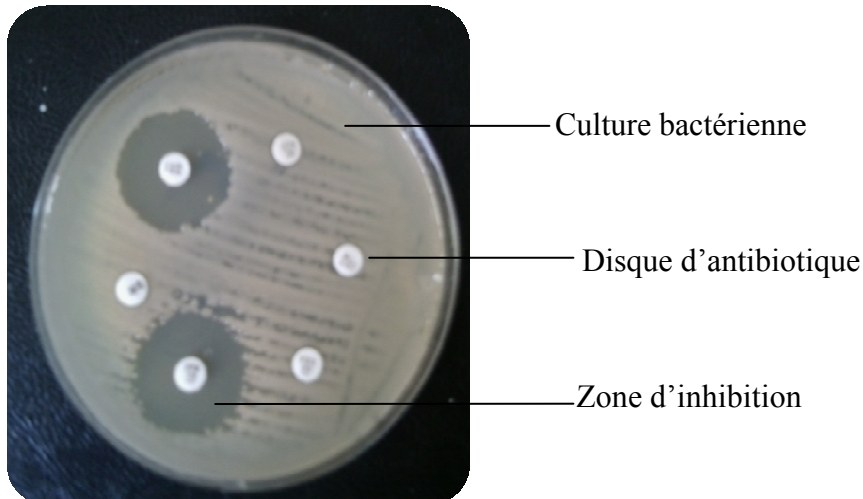


Photo 16 : Lecture d'antibiogramme des Entérobactéries. **(Photo originale)**

Pour chaque souche microbienne, la sensibilité ou la résistance à un antibiotique est différente. Elle fait appel aux notions de concentration critique inférieure (c) et de concentration critique supérieure (C).

c : dose minimale d'antibiotique qu'un malade peut recevoir sans dangers et qui fait effet sur la souche bactérienne.

C : dose maximale d'antibiotique qu'un malade peut recevoir sans dangers et qui fait effet sur la souche bactérienne.

Pour chaque couple bactérie-antibiotique, on détermine une concentration minimale inhibitrice (CMI). La CMI est la plus petite concentration d'antibiotique qui inhibe toute croissance visible. En comparant la CMI aux concentrations critiques, on détermine la sensibilité ou la résistance de la bactérie à l'antibiotique.

1) la CMI est inférieure à la concentration critique inférieure : la bactérie est sensible à l'antibiotique

2) la CMI est supérieure à la concentration critique supérieure : la bactérie est résistante à l'antibiotique.

3) la CMI est comprise entre les deux concentrations critiques : la bactérie est intermédiaire à l'antibiotique.

➤ **Tests complémentaires :**

➤ **Recherche des bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) :**

But :

Cette technique est réalisée pour les bacilles Gram négatif qui permet de différencier une bactérie hyper productrice de céphalosporinase d'une bactérie produisant une β LSE.

Techniques :

On dispose sur la surface d'une gélose Muller Hinton deux disques :

- un disque d'une pénicilline simple + acide clavulanique (AMC pour les Entérobactéries ou TIM pour les Pseudomonas).
- un disque d'une céphalosporine de troisième génération (CTX pour les entérobactéries ou CAZ pour les Pseudomonas) à 3 cm l'un de l'autre.

Résultats :

- Les β LSE sont des Bêta-lactamases et sont donc inhibées par l'acide clavulanique (Apparition d'une zone d'inhibition), on observe alors une synergie d'action appelée "bouchon de champagne" entre le disque d'AMC et les disques de céphalosporines de troisième génération C3G (CTX ou CAZ).
- En absence de l'image de synergie, la diminution du diamètre d'inhibition autour des disques de C3G laisse suspecter la présence d'une β LSE, donc on passe au test de confirmation de β LSE par le test de double disque.
- En absence de l'image de synergie et en présence de diamètre d'inhibition normal autour des disques de C3G, la β LSE n'est pas suspecté.

➤ **Test du double disque (test espagnol) :**

But :

La détection de la β -lactamase à spectre élargi (étendu) peut être confirmée par le test du double disque. Ce test plus sensible consiste à rechercher une augmentation de la zone d'inhibition d'un disque de C3G.

Technique :

- A partir d'une culture de 18h une suspension est préparée avec une opacité égale à 0.5 Mc Farland.
- Une gélose Mueller-Hinton estensemencée selon la technique de l'antibiogramme.
- Deux disques sont déposés, un disque AMC et un disque de C3G (CTX ou CAZ), on laisse diffuser à température ambiante pendant une heure, puis le disque AMC est ôté et remplacé par un disque de C3G (CTX ou CAZ).
- Les boîtes sont incubées pendant 18h à 37°C.

Lecture:

Le test est considéré positif, si le diamètre de la zone d'inhibition du disque de C3G est inférieur de 4 à 5 mm, comparé à celui observé autour du disque de C3G appliqué après pré diffusion du disque de l'AMC.

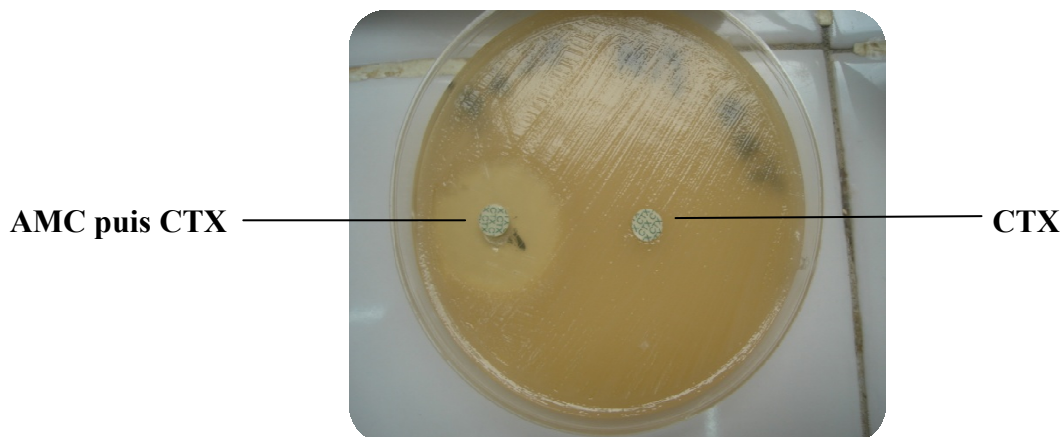


Photo 17: Test du double disque (test espagnol) pour une Entérobactérie qui possède une β LSE +.

(Photo originale).

Les différentes étapes pour l'identification des bactéries sont résumées dans l'organigramme de la figure 5 :

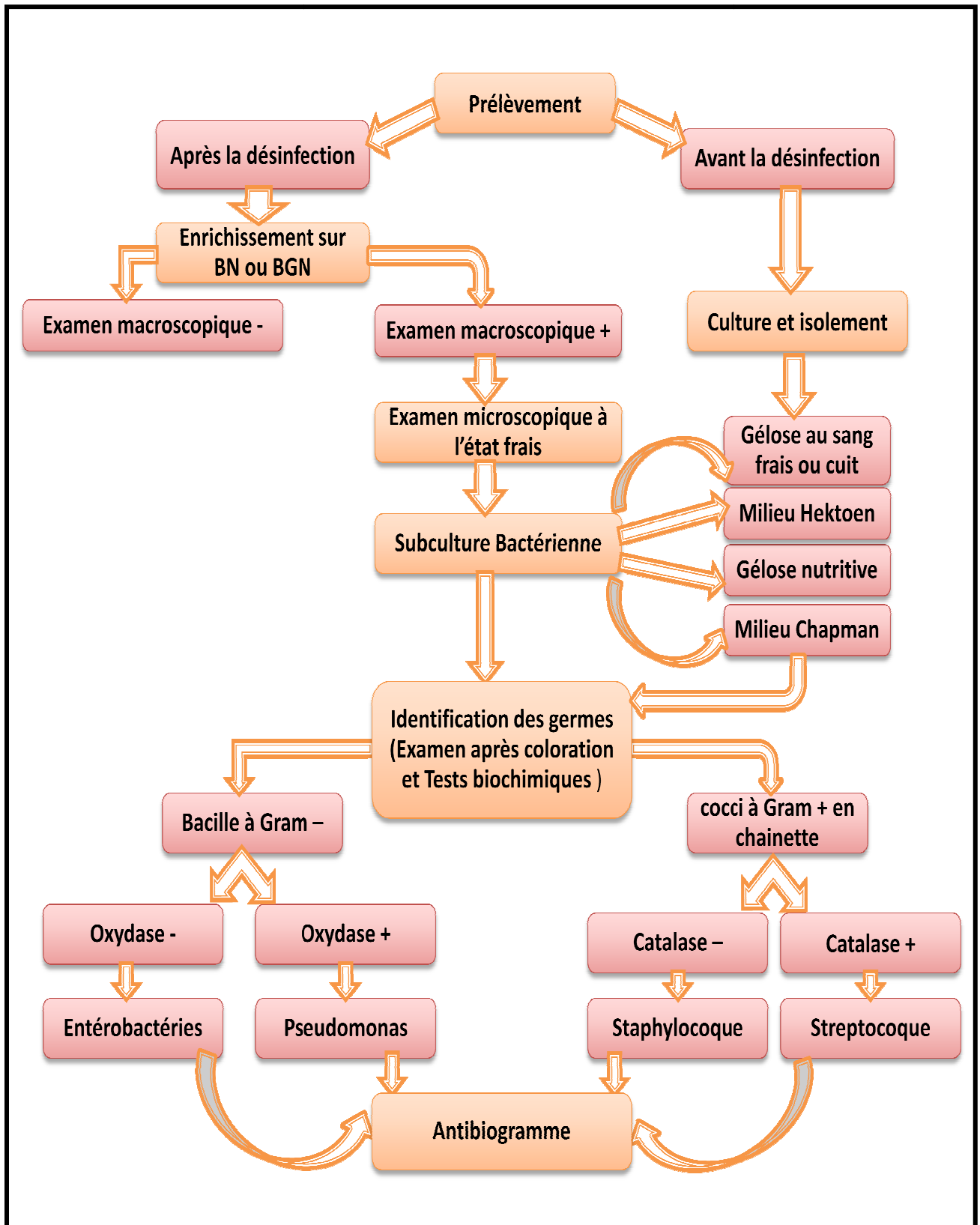


Figure 05 : Les étapes de l'identification des bactéries.

Au cours de notre étude, nous avons analysé **540** prélèvements de l'environnement issus du service de maternité de l'hôpital de Boufarik, durant une période allant du mois de Mars jusqu'au mois de Juin 2012.

Après culture, isolement, identification et même tester la sensibilité aux antibiotiques, nous avons obtenu les résultats suivants :

I. Répartition globale des prélèvements :

Sur les 540 prélèvements provenant du service de maternité : 264 échantillons sont effectués avant la désinfection et 276 sont effectués après l'opération de la désinfection avec les différents produits comme le SURFANIOS citron, ANIOS D.D.S.H, ANIOS DVA HPH et avec les AEROSEPT 500VF et AEROSEPT 250VF ... (Voire annexe 7).

Sur les 540 prélèvements : 282 prélèvements se sont révélés positifs avec un taux de 52.22% et 258 prélèvements se sont révélés négatifs avec un taux de 47.78%.

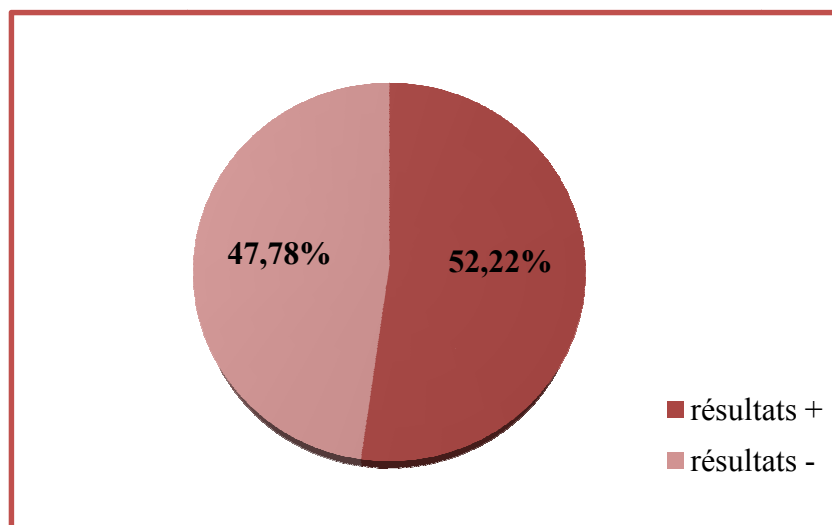


Figure 6 : Répartition globale des résultats des prélèvements effectués avant et après la désinfection.

Sur les 282 prélèvements positifs: 164 sont issus des prélèvements qui sont effectués avant la désinfection avec un taux de 58.16% et 118 sont issus des prélèvements qui sont effectués après la désinfection avec un taux de 41.84%.

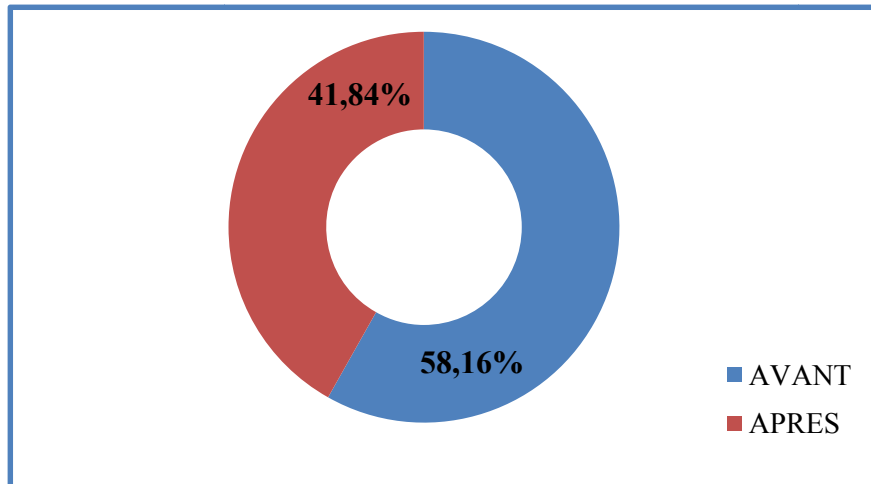


Figure 7 : Taux des prélèvements positifs effectués avant et après la désinfection.

Pour les prélèvements qui sont effectués **avant la désinfection (264)**, la figure 8 indique que 164 cas se sont révélés positifs, soit un taux de 62.12%, les 100 prélèvements restants sont négatifs, soit un taux de 37.88%.

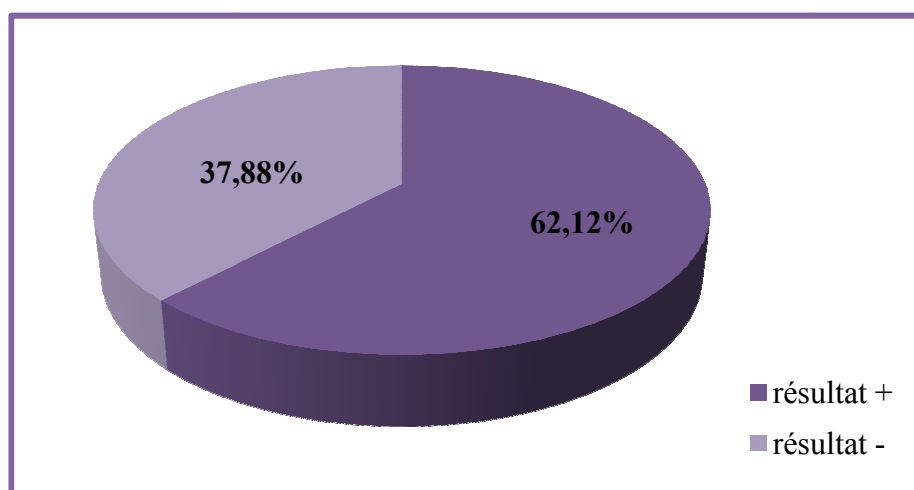


Figure 8 : Répartition des résultats des prélèvements effectués avant la désinfection.

Pour les prélèvements qui sont effectués **après la désinfection (276)**, la figure 9 indique que 118 cas se sont révélés positifs, soit un taux de 57.24%, les 158 prélèvements restants sont négatifs, soit un taux de 42.76%.

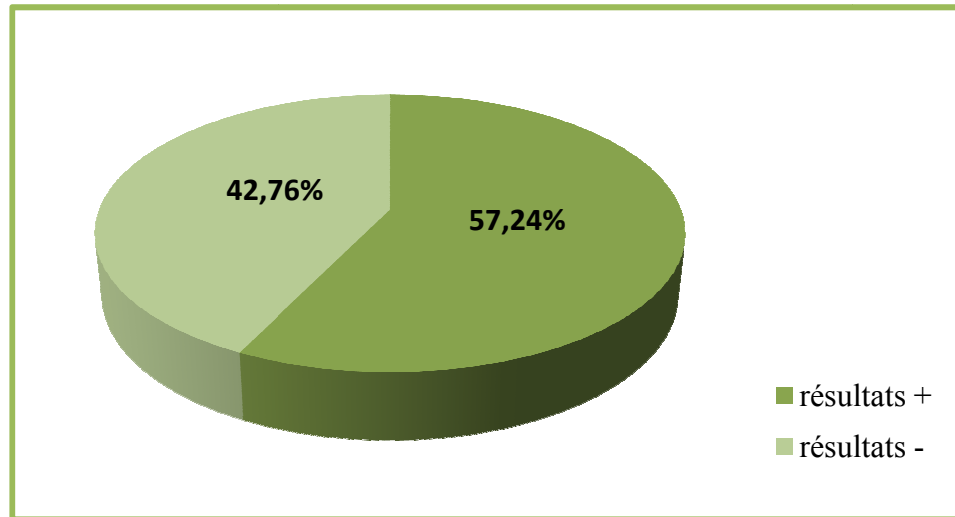


Figure 9 : Répartition des résultats des prélèvements effectués après la désinfection.

D'après les résultats trouvés dans les figures 7,8 et 9, on a remarqué que le taux des prélèvements positifs est assez élevé, que soit avant ou après la désinfection avec les fréquences respectives (62,12% et 57,24%).

Ce taux assez élevé prouve que les infections nosocomiales (IN) posent toujours un problème de santé publique du fait de leur fréquence, de leur gravité et de leur coût socio-économique. **(H.FKY et al., 2008)**

Une étude multicentrique a été menée dans 27 hôpitaux en Algérie, en Égypte, en Italie, au Maroc et en Tunisie afin d'évaluer la prévalence et les caractéristiques des infections nosocomiales. La prévalence des infections nosocomiales était de 10,5 % ; celle-ci était plus élevée dans les centres non universitaires et dans les hôpitaux de taille moyenne.

(K. AMAZIAN et al., 2010)

En Afrique, la prévalence des infections nosocomiales varie entre 10 et 60% et celles-ci représentent la troisième cause de mortalité maternelle, la deuxième cause de mortalité néonatale précoce, et la première cause de morbidité postopératoire. Cette prévalence est estimée à 10,9% au Sénégal, 12% en Côte d'Ivoire, 10% au Bénin et 14% au Mali. **(ANONYME 4, 2011).**

II. Répartition des prélèvements selon leurs sites :

sites des prélèvements	Salles d'accouchements		Salle de bloc opératoire de gynécologie		Salles de réanimation de l'unité de néonatalogie	
	Avant	Après	Avant	Après	Avant	Après
Nombre total de prélèvements	68	73	91	91	105	112
Nombre de prélèvements positifs	57	53	43	19	64	46
Nombre de prélèvements négatifs	11	20	48	72	41	66

Tableau 5 : Répartition des prélèvements selon leurs sites avant et après la désinfection

Selon les sites des prélèvements, on a remarqué que le nombre de prélèvements, effectués **avant et/ou après la désinfection**, au niveau des salles de réanimation de l'unité de néonatalogie est plus élevé que celui de la salle de bloc opératoire gynécologie et/ou des salles d'accouchements. Cette variation du nombre de prélèvements due à la continuité de l'opération de la désinfection dans les salles de réanimation de l'unité de néonatalogie contrairement des autres salles.

Sur les **264** prélèvements effectués **avant la désinfection**, on a enregistré un taux de positivité de 24.24% au niveau des salles de réanimation d'unité de néonatalogie .En revanche, au niveau des salles d'accouchements et de la salle de bloc opératoire gynécologie ces pourcentages sont représentés comme suit 21.6% et 16.28 %.

Sur les **276** prélèvements effectués **après la désinfection**, on a enregistré un taux de positivité de 19.20% au niveau des salles d'accouchements. En revanche, au niveau des salles de réanimation d'unité de néonatalogie et de la salle de bloc opératoire gynécologie ces pourcentages sont représentés comme suit 16.66% et 6.89%.

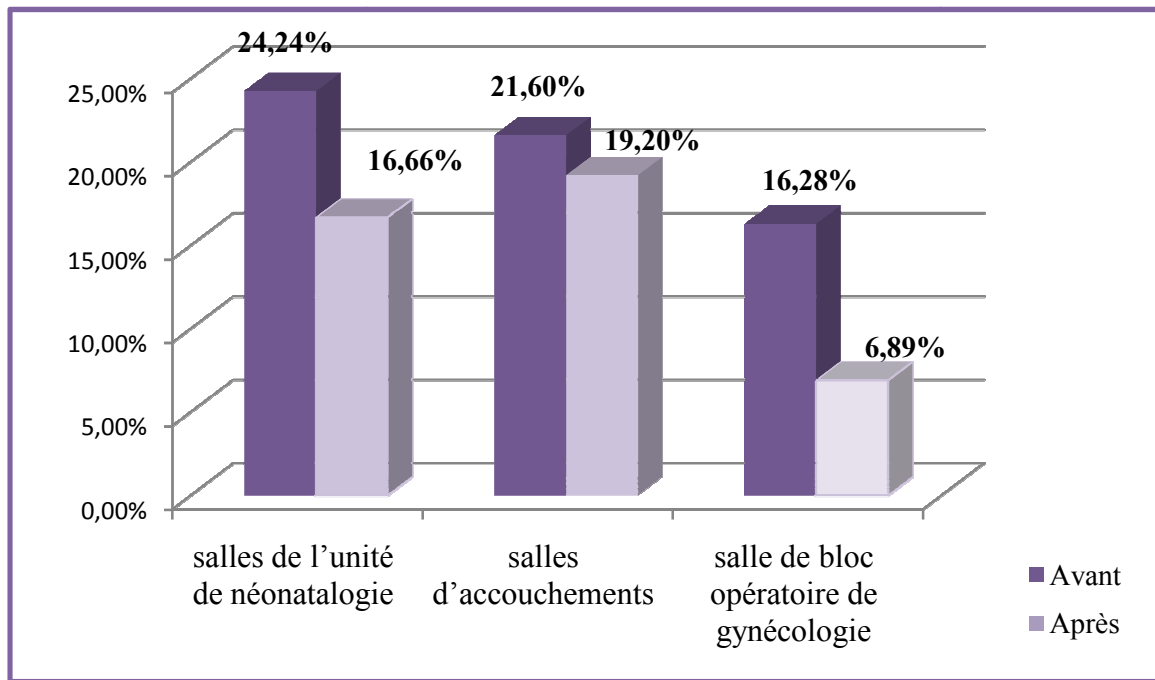


Figure 10 : Histogramme qui représente la répartition des résultats positifs selon les sites des prélèvements avant et après la désinfection.

Ces résultats affirment celles de **CAVALLO et al., (2002)**, La contamination de l'environnement hospitalier varie qualitativement et quantitativement dans le temps, d'un établissement à un autre et, au sein d'un même établissement, en fonction des services, des patients, des soins et des techniques pratiquées.

En 1999 **GUIBERT et BOITHIAS** montrent qu'en réanimation néonatale, le taux d'incidence des infections nosocomiales, estimé entre 5,9 et 30,4 % aux États-Unis, a été récemment chiffré à 7,2 % dans une enquête prospective française étudiant les nouveau-nés des services de réanimation néonatale « pure » et de réanimation néonatale pédiatrique.

D'après **BERREBI, (2009)**, les infections nosocomiales touchent 7 à 8% des patients hospitalisés avec une prévalence supérieure dans les services de réanimation (20%), de néonatalogie, d'hémo-oncologie, de chirurgie, de grands brûlés.

En absence de littérature, nous nous sommes contentés d'exposer simplement nos résultats positifs concernant le matériel et les dispositifs médicaux qui ont été analysés durant notre étude.

Site de prélèvement	Nombre de prélèvements	Nombre de prélèvements positifs au total	Pourcentage (%)	Nombre de prélèvements positifs	Pourcentage (%)
-Lits (salle prés travail)	264	164	62.12	15	9,15
-Tables d'accouchements				08	4,88
-Tables chauffantes				09	5,49
-Table d'instruments				06	3,66
-Couveuse				11	6,71
-Berceau				38	23,17
-Pèse bébé				08	4,88
-Scialytiques				09	5,49
-Chariots à tiroirs				12	7,32
-Table opératoire				08	4,88
-Respirateur électrique				05	3,05
-Stéri-bloc				03	1,83
-Table maillot				04	2,44
-Chariot d'anesthésies				04	2,44
-Bistouri électrique				08	4,88
-Plaque chauffante				04	2,44
-Table de réanimation multifonctionnelle				01	0,61
-Photothérapeuse intensif				02	1,22
-Sources d'oxygènes				09	5,49

Tableau 6 : Taux et fréquence des prélèvements positifs selon le site de prélèvement avant la désinfection.

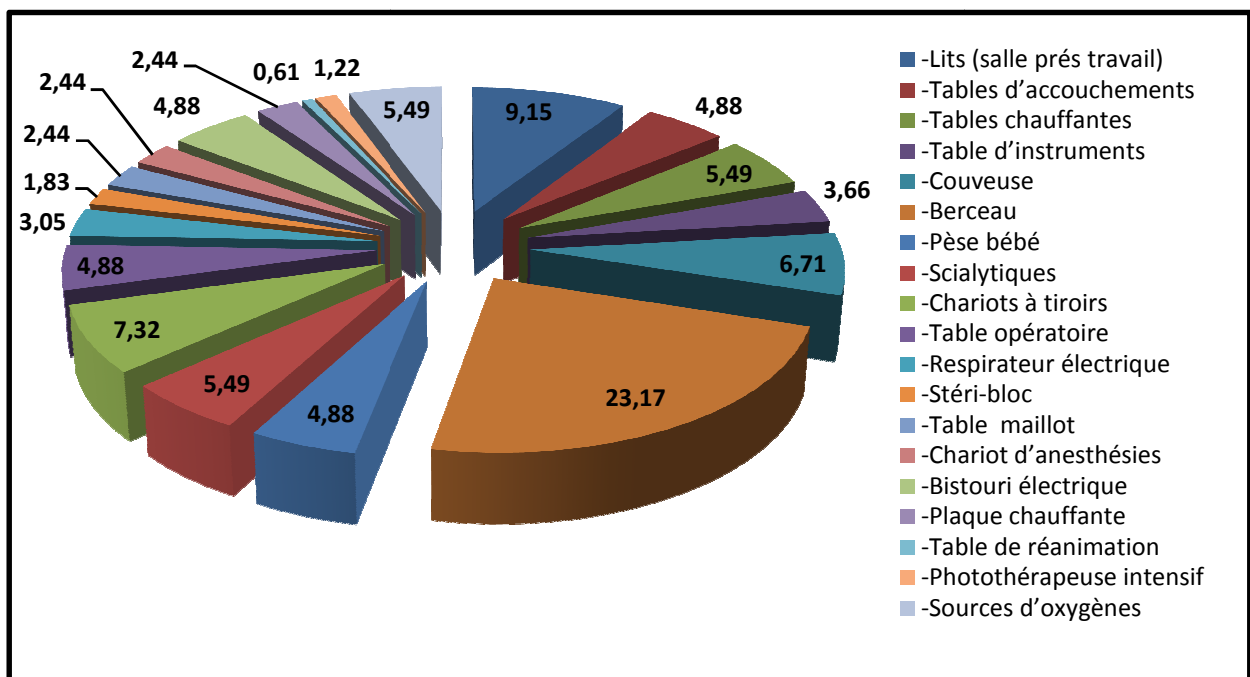


Figure 11 : Taux des prélèvements positifs selon le site de prélèvement avant la désinfection.

Site de prélèvement	Nombre de prélèvements	Nombre de prélèvements positifs au total	Pourcentage (%)	Nombre de prélèvements positifs	Pourcentage (%)
-Lits (salle prés travail)	276	118	57.24	04	3,39
-Tables d'accouchements				14	11,86
-Tables chauffantes				09	7,63
-Table d'instruments				04	3,39
-Couveuse				08	6,78
-Berceau				29	24,58
-Pèse bébé				07	5,93
-Scialytiques				05	4,24
-Chariots à tiroirs				11	9,32
-Table opératoire				07	5,93
-Respirateur électrique				02	1,69
-Stéri-bloc				02	1,69
-Table maillot				01	0,85
-Chariot d'anesthésies				02	1,69
-Bistouri électrique				04	3,39
-Plaques chauffantes				02	1,69
-Table de réanimation multifonctionnelle				03	2,54
-Photothérapeuse intensif				02	1,69
-Sources d'oxygène				02	1,69

Tableau 7: Taux et fréquence des prélèvements positifs selon le site de prélèvement après la désinfection.

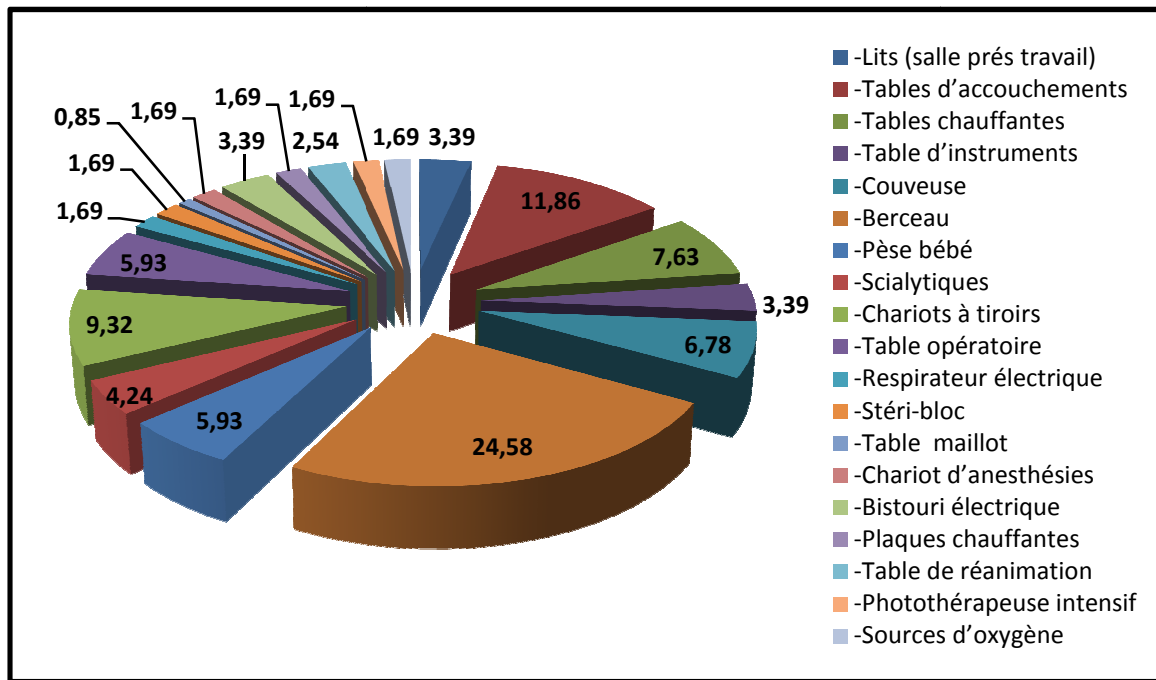


Figure 12 : Taux des prélèvements positifs selon le site de prélèvement après la désinfection.

D'après les résultats mentionnés dans les tableaux 6 et 7, nous révélons les taux de positivité les plus élevés dans les Berceaux (des salles de réanimation d'unité de néonatalogie et des salles d'accouchements) que ce soit avant ou après la désinfection avec les fréquences respectives (23,17et 24,58%), les autres dispositifs et matériels médicaux sont trouvés avec des taux faibles.

III. Répartition des souches bactériennes isolées :

Nous avons enregistré **361** souches bactériennes (à partir des **282** prélèvements positifs) avec une fréquence très élevée des **Staphylocoques** (70,64%), la deuxième position est occupée par les **Entérobactéries** avec un taux de (18,28%), l'espèce la plus fréquente est **Citrobacter sp** (6,37%), suivie par **Escherichia coli** et **Enterobacter cloacae** avec le même taux (4,16%) puis **Klebsiella pneumoniae** avec un taux de (3,05%) puis **Proteus mirabilis** (0,55%) , la troisième position est occupée par les **Bacillus** (4,99%) suivie par **Pseudomonas aeruginosa** (2,77%) et les **BGN oxydatifs** (2,49%), la dernière position est occupée par les **Streptocoques** avec un taux très faible (0,83%).

Bactéries	Avant (%)	Après (%)	Totales (%)	
SCN	43,49	27,15	70,64	
Bacillus	3,05	1,94	4,99	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,66	1,11	2,77	
BGN Oxydatif	0,83	1,66	2,49	
Streptocoques	0	0,83	0,83	
<i>Citrobacter sp</i>	Entérobactéries	3,60	2,77	6,37
<i>Escherichia coli</i>		1,39	2,77	4,16
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		1,39	1,66	3,05
<i>Enterobacter cloacae</i>		1,94	2,22	4,16
<i>Proteus mirabilis</i>		0,55	0	0,55
	57,89	42,11	100	

Tableau 8 : Taux des bactéries avant et après la désinfection.

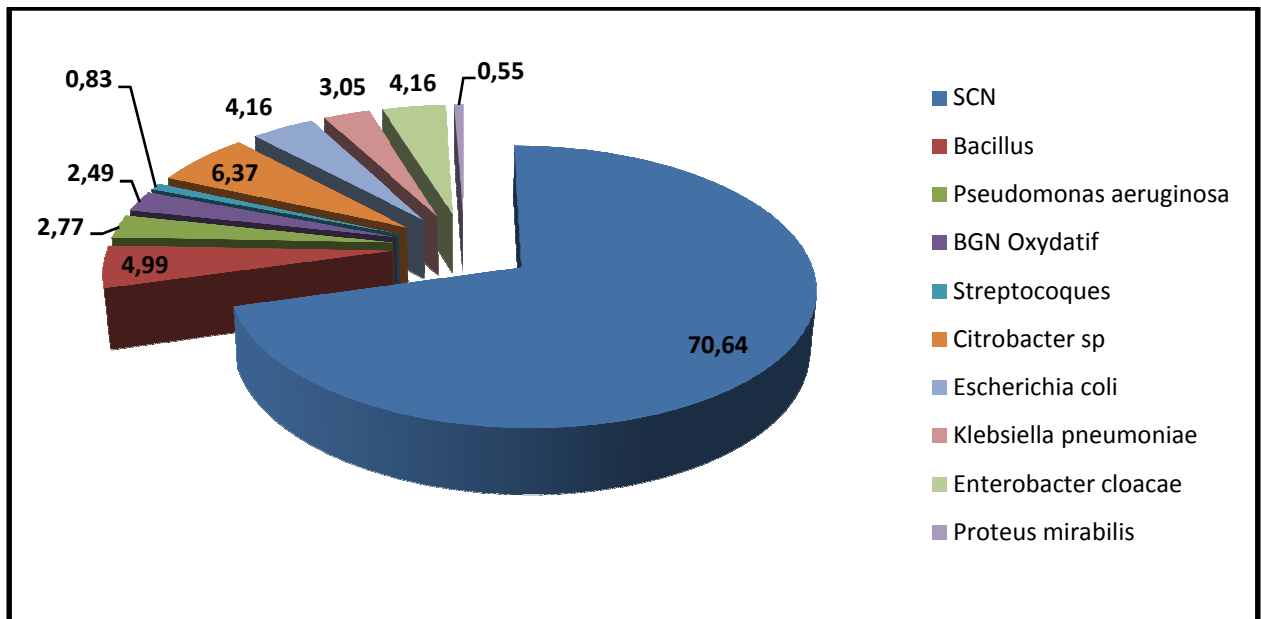


Figure 13 : Taux de différentes souches bactériennes isolées.

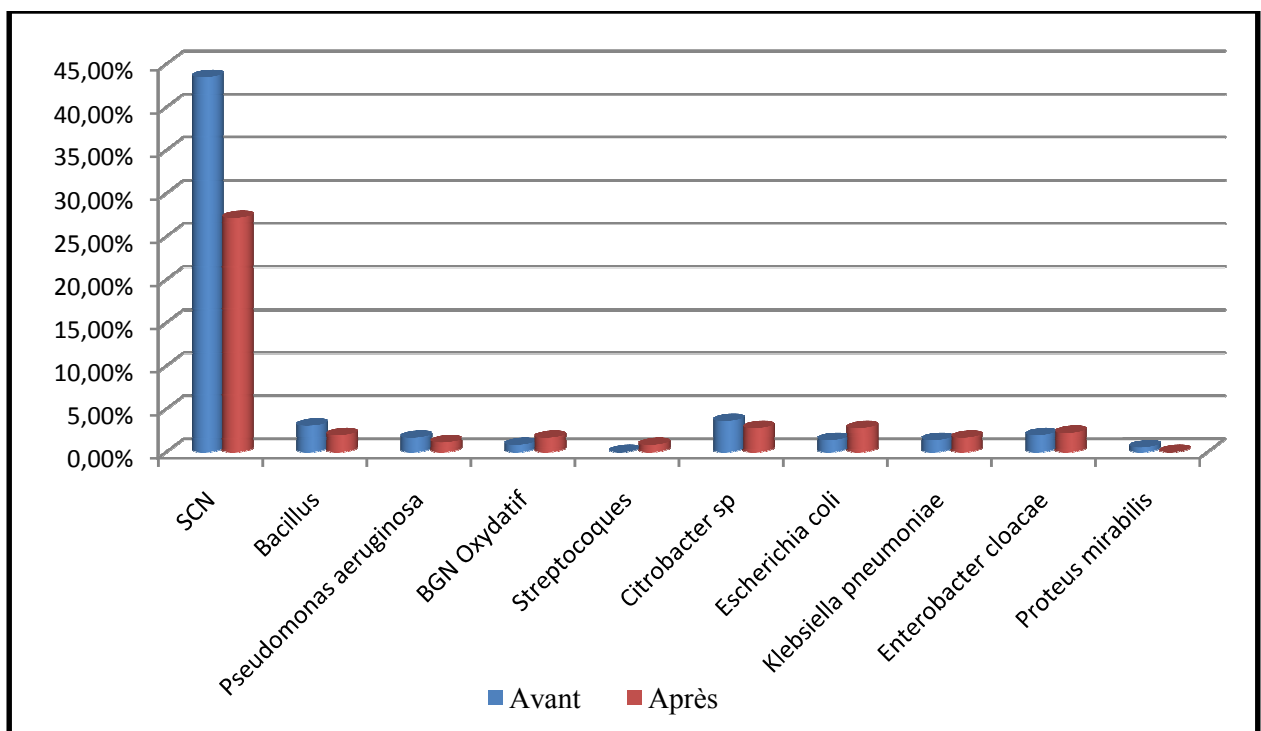


Figure 14 : Profile qui montre les différentes souches bactériennes isolées avant et après la désinfection.

A partir des sites des prélèvements les plus contaminés (>5%) on a trouvés les résultats suivants :

souches bactérienne	SCN (%)	Bacillus (%)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (%)	BGN oxydatif (%)	Streptocoque (%)	<i>Citrobater sp</i> (%)	<i>Eschirechia coli</i> (%)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (%)	<i>Enterobacter cloacae</i> (%)	<i>Proteus mirabilis</i> (%)
Sites des prélèvements										
Berceau	19,75	18,18	50	-	-	15,38	20	80	-	-
Lits	3,82	-	-	-	-	15,38	-	-	-	-
Chariots à tiroirs	7,01	-	-	66,67	-	-	-	-	14,29	50
couveuse	7,01	9,09	16,67	33,33	-	7,69	20	-	-	-
Scialytique	5,73	-	-	-	-	7,69	-	-	14,29	-
Table chauffante	5,10	9,09	16,67	-	-	7,69	20	-	-	50
Source d'oxygène	5,73	-	-	-	-	-	20	-	-	-
Autres	45,86	63,64	16,67	-	-	41,15	20	20	71,43	-

Tableau 9 : Répartition des souches bactériennes isolées selon le site de prélèvement avant la désinfection.

Sites des prélèvements	SCN (%)	Bacillus (%)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (%)	BGN oxydatif (%)	<i>Streptocoque</i> (%)	<i>Citrobater sp</i> (%)	<i>Eschirechia coli</i> (%)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (%)	<i>Enterobacter cloacae</i> (%)	<i>Proteus mirabilis</i> (%)
Berceau	24,49	28,57	50	33,33	-	40	10	16,67	-	-
Tables d'accouchement	10,20	14,29	-	16,67	-	20	10	16,67	62,50	-
Chariots à tiroirs	8,16	-	-	-	-	10	10	16,67	12,50	-
couveuse	7,14	14,29	50	16,67	-	-	10	-	-	-
Table chauffante	8,16	28,57	-	16,67	-	10	20	-	-	-
Pèse bébé	6,12	-	-	-	-	-	-	16,67	12,50	-
Table opératoire	6,12	14,29	-	-	-	-	20	-	-	-
Autres	29,59	-	-	16,67	100	20	20	33,33	12,50	-

Tableau 10 : Répartition des souches bactériennes isolées selon le site de prélèvement après la désinfection.

La majorité des infections nosocomiales (IN) sont représentés par des bactéries comme les Entérobactéries, les Staphylocoques, les pyocyaniques et les Entérocoques. Mais toute bactérie peut être responsable d'une IN. **(CROUZILLES. C, 2009)**

Selon les résultats de **MCHICH. A, (2002)**, les Bacilles à Gram négatifs dominent la liste des micro-organismes pathogènes responsables d'IN (86,58%) avec une prédominance de *Pseudomonas* (28,58%) suivi par *Klebsiella pneumoniae* (12,9%) et en deuxième place les Cocci à Gram positifs avec un pourcentage de 13,41%.

➤ D'après les résultats montrés par la figure 13, la fréquence de présence des souches bactériennes la plus élevée est marquée par les bactéries à Gram positif (BGP) avec un taux de 76,46%, parmi lesquels les Staphylocoques à coagulase négative (SCN) avec un taux de 70,64%. Trouvés dans tous les sites de prélèvements notamment au niveau des berceaux (19,75% et 24,49%).

Les bactéries à Gram positif représentent environ 25% des infections nosocomiales. Les staphylocoques sont responsables d'environ 15% des infections nosocomiales et l'homme est le principal réservoir. **(PETIGNAT, 2005)**. Les Staphylocoques sont des germes très répandus dans la nature (air, eau, sol). **(AVRIL et al., 1992)**. Il existe trois espèces majeures : *S. aureus*, *S. epidermidis* et *S. saprophyticus*. **(SCHAECHTER et al., 1999)**. Les Staphylocoques, en particulier les espèces *S. aureus* et *S. epidermidis* font partie de la flore normale de nombreux individus qui sont des porteurs asymptomatiques. Cependant ces souches peuvent être à l'origine d'auto-infections ou contaminer d'autres individus.

(AVRIL et al., 1992)

En deuxième position on trouve les Bacillus avec un taux de 4,99%, qui se trouvent surtout dans les berceaux (28,57%) et les tables chauffantes (18,18 %). Les Bacillus peuvent être de simples contaminants des prélèvements, mais certains Bacillus, comme *B. cereus*, peuvent surinfecter des plaies traumatiques, provoquer des infections oculaires graves et parfois être à l'origine de toxi-infections alimentaires. **(NAUCIEL et VILDÉ, 2005)**

En dernier lieu on trouve les Streptocoques 0,83%. Ce sont la cause d'environ 10% des IN. Il s'agit avant tout d'entérocoque retrouvé dans les infections urinaires et les infections des plaies, les streptocoques de groupe B est un pathogène important de la période néonatale. **(TIMIZAR et al., 2011)**. De nombreux Streptocoques ne sont pas pathogènes et sont retrouvés dans l'environnement ainsi que dans l'intestin de l'homme en bonne santé. **(SCHAECHTER et al., 1999)**

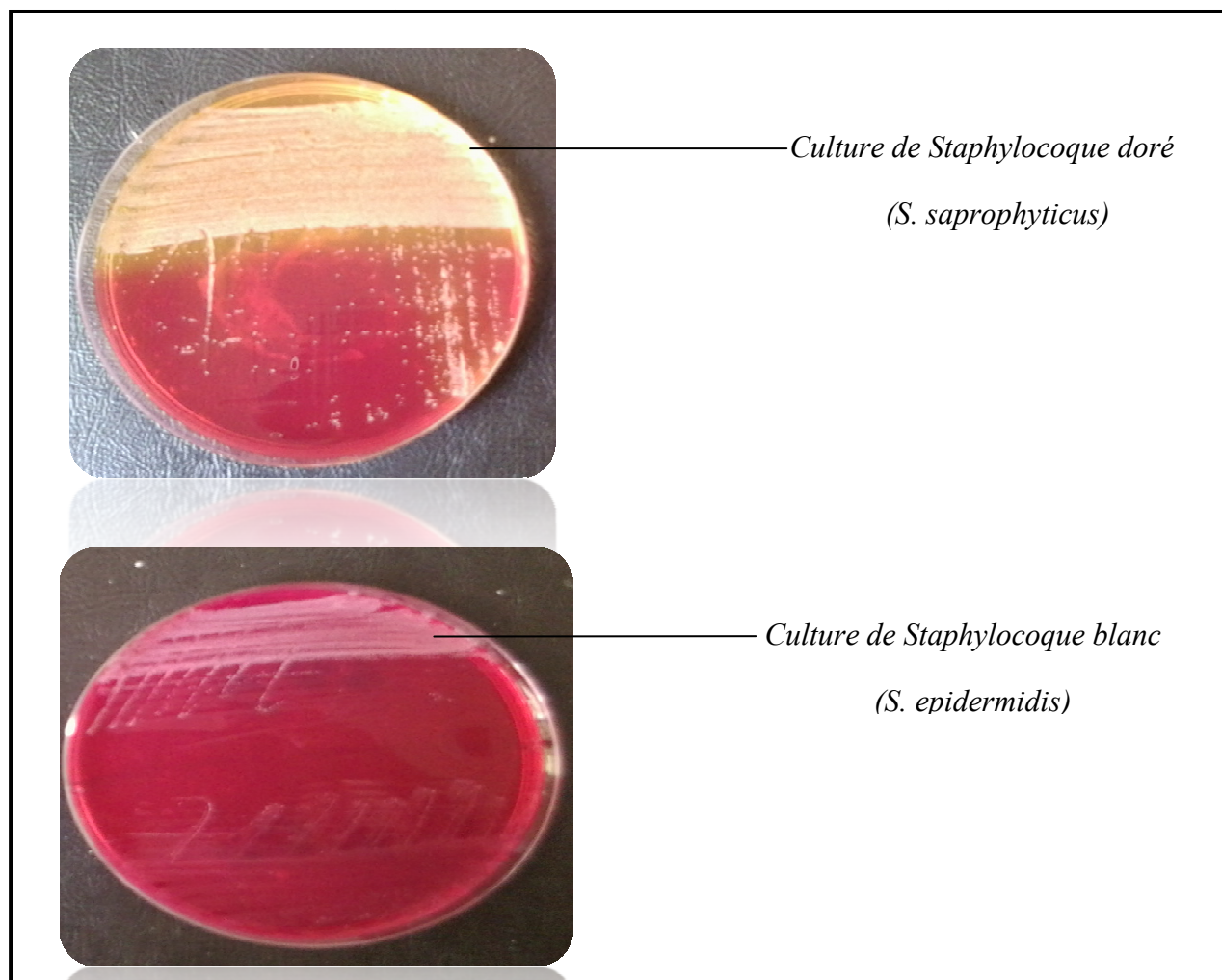


Photo 18 : Culture de *Staphylocoque blanc* et *Staphylocoque doré* sur gélose Chapman.

(Photo originale)

➤ Pour les bactéries à Gram négatif (BGN) qui ont marqué un taux de 23,55%, les Entérobactéries dominent avec une fréquence de 18,29%. *Citrobacter sp* occupent la 1^{ère} place (6,37%) qui sont isolées surtout dans les berceaux (40%), suivies par *Escherichia coli* et *Enterobacter cloacae* avec le même taux (4,16%) qui sont isolées dans les différents matériaux puis *Klebsiella pneumoniae* avec un taux de (3,05%) isolées surtout dans les berceaux (80%) puis *Proteus mirabilis* avec un faible taux (0,55%) qui sont isolées dans les chariots et les tables chauffantes avec une fréquence de 50%.

Parmi les nombreuses espèces d'Entérobactéries certaines sont retrouvées dans l'environnement. (AVRIL et al., 1992). Les espèces d'Entérobactéries les plus fréquentes dans l'infection nosocomiale appartiennent aux genres *Escherichia*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus* et *Providencia*. (FIGARELLA et al., 2001)

Selon P. GOUBAU et E. PELLEGRIMS, (2000), Les bactéries du genre *Citrobacter* (*C. freundii* - *C. koseri*) sont des commensaux du tractus intestinal chez l'homme et les animaux à sang chaud. Ces bactéries sont déposées dans le sol et les eaux de surface par les matières fécales. Elles ne sont qu'exceptionnellement pathogènes et se retrouvent occasionnellement dans les urines et les pus d'origines diverses.

Selon P. GOUBAU et E. PELLEGRIMS, (2000), *Escherichia coli* est un commensal normal de l'intestin de l'homme et de l'animal. La bactérie se répand dans l'environnement par la voie des excréments. La présence de *E. coli* dans les eaux et les aliments est le témoin d'une contamination fécale.

Les Enterobacter sont des commensaux du tube digestif de l'homme et des animaux. On les trouve dans les eaux, sur le sol et la peau et les muqueuses. Ce sont des bactéries de l'hospitalisme. (AVRIL et al., 1992). *Enterobacter* est un pathogène opportuniste hospitalier, comprend plusieurs espèces dont *E. aerogenes* et *E. cloacae* qui représentent un intérêt clinique pour l'homme. (P. GOUBAU et E. PELLEGRIMS, 2000)

Selon AVRIL et al., (1992), Les Klebsielles sont fréquemment isolés des eaux, du sol. Elles sont présentes dans la flore fécale de l'homme et sont souvent commensales de la peau, des muqueuses et des voies respiratoires.

Selon RAOULT, (1998), *Klebsiella pneumoniae* (KP) est l'espèce du genre *Klebsiella* la plus souvent rencontrée en pathologie humaine. Elle peut être responsable d'infection communautaire et surtout d'infections nosocomiales. Les infections sont essentiellement urinaires, mais aussi pulmonaires et septicémiques.

Selon **P. GOUBAU et E. PELLEGRIMS, (2000)**, Les bactéries du genre *Proteus* sont présentes dans la nature, dans des substances organiques en décomposition (bactéries de putréfaction). Elles sont également des commensales endogènes du côlon chez l'homme et l'animal. Ces bactéries sont essentiellement des pathogènes opportunistes en cas de résistance diminuée, surtout chez des patients hospitalisés. Ces bactéries sont des agents importants d'infections urinaires.

En deuxième position on trouve les *Pseudomonas* avec une fréquence de 2,77%, isolées surtout dans les berceaux et les couveuses (50%). Cette bactérie opportuniste serait la cause de 10 à 20% des infections observées en milieu hospitalier. (**BERCHE et al., 1988**). Elle est très répandue dans l'eau et les milieux humides, et puisse coloniser la peau et les muqueuses des malades souvent fragilisés. (**NAUCIEL, 2000**)

En dernier lieu on trouve les BGN oxydatifs (2,49%) qui se trouvent notamment dans les berceaux (33,33%) et les chariots à tiroirs (66,67%). Les bacilles à Gram négatif non fermentants (BGNnF) sont des bactéries ubiquitaires retrouvées dans l'environnement (sols, eaux...) et pouvant être responsables d'infections cliniques. Elles sont dites pathogènes opportunistes car, bien que pouvant être isolées d'infections communautaires, elles sont le plus souvent responsables d'infections nosocomiales. Outre la famille des *Pseudomonadaceae*, les BGNnF comportent aussi *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Kingella*, *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Bordetella*, *Flavobacterium* et *Sphingobacterium*. Au sein des *Pseudomonadaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, et *Stenotrophomonas maltophilia*, sont les bactéries les plus fréquemment isolées lors d'infections nosocomiales. (**BERTHELOT et al., 2005**).

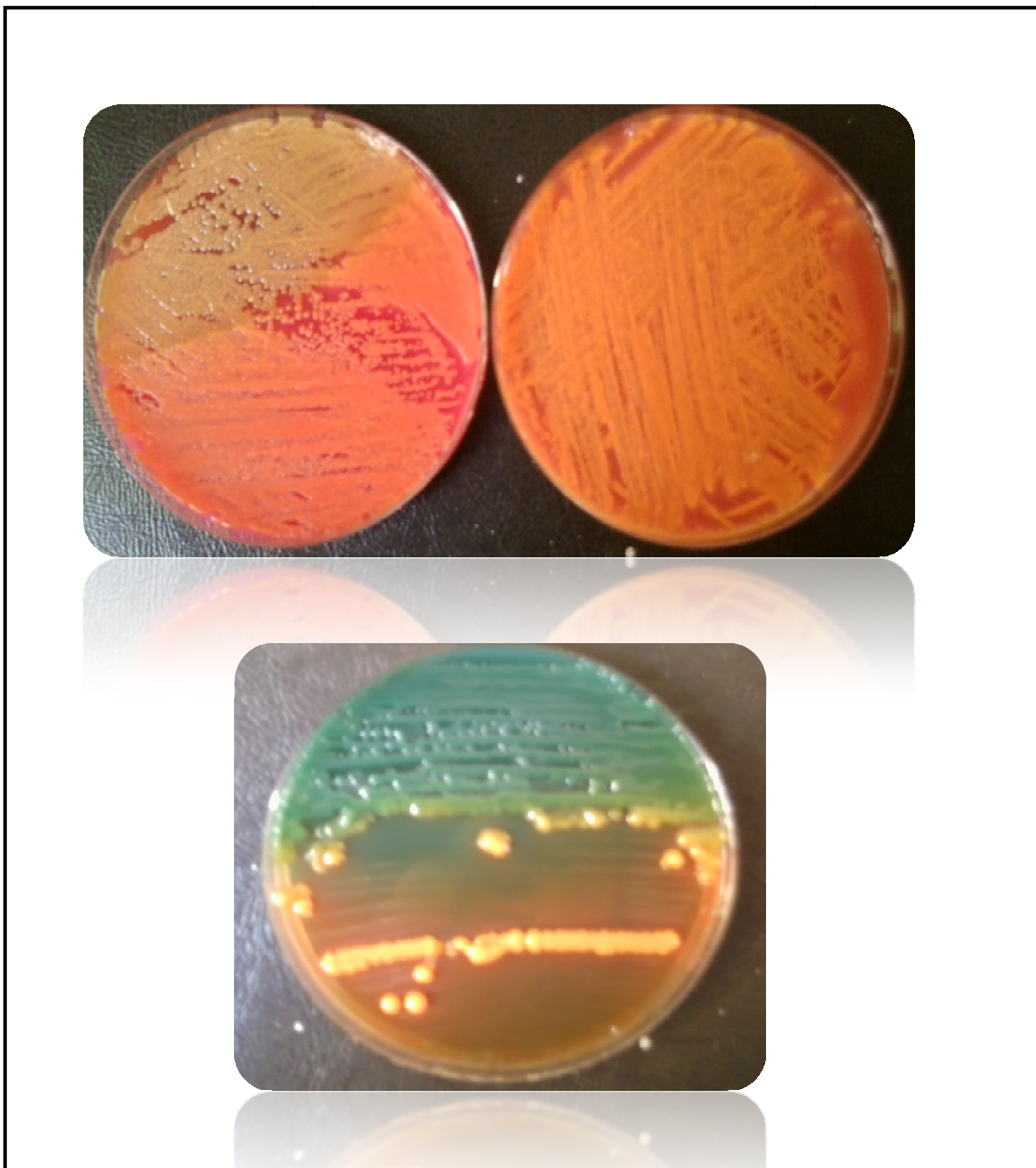


Photo : Culture des Entérobactéries sur milieu Hektoen. **(Photo originale)**

IV. Antibiorésistance des souches bactériennes isolées :

La résistance des bactéries aux antibiotiques reste aujourd'hui un problème majeur de santé publique. La situation apparaît particulièrement préoccupante en milieu hospitalier où la pression de sélection exercée par l'utilisation importante de l'antibiothérapie et la diffusion épidémique des souches résistantes sont les deux facteurs principaux conditionnant cette évolution. (SOUSSY, 2007).

La fréquence des bactéries multirésistantes aux antibiotiques (BMR) a atteint, partout dans le monde, des proportions inquiétantes et est devenue un problème majeur de santé publique. Le réservoir essentiel de ces BMR est l'hôpital où se trouvent réunies toutes les conditions favorables à leur émergence et leur dissémination. (S. BEN REDJEB, I. BOUTIBA-BEN BOUBAKER, 2007)

Cette partie du travail concerne l'étude de la sensibilité et de la résistance des bactéries pathogènes tels que les *Pseudomonas* et les Entérobactéries vis à vis des antibiotiques.

IV.1-Antibiorésistance de *Pseudomonas aeruginosa* :

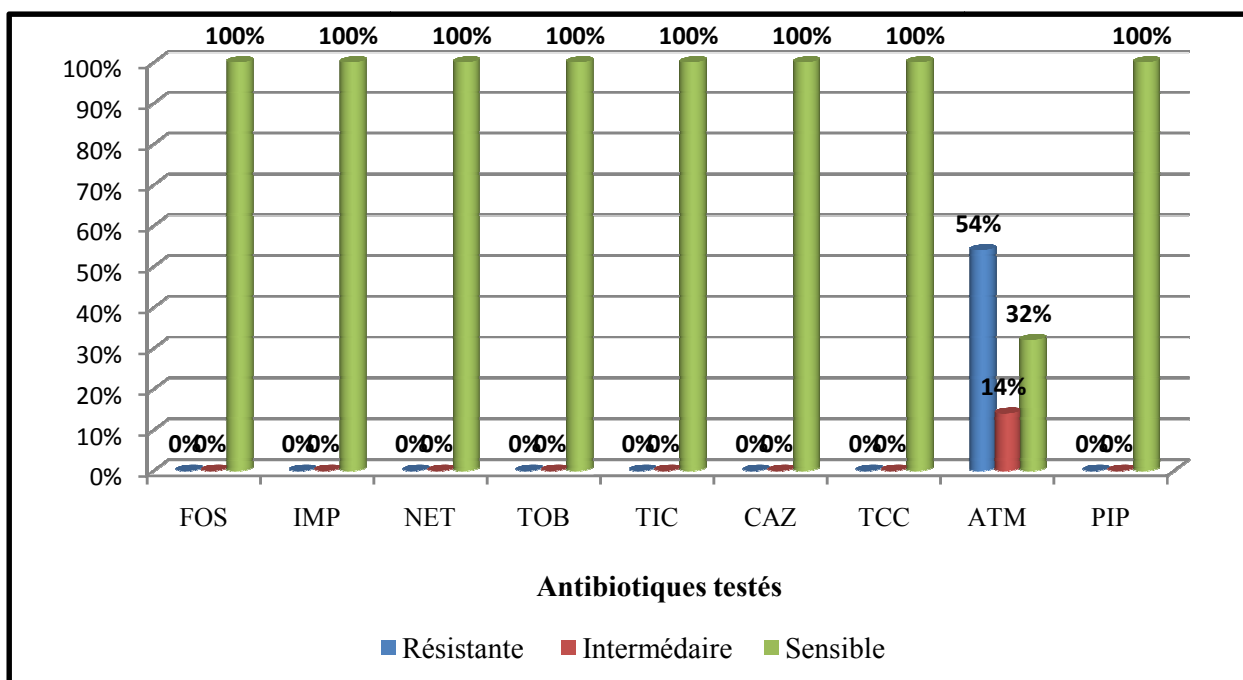


Figure 15 : Profil de l'Antibiorésistance de *Pseudomonas aeruginosa*.

Les antibiotiques testés pour *Pseudomonas aeruginosa* sont : Pipéracilline (PIP), Aztréonam (ATM), Ticarcilline + acide clavulanique (TCC), Céfotazidime (CAZ), Ticarcilline (TIC), Tobramycine (TOB), Nétilmicine (NET), Imipénème (IPM) et Fosfomycine (FOS).

D'après les résultats de la figure 15, *Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie très sensible aux Pipéracilline (PIP), Ticarcilline + acide clavulanique (TCC), Céfotazidime (CAZ), Ticarcilline (TIC), Tobramycine (TOB), Nétilmicine (NET), Imipénème (IPM) et Fosfomycine (FOS) avec un taux de 100%.

Par contre, elle est moyennement résistante aux Aztréonam (ATM) avec un taux de 54%.

Outre sa résistance naturelle à de nombreuses β -lactamines, *Pseudomonas aeruginosa* est caractérisée par sa capacité à acquérir de nouvelles résistances vis-à-vis de composés habituellement actifs. Les β -lactamines demeurant le plus souvent efficaces sont l'Imipénème, la Céfotazidime et l'association Pipéracilline-Tazobactam (**Bert et al., 2000**). L'acquisition de nouvelles résistances est facile et rapide, favorisée en milieu hospitalier par une forte concentration bactérienne et une pression de sélection par les antibiotiques, notamment ceux à large spectre (**Boutiba-Ben Boubaker et al., 2003**).

La résistance à la Ticarcilline est du probablement à un mécanisme non enzymatique, semble probablement liée à l'association d'une faible perméabilité de la membrane externe de *Pseudomonas aeruginosa* associée à une hyperexpression du phénomène d'efflux. Elle confère souvent un faible niveau de résistance aux β -lactamines anti-*Pseudomonas* autre l'Imipénème. Elle touche essentiellement la Ticarcilline puis l'Aztréonam (**CAVALLO et al., 2002**).

Pseudomonas aeruginosa est naturellement résistante aux aminopénicillines, aux inhibiteurs de bêtalactamases, aux céphalosporines de première et deuxième génération. C'est un germe dont les résistances acquises sont fréquentes. (**AUBRON et al., 2002**)

IV.2-Antibiorésistance des Entérobactéries :

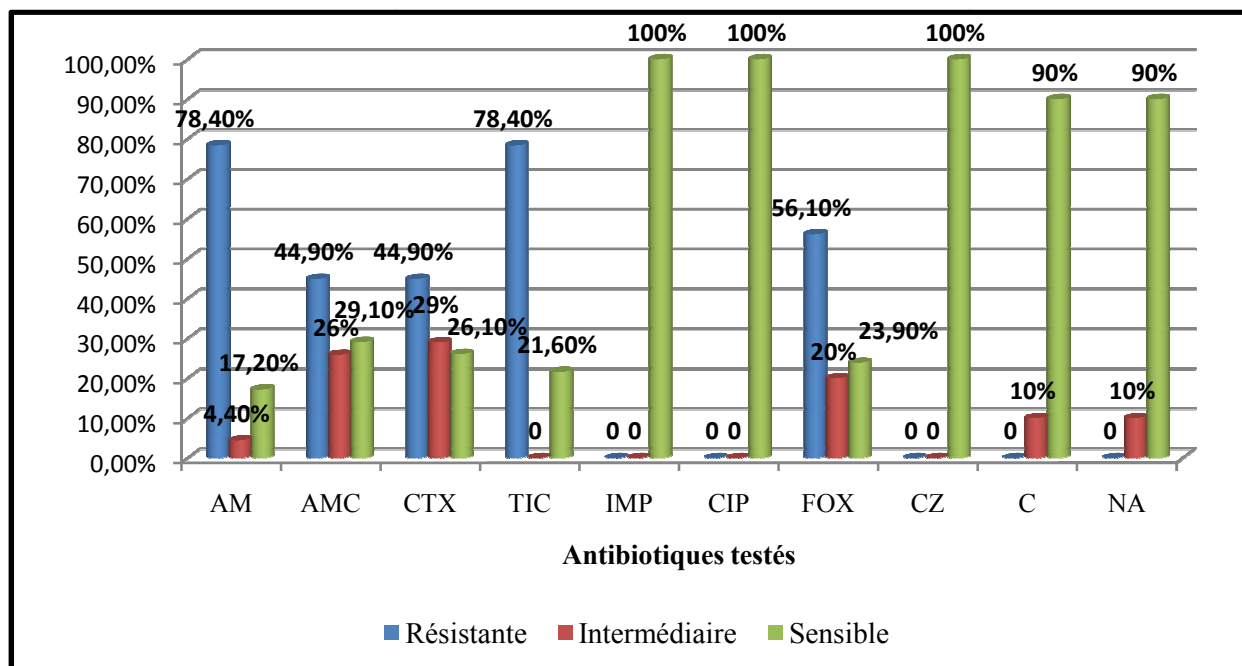


Figure 16 : Profile de l'Antibiorésistance des Entérobactéries.

Les antibiotiques testés pour **les Entérobactéries** sont : Ampicilline(AM), Amoxicilline +Ac clavulanique(AMC), Céfoxitine(CTX), Ticarcilline(TIC), Imipénème(IMP), Ciprofloxacine(CIP), Céfoxitine (FOX), Céfazoline (CZ), Chloramphénicol(C) et Acide nalidixique (NA).

D'après la figure 16, les Entérobactéries sont très résistantes à l'Ampicilline (AM) et à la Ticarcilline(TIC) avec un taux de 78,4%, une résistance moyenne à la Céfoxitine (FOX) avec un taux de 56,1% et résistance faible aux Amoxicilline +Ac clavulanique(AMC) et à la Céfoxitine(CTX) avec un taux de 44,9%.

Par contre, ces bactéries sont très sensibles aux Ciprofloxacine(CIP), Céfazoline (CZ), Imipénème(IMP) avec un taux de 100% ainsi qu'aux Chloramphénicol(C) et Acide nalidixique (NA) avec un taux de 90%.

Selon RAHAL et al., (2008), Les Entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter spp* sont capable de synthétiser une enzyme appelée « β -lactamases » qui entraîne la diminution de l'activité des Céphalosporines de 3^{ème} génération (cefotaxime, ceftriaxone, ceftazidime) et aux monobactam (aztreonam), mais n'ont aucune activité vis-à-vis des céphamycines (cefoxitine, moxalactam) ni des carbapénèmes (imipénème).

Enterobacter cloacae possède une céphalosporinase inductible qui lui permet de devenir résistante à une céphalosporine de troisième génération (par ex. ceftriaxone) au cours du traitement. Il faut se souvenir qu'en cas d'infection par *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Citrobacter freundii* et *Proteus vulgaris*, la ceftriaxone peut échouer. L'imipénème, par exemple, devrait lui être préféré. (Daniel GENNE, Hans H. SIEGRIST, 2003)

Escherichia coli est naturellement résistante aux macrolides (érythromycine), à la clindamycine, à la pénicilline et aux glycopéptides (vancomycine). Pour d'autres familles d'antibiotiques, on ne teste qu'un antibiotique de base et, en cas de sensibilité, on extrapole ce résultat aux autres membres de la même famille, *Escherichia coli* est naturellement résistant à la pénicilline alors que la résistance à l'ampicilline peut être acquise. (Daniel GENNE, Hans H. SIEGRIST, 2003)

Klebsiella pneumoniae comportant 3 sous espèces : *K. pneumoniae subsp. pneumoniae*, *K. pneumoniae subsp. ozanae* et *K. pneumoniae subsp. rhinoscleromatis*. Quelques souches de cette espèce sont naturellement résistantes aux pénicillines (amoxicilline, ampicilline, ticarcilline). La résistance à l'imipénème a été décrite chez des isolats cliniques de souche de *KP*, ainsi qu'une résistance aux inhibiteurs de bêta-lactamases. (Farah ABID et al., 2007)

Proteus mirabilis est le plus souvent sensible à l'ampicilline, aux céphalosporines, aux fluoroquinolones et aux aminosides. (P. GOUBAU et E. PELLEGRIMS, 2000)

CONCLUSION

Il est universellement admis que le risque zéro d'une infection nosocomiale n'existe pas lors d'une hospitalisation ; ce risque doit néanmoins être réduit au maximum.

Le service de maternité est parmi les sites les plus touchés par les infections nosocomiales, il est classé dans la zone 2 où le risque infectieux est moyen, car ce site hospitalise une population fragilisée, des femmes enceintes et des nouveau-nés où le système immunitaire est en déficience.

Au cours de notre étude effectuée sur 540 prélèvements à partir du service de maternité de l'hôpital de Boufarik et qui sont effectués avant et après la désinfection, 282 échantillons se sont révélés positifs.

Les résultats de cette enquête montrent une prédominance des Staphylocoques (70.64%) ; les Entérobactéries (18.29%) ; les Bacillus (4.99%) ; les Pseudomonas (2.77%) ; les BGN oxydatifs (2.49 %) et les Streptocoques (0.83%). Ces bactéries ont également été identifiées dans cet environnement hospitalier.

En revanche ; seuls les germes pathogènes ont fait l'objet d'une identification. Il en ressort que les espèces bactériennes les plus incriminées sont les suivantes : SCN (70.64%) ; *Citrobacter sp* (6,37%) ; *Escherichia coli* et *Enterobacter cloacae* avec le même taux (4,16%) ; *Klebsiella pneumoniae* (3,05%) ; *Pseudomonas aeruginosa* (2.77 %) ; les Streptocoques (0,83%) et *Proteus mirabilis* (0,55%).

L'étude de l'antibiorésistance des souches isolées, montre une multirésistance vis-à-vis des antibiotiques, dont la famille des Béta-lactamines été la plus touchée.

Le taux d'infections devrait être beaucoup plus faible si un programme opérationnel en hygiène hospitalière est mis en place.

Recommandations :

On estime que 30% des IN pouvaient être évitées par des mesures d'hygiène bien adaptées et bien respectées, et pour cela, on recommande aux :

➤ **Autorités politiques de :**

- Mobiliser les ressources nécessaires pour la création d'un comité de lutte contre les infections nosocomiales (CLIN) au sein de chaque structure hospitalière.
- Mobiliser les ressources nécessaires à la mise en œuvre d'un programme de prévention des infections nosocomiales.
- Mobiliser les ressources nécessaires pour la surveillance des infections nosocomiales au sein de chaque structure hospitalière.
- Mobiliser les ressources nécessaires pour la formation du personnel de santé pour la lutte contre les infections nosocomiales.
- Equiper les hôpitaux en matériel de soins adéquat.

➤ **Personnels de santé de :**

- Respecter les mesures d'hygiène et d'asepsie.
- Respecter les mesures de prévention des infections nosocomiales.
- Faire une surveillance régulière des infections nosocomiales.
- Arrêter l'antibioprophylaxie systématique.
- Pratiquer un antibiogramme avant toute antibiothérapie.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **ANONYME 1 (2008)**. Questions réponses sur les infections nosocomiales Dhos /E2/Septembre 2008, 5p.
2. **ANONYME 2 (2003)**. Communauté Médicale & Paramédicale Indépendante. Hygiène hospitalière et infections nosocomiales. WWW.REMEDE.ORG.
3. **ANONYME 3 (2012)**. Fondation pour la recherche médicale, résistances aux antibiotiques. www.frm.org/dossiers-149.html
4. **ANONYME 4 (2011)**. Session spéciale sur la sécurité des patients et la lutte contre les infections dans les services de maternité en vue de l'atteinte des OMD LIES au secteur de la santé en Afrique" conférence internationale, hôpitaux universitaires de Genève.
5. **ANONYME 5 (2010)**. Biokar Diagnostics. Gélose TSI www.biokar-diagnostics.fr
6. **AUBRON, C ., RAPP, C ., PARIENTI, J-J ., PATEY, O ., (2002)**. Actualité de l'antibiothérapie inhalée dans les infections respiratoires à *Pseudomonas aeruginosa*. *Méd Mal Infect* **32** : p : 460-467.
7. **AVRIL, J-L ., DABERNAT, H ., DENIS, F ., MONTEIL, H ., (1992)**. Bactériologie clinique. 2^{ème} édition ellipses. p : 511.
8. **BAUDRY, C et BREZELLE, H ., (2006)**. Microbiologie – Immunologie. 2^{ème} édition. France : Porphyre. p: 56.
9. **BERCHE, P ., GAILLARD, J-L ., SIMONET, M ., (1988)**. « Bactériologie »les bactéries des infections humaines. 1^{ère} édition, Paris, p :666.

- 10. BERT, F., LAMBERT-ZECHOVSKY, N., (2000).** *Pseudomonas aeruginosa* : actualités sur la résistance aux β -lactamines et implications thérapeutiques. *Antibiotiques*. **2**(3): p :195-201.
- 11. BERTHELOT, P., GRATARD, F., MALLAVAL, F.O., ROS A ., LUCHT F., POZZETTO B., (2005).** Épidémiologie des infections nosocomiales à *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* et *Stenotrophomonas maltophilia*. *Pathologie Biologie*. **6** (53): p : 341-348.
- 12. BOUTIBA-BEN BOUBAKER, I ., BOUKADIDA, J ., TRIKI, O ., HANNACHI, N ., BEN REDJEB, S ., (2003).** Épidémie d'infections urinaires nosocomiales à *Pseudomonas aeruginosa* multirésistant aux antibiotiques. *Pathologie Biologie*. **51** (3): p : 147-150.
- 13. BRUNO RIPOCHE., (1994).** Les infections nosocomiales: une étude d'incidence et de prévalence au centre hospitalier d'Elbeuf, p : 256.
- 14. BUTCHER (H-K), DOCHTERMAN (J-M-C) ., BULECHEK (G-M) ; (2010).** Classification des interventions de soins infirmier: CISI/NIC.5^{ème} édition, Masson, Paris, p :868.
- 15. CARINE SOULARD., (2003).** Les infections nosocomiales: dispositif de lutte et cadre législatif ,p :172.
- 16. CAVALLO, J-D ., ANTONIOTTI , G et al ., (2002).** surveillance microbiologique de l'environnement dans les établissements de santé, France.
- 17. CELINE LAFERRIERE ., BENOIT BARBEAU ., (2009).** Position du Comité sur les infections nosocomiales du Québec sur les risques associés à l'utilisation des robinets électroniques en milieux de soins. Institut national de santé publique. Québec ,p :15.
- 18. CLIVE P., (1999).** Pharmacologie intégrée ,p :419.
- 19. CROUZILLES , C., (2009).** Infectiologie et hygiène – Gestion de risques et soins infirmiers. Edition Elsevier Masson SAS. p :173.

20. **Daniel GENNE., Hans, H., SIEGRIST., (2003).** De l'antibiogramme à la prescription d'un antibiotique. *Forum Med Suisse* N° 20.
21. **DINH, Q-T., (2012).** Transferts et comportements d'antibiotiques à l'échelle du bassin versant élémentaire. Thèse de doctorat : Université Pierre et Marie Curie (École doctorale 398 Géosciences et Ressources naturelles), p :204.
22. **DEKHIL Mazouz., ABID farah., BOUTEFNOUCHET Nafissa., BOUZERNA Nouredine., (2007).** *Klebsiella pneumoniae* productrices de beta-lactamases a spectre élargie (BLSE) isolées dans les hôpitaux de la ville d'Annaba, Algérie.
23. **ÉRIC PICHARD (2002).** Malin trop Afrique: manuel de maladies infectieuses pour l'Afrique ,p :589.
24. **FIGARELLA, J., LEYRAL, G., TERRET, M., (2001).** Microbiologie générale et appliquée. LT EDITION Jacques Lanore. p :121-153.
25. **FKI, H., YAÏCH, S., JDIDI, J., KARRAY, A., KASSIS, M., DAMAK, J., (2008).** Epidémiologie des infections nosocomiales dans les hôpitaux Universitaires de Sfax : résultats de la première enquête nationale de Prévalence de l'infection nosocomiale, N°1 (Vol 2), p :22 – 31 .
26. **FLANDROIS., (1997).** bactériologie médicale, p :77.
27. **FRANÇOIS DENIS., (2002).** Les bactéries, champignons et parasites transmissibles de la mère à l'enfant ,p :485.
28. **GIROT, S., GOMILA, H., LE HEURT, M., PIVIDORI I., (2007).** Hygiène : Nouveau cahier de l'infirmier. 3^{ème} édition, Masson, Paris, p :208.
29. **JEAN-JACQUES LEHOT., CHARLES-CHRISTIAN ARVIEUX., (2010).** Réanimation et urgences, p :546.
30. **K, AMAZIAN., J, ROSSELLO., A, CASTELLA., S, SEKKAT et al., (2010).** Prévalence des infections nosocomiales dans 27 hôpitaux de la région méditerranéenne, *EMHJ* ., N°10 (Vol.16) .

31. **KAMEL MALEK., JEAN-CHRISTOPHE MINO., KARINE LACOMBE., (1996).** Santé publique: médecine légale, médecine du travail, p: 135.
32. **KUMMERER, K., (2009).**"Antibiotics in the aquatic environment-A review – Part I." Chemosphere **75**(4): p: 417-434.
33. **LAROUSSE., (1997).** Le petit Larousse. Ed. Bordas, Paris, p: 1784.
34. **LEPORRIER,M., AGBO-GODEAU, S., ARON, C., AZYON, P., BECOURAN, Y., BERTHRAND, D., BLANCHERE, J-P., BICARD, H et al., (1992).** Le dictionnaire médical de la famille. Édition Flammarion. Spéciale PC.
35. **MANUELLE, C., (2008).** Les 5 fonctions vitales du corps humain: Anatomopathologie. France : Wolters Kluwer ; Lamarre. p : 231.
36. **MCHICH, A., (2002).** Les infections nosocomiales à propos de 55 cas colligés au Maroc, p : 53.
37. **MEYER, A., DEJANA, J., BERNARD, A., (2004).** Cours de microbiologie générale: avec problèmes et exercices corrigés. 2^{ème} édition. France : DOIN. p : 258.
38. **Michèle GUIBERT., Claire BOITHIAS., (1999).** Infections nosocomiales néonatales. Médecine thérapeutique / Pédiatrie. N°2 (Vol. 2) , p : 95-103.
39. **N. Hygis., (1998).** Hygiène hospitalière, p: 337.
40. **NAUCIEL, C., VILDÉ, J-L., (2005).** Bactériologie médicale. Edition MASSON 2^{ème} édition Paris, p: 257.
41. **NAUCIEL, C., (2000).** Abrèges : bactériologie médicale. Ed. Masson, Paris, p: 276.
42. **PETIGNAT, C., (2005).** Infections, Infections nosocomiales, Bases épidémiologiques, *DAMPH CHUV*, p: 37.

43. **PRESCOTT, L.M., HARLEY, J.P., KLEIN, D.A., BACQ-CALBERG, C.M., DUSART, J., (2003).** Microbiologie. 2^{ème} édition. Bruxelles : BOECK UNIVERSITE. p: 1164.
44. **P, GOUBAU et E, PELLEGRIMS., (2000).** Repères en microbiologie. Edition 2000 p: 71.
45. **P.Y, Guillaume., (2004).** Les tests en microbiologie.
46. **QUEVAUVILLIERS, J., SOMAGYI, A., FINGERHUT, A., (2007).** Dictionnaire médical. 5^{ème} édition, Elsevier Masson, France, p: 472.
47. **RAHAL, K., BENSLIMANI, A., TALI-MAAMAR, H., MISSOUM, M-F-K., ABOUN, A., AMMARI, H., (2008).** Standardisation de l'Antibiogramme en Médecine Humaine. 5^{ème} édition selon les recommandations de l'OMS. p: 108.
48. **RAMDANI BOUGUessa, N., SEGHER, M., BELOUNI, R., BENSLIMANI, A., (2009).** Manuel de Microbiologie. Office des publications universitaires. p: 277.
49. **RAOULT, D., (1998).** Dictionnaire des maladies infectieuses. Edition Elsevier, France, p:1162.
50. **SAID SAMOU FOTSO HAMEL., (2005).** Les infections nosocomiales dans le service de chirurgie « B » de l'hôpital du point G, Mali, p: 106.
51. **SCHAECHTER, M., MEDOFF, G., EISENSTEIN, B-I., (1999).** Microbiologie et pathologie infectieuse. Edition de Boeck et Larcier 2^{ème} édition. p: 1000.
52. **SOUSSY, C-J., (2007).** Résistance bactérienne aux antibiotiques. Monographies en urologie. p: 21-46.
53. **STORA, D., (2010).** Pharmacologie P.B. classes pharmacologiques. 4^{ème} édition. France : Porphyre, p: 57.
54. **S, BEN REDJEB., I, BOUTIBA-BEN BOUBAKER., (2007).** L'Antibiorésistance en Tunisie. LART.

- 55. TIMIZAR, F., BOUSSOUNAR, B., MAHNANE, A., SOUALMIA, F., GUERRA, D., (2011).** Les infections nosocomiales (service épidémiologie et médecine préventive de Sétif)
- 56. VAUBOURDOLLE, M., (2007).** Infectiologie. 3^{ème} édition. France : Wolters Kluwer ; Lamarre, p: 245.
- 57. VERDIL, X., (2005).** Entretien des locaux des établissements de soins, Bordeaux, p: 11.
- 58. William BERREBI., (2009).** Diagnostics et thérapeutique : Guide pratique du symptôme à la prescription, p: 847.
- 59. YVON MICHEL-BRIAND., (2012).** Aspects de la résistance bactérienne aux antibiotiques, p: 320.

Annexe 1 : Matériel non biologique

Verreries et autres :

- Anses de platines
- Api 20 E
- Blouse
- Boîtes de Pétri
- Écouvillons
- Gants
- Lames et lamelles
- Pied à coulisse
- Pincés métalliques
- Pipettes Pasteur stériles
- Poires
- Portoirs
- Tubes à essais stériles
- Tubes secs

Appareillage :

- Agitateur
- Autoclave
- Bec benzène
- Densitomètre
- Distributeur d'ATB
- Étuve d'incubation à 37°C
- Microscope optique
- Platine chauffante
- Réfrigérateur à +4°C




Les milieux de cultures :

1. Milieux d'isolement :

Milieux	Utilisation	Photos
<p>Gélose de base (Gélose nutritive)</p>	<p>Milieu universel pour la culture des germes peu exigeants dans les eaux, les boissons et les produits biologiques.</p>	
<p>Gélose sélective (Gélose Hektoen)</p>	<p>Isolement des germes Entérobactéries.</p>	
<p>Gélose sélective (Milieu de Chapman)</p>	<p>Milieu sélectif pour l'isolement et l'enrichissement des staphylocoques pathogènes dans les produits biologiques en microbiologie médicale.</p>	
<p>Gélose enrichie (Gélose au sang frais)</p>	<p>Isolement des germes exigeants.</p>	

<p>Gélose enrichie (Gélose au sang cuit)</p>	<p>Isolement des germes exigeants.</p>	
<p>Gélose pour antibiogramme (Gélose Muller Hinton)</p>	<p>Milieu non sélectif pour l'étude de la sensibilité ou la résistance des germes pathogènes envers les ATB.</p>	
<p>Milieu liquide d'enrichissement (Milieu BGT)</p>	<p>Bouillon glucosé tamponné utilisé pour les cultures bactériennes en microbiologie médicale.</p>	

2. Milieu d'identification :

Milieux	Utilisation	Photos
<p>Gélose Triples Sugar Iron (TSI)</p>	<p>Milieu d'identification pour les Entérobactéries permet de mettre en évidence la fermentation du lactose, glucose ou saccharose avec ou sans production de gaz et d'H₂S.</p>	
<p>Agar citrate de Simmons</p>	<p>Milieu d'identification des Entérobactéries sur la base de l'utilisation du citrate comme seule source de carbone.</p>	
<p>Bouillon Clark et lubs</p>	<p>Bouillon glucosé pour la différenciation des Entérobactéries, réaction de Vogues Proschkauer et rouge de méthyle.</p>	




Les réactifs :

Réactifs	Utilisation	Photos
Kovacs	Recherche de l'indole	
Tryptophane désaminase (TDA)	Recherche de TDA	
Voges proskauer I (VPI)	Recherche de l'acétoïne	
Voges proskauer II (VPII)	Recherche de l'acétoïne	

Les solutions et les disques imprégnés :

	Utilisation	Photos
<p>Fuschine+ lugol+alcool Violet de Gentiane</p>	<p>Pour la coloration de Gram</p>	
<p>Bleu de méthylène</p>	<p>Pour la coloration simple au bleu de méthylène</p>	
<p>L'eau oxygénée H₂O₂</p>	<p>Pour le test de catalase</p>	
<p>Huile de vaseline</p>	<p>Pour créer l'anaérobiose</p>	
<p>Huile à immersion</p>	<p>Pour l'observation microscopique (GX100) des colorations effectuées</p>	

Annexes

<p>Eau distillée stérile</p>	<p>Pour la préparation des suspensions bactériennes</p>	
<p>Eau physiologique stérile</p>	<p>Pour la préparation des suspensions bactériennes</p>	
<p>Disques d'antibiotiques</p>	<p>Pour l'antibiogramme</p>	

Annexe 2 :

Tableau 11: Les principaux microorganismes responsables d'infection hospitalière.

Nom principal	Synonymes	Habitat préférentiel	Les infections les plus fréquentes
<i>Escherichia coli</i>	Colibacille	- Matière fécale - Aliments contaminés - Eaux usées	- Infections urinaires - Gastro-entérites - Plaies - Septicémies
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Pseudomonas pyocyanea Bacille pyocyanique	-Sol, eaux, plantes -Appareils sanitaires -Humidificateurs -Désinfectants -Voies respiratoires -Réfrigérateurs	-Infections pulmonaires et urinaires. -Brulures -Plaies -Septicémies
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Bacille de friedlander	-Matière fécale -Voies aériennes supérieures -Sol, eaux -Aliments contaminés	-Infections pulmonaires et urinaires -Plaies -Endocardites -Septicémies
<i>Proteus mirabilis</i> <i>Proteus vulgaris</i>	Bacterium mirabile Bacterium vulgare	-Matières fécales -Eaux, sol	-Infections urinaires -Plaies -Méningite -Septicémies
<i>Bacillus cereus</i>		-Sol, Poussières -Eaux -Céréales -Lait	-Intoxications alimentaires -Bactériemies /septicémies -Cellulites post-opératoires -Conjonctivites
<i>Staphylococcus aureus</i>	Staphylococcus pyogenes	-Peau, cheveux -Nasopharynx -Périnée -Poussières, air -Aliments contaminés	-Infections cutanées -Plaies, bruleurs, abcès -Ostéites, ostéomyélites -Otites -Infections urinaires -Endocardites -Gastro-entérites -Infections pulmonaires
<i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Staphylococcus albus Staphylococcus blanc Staphylococcus doré	-Peau (flore résidente) -Environnement -Des hommes et des animaux	-Ostéites sur matériel prothétique -Endocardites septicémies
<i>Streptococcus faecalis</i>	Streptocoque du groupe D pneumocoque	-Matières fécales -Produits laitiers	-Infections urinaires -Septicémie -Endocardites

(Girot et al., 2007)

Annexe 3 :

Tableau 12: Désignation des différentes familles d'antibiotiques.

Famille, Groupe	Dénomination commune Internationale DCI	Dénomination Commerciale*
β- lactamines Pénicillines	Amoxicilline Benzathine pénicilline Péni V Péni M oxacilline	Clamoxyl* Extencilline* Oracilline, Oспен* Bristopen*
Oxapénames	Ac.clavulanique + amoxicilline Ac.clavulanique + ticarcilline	Augmentin* Claventin*
Céphalosporines	Céfazoline Céfotaxime Céftriaxone Céfixime Ceftazidime	Céfacidal* Claforan* Rocéfine* Oroken* Fortum*
Carpapénèmes	Imipénème	Tiénam*
Aminosides	Gentamicine Spectinomycine Amikacine Framycétine	Gentalline* Trobicine* Amiklin* Soframycine*
Macrolides	Erythromycine Spiramycine Azithromycine	Erythrocline* Rovamycine* Zithromax*
Streptogamines	Pristinamycine Virginamycine	Pyostacine* Staphylomycine*
Tétracyclines	Cghlorotétracycline Doxycycline	Auréomycine* Vibramycine*
Quinolones	Acide nalidixique Acide pipémidique Ofloxacine Ciprofloxacine	Négram* Pipram* Oflocet* Ciprolon*
Les polymyxines	Colistine	Colymicine*
Sulfamides et associations	Sulfaméthoxazole + Triméthoprime	Bactrim*
Acide fusidique	Acide fusidique	Fucidine*
Nitrofuranes	Nitrofuraxazide Nitrofurantoiné	Ercefuryl* Furadoine*
Oxazolidinones	Linézolide	Zyvoxid*
Les imidazolés	Métronidazole	Flagyl*
Phénicolés	Thiamphénicol	Thiophénicol*
Rifamycines	Rifampicine	Rifadine*
Glycopeptides	Vancomycine Teicoplanine	Vancomycine* Targocid*

(RAMDANI BOUGUessa et al, 2009).

Annexe 4 :

Tableau 13 : Tableau de lecture de la galerie api 20E.

Microtubes	Réaction (-)	Réaction (+)
ONPG	Incolore	Jaune
ADH, LDC, ODC	Jaune	Rouge orangé
CIT	Jaune/Vert pale	Bleu vert/ Bleu
H₂S	Incolore/grisâtre	Dépôt noire/ Fin liseré
URE	Jaune	Rouge orangé
TDA	Jaune	Marron/Rougeâtre
IND	Incolore Bleu pale/ Jaune	Anneau rouge
VP : +VPI +VPII	Incolore	Rose/Rouge
GEL	Non diffusion	Diffusion d'un pigment noire
GLU	Bleu/ Bleu vert	Jaune /jaune gris
MAN	Bleu/ Bleu vert	Jaune
INO	Bleu/ Bleu vert	Jaune
SOR	Bleu/ Bleu vert	Jaune
RHA : rhamnose	Bleu/ Bleu vert	Jaune
SAC	Bleu/ Bleu vert	Jaune
MEL : melibiose	Bleu/ Bleu vert	Jaune
AMY : amygdaline	Bleu/ Bleu vert	Jaune
ARA	Bleu/ Bleu vert	Jaune

Annexe 5 :**Tableau 14 : Listes des antibiotiques utilisés en disques.**

Nom d'antibiotique	Sigle
Ampicilline	AM
Amoxicilline+Acide clavulanique	AMC
Ticarcilline	TIC
Céfazoline	CZ
Céfoxitine	FOX
Céfotaxime	CTX
Ceftazidime	CAZ
Cefpirome	CPO
Ceftriaxone	CRO
Imipenème	IMP
Gentamicine	GN
Amikacine	AN
Furanes	FT
Ciprofloxacine	CIP
Triméthoprim+Sulfamide	SXT
Colistine	CS
Fosfomycine	FOS
Acide nalidixique	NA
Tobramycine	TOB
Doxycycline	DOX
Piperacilline	PIP
Ticarcilline +Acide clavulanique	TCC

Aztréonam	ATM
Nétilmicine	NET
Chloramphénicol	C

Annexe 6 : Tableaux des valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI

Tableau 15 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour Entérobactéries.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)		CMI critiques (µg/ml)		
		Résistant	Intermédiaire	Sensible	Résistant	Sensible
<u>β-lactamines:</u>						
Ampicilline	10 µg	≤ 13	14-16	≥ 17	≥ 32	≤ 8
Amoxicilline + Ac. Clavulanique	20/10µg	≤ 13	14-17	≥ 18	≥ 32/16	≤ 8/4
Cefazoline	30µg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8
Cefalotine	30µg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8
Cefoxitine	30µg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8
Cefoxitime	30µg	≤ 14	15-22	≥ 23	≥ 64	≤ 8
Ceftriaxone	30µg	≤ 13	14-20	≥ 21	≥ 64	≤ 8
Imipenem	30µg	≤ 13	14-15	≥ 16	≥ 16	≤ 4
<u>Aminosides:</u>						
Amikacine	30µg	≤ 14	15-16	≥ 17	≥ 32	≤ 16
Gentamicine	10µg	≤ 12	13-14	≥ 15	≥ 8	≤ 4
<u>Quinolones:</u>						
Acide nalidixique	30µg	≤ 13	14-18	≥ 19	≥ 32	≤ 8
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16-20	≥ 21	≥ 4	≤ 1
<u>Autres :</u>						
Chloromphéinicol	30µg	≤ 12	13-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8
Furanes	300µg	≤ 14	15-16	≥ 17	≥ 128	≤ 32
Fosfomycine	200µg	≤ 12	13-15	≥ 16	≥ 256	≤ 64
Trimethoprime+ sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	≤ 10	11-15	≥ 16	≥ 8/125	≤ 2/38

Fascicule de standardisation de l'antibiogramme (5ème édition 2008)

Tableau 16 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Pseudomonas aeruginosa*

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètre critique (mm)			CMI critique (µg/ml)	
		Résistant	Intermédiaire	Sensible	Résistant	Sensible
<u>β-lactamines:</u>						
Ticracilline	75µg	≤ 14	-	≥ 15	≥ 128	≤ 64
Ticracilline + ac. clavulanique	75/10µg	≤ 14	-	≥ 15	≥ 128/2	≤ 64/2
Pipracilline	100µg	≤ 17	-	≥ 18	≥ 128	≤ 64
Cefazidime	30µg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8
Aztreonam	30µg	≤ 15	16-21	≥ 22	≥ 32	≤ 8
Imipenem	10µg	≤ 13	14-15	≥ 16	≥ 16	≤ 4
<u>Aminosides:</u>						
Amikacine	30µg	≤ 14	15-16	≥ 17	≥ 32	≤ 16
Gentamicine	10µg	≤ 12	13-14	≥ 15	≥ 8	≤ 4
Netilmicine	30µg	≤ 12	13-14	≥ 15	≥ 32	≤ 12
Tobramycine	10µg	≤ 12	13-14	≥ 15	≥ 8	≤ 4
<u>Quinolones:</u>						
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16-20	≥ 21	≥ 4	≤ 1

Fascicule de standardisation de l'antibiogramme (5ème édition 2008)

Tableau 17 : Valeurs critiques pour des molécules d'antibiotiques ne figurant pas sur les tables du CLSI d'après les recommandations du comité français de l'antibiogramme janvier 2007 (Bactéries non exigeantes).

Antibiotiques testés	Charge des disques	<i>E.coli</i>			<i>P.aeruginosa</i>			<i>Acinetobacter. spp</i>			<i>Staphylococcus. Spp</i>		
		S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Amoxicilline	25µg	≥21	-	<14	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acide fusidique	10µg	-	-	-	-	-	-	-	-	-	≥22	-	<15
Fosfomycine	50µg	-	-	-	≥14	-	<14	-	-	-	≥14	-	<14
Nétilmicine	30µg	-	-	-	-	-	-	≥19	-	<17	-	-	-
Pristinamycine	15µg	-	-	-	-	-	-	-	-	-	≥22	-	<19
Rifampicine	30µg	-	-	-	-	-	-	≥19	-	<14	-	-	-

Fascicule de standardisation de l'antibiogramme (5ème édition 2008)

Annexe 7 : Fiches techniques des produits de désinfection ANIOS

ANIOS D.D.S.H :



Définition :

C'est un produit prêt à l'emploi sert a le nettoyage et la désinfection rapide des dispositifs médicaux et surfaces : matériel médical, plans de travail, paillasse...

Composition :

Propionate d'ammoniums quaternaires, acétate de guanidinium, n-propanol, détergent, parfum.

Mode d'emploi :

- Pulvérisation indirecte sur un non tissé propre et sec, appliqué sur la surface.
- Pulvérisation directe en différents points de la surface, répartir la solution pulvérisées à l'aide d'un non tissé propre et sec.
- Laisser sécher et ne pas rincer.

Propriétés microbiologiques :

- Bactéricide : EN 1040, NF T 72-190, NF T 72-170, EN 1276, T 72-300 (SARM, *Acinetobacter baumannii*...), actif sur *Mycobacterium tuberculosis* (B.K).
- Fongicide : EN 1275 (*Candida albicans*), EN 1650, T 72-301 (*Aspergillus fumigatus*). Actif sur les virus HIV-I, HBV, Rotavirus, Herpès virus et BVDV (virus modèle HCV).

SURFANIOS Citron :



Définition :

Nettoyage et désinfection des sols, murs, surfaces et dispositifs médicaux (bloc opératoire, services à hauts risques, services de soins...).

Composition :

Chlorhydrate d'acides-amino, chlorure de didécyl-diméthylammonium, chélateurs des ions Ca^{+2} et Mg^{+2} , détergent non ionique biodégradable, colorants et parfum.

Mode d'emploi :

Dilution recommandée : 0,25% et ne pas rincer.

Propriétés microbiologiques :

- Bactéricide : EN 1040, NF T 72-190, NF T 72-170, EN 1276, T 72-300, EN 13727.
actif sur *Mycobacterium tuberculosis* (B.K).
- Fongicide : EN 1275, EN 1650 (*Candida albicans*), T 72-300.
Actif sur les virus HIV-I, HBV, BVDV (virus modèle HCV) et influenza virus (H_5N_1)...

ANIOS DVA HPH :



Définition :

Désinfection des surfaces par voie aérienne. À utiliser avec la gamme de leurs diffuseurs : AEROSEPT 100VF, 250 VF, DIFFUSEUR 505CM...

Composition :

Alkylminoalkylglycine, phénoxyéthanol, chlorure de didécyl diméthylammonium, éthanol : 25%.

Mode d'emploi :

Prêt à l'emploi, s'utilise hors présence humaine.

Ne pas rincer.

Propriétés microbiologiques :

- Bactéricide : EN 1040, NF T 72-190, NF T 72-281 (*Pseudomonas aeruginosa* : 8ml/m³-2h30), Actif sur *Mycobacterium tuberculosis* (B.K).
- Fongicide : NF T 72-190, EN 1275(*Candida albicans*), T 72-301 (*Aspergillus fumigatus*). Actif sur les virus HIV-I.

AEROSEPT 500VF et AEROSEPT 250VF :



- ✓ Associés aux produits ASEPTANIOS TERMINAL, assurent une désinfection des surfaces par voie aérienne (procédés agréés par le ministère de la santé publique).
- ✓ Générateur d'aérosols mobiles, ils ne laissent aucun dépôt ni trace après utilisation (taille des particules $\leq 0,3\mu\text{m}$).
- ✓ Monocoque en polyester armé inaltérable.
- ✓ Programmation électrique graduée en m^3 jusqu'au 500 m^3 pour AEROSEPT 250VF, jusqu'au 999 m^3 pour AEROSEPT 500VF.
- ✓ Aspiration automatique de produit désinfectant.
- ✓ Buse autonettoyante.

GLOSSAIRE

- **Bactéricide** : toute substance qui tue les bactéries (**DOMORT et BOURNEUF , 1976**).
- **Bactériémie** : décharge de bactéries dans le courant sanguin à partir d'un foyer septique (**DOMART et BOURNEUF, 1976**).
- **Bactériostatique** : toute substance dont l'action se borne à arrêter la multiplication des bactéries sans les tuer (**DOMART et BOURNEUF, 1976**).
- **Morbidité** : nombre d'individus touchés par une maladie population déterminée et pendant un temps donné (**DOMART et BOURNEUF, 1976**).
- **Multi-résistance** : la multi-résistance bactérienne résulte de l'accumulation de résistance à un nombre important à des familles d'antibiotiques variées et donc ayant des mécanismes d'action très divers (**N Hygis, 1998**).
- **Néonatalogie** : branche de la médecine qui traite des soins médicaux et préventifs concernant le nouveau-né (**QUEVAUVILLIERS J et al., 2007**).
- **Scialytique** : dispositif d'éclairage suspendu au-dessus du champ opératoire, qui ne laisse aucune ombre (**DOMART et BOURNEUF, 1976**).
- **Septicémie** : état pathologique caractérisé par l'envahissement durable de la circulation sanguine par des germes, à partir d'un foyer septique (**DOMART et BOURNEUF, 1976**).