

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2019

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV **Filière :** Sciences Biologiques
Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté par :

MADI Sihem & DJEMA Karima

Thème

*Isolement et caractérisation des bactéries multirésistantes
impliquées dans les infections nosocomiales et l'environnement
hospitalier au niveau de l'hôpital de LAKHDARIA*

Soutenu le : 21 / 09 / 2019

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>Mme. TIGHIDET. S</i>	<i>MAA.</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Présidente</i>
<i>Mme. BENBARA. T</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examinatrice</i>
<i>Mme. MEDBOUA. C</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promotrice</i>

Année Universitaire : 2018/2019

Remerciements

« Nous tenons à remercier Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour achever ce travail ».

Nous tenons avant tout à exprimer nos remerciements les plus sincères à notre encadreur Mme Madboua Ch pour avoir accepté de Diriger ce travail.

Je remercie Mme TIGHIDET. S pour avoir accepté de présider ce jury.

Mes remerciements vont également à l'égard de Mme BENBARA. T Pour Avoir Accepté d'examiner ce travail.

Nous tenons également à remercier Mr Maida A Chef du laboratoire de Microbiologie de l'hôpital de lakhdaria pour nous avoir accueillis au sein de leur laboratoire Ainsi pour sa disponibilité et ses pertinents conseils sans oublier tout le personnel pour leur bienveillance et leur éclaircissement et leur appui scientifique dans la recherche

A toute personne qui participé de prés ou de loin pour l'accomplissement de ce modeste travail.

Merci à tous...

Dédicaces

*En ce moment particulier dans ma vie,
Je tiens à dédier ce modeste travail à :*

Mon cher papa

*Ecole de mon enfance, qui a été mon ombre durant toutes les années des études et à mis à ma disposition tous les moyens nécessaire pour que je réussisse, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me
Donner l'aide et à me protéger*

Ma chère maman

Qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, quoique je fasse, je ne pourrais te rendre ce que tu as fait pour moi. Soyez fière de moi aujourd'hui et voyez à travers ce travail mon amour sincère et ma Gratitude profonde que dieu vous gardes et protèges pour moi inchalalah.

A mes chères sœurs :

«Houria, Saida, Hadda, Zahra»

A mes chers frères :

Omar, Saleh

A tout ma famille

A mon promotrice

A tous mes amis et camarades

Karima

Chaque jour qui passe je remercie Allah, et je le pris tout le temps de me donner la force de suivre le chemin qu'il m'a tracé afin de mener à bien le destin qu'il m'a prévu.

Je dédie ce travail :

A mes très chers parents que j'aime et qui m'ont soutenu tout au long de ma vie et de mes années d'études. Je les remercie vraiment pour leurs dévouements, leurs amours, leurs sacrifices et leurs encouragements et qui m'ont donné toutes les chances pour réussir jusqu'au bout, que Dieu leur accorde une longue vie les protège, et encore une fois Merci !!

A toute l'équipe de laboratoire de service médical de l'hôpital de Lakhdaria en particulier Monsieur Madi Ali le chef de laboratoire bactériologique, Monsieur Toubal Ahssen, Mme Amina et Mme Naziha.

A ma sœur fahima et sa fille bassma et son maries Ali

A mes tantes, spécialement Fadila et son marie rachid

A mes oncle Ahmed et sa femme Dalila et Fatah et sa femme Noura

A mes cousines Awatif et Mouna et Ferial et Katia et Ikram et Hayat

A mes chères amies Asma CH et Soumia et Asma K

Enfin, à tous ceux qui de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail. Et Tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer

A vous tous, un grand Merci

Sihem

ATB : Antibiotique.

BGT : Bouillon Glucosé Tamponné.

BGN : Bacille Gram négatif.

CGP : Cocci Gram positif.

C3G :céphalosporine 3ème génération.

C: chloramphenical .

CL: Colistine.

COT : Co-trimoxazole .

CTX: Céfotaxime .

CZ: Cifazoline .

EPH: Etablissement public hospitalier.

ECBU : examen cytobactériologie des urines.

ECB des pus : examen cytobactériologie des pus.

EUCAST : L'Européen Committee on antimicrobial Susceptibility Testing.

GN: Gélose nutritive.

GSC : gélose au sang cuit..

ISO : infection du site opératoire.

K: Kanamycine.

LDC : Lysine Décarboxylase.

MH : Muller Hinton.

ODC : Ornithine Décarboxylase.

ONPG : Orthonétro β Galactosidase.

OMS : organisation mondial de santé.

OX : Oxaciclins.

PN : Pneumonie nosocomiale.

RIF: Rifampicine.

SC: Citrate de Simmons .

TOB: Tobramycine.

TSI: Three Shugar Iron.

Figure 01 : Répartition des différent taux de prélèvement	36
Figure 02 : Aspect des colonies des souches isolées.....	36
Figure 03 : Répartition des bactéries à Gram négatif.....	37
Figure 04 : Répartition des souches selon la nature de prélèvement.....	38
Figure 05 : Répartition des souches isolées selon le sexe.....	38
Figure 06 : Répartition des souches selon la catégorie d'âge	39
Figure 07 : Répartition des souches selon les services.....	39
Figure 08 : Répartition des résultats d'examen cytot bactériologie des urines	40
Figure 09 : Répartition des espèces isolées dans l'examen cytot bactériologie des urines	40
Figure 10 : Répartition des résultats des pus.....	41
Figure 11 : Répartition des souches isolées dans les prélèvements des pus.....	41
Figure 12 : Répartition des souches isolées dans l'hémoculture.....	42
Figure 13 : Répartition des résultats de prélèvement de surface	42
Figure 14 : Répartition des souches isolées dans le prélèvement de surface.....	44
Figure 15 : Répartition des souches résistantes selon la nature de prélèvement.....	45
Figure 16 : Répartition des souches résistantes selon le sexe.....	45
Figure 17 : la répartition des souches résistantes selon la catégorie d'âge.....	46
Figure 18 : Taux de résistance des <i>Entérobactéries</i> vis-à-vis aux β -lactamine	47
Figure19 : Taux de résistance des <i>Entérobactéries</i> vis-à-vis aux autre familles des antibiotique	48
Figure 20 : Taux de résistance des <i>Staphylococcus aureus</i> vis-à-vis aux β -lactamine	48
Figure 21 : Taux de résistance de <i>Staphylococcus aureus</i> vis-à-vis aux autres familles des antibiotique.....	49
Figure 22 : Taux de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> vis-à-vis aux β -lactamine.....	49
Figure 23 : Taux de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> vis-à-vis aux autres familles des antibiotique.....	50

Tableau I : Les sites des prélèvements d'environnement hospitalier	26
Tableau II : Les antibiotiques testés contre les <i>Entérobactéries</i>	32
Tableau III : Les antibiotiques contre les <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	33
Tableau IV : Les antibiotiques testés contre <i>Staphylococcus aureus</i>	33
Tableau V : Répartition des prélèvements positifs d'environnement hospitalier.....	43
Tableau VI : Répartition des souches résistantes selon l'espèce	44
Tableau VII : Répartition des souches résistantes selon les services.....	46

Introduction.....	01
Synthèse bibliographique	
Chapitre I : Généralité sur les infections nosocomiales	
I. les infections nosocomiales.....	02
I.1 Définition.....	02
I. 2 Historiques.....	02
I. 3 Epidémiologie.....	03
I.4 Fréquence et incidence.....	04
I. 5. Mode de transmission	04
I.6. Origine des germes.....	05
II. Les différents type des infections nosocomiales.....	06
II.1. Infection urinaire nosocomiale.....	06
II.2. Infection de site opératoire.....	08
II.3 .Pneumonie nosocomiale.....	10
II.4 Autre infection	12
Chapitre II : les germes responsables des infections nosocomiales	
I. Les bactéries.....	13
I.1 les bactéries fermentaire : <i>Entérobacterie</i>	24
I.2. les bactéries oxydatives <i>Pseudomonas</i>	15
I.2. les <i>Staphylocoque</i>	16
I.3 .les <i>Streptocoques</i>	17
II. les Virus	18
III. Champignon et parasites.....	18
Chapitre III : Contamination de l'environnement hospitalier	
I. Environnement hospitalier.....	19
I.1 Définition de l'environnement hospitalier.....	19
I.2 Contamination de l'environnement par les microorganismes.....	19
I.2.1L'eau.....	19
I.2.2 L'air.....	20
I. 2.3 Surfaces.....	20
I.3 Hygiènes de l'environnement hospitalier.....	22

Matériel et méthodes

I .Lieu et période d'études.....	24
II. Techniques de Prélèvement.....	24
II.1 Prélèvement des urines.....	24
II.2 Prélèvement de pus.....	25
II.3 Prélèvement de sang.....	25
II.4 Prélèvement d'environnement hospitalier.....	26
III. Méthodologie de diagnostique.....	26
III.1 Étude cyto bactériologie des urines.....	26
III. 2 Étude cyto bactériologie du pus.....	27
III.3 Hémoculture.....	28
III.4 Étude de prélèvement d'environnement hospitalier.....	29
VI. Identification.....	30
V. Étude de la sensibilité des souches aux antibiotiques.....	33

Résultats et discussion

I. Prélèvement des échantillons.....	36
II. Isolement et identification des souches	36
II.1 Répartition des souches isolées selon les différents types de prélèvement.....	37
II.2 Répartition des souches selon le sexe.....	38
II.3 Répartition des souches selon la catégorie d'âge	38
I.4 Répartition des souches isolées selon les services	40
II.5 Répartition des résultats d'Examen cyto bactériologie des urines	40
II.6 Répartition des résultats du pus.....	41
II.7 Répartition des souches isolées dans l'hémoculture	42
II.8 Répartition des résultats de prélèvement d'environnement hospitalier.....	42
III .Résistances des souches aux antibiotiques.....	44
III.1 Répartition des souches résistances par espèces.....	44
III. 2 Répartition des souches résistantes selon la nature de prélèvement	45
III.3 Répartition des souches résistantes par sexe.....	45
III.4 Répartition des souches résistant selon la catégorie d'âges.....	46
III.5 Répartition des souches résistances selon les services.....	46

III.6 Etude de la résistance des <i>entérobactéries</i> vis-à-vis aux antibiotiques	47
III.7 Etude de la résistance de <i>Staphylococcus aureus</i> vis-à-vis aux antibiotiques	48
III.8 Etude de la résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux antibiotiques	49
Discussion générale.....	51
CONCLUSION	56

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

LES ANNEXES

RESUME

L'infection hospitalière ou nosocomiale (IN), constitue un problème important de santé publique par sa fréquence et son retentissement humain et économique. Elle se définit comme une infection acquise dans un établissement de santé dont les manifestations cliniques apparaissent habituellement après les 48 heures d'hospitalisation. (**Zeroual ,2012**).

Le risque de contracter une infection à l'hôpital a toujours existé et ce risque s'est accru avec l'évolution des pratiques de soin et de recrutement des patients. La pratique de soins plus efficaces mais souvent plus invasifs s'est accompagnée d'une possibilité de contamination par des micro-organismes d'origine endogène ou exogène. De plus, le recrutement des patients hospitalisés s'est modifié en particulier avec la prise en charge de personnes de plus en plus vulnérables à l'infection (patients immunodéprimés, interventions chirurgicales lourdes, patients présentant plusieurs pathologies graves, patients polytraumatisés en réanimation). (**Samou, 2005**).

Les infections nosocomiales les plus fréquentes sont: la pneumopathie, l'infection urinaire, la bactériémie et l'infection du site opératoire. (**Aourache ,2016**).

Une étude sur la prévalence des infections nosocomiales menée sous l'égide de l'OMS dans 55 hôpitaux de 14 pays dans 4 régions OMS (Asie et sud Est, Europe, méditerranée orientale et pacifique occidentale) a révélé qu'en moyenne 8,7% des patients hospitalisés avaient acquis une infection nosocomiale. De nombreux projet ont montré que l'application d'intervention et de stratégie pouvait réduire la charge de morbidité imputable aux infections résultant d'acte de soins .A l'aide d'un programme de prévention, le taux d'infection nosocomiales pourrait être réduit de 30%. (**Ducel, 2002**).

De nombreux travaux ont rapporté le rôle important que joue l'environnement hospitalier dans le développement des infections nosocomiales. L'environnement hospitalier est le réservoir le plus important de microorganismes résistants. La présence de plus de 5 UFC/cm² sur une surface qui pourrait rentrer en contact avec les mains, indique qu'il pourrait y avoir un risque accru d'infection pour le patient. (**Dancer, 2004**).

Notre travail est à pour objectif de déterminer le degré du risque des infections nosocomiales chez les patients hospitalisées au niveau des différents services de l'hôpital de Lakhdaria ainsi que le degré de contamination de l'environnement et identifier les souches isolées et la mise en évidence de leurs résistances aux antibiotiques.

Synthèse bibliographique

Chapitre I :
Généralité sur les infections
nosocomiales

Chapitre I : Généralité sur les infections nosocomiales

I. Les infections nosocomiales

I.1 Définition

On appelle infection 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 le 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 48h entre l'admission et les premiers symptômes est nécessaire pour parler d'infection nosocomiale.(Eric, 2002). Une infection est dite nosocomiale dans les sites d'une opération si elle survient dans les 30 jours après l'acte opératoire(ou 1 an en cas prothèse ou d'implant), même si le patient n'est plus hospitalisé. (François et al., 2007).

I.2 Historique

Les infections dites nosocomiales (du grec nosos, maladie, et komein, soigner, et par extension, du latin nosocomial, hôpital). Dès le milieu du 19^{ème} siècle, des progrès majeurs ont été réalisés pour limiter le développement d'infections hospitalières. En 1846, le docteur Ignaz Semmelweis observe que les fièvres puerpérales sont quatre fois moins fréquentes si les accouchements sont effectués par des sages-femmes que des carabines qui pratiquent également des autopsies, en leur imposant une désinfection des mains avant l'accouchement, la mortalité par fièvre puerpérale est passée de 11,4 à 1%.(Astragneau , 1998).

Les travaux de Louis Pasteur et de Robert Koch ont permis de comprendre la nature et les modes de transmission des maladies infectieuses, ceci aura pour conséquence le développement des techniques d'isolement visant à interférer avec les divers modes de transmission des agents infectieux. En 1942, Alexander Fleming découvrait la pénicilline, depuis cette date, les antibiotiques ont amené un vent d'optimisme et d'euphorie qui laissa croire que la pathologie infectieuse, hospitalière ou non, pourra aisément être maîtrisée. (Jean paul , 2002).

Dès la fin des années cinquante, on a vu l'apparition des épidémies dévastatrices d'infections hospitalières à staphylocoques dorés résistants à la pénicilline .Ceci va susciter un regain d'intérêt pour les infections hospitalières. En effet, si le renforcement des mesures

d'hygiènes et la découverte de la pénicilline résistante aux pénicillinases vont permettre de mieux contrôler les infections à staphylocoques dorés, d'autres agents, avant tous les bacilles Gram négatif (BGN) mais aussi toutes sortes de bactéries ou de champignons jugés jusqu'alors non pathogènes vont prendre le relais et être à l'origine des infections hospitalières observées aujourd'hui. Ces infections sont difficiles à contrôler car ces agents appartiennent le plus souvent à la flore normale du patient et leur résistance ne fait que s'élargir parallèlement au développement des nouveaux antibiotiques. **(Paul et robert ., 1998).**

I.3 Epidémiologie

Le taux de prévalence des infections annuelle (nombre total de cas sur un an) en France est de 70% des patient hospitalisés .ce taux peut atteindre 20% dans les services de réanimation.

Les service les plus touchés sont par ordre décroissant : la réanimation avec des taux de prévalence moyens de l'ordre de 30% , la chirurgie avec des taux de 7 a 9% et la médecine avec des taux de prévalence de 5 a 10% .Les services à moindre risque sont les service de pédiatrie et de psychiatrie .Les infection sont aussi fréquentes dans les service de moyen et de long séjour qu'en court séjour . **(Francois et al ., 2007).**

La mortalité due aux infections nosocomiales est mal documentée, mais représente certainement plusieurs milliers de décès par an, notamment par pneumonie nosocomiale. **.(Francois et al ., 2007).**

Une infection nosocomiale entraine un surcoût en raison d'une durée d'hospitalisation plus importante (parfois plus de 10 jours) et de l'emploi supplémentaire de médicaments et matériel divers de soins. **.(Francois et al ., 2007).**

Les infections nosocomiales les plus fréquentes sont par ordre décroissants :-infection urinaire (40%), pneumonies (20%), Infection de site opératoire (15%), infection sur cathéter (15%), Bactériémie primaire (5%). **(Francois et al ., 2007).**

Sur le plan bactériologique, les bacilles à Gram négatif (*E.coli+++*) représentent environ 60% des germes responsable, et les cocci à Gram positif (*Staphylucoccus aureus+++*) représentent 30%.Les champignon sont de plus en plus présents.**(Francois et al ., 2007).**

I.4 Fréquence et incidence

Les infections nosocomiales sont connues dans le monde entier et touchent aussi bien les pays développés que les pays pauvres en ressources. Les infections contractées en milieu médical figurent parmi les causes majeures de décès et de morbidité accrue parmi les patients. Elles représentent une charge importante pour le patient comme pour la santé publique. .
(Ducel ,2002).

A tout moment, plus de 1,4 million de personnes dans le monde souffrent de complication infectieuse acquise à l'hôpital. Les fréquences maximales ont été rapportées dans les hôpitaux des régions de la Méditerranée orientale et de l'Asie du Sud-est (11,8% et 10,0% respectivement), et la prévalence atteignait 7,7% en Europe et 9,0% dans le Pacifique occidental. **(Ducel ,2002).**

I.5 Mode de transmission

En milieu hospitalier la transmission par contact direct ou indirect est largement le mode de transmission prépondérant. **(Berche et al ., 1991).**

- **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. **(Berche et al ., 1991).**

- **Hétéro infection**

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

L'agent infectieux est rarement transmis par contact direct ou par voie aérienne. Le plus souvent le vecteur est le personnel soignant par ses mains, et ou ses instruments de travail. On parle d'infection manu portée ou d'infection transmise par le matériel d'exploration ou de soin. C'est le mode de contamination majeure lors de nombreuses

épidémies et probablement le plus sensible aux mesures prophylactiques. (Tasseau et Baron ., 1989).

- **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. (Tasseau et Baron ., 1989).

- **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. (Ouhibi ,2015).

I.6 L'Origine des germes :

- **La flore saprophyte du malade lui même**

Elle subit au cours des premiers jours de l'hospitalisation des modifications qualitatives. Les bacilles gram négatif et plus accessoirement les levures (candida) remplacent les cocci gram positif ou les anaérobies. Ces flores saprophytes modifiées colonisent les sites préférentiels chez le malade entraînant une infection de l'appareil urinaire, des plaies opératoires, ou du parenchyme pulmonaire. (Bouvet et Crimont ., 1989).

- **Le personnel soignant (médical et paramédical) :**

La contamination peut se faire par le biais du personnel soignant qui transmet Les germes d'un patient à l'autre avec ses instruments ou ses mains souillées. (Fagon, 1998).

- **L'environnement**

Il est moins déterminant dans le cadre de programme de prophylaxie que les deux précédentes origines. Il peut être contaminé par le personnel ou par le patient. Il comprend les divers appareillages d'assistance respiratoire et de monitoring par voie intra vasculaire, les

lavabos, les instruments (stéthoscope, tensiomètre ...), les liquides et les tubulures, la nourriture et l'air ambiant. (Tasseau et Baron ., 1989).

II .Les différents types des infections nosocomiales

II.1 Infection urinaire

A- définition

Ce sont les infections nosocomiales les plus courantes; 80 % des infections sont liées à un sondage vésical à demeure. Les infections urinaires sont associées à une plus faible morbidité que les autres infections nosocomiales, mais peuvent dans certains cas provoquer une bactériémie potentiellement mortelle. Ces infections sont habituellement définies selon des critères microbiologiques : uroculture quantitative positive (≥ 10 micro-organismes/ml, avec au maximum deux espèces microbiennes isolées. (Ducel ,2002).

B-Physiopathologie

Dans la situation où il n'existe pas de sonde vésicale, le mécanisme d'acquisition de l'infection est la voie ascendante. Dans le cas où le patient a une sonde urinaire, il existe quatre principaux mécanismes d'acquisition de l'infection : lors de la mise en place de la sonde, par voie endoluminale à la jonction entre la sonde et le collecteur par ouverture régulière du système de drainage non clos, par voie péri urétrale (ou extraluminaire), par voie lymphatique ou hématogène (rare).

Le patient est, dans 75% des cas, contaminé par voie endoluminaire .C'est à dire qu'il y a contamination rétrograde, principalement par voie manu portée lors du sondage, par des manipulations régulières du système de drainage ou à partir de collecteur.

Dans les 25% des cas restante , le patient est contaminé par la voie transurétrale , C'est à dire de la muqueuse urétrale contaminée vers la sonde urinaire .Les bactéries le plus souvent d'origine digestive colonisent le périnée puis migre vers l'urètre et la vessie par capillarité dans le fin film muqueuse contigu à la surface externe de la sonde .Le risque cumulé est de 100% après 30 jours de sondage .(Francois et al ., 2007).

C-Facteurs de risque

C'est la durée du sondage qui est le facteur de risque majeur. Chaque jour de sondage augmente le risque infectieux de 5 à 10 % durant la première semaine ; cette augmentation est plus importante ou plus rapide en réanimation. Après une semaine de sondage le risque de l'infection urinaire nosocomiales est de plus de 50%.

Le risque dépend également de la durée du séjour hospitalier avant le sondage, de la mise en place de la sonde en dehors d'un bloc opératoire et de l'existence ou non d'une déconnexion du système de drainage. Les instrumentation urinaire sont responsables de 20% environ des infections nosocomiales. Il s'agit de tous les gestes diagnostiques ou thérapeutiques qui peuvent être traumatisants urinaires au niveau de l'appareil urinaire.

Les infections urinaires nosocomiales sont plus fréquentes dans le sexe féminin et selon l'âge, sont également importantes : l'existence de pathologies sous-jacentes, d'un diabète, d'une malnutrition, l'existence d'un traitement immunosuppresseur, d'un traitement corticoïde, l'existence d'un alcoolisme, la durée de l'hospitalisation et le siège de cette hospitalisation, en particulier service aigu ou à l'opposé, long séjour. (Hygis, 1998).

L'existence de pathologie neurologique, en particulier après atteinte médullaire, entraîne un taux d'infection élevé lié à l'absence de vidange complète de la vessie avec sondage itératif, lésions urétrales et vésicales, altération de la muqueuse de la vessie qui rendent possible la colonisation et l'infection. (Hygis, 1998).

D-Prévention

La mise en place d'une sonde à demeure doit être évitée ou faite avec beaucoup de précautions d'asepsie : le port de gant stérile, la toilette périnéale avec des antiseptiques bactéricidesetc.

Le système de drainage de l'urine ne doit jamais être ouvert, il doit être stérile et éviter tout reflux. La vidange du sac doit se faire par le bas et tout prélèvement doit se faire au niveau de la bague après l'avoir désinfectée. Il faut une vérification régulière de la sonde et du méat, surveiller un décalage thermique. Le sac collecteur ne doit jamais reposer sur le sol, faire un changement de l'ensemble sonde- système de drainage. (Zeroual, 2012).

E- Traitement :

En cas de bactériurie asymptomatique, si le patient est sondé, aucune antibiothérapie ne doit être débutée. Il peut être discuté du maintien de la sonde. Si au moment de l'ablation de la sonde, une bactériurie est découverte, il est conseillé de refaire une seconde uruculture 48h après. Si celle-ci est toujours positive, un traitement par antibiotique pourra être administré.

En cas de bactériurie asymptomatique, une antibiothérapie sera toujours débutée selon l'antibiogramme et préférentiellement en monothérapie (ex : fluoroquinolone) pendant 7 jours. Il sera fait recours aux associations en cas de signes cliniques graves ou en cas d'infection par *Acinetobacter*, *Entérobacter* ou *Pseudomonas* (ex : céphalosporine 3^{ème} génération + aminoside ; ou fluoroquinolone + aminoside). (Francois et al., 2007).

II.2 Infection de site opératoire :

A- Définition

La définition de ces infections est essentiellement clinique: écoulement purulent autour de la plaie ou du site d'insertion du drain, ou cellulite extensive à partir de la plaie. Les infections de la plaie opératoire (au-dessus ou au-dessous de l'aponévrose) et les infections profondes des organes ou des espaces sont identifiées séparément. L'infection est en général acquise pendant l'intervention elle-même, avec une origine soit exogène (air, matériel médical, chirurgiens et autres soignants), soit endogène (flore cutanée ou flore présente sur le site opératoire ou, dans de rares cas, sang utilisé en préopératoires). (Ducel, 2002).

- **Infection superficielle :**

Ne dépasse pas la peau et le tissu cellulaire sous cutané. Elle nécessite des soins très vigilants, une surveillance attentive ; mais est sans gravité. Elle guérit rapidement mais nécessite une prolongation du séjour hospitalier de quelques jours. Elle fait courir un risque potentiel pour une ré-intervention. (Samou, 2005).

- **Infection profonde :**

L'infection profonde, par contre est redoutable. Elle fait souvent suite à un hématome cliniquement, le site opératoire est tendu, rouge douloureux, tandis que la fièvre s'installe et persiste. Infection affectant les tissus, organes et espaces situés au niveau ou au dessous de l'aponévrose de revêtement, ou encore ouverts et manipulés durant l'intervention. (Sheret et Basseti, 2001).

B- Physiopathologie :

L'infection de la plaie opératoire est acquise lors de l'intervention par transmission au niveau du champ opératoire d'un germe provenant soit de l'équipe chirurgicale ou de son environnement, soit du patient. Les principales sources microbiennes sont la peau, le tractus respiratoire supérieur du patient, l'appareil digestif et l'appareil urinaire de la femme. La transmission ultérieure à la plaie se fait par contact direct (mains, matériels). La transmission aérienne est aléatoire. (**Samou ,2005**).

c- Facteur de risque

Les facteurs de risque de survenue de l'infection du site opératoire sont principalement liés aux caractéristiques du patient et aux caractéristiques opératoires. Les caractéristiques de patients sont importantes et peu modifiables : âge élevé, comorbidités, (obésité, diabète, immunosuppression, dénutrition et hypoalbuminémie), chirurgie en urgence, contamination du site opératoire avant incision. Les facteurs liés à l'intervention peuvent être différenciés en fonction des temps opératoires qui sont au nombre de trois : les périodes pré-opératoire, notamment la qualité de la préparation cutanée, opératoire et post-opératoire. En ce qui concerne la période opératoire, les principaux facteurs de risque sont l'environnement de la salle d'opération, l'expérience et l'habileté du chirurgien, l'asepsie et la technique chirurgicale et la durée de l'intervention. (**cécile ,2012**).

D- Prévention

Il faut limiter le plus possible la durée du séjour hospitalier préopératoire et Proposer les explorations préopératoires en ambulatoire. Les infections Préexistantes doivent être dépistées et traitées. La préparation cutanée suit une procédure qui comprend : une douche la veille de l'intervention, un dépilage par tondeuse ou crème épilatoire de la zone à opérer. Il faut observer une asepsie rigoureuse lors de la manipulation des drains et la réalisation des pansements ; éviter les injections de substances ou de médicament dans les systèmes de drainage et privilégier les systèmes d'aspiration clos. Le nettoyage, la désinfection des bâtiments et lits, la stérilisation des Instruments, l'incinération et l'enfouissement des déchets permettent de diminuer la survenue des infections nosocomiales. (**Samou ,2005**).

E- Traitement

Dans les infections profondes, en présence de matériel étranger, on utilise des antibiotiques à large spectre en association de deux voire trois antibiotiques pour agir sur les bactéries à métabolisme ralenti en phase de croissance. Il faut se méfier des associations d'antibiotiques oraux «synergiques» in vitro, sur les staphylocoques multi résistants (pristinamycine-triméthoprim-sulfaméthoxazole ou pristinamycine-acide fucidique). Inefficaces in vivo, elles favorisent l'extension de l'infection et la sélection de mutants résistants. Il est important d'utiliser de très fortes posologies en raison des difficultés d'accès du tissu osseux infecté, notamment en cas d'infection sur matériel ou d'ostéite chronique. Initialement, le traitement se fait par voie intraveineuse. La durée de l'antibiothérapie parentérale n'est validée par aucune étude. Un relais par voie orale est proposé utilisant des antibiotiques ayant une bonne biodisponibilité, diffusion osseuse et une bonne tolérance digestive. (**Ghernout ,2013**).

II.3 Pneumonie nosocomiale :

A-définition

Une pneumonie nosocomiale est une infection pulmonaire survenant chez un patient hospitalisé, indemne d'infection patente ou en cours d'incubation au moment de l'admission. Un délai d'apparition de 48 à 72h est généralement admis pour affirmer le caractère nosocomial de l'infection. (**Paule ,2001**).

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

Parmi les pneumonopathies on distingue les pneumonies nosocomiale précoces qui sont survenant avant le cinquième jour d'hospitalisation, dont les agents responsable sont généralement des microorganismes d'origine extrahospitalière et les Pneumonies nosocomiale

tardives (survenant au –delà du cinquième jour) dont les microorganismes responsable sont d'origine intra-.hospitalière. (Paule ,2001).

B-Physiopathologie

Sur le plan physio-pathogénique, les PN résultent généralement de la pénétration et du développement des micro-organismes dans les voies aériennes inférieures qui, après une phase de colonisation, vont conduire à une infection du parenchyme pulmonaire par dépassement des capacités de défenses mécaniques (clairance muco-ciliaire), cellulaires (polynucléaires, macrophages, lymphocytes, cytokines) et/ou humorales (anticorps et complément) de l'hôte. (Chanfir, 2016).

C- Facteur de risque

Ils sont en rapport avec la ventilation et le patient lui même donc accessibles à la prévention. Le facteur le plus important est l'orthèse endotrachéale, ensuite viennent l'âge de plus de 70 ans, l'insuffisance respiratoire chronique, l'état de choc, l'intervention chirurgicale récente sur la sphère abdominale ou thoracique, la durée de la ventilation, la trachéotomie et la ré intubation. D'autres facteurs tels que : le mode d'intubation (orale ou nasale) et l'absence de prévention par gastroprotecteur augmente la survenue de pneumopathie nosocomiale. (Samou , 2005).

D-Prévention

Chez la malade de réanimation La prévention vise à éviter les contaminations par le matériel utilisé. Il faut faire une désinfection soigneuse des couveuses, nébuliseurs, appareils de ventilation assistée, aspirateurs. Il est bon également d'isoler un malade présentant une dissémination de l'infection.

Chez la malade de chirurgie Il faut une kinésithérapie en cas de broncho-pneumopathie chronique obstructive. En postopératoire : La kinésithérapie pour éviter l'encombrement respiratoire est nécessaire aussi bien que le lever précoce pour favoriser une autonomie respiratoire du patient. (Samou, 2005).

E-Traitement

Les quinolones jouent incontestablement un rôle important dans le traitement ciblé des pneumonie nosocomiale .Diverses études comparatives ont montré que le traitement par les quinolone d'une pneumonie due à un germe à Gram négatif sensible documenté et tout aussi

efficaces qu'un traitement par les β -Lactamine ; la pénétration dans les parenchyme est en effet excellente .En cas de pneumonie à *Pseudomonas* documenté ,même s'il s'agit d'une souche sensible , il est probablement préférable de prévoir un traitement associé en raison du développement possible d'une résistance en cas de monothérapie par une quinolone.(**Yernault ,1997**).

II.4 Autres infection

Il existe de nombreux autres sites potentiels d'infection, par exemple: Infections de la peau et des tissus mous: les plaies ouvertes (ulcères, brûlures, escarres) favorisent la colonisation bactérienne et peuvent conduire à une infection généralisée. La gastro-entérite est l'infection nosocomiale la plus fréquente chez l'enfant, avec un rota virus comme principal agent pathogène. Dans les pays développés, *Clostridium difficile* est la cause principale des gastro-entérites nosocomiales chez l'adulte.

Sinusites, autres infections de la sphère ORL, infections de l'œil et de la conjonctive.

Endométrite et autres infections de l'appareil génital après l'accouchement. (**Ducel, 2002**).

Chapitre II :
Les germes responsables
Des infections nosocomiales

Chapitre II : les germes responsables des infections nosocomiales

1 .les bactéries

Les bactéries représentent la majorité des pathogènes responsables d'IN. Parmi les bactéries à Gram négatif, la Famille des *Enterobacteriaceae* est la plus représentée, et les genres *Pseudomonas* et *Acinetobacter* ont également un impact conséquent. Pour les bactéries à Gram positif, la “palme” revient aux genres *Staphylococcus* et *Enterococcus*.(Monnet ,2011).

I.1. les bactérie fermentaire : Entérobactéries

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

La famille comprend 130 espèces actuellement répertoriées. Les espèces les plus communément isolées en bactériologie clinique appartiennent aux genres *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia*. (Khayar ,2011).

➤ *Escherichia. Coli*

Le genre *Escherichia* compte 5 espèces : *E. coli*, *E. fergusonii*, *E. hermannii*, *E. vulneris* et *E. blattae*. L'espèce *E. coli* est considérée comme un hôte normal, c'est-à-dire commensal, de la microflore digestive de l'homme et de la plupart des animaux à sang chaud. (Alpha amado, 2013).

Escherichia coli ou colibacille est une bactérie mesurant 2 à 4 µm de long sur 0,4 à 0,6 µm de large. C'est une bactérie fine et allongée à extrémité arrondie, mobile grâce à une ciliature péritriche. Ce germe, non exigeant sur gélose ordinaire, il donne des colonies lisses, brillantes et homogènes. Sa température de croissance optimale est de 37 °C. (Abraham ,2018)

E. coli possède une catalase mais est dépourvu d'oxydase. L'étude d'activités enzymatiques et de la fermentation des sucres est réalisée à l'aide de micro-méthodes

validées disponibles dans le commerce sous forme de galeries. Ces galeries permettent l'identification de cette bactérie ainsi que le diagnostic différentiel avec les autres bactéries de la même famille.

- **Résistante aux antibiotiques**

La proportion d'*E. Coli* résistants aux antibiotiques a considérablement augmenté au cours de la dernière décennie, et l'émergence de souches combinant des résistances à plusieurs classes d'antibiotiques est de plus en plus fréquente.

La résistance aux **aminopénicillines** est la plus répandue. Elle est soit l'unique résistance de la souche (33,3% des souches), soit associée avec une ou plusieurs autres résistances. Elle est fréquemment combinée à la résistance aux **fluoroquinolones** (84,8% des souches multi-résistantes), qui est la deuxième résistance la plus fréquente.

La résistance aux **céphalosporines de 3^{ème} génération** (C3G), si elle est la moins fréquente. Avec l'émergence de souches produisant des **carbapénémases**, la prise en charge des patients atteints d'IN va devenir de plus en plus compliquée dans les prochaines années, au vu de la prévalence d'*E. coli* dans ces infections. (Monnet ,2011).

➤ ***Klebsiella***

Les *Klebsiella* sont des bactéries immobiles et capsulées. On distingue 5 espèces dans le genre qu'on peut différencier par des caractères biochimiques. Elles expriment des antigènes K,capsulaires utilisables comme marqueurs épidémiologiques. L'espèce type est *Klebsiella pneumoniae*. Elles sont responsables d'infections urinaires au 2^{ème} rang après *E. coli*, d'infections respiratoires (*Klebsiella pneumoniae* est appelée "pneumobacille de Friedlander"), de bactériémies et d'infections neuro-méningées post traumatiques ou post-chirurgicales. Les isollements sont beaucoup plus fréquents à l'hôpital et singulièrement dans les services de réanimation -qu'en ville. (khayar ,2011).

Sur les milieux classiques d'isolement pour entérobactéries (Drigalski, EMB, Hektoen, Mac Conkey), les colonies de *Klebsiella pneumoniae* et *Klebsiella oxytoca* sont lactose positives, bombées, muqueuses, parfois filantes à l'anse de platine, d'un diamètre de 3 à 4 mm en 18 -24 h à 37 C°. (Kone komba, 2010).

- **Résistante aux antibiotiques**

K. pneumoniae est naturellement résistante aux aminopénicillines (amoxicilline, ticarcilline) par production d'une β -lactamase. De nombreuses souches de *K. pneumoniae* résistent aux inhibiteurs des beta-lactamases (des beta-lactamases de classe A de type IRT insensibles à l'acide clavulanique). (Heaggman ,1997).

I. 2. Les bactéries oxydatives : *pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa (ou bacille pyocyanique) est un bacille à Gram négatif. Il a été isolé pour la première fois en 1882 par Gessard. Au cours des dernières décennies, *Pseudomonas aeruginosa* est imposé comme un pathogène hospitalier très important du fait du nombre et de la gravité des infections causées. L'enquête nationale de prévalence de 2006 attribue à *P. aeruginosa* la responsabilité de 10 % de l'ensemble des infections nosocomiales en France, le plaçant ainsi au 3^{ème} rang des espèces isolées juste après *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. (Choley, 2010).

Les bactéries du genre *Pseudomonas* sont principalement retrouvées dans l'environnement mais aussi en milieu hospitalier. (Sheretrz et basseti . ,2001).

ils sont donc difficiles à éradiquer dans les endroits contaminés, c'est à dire les chambre d'hôpital, les dispensaires, les salle d'opération , et certains équipement médicaux comme les appareils d'assistance respiratoire .Ils peuvent même survivre dans certain solution antiseptiques utilisés dans la désinfection des instruments et des endoscopes. (Moselio et al,1993) .

Comme la plupart des espèces appartenant au genre *Pseudomonas*, *P. aeruginosa* n'exige aucun facteur de croissance. C'est une bactérie hautement versatile dotée d'une grande adaptabilité nutritionnelle et métabolique. Par conséquent, elle peut être isolée en culture sur des milieux ordinaires ou sur des milieux rendus sélectifs par addition d'inhibiteur, tel que le cétrimide. Elle est strictement aérobie et sa température optimale de croissance est comprise entre 30 et 37°C. Les cultures de *P. aeruginosa* dégagent une odeur caractéristique, et produisent le plus souvent des pigments de pyocyanine et de pyoverdine.(Chanfir ,2016).

Cette bactérie est catalase positive et oxydase positive. Elle possède une versatilité nutritionnelle remarquable pouvant utiliser une variété de sucres simples et complexes, d'alcools et d'acides aminés comme seule source de carbone.(Elmeskini,2011).

- **Résistante aux antibiotiques**

Pseudomonas aeruginosa possède une résistance naturelle à un grand nombre d'antibiotiques en raison de la production d'une bêta-lactamase qui n'est pas inhibé par le clavulanate, et une mauvaise perméabilité membranaire. *Pseudomonas aeruginosa* est donc naturellement résistant aux pénicillines, à la plupart des céphalosporines de troisième génération. *Pseudomonas aeruginosa* est aussi résistant à la kanamycine (Poole, 2004).

A-côté de la résistance naturelle existe aussi la résistance acquise. Cette résistance ne concerne que quelques ou de nombreuses souches d'une espèce donnée. Ces souches dérivent de bactéries initialement sensibles (phénotype résistance). Elle résulte de changements dans le génome bactérien par une mutation soit l'acquisition des informations génétiques étrangères (Mulvey et Simor., 2009).

I. 3. Staphylocoque :

Le genre *Staphylococcus* appartient à la famille des *Micrococcaceae*, et comprend plus de 30 espèces différentes qui peuvent être pathogènes pour l'Homme. Les staphylocoques sont des bactéries à Gram positif inconstamment encapsulées, aéro-anaérobies facultatives, ubiquitaires. Ils se présentent le plus souvent sous l'aspect de coques rassemblées en amas irréguliers, ils sont parfois isolés, par paires ou en très courtes chaînes. Ainsi on distingue l'espèce *Staphylococcus aureus* à coagulase positive appelée également staphylocoque doré (élaboration d'un pigment caroténoïde donnant une couleur dorée à la colonie). qui est le germe le plus fréquemment rencontré dans toutes les infections des sites opératoires. (Birgand, 2014).

Des autres espèces de staphylocoques à coagulase négative (SCN) que l'on regroupe aussi sous le nom de staphylocoques blancs (par opposition au doré) : *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. hominis*, *S. capitis*. (Cécile, 2012).

La dénomination officielle est *S. aureus*. *Staphylococcus* vient du grec : Staphulé (grain de raisin) et kokkos (graine). Il se cultive facilement sur milieux ordinaires en aérobiose comme en anaérobiose sur tous les milieux usuels, à des conditions de pH et de température variables. *S. aureus* donne des colonies sur milieu usuel, lisses, rondes, bombées et brillantes. Certaines souches sont pigmentées en jaune doré. Il pousse et fermente le mannitol sur milieu de Chapman, faisant virer le rouge de phénol au jaune. Ce milieu contient une concentration de 7.5 % de NaCl qui inhibe la plupart des autres germes. (Ghernout, 2013).

De nombreuses études ont permis de dresser des profils métaboliques pour la plupart des espèces de Staphylocoque. Les principaux caractères biochimiques pris en compte sont la

production de catalase, la capacité à métaboliser les sucre et la production d'arginine dihydrolase(ADH) .(Yves ,2009).

- **Résistante aux antibiotiques**

Comme toutes les bactéries Gram positif, *Staphylococcus aureus* présente une résistance naturelle à l'aztréonam, colistine et à l'acide nalidixique. Sa particularité est d'avoir une résistance naturelle à la ceftazidime uniquement parmi les céphalosporines. La résistance à la méticilline est un problème majeur de santé publique. Ces staphylocoques ont acquis le gène mec qui permet la synthèse d'une enzyme (PBP2a ou PBP2') n'ayant qu'une affinité très faible pour les β -lactamines, qui ne peuvent plus exercer leur action inhibitrice. La plupart de ces staphylocoques sont également résistants aux quinolones et aux macrolides. Les staphylocoques communautaires sont habituellement sensibles à la méticilline. Les *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM) sont principalement observés en milieu hospitalier. Les souches hospitalières sont caractérisées par leur résistance aux antibiotiques notamment aux Bêta -lactamines. (**Ahamogbe ,2014**).

I.4 Streptocoque

Les espèces de genre streptococcus sont des Cocci à Gram positif les plus impliqués en pathologie humain, on distingue : les *Stréptococcus pyogenes* qui sont associés en pair et /ou en chainettes. Dénommé aussi « Streptocoque de groupe A», Elle responsable d'infections invasives et d'autres non invasives .Elle rencontrée chez l'homme dans le pharynx ou sur la peau. (**Francois et al., 2007**), la transmission est essentiellement interhumaine par contact direct à partir d'une personne infectés ou porteuse asymptomatique . Le risque de contamination est plus élevé en milieux hospitalier , et tout particulièrement lors de la prise en charge de maladie atteints de pneumonopathie nécrosante et de malade nécessitant une ventilation invasive, et Streptococcus pneumonie présentent un aspect de diplocoque ou en courte chainette . (**Albert et al ., 1991**).C'est une bactérie commensale de voies aérienne supérieure de l'homme cette espèce est transmise par voie aérienne tant que les sécrétion buccales et nasales contiennent un nombre important de pneumonocoques virulent .La transmission directe de fait par contact avec les sujets hébergeant les germes (propagation de gouttettes de salive par contact oral direct , par des Object fraîchement souillés de sécrétion respiratoire. (**Sheretrz et Basseti ., 2001**).

II. les virus

On admet qu'au moins 5% de toutes les infections hospitalières sont causées par des virus. Il paraît que leur importance est encore sous estimée. Ce sont avant tout les services de pédiatrie qui sont les plus affectés où le virus respiratoire syncytial, du fait de sa contagiosité extrême et prolongée, est responsable des épidémies nosocomiales D'autres virus, notamment celui de l'hépatite B, le cytomégalovirus et le virus de l'immunodéficience humaine , du fait de leur transmission à partir du sang et des autres liquides biologiques, peuvent être responsables d'infections nosocomiales.(Maryem ,2016).

III. Champignons et parasite

Certains parasites (par exemple Giardia lamblia) se transmettent facilement chez l'adulte et l'enfant. De nombreux champignons et autres parasites sont des agents opportunistes et provoquent des infections.

En cas de traitement antibiotique prolongé et d'immunodépression sévère (Candida albicans, Aspergillus spp., Cryptococcus neoformans, Cryptosporidium). Ils sont une cause majeure d'infection généralisée chez les patients immunodéprimés. La contamination de l'environnement par des germes aéroportés comme Aspergillus spp. Présent dans les poussières et le sol est également préoccupante, en particulier lors de la construction d'hôpitaux. (Ducel, 2002).

Chapitre III :
Contamination de
L'environnement hospitalier

Chapitre III : Contamination de l'environnement hospitalier

I. Environnement hospitalier

I.1 Définition de l'environnement hospitalier :

L'environnement hospitalier est constitué de l'ensemble des éléments liquides, solides ou gazeux qui environnent ou entrent en contact avec les patients, les visiteurs ou le personnel dans une structure hospitalière. Entrant dans cette définition l'air (médical ou atmosphérique), les surfaces inertes (mobilier, linge, instrumentation,...), les surfaces vivantes (les mains du personnel), les eaux (de réseau, de piscine et de dialyse), les solutés (préparations injectables, solutions d'antiseptiques, pommades,...) et l'alimentation. (**Le Heurt et al ., 1995**).

L'environnement hospitalier est largement contaminé par des microorganismes d'origine humaine ou environnementale. Cette contamination varie qualitativement et quantitativement dans le temps et d'un établissement à un autre. Au sein du même établissement, elle varie en fonction des services, des patients, des soins et des techniques

Pratiquées. (**Barbut et Neyme., 2006**).

I.2 Contamination de l'environnement par les microorganismes

L'environnement hospitalier est colonisé par de nombreux microorganismes qui constituent parfois de véritables niches écologiques. Cette contamination est diffuse et sa maîtrise, qui entraîne des procédures contraignantes, complexes et coûteuses, n'est le plus souvent que partielle et transitoire. Les microorganismes responsables d'infections nosocomiales ont un réservoir humain (flore digestive, respiratoire, cutanée, ...) ou environnemental (surface, air, eau, matériel). Les infections nosocomiales d'origine environnementale (exogène) sont plus rares. Elles peuvent être liées à une contamination à partir d'un réservoir situé dans l'environnement à proximité du malade (dispositifs médicaux, surfaces) ou à partir d'un réservoir situé dans l'environnement général de l'hôpital (eau, air). (**Lucet et Astragneau ., 1998**).

I.2.1 L'eau

L'eau joue fréquemment le rôle de réservoir émetteur et les exemples les plus frappants sont constitués par la présence de *Legionella* dans les réservoirs d'eau chaude ainsi que la colonisation quasi permanente des siphons d'installation sanitaire par *Pseudomonas aeruginosa*. L'eau peut aussi jouer le rôle de transmetteur par la libération de microorganismes.

A l'intérieur de l'établissement hospitalier, les microorganismes en quantité faible peuvent proliférer au niveau des bras morts, des extrémités des canalisations, des brise-jets des robinets, des pommes de douche et dans les circuits d'eau chaude. Une contamination par voie rétrograde peut survenir au niveau des différents points d'usage et des dispositifs branchés sur le réseau (machines à laver les instruments, trompes à vide, ...). (**Bertrou et al., 2000**).

I.2.2 L'air

Les microorganismes de l'air sont véhiculés sur des supports de tailles variables: les poussières, les squames cutanées (dans les services de grands brûlés), les gouttelettes ou les microgouttelettes de salive émises lors de la toux, des éternuements et de la parole et les noyaux de condensation issus de ces gouttelettes. Les plus grosses particules sédimentent en quelques minutes alors que les plus petites peuvent rester en suspension plusieurs heures, diffuser à distance et pénétrer par inhalation jusque dans les alvéoles pulmonaires des patients. (**Barbut et Neyme, 2006**).

L'hôpital est un lieu privilégié, car c'est le lieu de rencontre des malades et des soignants avec les bactéries qu'ils hébergent. Il y a donc un danger potentiel de contamination de l'air par des bactéries pathogènes; l'air intervient dans les conditions habituelles comme transporteur de bactéries et non pas comme source de bactérie.

En l'absence de turbulence aérienne, les germes se sédimentent spontanément, en quatre à cinq heures, lorsque l'air de la pièce est agité (ouverture de porte, ...) les germes sont remis en suspension. La durée de vie des bactéries est également variable suivant les espèces; les bactéries à Gram négatif ont une durée de vie moindre que les bactéries à Gram positif. (**Mereghetti, 1998**).

I. 2.3 Surfaces

Les surfaces sont contaminées soit par contact ou par sédimentation des microorganismes présents dans l'air. La répartition de la contamination des surfaces se fait le plus souvent de manière hétérogène. L'adhérence des bactéries est possible selon l'état de la surface. Cette adhérence peut s'accompagner de la création d'un biofilm. Du fait des conditions de croissance défavorables, certaines bactéries peuvent se miniaturiser (bactéries naines) et sont alors difficiles à mettre en évidence dans les prélèvements (bactéries viables et non cultivables). D'autres bactéries peuvent prendre une forme sporulée (*Clostridium difficile*). (**Lucet et Astragneau., 1998**).

Il a été montré par exemple, que l'environnement proche d'un patient porteur de bactéries multirésistantes aux antibiotiques (BMR) peut se retrouver à son tour contaminé et servir de réservoir secondaire. (**Barbut et Neyme, 2006**).

L'air qui véhicule sous forme d'aérosols des amas bactériens qui sont capables de sédimenter et de coloniser le milieu. Ce mécanisme a été démontré à plusieurs reprises, c'est le cas du problème d'aérocontamination au bloc opératoire par *Aspergillus* apporté par des poussières de travaux dans des unités protégées. (**Bosi, 2000**).

Le contact des patients infectés par des bactéries multirésistantes avec des surfaces inertes les rendent généralement contaminées. Cette contamination peut persister des heures, voire des semaines sur des surfaces sèches. Le personnel médical, les travailleurs et d'autres patients peuvent être contaminés par contact direct avec ces surfaces qui par la suite deviendront un réservoir de microorganismes dans l'hôpital. (**Rutala et Weber., 1999**).

L'eau qui contamine les surfaces et les dispositifs médicaux par rinçage (inoculation de mycobactéries à partir d'un matériel chirurgicale recontaminé par l'eau du robinet après désinfection). (**Lucet et Astangneau, 1998**).

Dépend les différents facteurs comme la nature du germe, la température, le taux d'humidité, le type de surface et leur degré de salissure, en particulier leur teneur en matières organiques (**Bertrou et al ., 2000**). Les microorganismes responsables des infections nosocomiales peuvent persister sur des surfaces sèches inanimées pendant plusieurs mois. Le séchage des surfaces exerce une action bactéricide significative, mais son efficacité dépend de la nature de l'organisme et des conditions de température, d'encrassement et d'humidité. (**Bloomfield et Scott ., 1997**).

Dans l'ensemble, les bactéries Gram négatives persistent plus longtemps dans les milieux humides que les bactéries Gram positives. La plupart des bactéries Gram positives telles qu'*Enterococcus spp.*, *Staphylococcus aureus*(SARM) ou *Streptococcus pyogenes* peuvent survivre pendant plusieurs mois (4 à 7 mois) sur des surfaces sèches. En général, il n'y pas de différences évidentes entre la survie des souches sensibles et multirésistantes .

De nombreuses espèces de bactéries Gram négatives telles que *Acinetobacter spp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens* ou *Shigella spp.* peuvent survivre sur des surfaces inanimées pendant plusieurs mois (5 semaines à 30 mois). Ces espèces se trouvent parmi les plus fréquemment isolées de patients présentant des infections nosocomiales (**Neely et Maley ., 2000**).

I.4 Hygiènes de l'environnement hospitalier

Concerne l'ensemble des actions qui visent à préserver au malade un lieu d'hospitalisation qui, de prêt ou de loin, ne soit pas dangereux pour lui.

L'hygiène de l'environnement c'est d'abord l'hygiène de l'environ de personne malade. Cet environnement concerne tout ce qui, de prêt ou de loin, concourt à la prise en charge d'une malade durant son hospitalisation, du holl-d'acceil au bureau des sorties.

Cela concerne l'unité d'hospitalisation mais l'unité médicaux-technique également (consultation, exploration fonctionnelle, bloc opératoire), les installations assurant l'alimentation, le traitement de la ligne ou ce lui des déchets, etc. C'est également l'hygiène de toutes les surfaces (sols, murs, table, chariots de transport, chaises, etc.) et bien évidemment.

L'hygiène des soins infirmiers ; cette hygiène de l'environnement concerne également l'eau qui circule à tous les niveaux de l'hospitalisation (eau des salles de bains, eau des lavabos de blocs opératoires, circuit d'eau chaude, eau de piscines de rééducation. (**Alain ,2004**).

I.4.1 Hygiène des personnels:

L'hôpital doit permettre la pratique des soins de propreté dans de bonnes conditions. Pour le malade dépendant disposé de moyens matériels facilitant l'accomplissement des soins d'hygiène et respecter son intimité.

Pour le malade, il est valide de mettre à sa disposition les meilleures conditions matérielles l'hygiène du personnel qui est une véhicule privilégiée de la contamination, est une priorité. L'élément fondamental de cette hygiène du personnel est l'hygiène des mains et toute hygiène corporelle, une bonne hygiène des cheveux et une tenue propre sont le reflet de l'état de propreté et l'image de marque d'un hôpital. (**Hamza, 2003**).

I.4.2 Hygiènes des locaux

L'hygiène des locaux, action anti-microbienne réalisée avec un désinfectant et qui touche l'air ambiant, les surfaces et l'eau, la literie.

Elle est constituée de la désinfection du sol et de plafond, la désinfection des murs surtout de chambre du malade est salle d'opération. La désinfection des cuvettes des toilettes et des baignoires. Les produits utilisé peuvent être désinfectant liquide qui sont très servent associer a des détergent des sprays utilisés par pulvérisations d'érigée vers les surfaces vertical ainsi que les rayons UV.

Les locaux doivent être largement aérés, éclairés et ensoleillés et les bonnes règles architecturales respectées pour que l'hôpital soit peu contaminable, peu contaminé et facilement décontaminé. **(Hota ,2004) .**

I.4. 3 Hygiène de matériels

Matériel de soins : le gros matériel (respirateurs, machines d'hémodialyse, oxygénateurs, nutripompes, appareil de radiologie incubateurs) doivent être nettoyé et désinfecté entre deux utilisation et soumis à des contrôle bactériologiques. Le petit matériel doit être de préférence jetable si non doit être nettoyée, rincé et désinfecté ou stérilisé. **(Hota ,2004).**

I.4.4 Hygiène des denrées alimentaires:

Quelque soit le type de distribution du repas (sur plateau individuel ou chariot chauffant), les conditions d'hygiène doivent être rigoureuse.

Les récipients et les chariots doivent être couverts et nettoyer et désinfecter après chaque utilisation. La distribution des repas sera faite rapidement après l'arrivée de chariot et collective dans une salle à manger propre. Le personnel doit faire un lavage soigné des mains pressé à renouveler les eaux de boisson. **(Hamza, 2003).**

Matériels et méthodes

I. Lieu et période d'étude

Ce travail a été effectué au sein du l'hôpital de Lakhdaria qui est composés de plusieurs services : service de médecine interne homme, service de médecine interne femme, la chirurgie homme, la chirurgie femme, la pédiatrie, le pavillon des urgences. Notre stage a été effectué au niveau de laboratoire microbiologique au cours d'une période de deux mois, mars à mai 2019.

Les prélèvements reçus au laboratoire sont accompagnés d'une fiche de Renseignement qui comporte :

- Nom et prénom du malade.
- Age et sexe.
- Service d'hospitalisation.
- Nature de prélèvements.
- Date et heure du prélèvement.
- Antibiothérapie éventuelle (nature et durée).
- Renseignements cliniques.

II. Techniques de prélèvements

II.1 Prélèvements d'urine

Il est préférable de recueillir des urines du matin afin d'obtenir une urine ayant séjourné suffisamment longtemps, au moins 3 à 4 heures dans la vessie, notamment en cas de diurèse importante. La méthode recommandée consiste à récupérer les urines, après un lavage hygiénique des mains et une toilette des organes génitaux externes. Après évacuation du premier jet (20ml), au moins 20 ml suivants sont recueillis dans un pot stérile, en prenant soin de ne pas toucher le bord du récipient. (**Slaninova ,2016**).

Chez le petit enfant on doit utiliser un collecteur stérile spécifique. Ce dispositif à usage unique adapté à l'anatomie se pose après désinfection soigneuse et ne peut être laissé en place plus d'une demi-heure. Passé ce délai, si l'enfant n'a pas uriné, le dispositif est éliminé et remplacé par un collecteur neuf. Dès la miction terminée le collecteur est enlevé et les urines sont transvasées soigneusement dans un flacon stérile. (**Charles ,2012**).

Chez les patients sondé à demeure Plutôt que de découpler sonde et collecteur si on ne pratique pas le drainage vésical clos, il est préférable après clampage en aval, de ponctionner avec une seringue ou un système d'aspiration sous vide directement la chambre de

prélèvement préalablement désinfectée puis de transvaser dans un flacon stérile. (**Djennane et al., 2009**).

Une fois prélevées, les urines doivent être acheminées le plus rapidement possible au laboratoire sinon elles doivent être conservées à +4° C. La conservation du recueil doit être la plus courte possible, le transport sera fait dans un emballage réfrigérant en moins de 2 heures vers le laboratoire. (**Roland, 2016**).

II.2 Prélèvements des pus

Le prélèvement doit être réalisé avec du matériel stérile à usage unique, selon les règles d'hygiène et d'asepsie appropriées, avant tout antibiothérapie.

Dans les cas où l'échantillon provenant de zones profondes, fermées, normalement stériles : liquide de séreuse, liquide synovial, liquide de kyste mais aussi des pus d'adénopathie, abcès parenchymateux divers (cerveau, foie, rein, os), abcès sous-cutanés, pus d'hypodermite, ou l'échantillon provenant des zones profondes communiquant avec des surfaces possédant une flore commensale : abcès de paroi, pus sinusien, abcès sous escarre, pus d'ulcère. Le prélèvement pour ces deux types d'échantillons est effectué par ponction à l'aide d'une seringue.

Dans le cas où l'échantillon provenant de zones superficielles possédant leur propre flore commensale : pus d'escarre, pus de brûlure, pus d'eczéma, prélèvement vulvaire. Le prélèvement pour ce type d'échantillon est effectué à l'aide d'un écouvillon stérile.

L'acheminement au laboratoire doit être le plus rapide possible. En effet, si les prélèvements sont laissés pendant longtemps à la température ambiante, les bactéries se multiplient et peuvent fausser l'interprétation des résultats. Par ailleurs, certaines bactéries sont fragiles. Leur exposition à l'air et à la dessiccation peut les tuer. (**Poly et Denis., 2002**).

II.3 Prélèvement de sang

Le prélèvement du sang pour hémoculture est réalisé lors de la suspicion d'une bactériémie. Il consiste à recueillir du sang, aseptiquement, au cours d'une même ponction, dans 2 flacons, type flacon de Castaneda, l'un destiné aux bactéries aérobies et l'autre aux anaérobies.

La ponction veineuse est la seule méthode valable pour prélever le sang en vue d'une culture bactériologique. Il faut prélever une quantité de sang suffisante, 10 ml chez l'adulte et 2 à 5 ml chez l'enfant. (**Leulmi, 2015**).

II.4 prélèvement des surfaces d'environnement hospitalier

Les prélèvements ont été réalisés par la méthode d'écouvillonnage qui consiste à frotter une surface à l'aide d'un écouvillon préalablement humidifié dans un bouillon nutritif par des stries. L'écouvillon est réintroduit immédiatement dans le bouillon nutritif en coupant le bâtonnet. Les prélèvements ont été acheminés au laboratoire puis incubé à 37°C/24h à 48h (French et al., 2004).

Tableaux I : les sites des prélèvements d'environnement hospitalier

Site de prélèvement		Nombre de prélèvement	Milieu d'enrichissement
Surface	Sols	05	BGT
	Murs	04	BGT
	Poigner de port	06	BGT
Malade	Lits	07	BGT
	Draps	05	BGT
	Tables	05	BGT
Soignant	Blouses	04	BGT

III. Méthodologie de diagnostique

III.1 Examen cyto bactériologique des urines

L'examen cyto bactériologique des urines (ECBU) est une analyse d'urines prescrite dans le cadre d'un diagnostic ou du suivi d'une infection du tractus urinaire, celui-ci étant normalement stérile. L'ECBU permet de confirmer l'infection urinaire et d'identifier l'agent responsable. La notion d'infection urinaire est liée à la présence de symptômes. (Berthélémy, 2016).

➤ Examen macroscopique

L'examen macroscopique permet de noter les principaux caractères des urines émises, en l'occurrence : l'aspect qui peut être limpide, louche, trouble. La couleur qui peut être jaune pâle, ambrée, hématique ou éventuellement colorée par les médicaments. La présence de sédiments et leur abondance donnant un aspect floconneux, cristallin, blanchâtre (phosphate), rouge brique (acide urique) ou rose. (Traig et Touati., 2017).

➤ **Examen microscopique**

Consiste un examen cytologique permet de dénombrer les éléments figurés contenus dans un volume donné de l'urine à étudier. Leur concentration est exprimée par millilitre. Cet examen est quantitatif par comptage des leucocytes et des hématies et qualitatif par recherche d'autres éléments figurés de l'urine (cristaux, cylindres, bactéries, levures, parasites) . (Frédéric et al., 2008).

Cette examen est réalisé en dépose deux gouttes des urine homogénéisés ente lame et lamelle sans coloration puis examiner sous microscope à l'objectif 40.

➤ **Mise en culture**

Cette étape est très importante car elle permet l'isolement et identification du (ou des) germes pathogènes afin de permettre l'étape d'identification. L'importance de cette étape réside dans le choix d'un milieu de culture adapté à la pousse des germes les plus fréquemment impliqués dans les infections urinaires, et aussi la connaissance des exigences culturales des germes en cause. (Brahimi, 2013).

Les milieux utilisés doivent permettre une numération des bactéries les plus fréquemment rencontrées, c'est à dire les *entérobactéries*, les *Pseudomonas*, les *Staphylocoques* et les *Eentérocoques* qui sont toutes des bactéries peu exigeantes et à cultures rapides en routine on utilise une gélose nutritive (GN).

0.1 MI d'urine bien mélangée est diluée dans 9.9 ml d'eau distillée stérile à l'aide d'une pipette calibrée à 0.1 ml ; puis 0.1 ml de cette dilution est ensuite aussitôt étalée sur une gélose nutritive.).On dépose parallèlement deux goutte d'urine non diluée sur le bord de la boîte qui contient le gélose Hektoèn ou BCP ou Mac Conkey puis on étale en large strie puis en strie serrées et à chaque fois on tourne la boîte 60 degrés et on recommence l'ensemencement. Les boîtes sont incubées à 35°C pendant 18 à 24h.

III.2 Etude cytobactériologique du pus

➤ **Examen macroscopique**

L'aspect, la couleur et la consistance des prélèvements reçus dans une seringue ou dans un récipient stérile, doivent être soigneusement examinés.

La couleur des prélèvements qui sont généralement va du jaune-vert au rouge brun, une couleur rouge est généralement due à un mélange avec du sang ou de l'hémoglobine. Le pus

peut être aussi coloré en bleu-vert par la pyocyanine ou la pyoverdine élaborée par *Pseudomonas aeruginosa*.

Le pus peut être : épais, visqueux, élastique, mélangé ou non de sang, fluide, séreux ou séro- hématic. Il peut être homogène ou granuleux. Dans certains cas, de petits grains jaunes, noirs, rouges ou blancs sont apparents

L'odeur des prélèvements peut orienter le biologiste. En effet, une odeur fétide, excrémentielle, est l'une des caractéristiques des infections anaérobies ou mixte aérobie-anaérobie.(Bassoule ,2012).

➤ Examen microscopique

Il est fondamental et suffit parfois pour établir un diagnostic immédiat. Un frottis pour coloration de Gram ou coloration au bleu de méthylène et examen microscopique doit être fait pour chaque prélèvement. (Bassole, 2012).

Pour ce faire, à l'aide d'une anse, faire un frottis uniforme de la partie la plus purulente du prélèvement sur une lame propre. Dans le cas de l'écouvillon, étaler doucement l'écouvillon de coton sur la surface de la lame sans froter ni appuyer. Laisser la lame sécher à l'air ou dans une étuve. Fixer à la chaleur, colorer et examiner le frottis à l'objectif (X100).

➤ Mise en culture

Le prélèvement est ensemencé sur le bouillon glucosé Tamponné (BGT) et incubé à 37°C pendant 24 à 48 heures à l'étuve. Le bouillon d'enrichissement est ensuite repiqué sur des milieux gélosés spécifiques (GSC, Héктоen , Chapman) pour l'isolement. Les boîtes doivent être maintenues pendant 24 à 48 heures à l'étuve à 37°C. (Sédallian ,1988)

II.3 Hémoculture

L'hémoculture est une technique de laboratoire dont le But est de mettre en évidence la présence ou l'absence de microorganismes (bactéries et levures) dans le sang et d'étudier leur sensibilité aux différents antibiotiques selon les cas. (Mariam ,2010).

➤ Examen macroscopique

L'inspection macroscopique journalière des flacons par mirage, vise à déceler des signes d'une croissance microbienne. Une culture stérile montre en général un dépôt d'hématies recouvert d'un bouillon transparent jaune pâle. La croissance est attestée par: un dépôt flocculeux au-dessus de la couche d'hématies, un trouble uniforme ou situé juste sous la

surface, une hémolyse ;une coagulation du bouillon , une pellicule de surface, la production de gaz carbonique , la présence de grains blancs à la surface ou à l'intérieur de la couche de sang.

La durée d'observation varie de 10 jours à un mois surtout pour les bactéries à culture lente (*Brucella*) Toute positivité d'un flacon entraîne un examen microscopique. (**Berrezzouk, 2008**).

➤ Examen microscopique

Devant une croissance visible, le flacon est ouvert aseptiquement et une petite quantité de Bouillon est prélevé à l'aide d'une anse stérile ou d'une pipette Pasteur.

Un frottis coloré par La méthode de Gram permet de repérer la présence de germes. Le Prélèvement du bouillon peut être exécuté à l'aide d'une seringue montée après désinfection de l'opercule de caoutchouc. Un examen microscopique est complété par des repiquages sur milieux solides. (**Mariam, 2010**).

➤ Mise en culture

Après désinfection du bouchon du flacon d'hémoculture, à l'aide d'une seringue stérile, on prélève quelques gouttes qu'on ensemence sur une gélose au sang cuit et une gélose au sang frais, les boîtes sont incubées dans une atmosphère enrichie de 5% à 10% de CO₂ à 35°C pendant 24H à 48H, un isolement sur une gélose Mac conkey pour les bacilles à Gram négatif. Des repiquages sont réalisés pour J1, J3, J10 et pour tout les flacons présentent des signes de positivité macroscopique (trouble, hémolyse, dépôt, voile en surface). (**Granier et Denis., 2007**).

II.4 L'analyse de prélèvement d'environnement hospitalier

➤ Examen microscopique

Un frottis pour coloration de Gram ou coloration au bleu de méthylène et examen microscopique doit être fait pour chaque prélèvement. (**Bassole, 2012**).

Pour ce faire, étaler doucement l'écouvillon de coton sur la surface de la lame sans frotter ni appuyer. Laisser la lame sécher à l'air ou dans une étuve. Fixer à la chaleur, colorer et examiner le frottis à l'objectif (X100).

➤ Mise en culture

A partir des BGT positifs (présence de trouble) on ensemence sur des milieu gélosé spécifique (Chapman, Héctoën, Mack Conkey...) pour l'isolement. Les boîtes doivent être maintenues pendant 24 à 48 heures à l'étuve à 37°C.

IV. Identification

Dans cette étude, on s'intéresse sur l'identification des entérobactéries, *Staphylocoque*, *Pseudomonas aeruginosa* sur la base des caractères cultureux et biochimiques.

IV.1 Etude macroscopique

Cette étude est basée sur l'observation macroscopique des colonies directe à l'œil nu ou par une loupe binoculaire. Elle permet de décrire la taille, l'aspect, la couleur, la consistance, le contour, l'opacité, et la forme des colonies.

IV.2 Etude microscopique

Ce test a pour but de déterminer le type de la paroi bactérienne à Gram positif ou Gram négatif après coloration de Gram, il sert à colorer les bactéries Gram négatif en rose et les Gram positif en violet.

IV.3. Identification biochimique

L'identification des souches isolées a porté sur une série de tests biochimiques.

❖ Test TSI

Le test TSI (Triple Sugar Iron) milieu pour la différenciation des entérobactéries basée sur la production de sulfure d'hydrogène et la fermentation du lactose, du saccharose et du D-glucose.

La pente du milieu TSI est ensemencée par stries sinueuses et le culot par piqure centrale, ne pas visser le bouchon complètement, Puis incuber à 37° pendant 24 heures.

❖ Test urée- indole

Le milieu de culture urée-tryptophane, généralement appelé urée indole est utilisé pour l'identification des entérobactéries Ce milieu permet de mettre en évidence les caractères suivants : l'hydrolyse de l'urée par une uréase et la production d'indole par l'hydrolyse du tryptophane par la tryptophanase.

Dans un tube contenant l'urée indole, on rajoute quelques gouttes de la suspension bactérienne, puis incuber à 37° pendant 24 heures.

❖ Test Citrate de Simmons

Le test du citrate détermine la capacité d'une bactérie d'utiliser le citrate comme seule source de carbone. Le milieu le plus utilisé est la gélose citrates de Simmons.

La pente du milieu Citrate de Simmons estensemencée avec une strie longitudinale sur toute la surface. L'incubation est réalisée à 37°C/ 24h.

❖ Test Mannitol mobilité

Le milieu Mannitol mobilité est utilisé pour l'identification des entérobactéries basées sur la fermentation de mannitol, la mobilité et sur la réduction des nitrates en nitrites.

L'ensemencement se fait à l'aide d'une anse de platine par une piqûre centrale. L'incubation est effectuée à 37°C pendant 24h.

❖ Test ONPG

La dégradation du lactose par la bactérie se fait en présence d'une bêta galactosidase perméase et d'une bêta galactosidase.

Cette dernière est mise en évidence au laboratoire par l'hydrolyse du réactif « Orthonitro-phényle- bêtagalactopyranoside » en donnant une coloration jaune intense

Pour ce faire on ensemence une suspension dense des bactéries dans l'eau distillée Ajouté un disque imprégné d'ONPG l'incubation à 37°C/24h.

❖ Test Oxydase

Les bactéries possédant une chaîne respiratoire complète sont dotées d'un cytochrome oxydase. La mise en évidence de cette oxydase est effectuée en présence d'une solution aqueuse à 1 % de chlorhydrate de diméthyl paraphénylène diamine qui forme un complexe violet au contact de cette enzyme.

Avec une pipette pasteur, déposer une colonie parfaitement isolée et l'écraser sur une bandelette d'oxydase pendant une dizaine de seconde.

❖ Recherche de décarboxylase (ADH, LDC, ODC)

Les décarboxylase bactériennes sont des enzymes qui catalysent les réactions de décarboxylation des acides aminés

. Ce test consiste à verser dans des tubes stériles de milieu Muller (3 Tubes des acides aminés et un autre témoin) ,ensemencé les milieux par une colonie et les recouvrir par l'huile de vaseline stérile afin de créer une anaérobiose relative. Mettre à l'étuve 24 heures à 37°C.

❖ **Test catalase**

Cette enzyme catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène H₂O₂, produit toxique du métabolisme aérobie de nombreuses bactéries, en H₂O et ½ O₂. Cette réaction est caractérisée par un dégagement gazeux résultant de la décomposition de l'eau oxygénée. Ce test constitue pour les cocci à Gram + un critère de différenciation entre les staphylocoques (possédant une catalase) et les streptocoques (absence d'une catalase)

Avec une pipette boutonnée, prélever une colonie bactérienne et la déposer dans une goutte d'eau oxygénée préalablement déposée sur une lame propre et dégraissée.

❖ **Test coagulase**

La coagulase est une enzyme capable de faire coaguler le plasma sanguin. La mise en évidence d'une activité coagulase libre chez une souche de *Staphylococcus sp* est un des critères d'identification de *Staphylococcus aureus* en médecine humaine.

Dans un tube à hémolyse stérile, 0,5 ml de plasma oxalaté sont introduit, puis additionnés de 0,5 ml d'une culture de 18 heures en bouillon Cœur Cerveau de la souche à étudier. Le tube est homogénéisé puis incubé à 35°C ou à 37°C pendant 4 à 5 heures.

V. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques

La sensibilité des souches aux antibiotiques a été déterminée par la méthode de diffusion de disque, en milieu gélosé MH (Mueller Hinton) selon les recommandations du L'Européen Committee on antimicrobial Susceptibility Testing 2016 (EUCAST).

Les tableaux suivants montrent les Liste des antibiotiques testés selon les recommandations (EUCAST 2016).

Tableau II : Les antibiotiques testés contre les entérobactéries.

Antibiotique	Abréviation	La charge(µg)	La famille
Ampicilline	AMP	10	β- lactamine
Amoxicilline	AMX	25	
Céfazoline	CZ	30	
Céfotaxime	CTX	30	
Gentamycine	GEN	10	

Kanamycine	K	30	Aminoside
Amykacine	AK	30	
Tobramycine	TOB	10	
Cotrimoxazol	COT	25	Sulfamide
Colistine	CL	25	Polymixine
Chloramphénicol	C	30	Phénicolés
Nitroxoline	NIT	20	Nitrofurane

Tableau III : les antibiotiques testés contre *Pseudomonas aeruginosa* .

Antibiotique	Abréviation	La charge (µg)	La famille
Impinème	IMP	10	β-Lactamine
Céftazidime	CAZ	10	Céphalosporine
Céphazoline	CZ	30	
Amykacine	AK	30	Aminoside
Kanamycine	K	30	
Gentamycine	GEN	10	
Tobramycine	TOB		
Chloramphénicol	C	30	Phénicolés
Colistine	CL	50	Polymyxine
Ciprofloxacine	CIP	5	Fluoroquinolones
Cotrimoxazole	COT	25	Sulfamide

Tableau IV : les antibiotiques testés contre *staphylococcus aureus* .

Antibiotique	Abréviation	La charge(µg)	La famille
Ampicilline	AMP	10	β-lactamine
Pénicilline G	P	10	
Céfazoline	CZ	30	
Oxaciline	OX	5	
Céfotaxime	CTX	30	

Erythromycine	E	15	Macrolide
Spiramycine	SR	100	
Pristinamycine	RP	15	
Amikacine	AK	30	Aminoside
Kanamycine	K	30	
Gentamycine	GEN	10	
Vancomycine	VA	30	Glycopeptides
Clindamycine	CD	2	Lincosamide
Lincomycine	L	2	
Co-trimoxazoline	COT	25	Sulfamide
Rifampycine	RIF	30	+diaminopyrimidine Rifamycine

➤ **Antibiogramme**

❖ **Inoculum**

Pour l'antibiogramme proprement dit, il faut préparer une suspension de l'inoculum en eau physiologique (10ml), sa charge doit être équivalente au 0,5 Mc Farland (108 bactéries /ml) à partir de colonies pures de 24 heures.

❖ **Ensemencement**

L'ensemencement se fait par inondation de la surface entière de la gélose avec 3 – 5 ml de la suspension bactérienne. A l'aide de la pipette Pasteur on effectue une rotation complète en s'assurant d'une bonne répartition de la solution. On rejette le surplus en aspirant à l'aide d'une pipette pasteur munie d'une poire et enfin on sèche les boîtes de pétri à l'étuve à 37° C pendant 15 minutes. Après le séchage, les disques sont déposés sur la gélose à 30 mm l'un de l'autre à l'aide d'un applicateur automatique ou à la pince flambée. Les boîtes sont ensuite laissées à la température ambiante pendant 30 minutes sur la paillasse pour permettre la diffusion de l'antibiotique dans la gélose. On incube les boîtes de Pétri à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures.

❖ **Lecteur**

Après incubation, les boîtes de pétri sont examinées et les diamètre des zones d'inhibition entourant les disques sont mesurés et comparés aux valeurs critiques des différents agents antimicrobiens testés, afin de déterminer la catégorie clinique (résistant, intermédiaire,

sensible). L'interprétation en sensible (S) intermédiaire (I) ou résistante (R) est effectuée selon les critères définis par (EUCAST 2016).

Résultats et discussions

I. Prélèvement des échantillons

Durant la période de stage allant 23 mars -26 mai ,175 prélèvements sont recueillis, dont le taux le plus élevé est représenté par des prélèvements urinaire 56% (98/175), suivi par des prélèvements des pus 22% (38/175), puis le prélèvement d'environnement hospitalier 20% (36/175) et à la fin le prélèvement d'hémoculture 2% (3/175). La figure suivante représente les différents taux des prélèvements

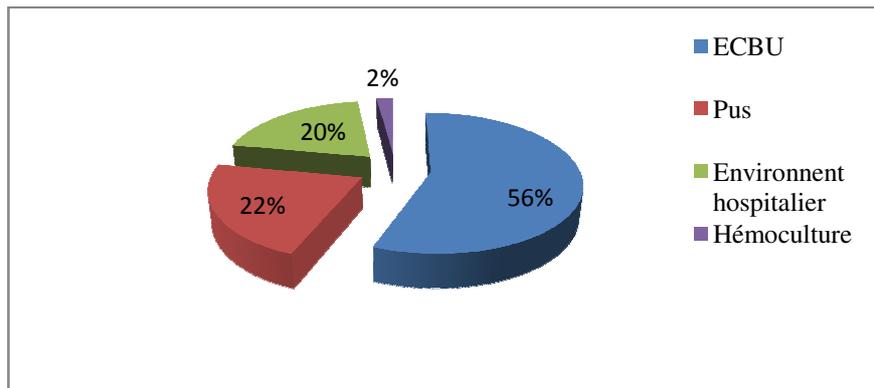


Figure 01 : Répartition des différent taux de prélèvement

II. Identification des souches isolées

En se basant sur les caractères morphologiques, cultureux et biochimiques (figure 02) , 97 souche ont été isolées et identifiées au cours la période d'étude, les bactéries à Gram négatif (BGN) prédominent avec un taux de 67%(65/97), en comparaison avec les cocci à Gram positif (CGP) retrouvé dans 33%(32/96) des cas .

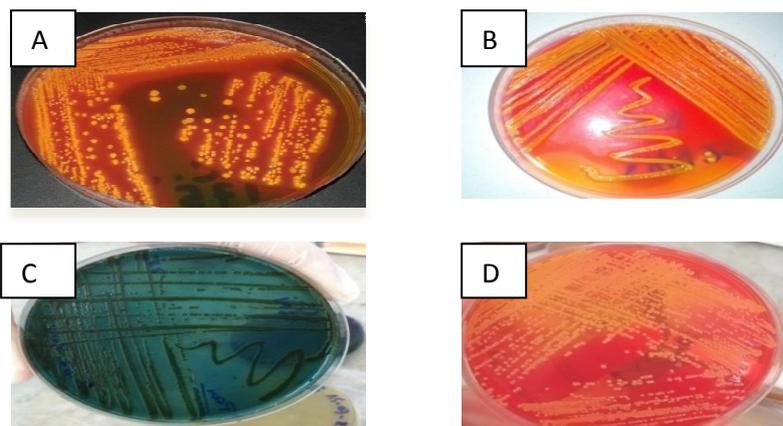


Figure 02 : Aspect des colonies des souches isolées

A : *E.coli* , B : *klebsiella pneumonie*, C : *Pseudomonas aeruginosa* ,D :*Staphylococcus aure*

➤ **Répartition des bactéries à Gram négatif**

Les bactéries Gram négatif représentent 67% de l'ensemble des bactéries isolées avec un prédominance d'*E.coli* avec un taux de 46% (30/65) , suivi des *entérobacter* avec un taux de 20%(13/65), *Pseudomonas aeruginosa* avec un taux de 12(8/65) et *Klebsiella pneumonie* avec un taux de 12% (8/65) suivi de *Proteus* avec un taux de 9% (6/65). La figure 03 représente la répartition des bactéries à Gram négatif.

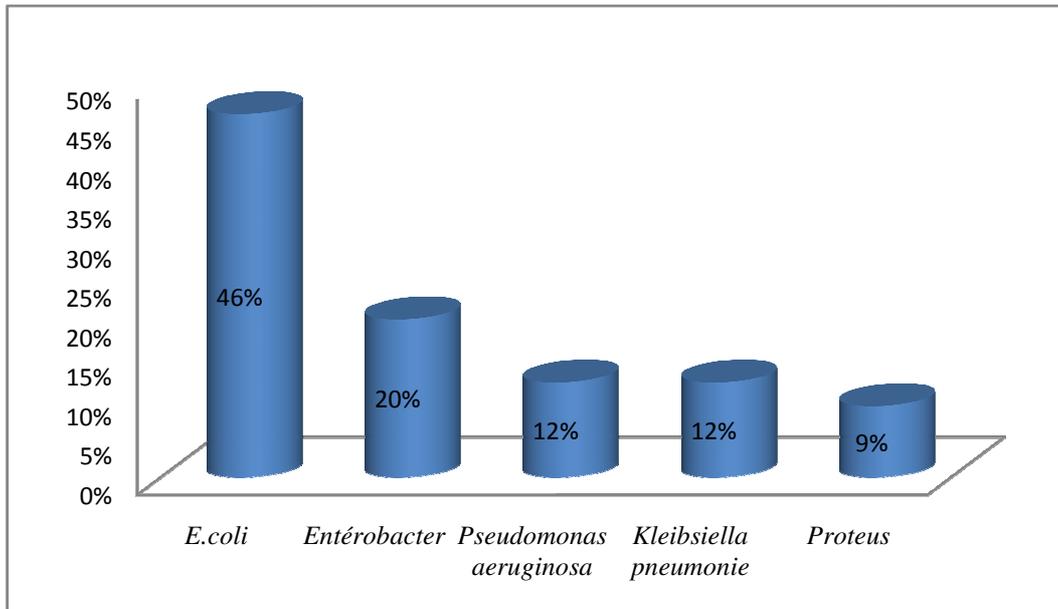


Figure 03 : Répartition des bactéries à Gram négatif.

➤ **Répartition des Bactéries à Gram positif**

Tous les bactéries à Gram positif sont représenté par *Staphylococcus aureus* avec un taux de 100%.

II.I Répartition des souches isolées selon les différents types de prélèvement :

D'après l'ensemble des souches isolées 40%(39/97) ont été isolées dans les urines et 35%(34/97) a partir des pus ,21%(20/97) souche ont été isolé des prélèvements d'environnement hospitalier, 4% (4/97) des souches ont été isolées d'hémoculture.

La figure suivante représente la répartition des souches isolées selon les différents types de Prélèvement.

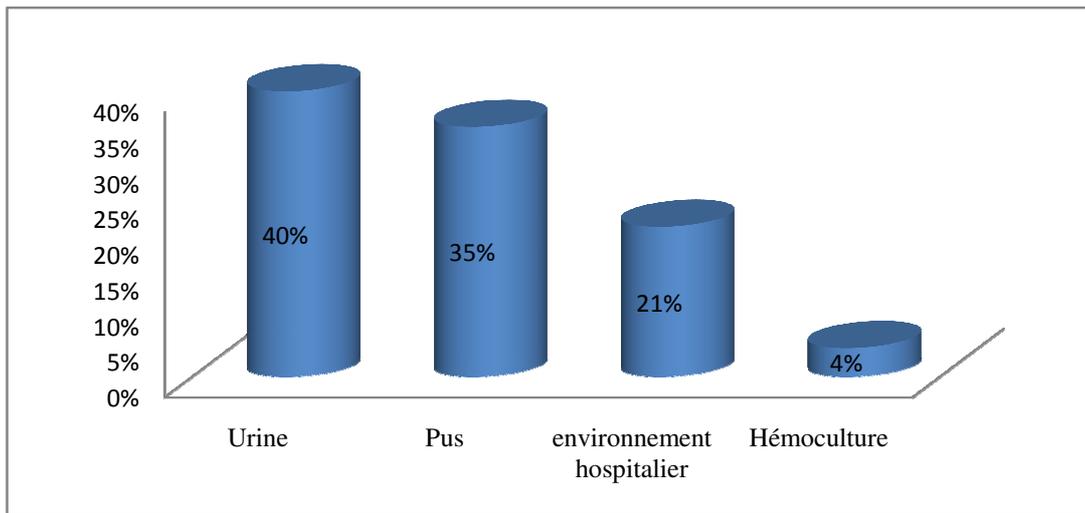


Figure 04: Répartition des souches isolées selon la nature de prélèvement

II.2 Répartition des souches isolées selon le sexe

D'après la figure (05) on note une prédominance des souches chez le sexe féminin avec un taux de 53% (41/77) contre 47% (36/77) chez le sexe masculin.

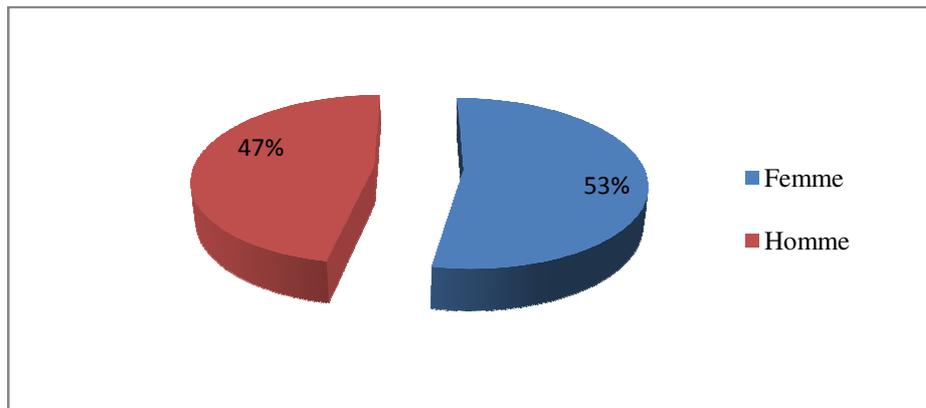


Figure 05: Répartition des souches isolées selon le sexe

II.3 La répartition des souches isolées selon la catégorie d'âge :

La plupart des souches ont été isolés chez la catégorie d'âge >50 ans avec un taux de 44%(34/77), la figure suivante représente la répartition des souches isolées selon la catégorie d'âge.

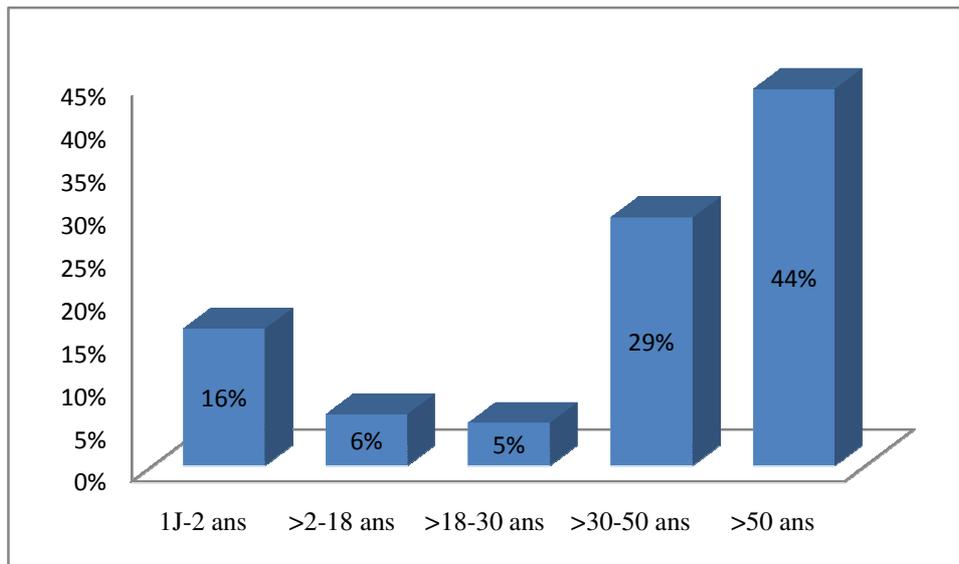


Figure 06 : Répartition des souches isolées selon la catégorie d'âge

II.4 répartition des souches isolées selon les services

Le service de CHH occupe la première place avec un taux de 41%(40/97) suivi de MIF avec un taux de 26%(225/97), la figure(07) représente la répartition des souches selon les services.

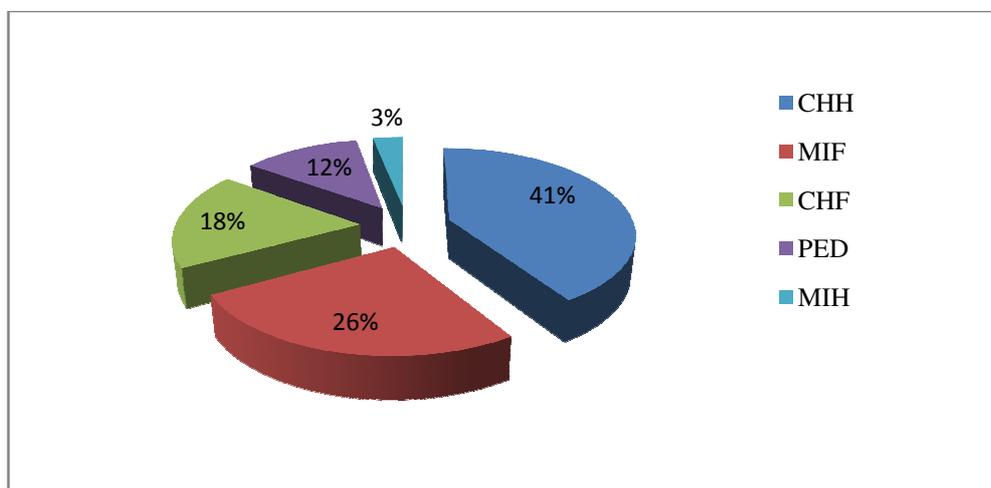


Figure 07 : Répartition des souches isolées selon les services

CHH : chirurgie homme, **MF** : médecine femme, **CHF** : chirurgie femme, **PED** : pédiatrie ; **MH** : médecine homme.

II .5 Répartition des résultats d'examen cyto bactériologie des urines

D'après la figure (08) 40% des d'examen cyto bactériologie des urines sont positif (39/98) et 60%(59/98) sont négatif.

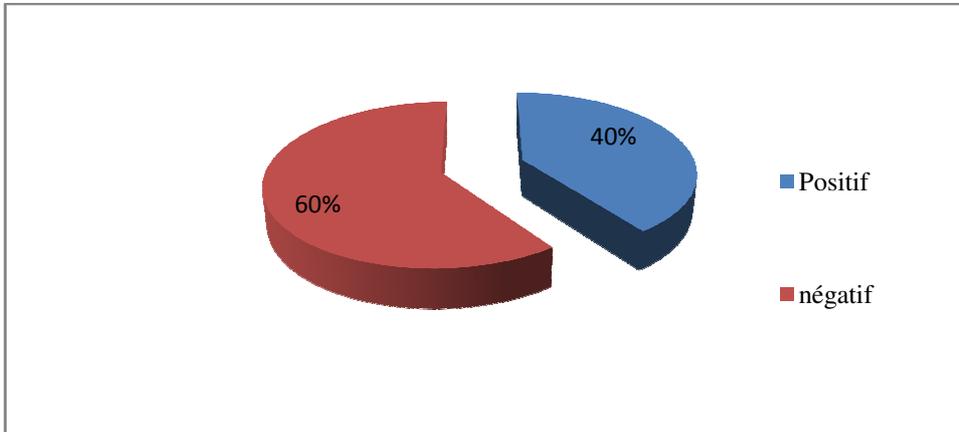


Figure 08 : La répartition des résultats d'examen cyto bactériologie des urines.

➤ Répartition des espèces isolées dans l'examen cyto bactériologie des urines

La répartition des espèces isolées dans l'ECBU montrent une prédominance d'*E.coli* avec un taux de 67% (26/39) suivi de *Staphylococcus aureus* avec un taux de 13%(5/39), la figure (09) représente la répartition.

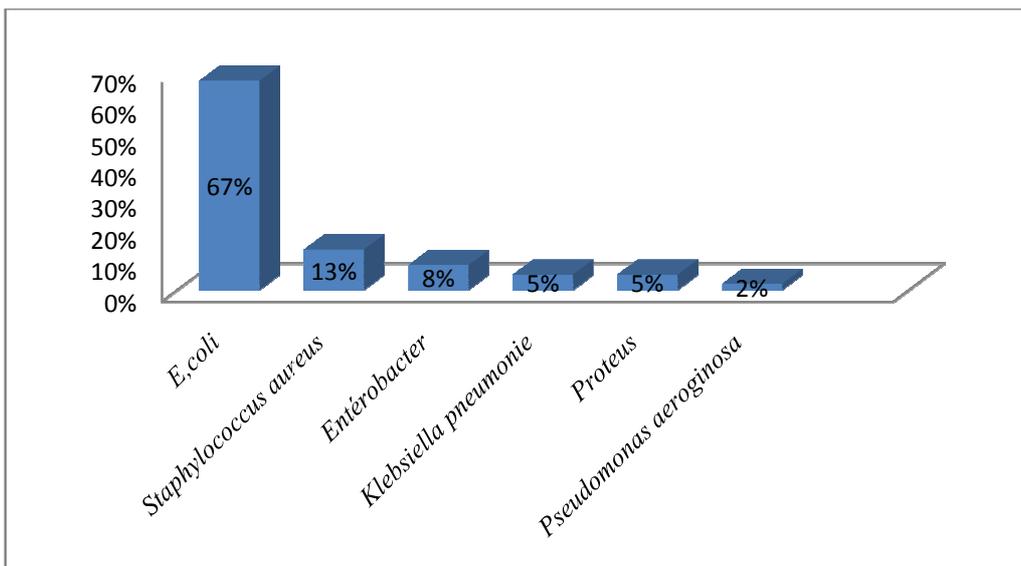


Figure 09 : Répartition des espèces isolées dans l'examen cyto bactériologie des Des urines.

II.6 Répartition des résultats du pus

La figure ci-dessous montre que 89%(34/38) des pus sont positifs contre 11%(4/38) sont négatifs, la figure (10) représente la répartition

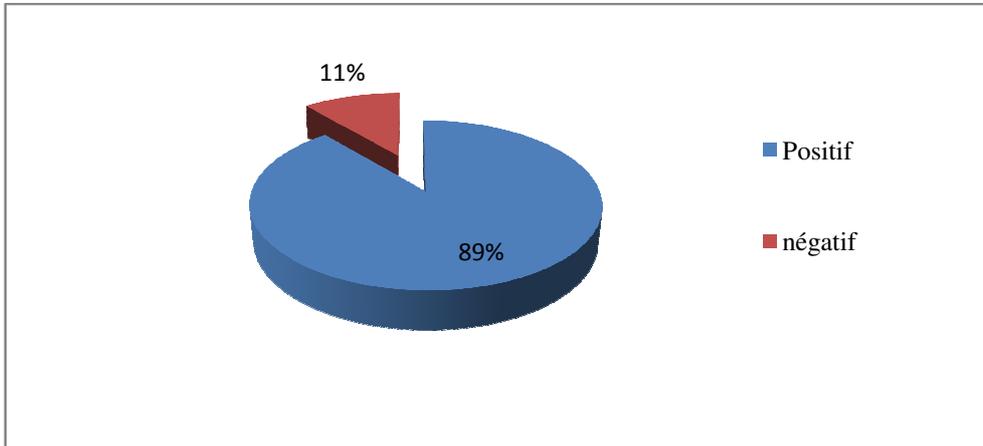


Figure 10: Répartition des résultats des pus

➤ La répartition des souches isolées dans les prélèvements du pus

D'après les résultats positif, *Staphylococcus aureus* occupe la première place avec un taux 50%(17/34) la figure (11) représente la répartition des souches isolées dans les prélèvements des pus.

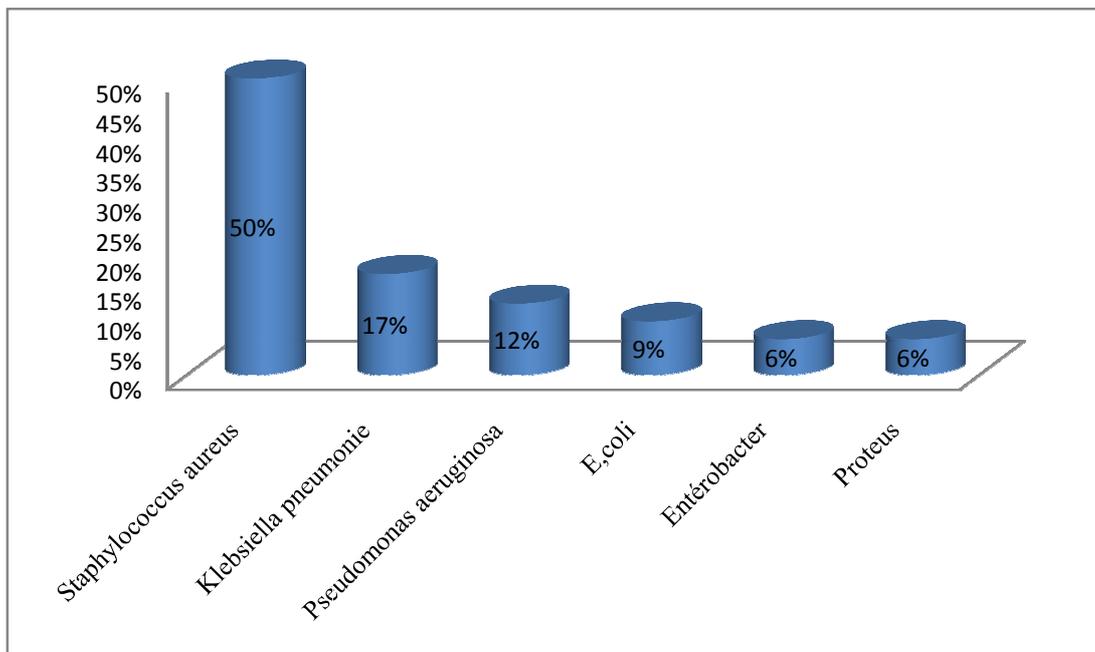


Figure 11 : Répartition des souches isolées dans les prélèvements des pus.

II.7 Répartition des souches isolées dans l'hémoculture

Permis les résultats positif d'hémoculture, *Proteus* prédomine avec un taux de 50% (2/4). La figure 12 montre le résultat obtenue.

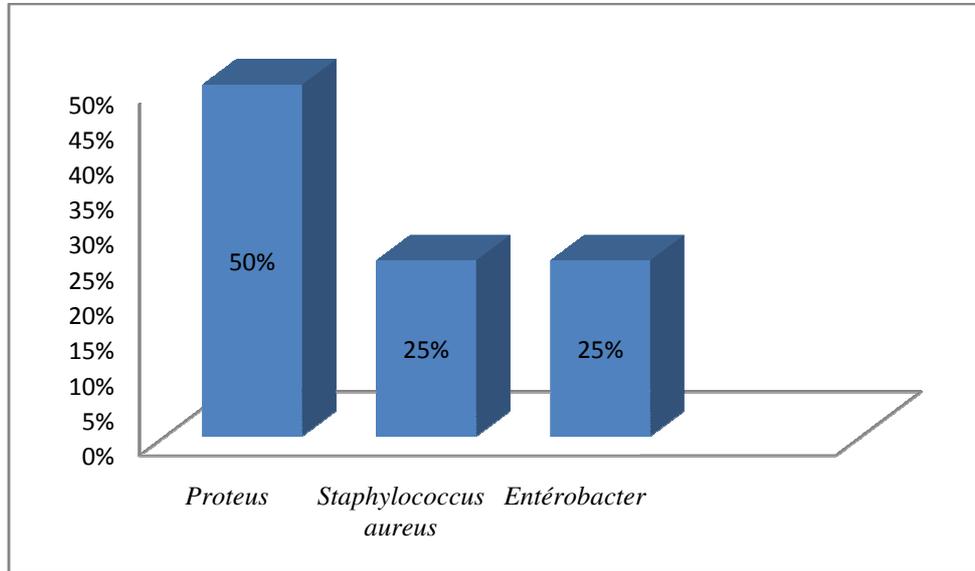


Figure12 : Répartition des souches isolées dans l'hémoculture

II.8 La répartition des résultats des prélèvements d'environnement hospitalier

La figure suivante montre que 56%(20/36) des prélèvements d'environnement hospitalier sont positif contre 44%(16/36), la répartition représenté dans la figure ci- dessous

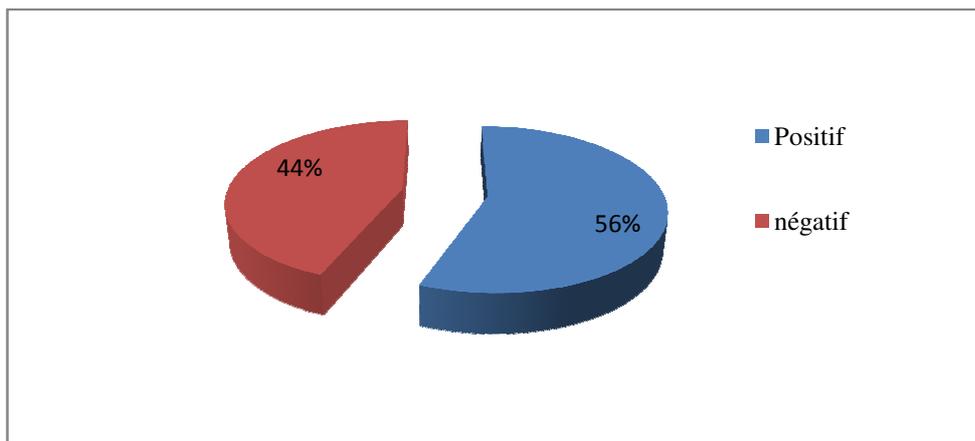


Figure13 : Répartition des résultats de prélèvement de surface

➤ **Répartition des prélèvements positifs d'environnement hospitalier**

Parmi les 36 prélèvements réalisés le taux le plus élevé est observé dans les lits des malades 19% (7/36) suivi par les poignes des ports avec 17% (6/36). La répartition représentée dans le tableau ci-dessous.

Tableau V : Répartition des prélèvements d'environnement hospitalier

Site de prélèvement		Nombre de prélèvement	Les prélèvements positifs	Taux
Surface	Sol	5	3	15%
	Mur	4	2	10%
	Poignes des ports	6	3	15%
Malade	Lits	7	6	30%
	Draps	5	2	10%
	Table	5	4	20%
soignant	Blouse	4	00	00%

➤ **Répartition des souches isolées dans le prélèvement des surfaces**

D'après la figure suivante *Staphylococcus aureus* occupe la première place avec un taux 45% (9/20) suivi des *Entérobacter* qui représente 35% (7/20). La répartition observée dans la figure suivante.

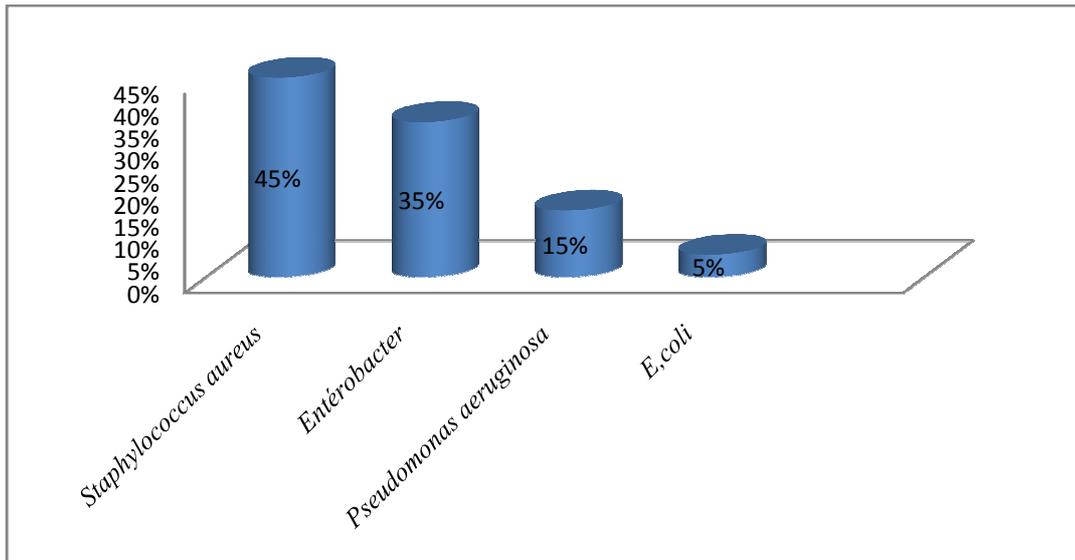


Figure14 : répartition des souches isolées dans les différents prélèvements des surfaces

III .Résistances des souches aux antibiotiques

Selon les résultats des antibiogrammes ,73%(71/97) souches sont retrouvées résistantes dont 32 souches des *entérobactéries*. Les résultats obtenus à partir des antibiogrammes standards et diamètres des zones d'inhibition (mm) obtenus sont montrées dans l'annexe.

III.1 Répartition des souches résistantes par espèces

Staphylococcus aureus est caractérisée par un taux très élevé de résistance 100% suivis par les *Entérobacter* avec 76%,*Pseudomonas aeruginosa* et *klebsilla pneumonie* avec un taux de 62%.les différents taux de résistance aux β -lactamine sont donnés dans le tableau ci-dessous.

Tableau VI : répartition des souches résistances par espèces.

Souche	Souche isolées	Souche résistantes	Taux
<i>E. coli</i>	30	15	50%
<i>S.aureus</i>	32	32	100%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8	5	62%
<i>Klibsiella</i>	8	5	62%
<i>Entérobacter</i>	13	10	76%
<i>Prouteus</i>	6	4	66%

III.2 Répartition des souches résistantes selon la nature de prélèvement

D'après la figure (15) nous constatons que le nombre le plus élevé des souches résistantes représenté dans les prélèvement du pus avec un taux de 42% suivi par les urines avec un taux de 31% et les prélèvement des surfaces avec un taux de 25% suivi par les prélèvement sanguine avec un taux de 1%.

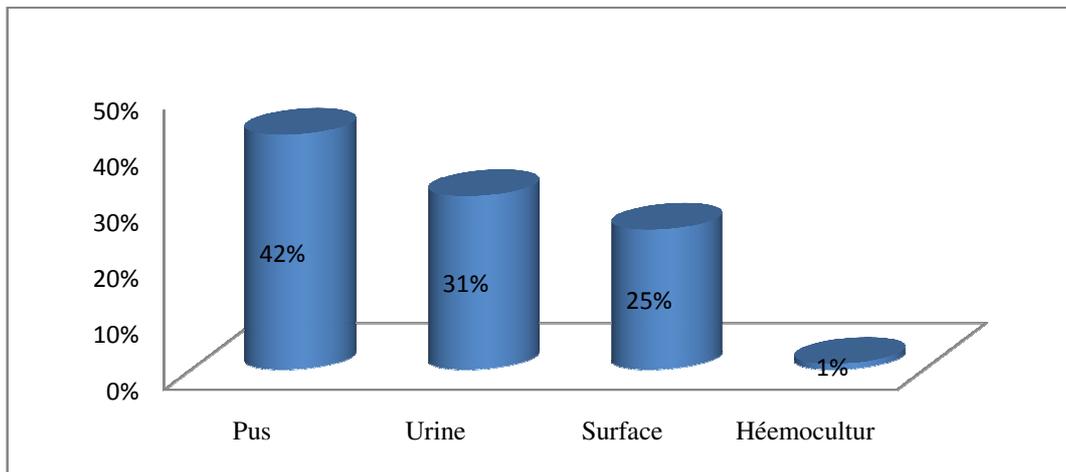


Figure 15 : Répartition des souches résistantes selon la nature de prélèvement

III.3 Répartition des souches résistantes selon le sexe

Nous avons constaté une résistance élevé chez le sexe féminin avec un taux de 56%(30/53) suivi de sexe masculin avec un taux de 44%(23/53). La répartition représentée dans la figure (16).

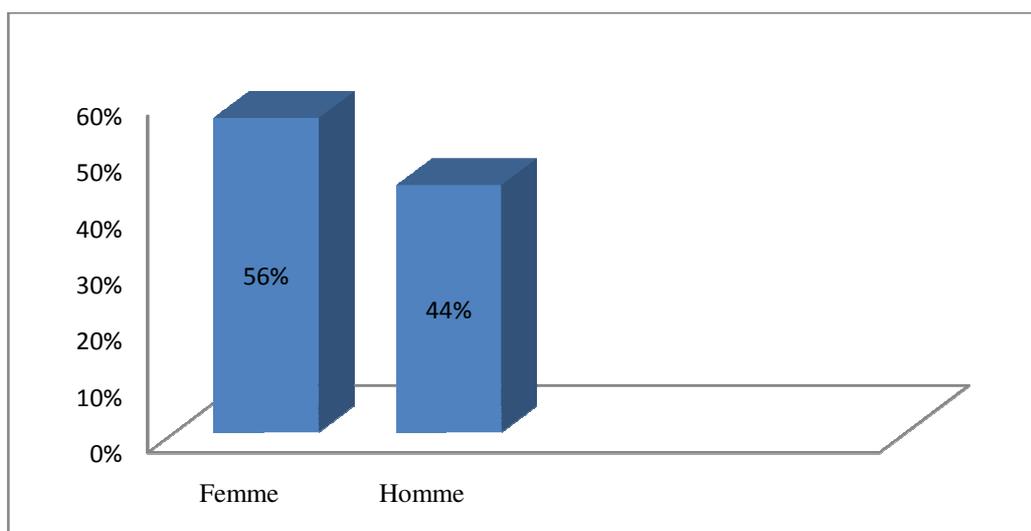


Figure 16: Répartition des souches résistantes par sexe

III.4 Répartition des souches résistant selon la catégorie d'âges

D'après la figure ci-dessous le taux de résistances des souches chez la catégorie d'âges >50 ans est 54% (29/53) suivi par 26% chez la catégorie d'âges 30-50 ans.

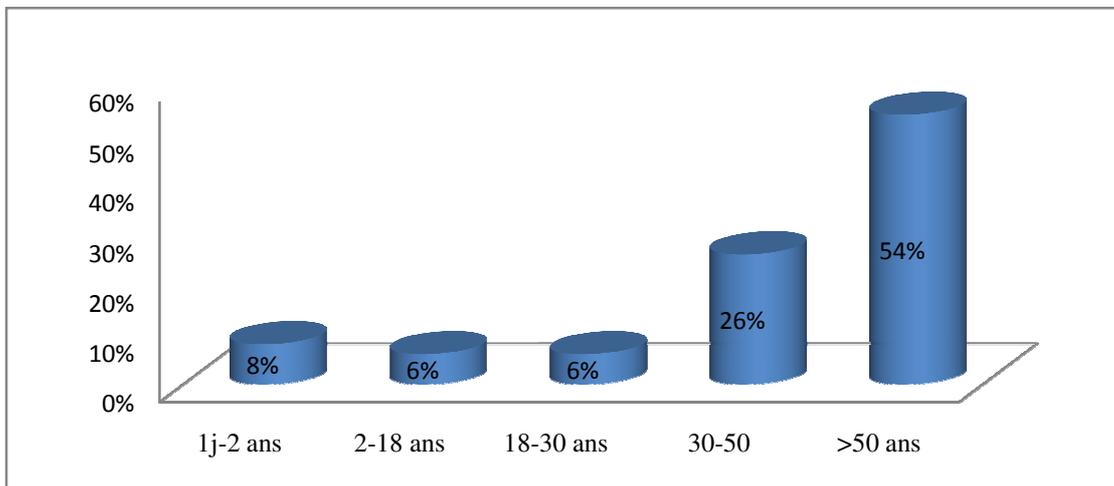


Figure 17 : Répartition des souches résistantes selon la catégorie d'âge

III.5 Répartition des souches résistances selon les services

D'après les souches résistantes 55% (42/71) des souches rencontrées chez la chirurgie Homme suivi par la médecine femme avec un taux de 21%. La répartition représente Dans le tableau ci-dessous.

Tableaux VII : La répartition des souches résistances selon les services

Services	MIF	MIH	CHF	CHH	PED	Totalités
Souches isolés	25	3	17	40	12	97
Souches résistantes	15	2	9	40	6	71
Taux	21%	3%	13%	55%	8%	100%

III.6 Etude de la résistance des Entérobactéries aux antibiotiques :

➤ **La résistance aux β -lactamine :**

D'après la figure (18) le taux de résistance reste élevé allant jusqu'à 100% à la pénicille. La résistance aux céphalosporines de 3 eme génération (C3G) (céfotaxime) est très élevée notamment des surfaces avec 75% de résistance.

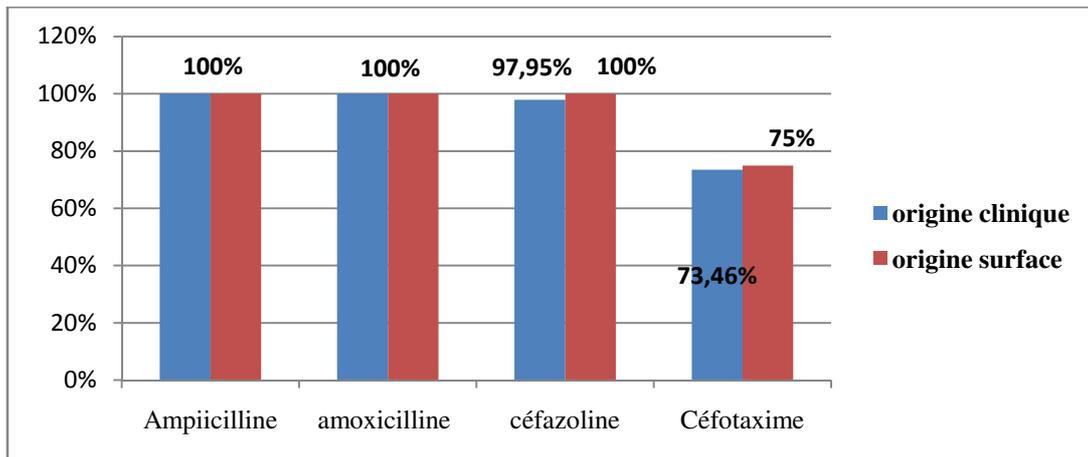


Figure 18 : Taux de résistance des entérobactéries vis-à-vis aux β -lactamine

➤ **.La résistance aux autres familles d'antibiotiques :**

Nous avons constaté des résistances élevées vis-à-vis aux autres familles d'antibiotiques, notamment chez les souches isolées au niveau des surfaces. Les taux de résistance les plus élevées sont observé vis-à-vis des aminosides et co-trimoxazoline (50% ,61%). La répartition représente dans la figure suivante.

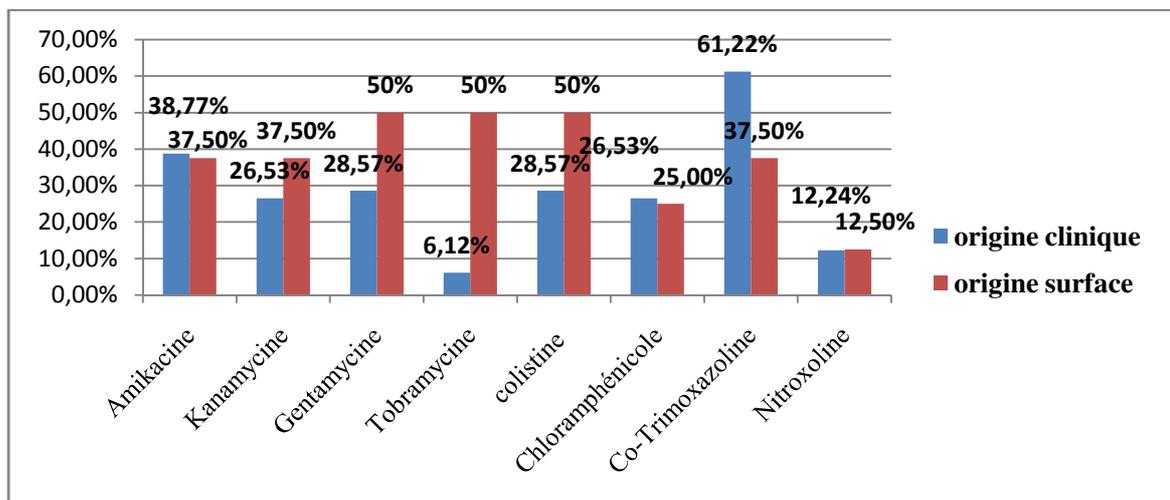


Figure 19 : Taux de résistance des entérobactéries vis-à-vis aux antibiotique

III.7 Etude la résistance de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques :

➤ **La résistance aux β-lactamine**

D’après les résultats nous avons noté un taux de résistance élevé allant jusqu’à 100% pour les pénicillines et céphalosporine.

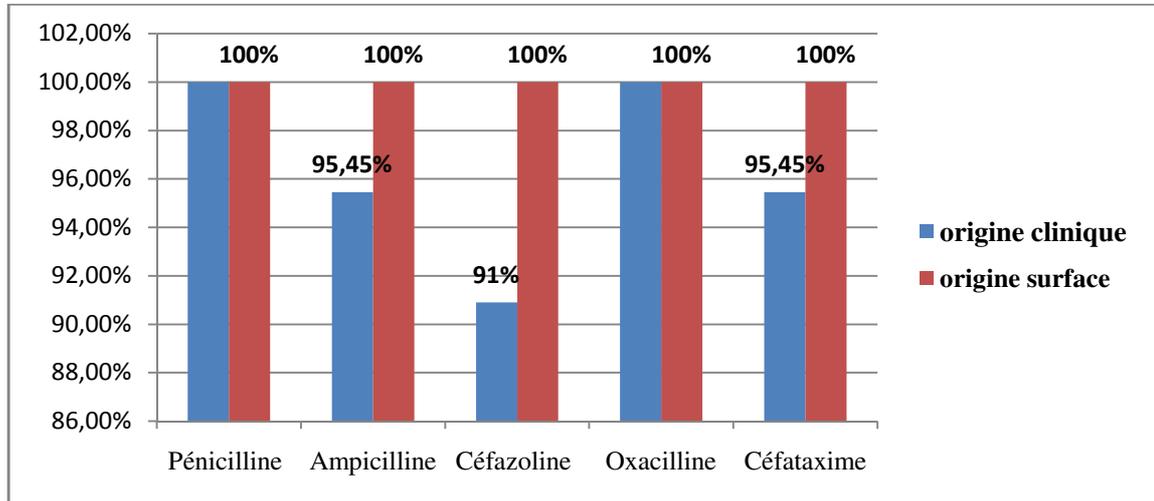


Figure 20 : Taux de résistance des *Staphylococcus aureus* vis-à-vis aux β-lactamine .

➤ **La résistance aux autres familles d’antibiotiques**

La résistance des *S.aureus* aux autres familles d’antibiotique est donnée dans la figure. Nous avons noté une forte résistance aux kanamycine et Gentamycine et Erythromycine avec des taux allant jusqu’à 90% et 100% si une faible résistance à Akamycine et Vancomycine a été observée (9,09%) chez les souches cliniques. Donc la vancomycine et l’akamycine restent des molécules de choix pour le traitement des infections à *S.aureus* résistant aux β-lactamine notamment à l’oxacilline .

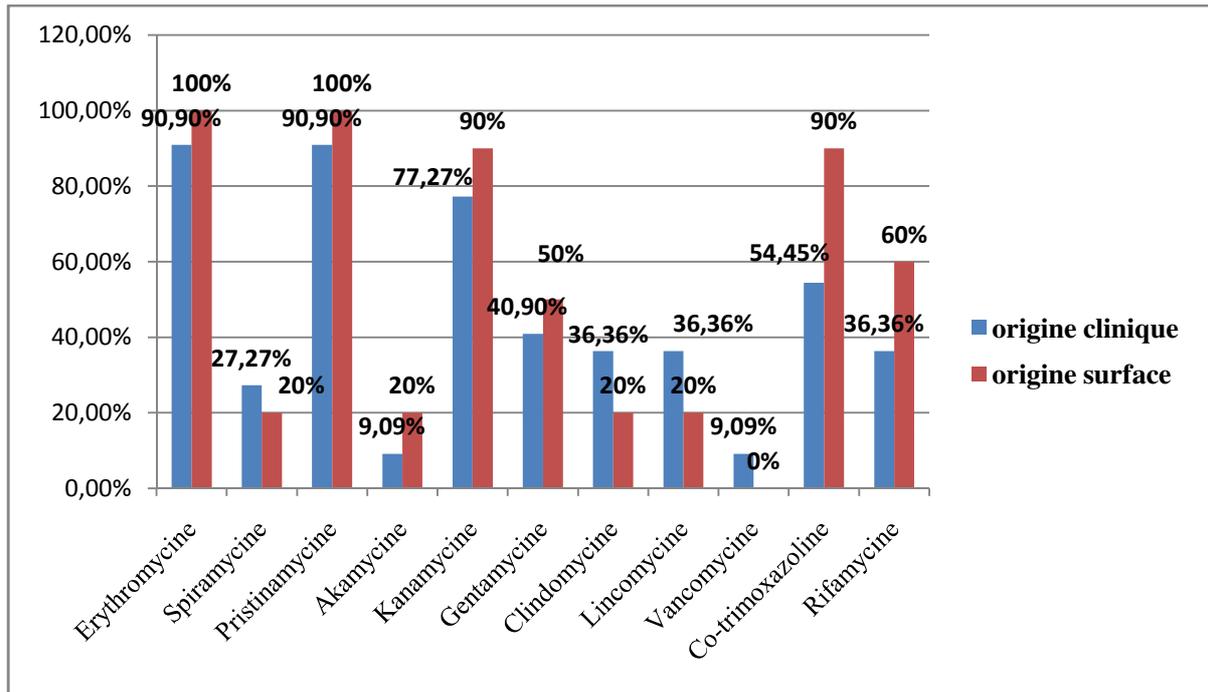


Figure 21 : Taux de résistance de *Staphylococcus aureus* vis-à-vis aux autres antibiotique

III.8 Etude de la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotique :

➤ La résistance aux β -lactamine

D'après la figure(22) nous avons noté un haut niveau de résistance a la céfazoline (résistance naturelles) et une forte résistance au C3G (céftaidime) (60%) chez les souches isolées eu clinique et 66,66% chez les souches isolées en surface .

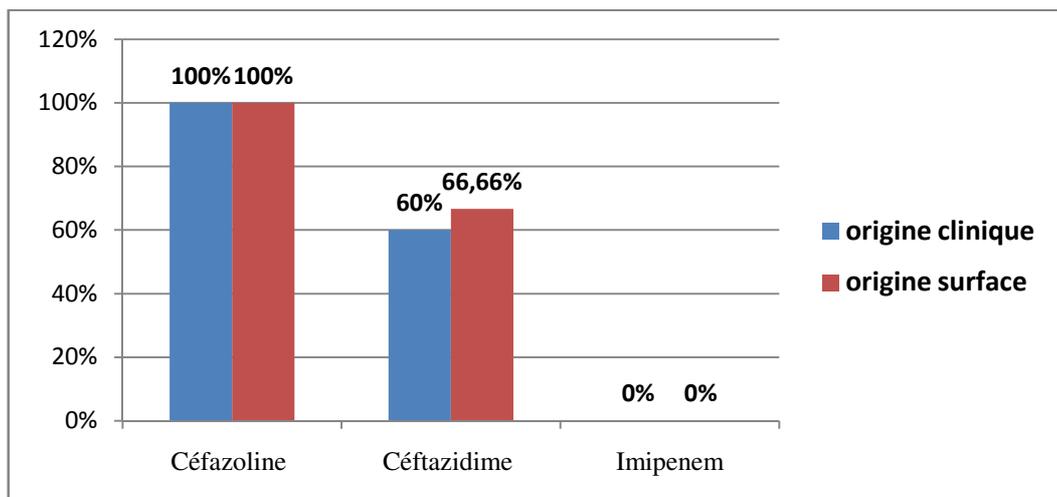


Figure 22 : Taux de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis aux β -lactamine

➤ **La résistance aux autres familles antibiotiques**

La résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux autres familles d'antibiotique est resté élevé allant jusqu'à 66,66% pour la plupart des familles. Notamment pour les souches isolées en surface.

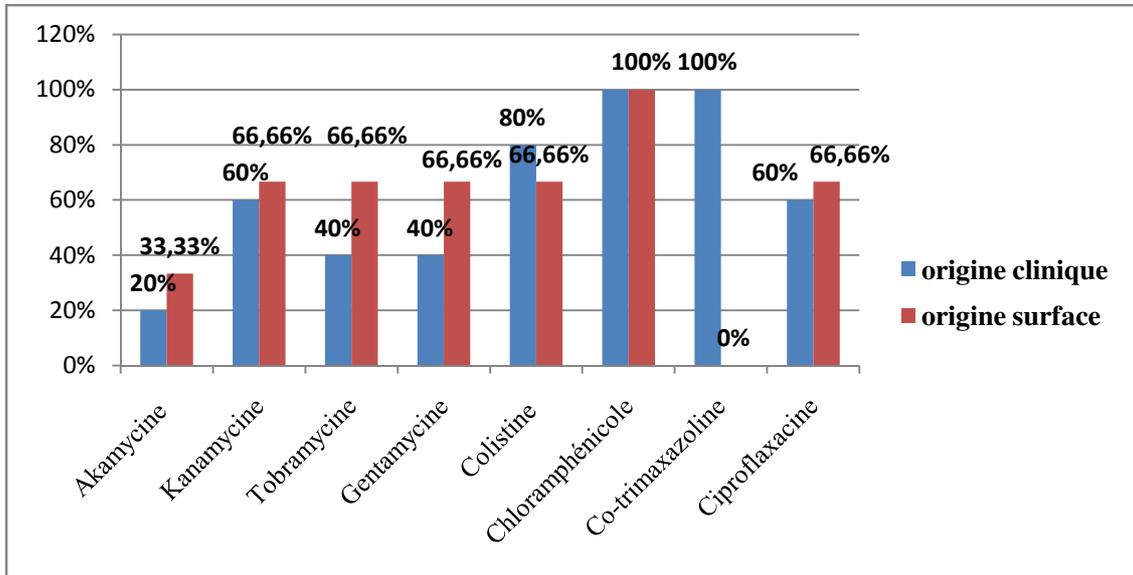


Figure 23 : taux de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis aux autres d'antibiotiques.

Durant notre étude 175 prélèvements sont recueillis provenant de milieu hospitalier, c'est à dire des patients admis ayant séjourné plus de 48h. Donc l'hôpital est une source important des germes responsable des infections nosocomiales.

L'infection urinaire occupe la première place avec 40%, ce résultat et plus proche avec une étude réalisée au niveau de CHU Ibn- Sina en 2010 (**Zeroual ,2012**). Il faut noter que le sondage urinaire augmente considérablement le risque d'infection urinaire nosocomiales, en effet plusieurs études ont affirmé que 50 à 90% des IU sont liées au sondage urinaire. (**Ducel ,2002**).les prélèvement d' hémoculture et du pus est faible par rapport aux prélèvement urinaire même résultat rapportés par Sartor et al 1992 (**Sartor et al., 1992**).

97 souche sont isolées et identifiées, la répartition selon les germe permet de déduire que les bacilles à Gram négatif arrivent très largement en tête avec 67%, dont *E. coli* est l'espèce le plus isolées avec un taux de 31% .Ce résultat est la même qui rapporté par Dembele en 2001(**Dembele ,2001**).Parmi les cocci à Gram positif retrouvés dans 32 des cas , dont 32%de souche de *Staphylococcus aureus* , un taux plus faibles rapporté par Zeroual. (**Samou ,2005**).

Selon la nature de prélèvement 40% des souche sont isolées des urine ,suivi par 35%des souches isolées des pus et 21% des souche isolées dans des prélèvements d'environnement hospitalier, suivi par 4% des souche isolées d'hémoculture .Nos résultat montre une prédominance des souche isolé chez le sexe féminin avec un taux de 53%, ce résultat explique que le risque d'IN est beaucoup plus importants chez la femme que l'homme, même résultat rapporté par Zeroual en 2010.(**Zeroual ,2010**) . Chez la femme, l'urètre est court et mesure moins de 5 cm. De plus le méat urinaire est proche des orifices vaginal et anal, régulièrement colonisés par des bactéries de la flore digestive (**Avril et Carlet ,1998**).

Selon la catégorie d'âge nos résultat montrent que le taux le plus élevé a été trouvé dans la tranche d'âge >50 ans 44%. Plusieurs auteurs comme Beaucaire 1997et Bengaly1993 (Beaucaire,1997 ;Bengaly ,1993) s'accordent à reconnaître que l'âge joue un rôle prépondérant dans l'acquisition d'IN.

Nous avons rapporté 40% ECBU positif, où *E. coli* est le germe le plus fréquemment rencontré avec un taux de 67%, ce résultat est similaire par rapport au résultat trouvé dans une étude réalisé par Ghachie et al 1996 (**Ghachie ,1996**). *E. coli* est un germe endogène

d'origine digestif qui se transmet par la vessie à l'intermédiaire de l'urètre. (**Bagnan Bah, 2004**).

Pour ECB du pus 35% des résultats sont positifs avec une prédominance de *Syaphylococcus aureus* (50%), Nos résultats sont supérieurs au pourcentage rapporté par Elanzi en 2014 qui était de 30%. (**Elanzi, 2014**).

Nous avons constaté que le service de chirurgie homme et la médecine femme sont les services les plus touchés par les infections nosocomiales. Ce résultat explique que l'infection de site opératoire occupe la deuxième classe après les infections urinaires nosocomiales, cette localisation peut être liée à un déficit de l'hygiène hospitalière par une insuffisance au niveau de l'entretien du matériel et l'équipement ou une faute d'asepsie pré, per et/ou post opératoire ; la défaillance du lavage des mains constitue un problème universel. (**Khadhraoui, 1996**).

Dans les prélèvements de l'environnement hospitalier, *Staphylococcus aureus* est l'espèce la plus isolée avec une prévalence de 45%, nos résultats ont été proches de ceux de Otter et al 2011. (**Otter et al., 2011**). Ce résultat explique que l'environnement hospitalier constitue une niche écologique importante de microorganismes multirésistants pouvant être un réservoir à partir duquel différentes infections peuvent se développer. (**Zenati et al., 2016**).

Selon notre étude, le taux le plus élevé des souches résistantes a été observé dans le service CHH et MIF au contraire de ce qui est rapporté **Mkaouar et al en 2008**, dont les unités de soins intensifs aux autres services. Les services d'hémo-oncologie et de pédiatrie. (**Mkaouar et al., 2008**)

L'âge et le sexe sont des facteurs de risque dans l'acquisition de souches multirésistantes d'après nos résultats et selon les catégories d'âge, la résistance est plus élevée chez le sexe féminin. Contrairement à ce qui est rapporté par Romanie, réalisée par Baditiou et al en 2009. sur la détermination des facteurs de risque liés à l'acquisition des souches d'entérobactéries multirésistantes en milieu hospitalier, dont ils ont démontré que chez 100 patients hospitalisés infectés par des souches d'entérobactéries multirésistantes, le nombre de souches isolées chez le sexe masculin est égal à 1,8 (presque 2) fois le nombre isolées chez le sexe féminin (**Baditiou et al., 2009**).

Le point de départ de ce travail consiste à réaliser une enquête épidémiologique, d'évaluer l'incidence et la prévalence des bactéries résistantes aux antibiotiques incriminées dans les infections nosocomiales et propagées dans les surfaces hospitalière. Ces dernières présentaient des taux de contamination légèrement différents les uns des autres, dont les lits et les tables représentent les surfaces les plus contaminées par les bactéries, notamment les entérobactéries et *S. aureus*. Ceci concorde avec les données présentées par plusieurs études (**Mesli, 2014 ; Sefraoui, 2015 ; Zenati et al., 2015**).

Cette large propagation des entérobactéries, *S. aureus* et de *P. aeruginosa* dans les milieux hospitaliers s'accompagne d'une augmentation de la résistance aux antibiotiques. Ce qui fait la gravité des infections nosocomiale et déclare l'état d'alarme dans les hôpitaux. La pression de sélection liée à l'utilisation d'antibiotiques à large spectre et l'existence même dans l'environnement hospitalier d'un support génétique, sont des facteurs importants dans l'évolution de la résistance aux antibiotiques (**Oliveira et al., 2009 ; Saouide el ayne et al., 2014**).

La connaissance de la situation locale et de l'évolution de la résistance aux antibiotiques sont nécessaires pour le choix de l'antibiothérapie de première intention (**El Bakkouri et al., 2009**). Le premier fait marquant de notre étude, est le taux de résistance élevé aux différentes classes d'antibiotiques testées.

Les entérobactéries résistantes aux C3G occupent une place importante dans les infections nosocomiales. Parmi les 34 souches d'entérobactéries résistantes, nous avons noté une résistance élevée aux β -lactamine allant jusqu'à 100% Pour les pénicillines et un taux allant jusqu'à 75% pour la céfotaxime (C3G), soit pour les souches isolées en clinique ou en surfaces hospitalières. Même résultats rapportés par plusieurs études en Algérie (**Bougenoun et al., 2016; Dali, 2015; Touati et al., 2008 ; Touati et al., 2010**).

Dans notre étude, toutes les entérobactéries présentaient un haut niveau de résistance à la plupart des antibiotiques testés, ces résultats ont probablement déjà été rapportés dans plusieurs études dans le monde entier, cliniques ou d'isolats de surface (**Touati et al., 2010; Sahu et al., 2016; Jalapoor, 2011**).

La résistance aux aminosides était modéré qui ne dépasse pas les 38,77% pour l'amikacine, pour la gentamycine; le taux était de 28,75 pour les souches isolées en clinique

et 50% pour les souches isolées en surface, ce résultat n'est pas compatible avec les données rapportées par Bougenoun et al en 2016 (**Bougenoun et al.,2016**). Donc les entérobactéries continuent d'être associées aux infections nosocomiales dans des hôpitaux algériens.

Permis les 32 souche de *Staphylococcus aureus* résistantes, nous avons noté 100% de résistance aux pénicillines et des taux très élevés pour les cephalosporines, notamment les C3G (céfotaxime), ces résultats sont comparable a ceux rapporté par Ghernaout et Benchouk en 2013, en clinique(**Ghernaout,2013**). La résistance aux β -lactamines chez les *Staphylococcus aureus* est engendré par un mécanisme de résistance extrinsèque par production d'enzymes inactivant l'antibiotique et un mécanisme de résistance intrinsèque par modification des protéines de liaison à la pénicilline (PLP) ou par acquisition de nouvelles PLP(PLP2a). Le gène *bla_Z* codant pour les pénicillinases de staphylocoque peut être porté soit par un transposon soit d'origine chromosomique,La résistance à la méticilline (oxacilline), qui entraîne une résistance à Toutes les β -lactamines, est déterminée par la présence d'un gène pour les β -lactamines et en particulier pour la méticilline (**Minardi et Quincampoix .,2001**).

Les taux de résistance des souches de *S.aureus* aux aminoside est élevée allant jusqu'à 77,27% et 90% pour la kanamycine, chez les souches isolées en cliniques et en surface respectivement. Un taux de 50% a été enregistré pour la gentamycine,des résultats similaires ont été rapportés par plusieurs études en Algérie (**Bougenon ,2017; Zeroual,2012; Madji et Mahtout .,2017**).

la résistance de *S.aureus* aux aminoside peut être assurée par 3 mécanisme différents . le premier consiste en mutation au niveau des gènes codant pour des protéines ribosomales, le seconde mécanisme résulte des mutations touchant la perméabilité de l'antibiotique et le troisième est assuré par la production d'enzymes inactivent l'antibiotique (**Minardi et Quincampoix .,2001**).

la résistance de *S. aureus* à la vancomycine est très faible (9,09%) pour les souches isolées en clinique et un taux de 0% pour les souches isolées en surface ,ce résultats est plus loin a celui rapporté par Bougenoun, 2017 qui est de 28% pour les souches isolées en clinique et un taux de 20% pour les souches isolées en surface (**Bougenoun, 2017**). concernant cette résistance , les données récents montrent l'existence de nombreuses

modifications de la paroi bactérienne avec une production accrue de précurseurs de peptidoglycane (**Mainardi et Quincampoix,2001**).

Au cours de l'étude, nous avons isolé 5 souches de *P. aeruginosa*, nous avons noté une résistance allant jusqu'à 66,66% pour la céftazidime, ce taux reste élevé par rapport aux taux de résistance rapportés en Algérie, 16,6% à Annaba (**Touati, 2013**), 38% au CHU d'Oran (cliniques et environnementales) (**Sefraoui, 2015**), et 14.66% par rapport aux taux révélés dans le 15ème rapport du AARN (**AARN., 2014**). Cette résistance liée aux mécanisme enzymatique par hyperproduction des céphalosporine chromosomique de classe A (la superproduction de céphalosporines constitue le mécanisme de résistance a la céftazidine le plus fréquemment retrouvé chez les souches cliniques de *P. aeruginosa* isolées dans divers pays de la Méditerranée (**Garcia-Rodriguez et jones,2002 ;kalai et al.,2004 ;Dubois et al.,2008 ;El-Mahdy,2013**).

Nous avons noté une résistance modéré pour les aminosides, le mécanisme de résistance est du aux modifications enzymatiques, les N-amino-acétyltarnsférasés (AAC 3')I (résistance à la gentamycine) et AAC(6')-Ib (résistance a la tobramycine et l'amikacine) sont les plus répandus chez les isolats clinique de *P.aeruginosa* .(**Strateva et Yordanov,2009**). La résistance aux ciprofloxacine est de 60% et 66,66% (clinique et surface respectivement), le mécanisme de résistance est lié a des changement dans les enzymes ADN gyrase et topoisomérase IV qui représentent les cibles majeur pour les quinolones et l'efflux actif. (**Lee et al, 2005; Nakajima et al.,2002**).

Conclusion

Notre étude est basée sur les examens cliniques et de l'environnement hospitalier. Au total, 97 souches ont été isolées et identifiées dont la prédominance des bacilles à Gram négatif (67%) ou *E. coli* occupe la première place avec un taux de 31%. Suivi par des Cocci à Gram positif (32%) ou *Staphylococcus aureus* prédomine avec un taux de 30%.

Le service de chirurgie homme occupe la première place avec un taux de 41% suivi par médecine femme avec un taux de 26%.

Nous avons également déterminé la sensibilité des souches bactériennes isolées vis à vis aux différents familles d'antibiotique, dont la plupart des souches sont résistantes 73%.

Cette étude a montré que ces infections sont causées majoritairement par des bactéries appartenant à la flore normale de patient, qui présente souvent des profils de résistances aux antibiotiques, ce qui complique la prise en charge de ces infections.

Il en découle que la lutte contre les infections nosocomiales doit être une préoccupation perpétuelle et que la prévention et la surveillance régulière des infections nosocomiales doivent être notre stratégie pour cette lutte. Donc il faut un changement de comportement au niveau de toute les couches socio professionnelles dans la pratique des soins de nos structure sanitaire et mettre en place d'un protocole de bonne pratique d'hygiène pour les différent gestes de soins médicaux et paramédicaux.

Bien que les surfaces microbiologiquement contaminées puissent servir de réservoirs pour les microorganismes potentiellement pathogènes, le transfert de ces microorganismes à partir des surfaces de l'environnement aux patients implique en grande partie le contact des mains avec ces surfaces. Donc l'hygiène des mains est importante pour minimiser l'impact de ce transfert, le nettoyage et la désinfection des surfaces de l'environnement sont indispensables pour la réduction de l'incidence des infections nosocomiales.

En perspective, nos résultats obtenus restent préliminaire méritent d'être compléter par :

- Elargir la période de stage.
- Réaliser d'autre prélèvement aux niveaux des autres hôpitaux de la wilaya de Bouira.
- Il serait intéressant d'établir des protocoles d'investigation des infections nosocomiales, ce qui va permettre d'obtenir des données de laboratoire.
- Faire un feedback de notre résultat au niveau de tout les services et agent de l'établissement afin d'impliquer tout le monde dans la lutte.

Référence bibliographique

A

Abraham D. (2018). Identification des souches d'*Escherichia coli* dans les selles en rapport avec la malnutrition à DIORO .Thèse de doctorat en Pharmacie .BAMAKO : université des sciences, des techniques et des technologies de Bamako. 5P.

Ahamogbe K .A .L. (2014).Résistance bactérienne en cas d'infection de plaies diabétiques : diagnostic et surveillance au laboratoire Rodolphe Mérieux de Bamako .Thèse de doctorat en pharmacie .Université des sciences des techniques et des technologies de Bamako.74P.

Alain R. (2004) .Hygiène et soins infirmier. 205P.

Al Bayssari C., Diene S.M., Loucif L., Gupta S.K., Dabboussi F., Mallat H., Hamze M., Rolain J.M. 2014. Emergence of VIM-2 and IMP-15 carbapenemases and inactivation of oprD gene in carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from Lebanon. *Antimicrob. Agents Chemother.* 58:4966-4970.

Albert B et William J. H., keneth L. H. (1991). *Manual of clinical microbiology* .5ème edition, ASM . 243P.

Alpha A .D. (2013). *Escherichia coli* pathogène et résistantes aux antibiotique dans les effluents d'origine humaine et animales : prévalance et caractérisation avant et après traitement épuratoire. Thèse de doctorat en Microbiologie , Toulouse : Université de Toulouse . 4 P

Astragneau P. (1998).épidémiologique des infection nosocomial .Revprat . 48P.

Aourache S. (2016) .Les infections nosocomiales à *pseudomonas aeruginosa* au service de réanimation A1 (à propos 30 cas). Thèse de doctorat en médecine. Université Sidi Mohammed Ben Abdallah. Maroc .91P.

Avril J et Carlet J. (1998). Les infections nosocomiales et leur prévention. Ellipses édition: Paris France.60P.

B

Baditiou L., Licker M., Popovici E.D., Vaduva D.B., Dragomirescu L., Pivan R., Muntean D., Horhat F. et Moldovan R. (2009). Risk factors involved in multiresistant infections with strains of enterobacteriaceae. *Bacteriology Virusology Parazitology Epidemiology*. 54:31-39.

Bagnan B. T. (2004) aspect épidémiologique et bactériologique des infection urinaire chez les sujet diabétique dans le service de médecine interne au centre hospitalière universitaire Yalgado Ouedraogo (CHU-Y.O). thèse de doctorat en pharmacie. Université d'Ouagadougou. 96P.

Barbut F., Neyme D. (2006). Les difficultés d'interprétation des contrôles microbiologiques environnementaux. *Revue Francophone des Laboratoires*. 382P.

Bassole I. (2012). Profile bactériologique des suppurations post opératoire dans les services de chirurgie digestive et traumatologique. Thèse de doctorat en pharmacie .Université d'Ouagadougou .Bourkinafaso .100P.

Beaucaire G. (1997). Infection .Epidémiologie, critère de diagnostique, prévention et principe de traitement. *Rev prat* ;47 :201-209.

Benabdallah A et Hamlaoui Y. (2016). Etude phénotypique de quelque souche d'*Escherichia coli* productrices de Cabapénèmases .Momoire de master .Science biologique .Constantine : Université de Frères Mentouri . 65p.

Berche P ., Gallard J. L, Simonnet M.(1991) . Les infections nosocomiales d'origine bactérienne et leur prévention. *Bactériologie des infections humaines de la biologie à la clinique*. Paris : Flammarion. Pp 64-71.

Berrezzouk M. (2008). Hémoculture : profil bactériologique et sensibilité au antibiotique a propos de 539 prélèvement collectés au laboratoire de l'hôpital Cheikh zaid a Rabat .Thèse de doctorat en pharmacie .Université de Mohammad V.77P.

Berthélémy S. (2016). L'examen cyto bactériologie des urines .N°556.Elsevier Masson SAS.

Bertrou A., Chapuis C et Hajjar J. (2000). Relations entre contamination et environnement hospitalier. In: *Vigilance Environnementale: Contrôles microbiologiques de l'environnement hospitalier*. Hygiènes. Pp : 142-146.

Bloomfield S. F., Scott E. (1997). Cross-contamination and infection in the domestic environment and the role of chemical disinfectants. *J Appl Microbiol.* 83P.

Birgand G. (2014). .infection de site opératoire : Approche originales du diagnostique et de la prévention. Thèse de doctorat en épidémiologie .Paris : université PIERRE ET MARIE CURIE .10 p.

Brahimi L. (2013). Sensibilité aux antibiotique des entérobactéries isolées d'infection urinaire. Thèse de doctorat en pharmacie .Université de Mohammed V –Souissi . Marrakech. 73P.

Bosi C. (2000).Analyse Bactériologique de l'Environnement Hospitalier. Précis de Bacteriologies Clinique. Ed. ESKA. Paris. Pp: 408-437.

Boughachiche R., Sebais S. (2016).Caractéristique morphologique, biochimique et mutagénèse des *Klebsiella pneumoniae* au CHU de Constantine .Université de Frère Mentouré constantine. 54P.

Bouguenoun W. (2017). Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries incriminées dans les infections nosocomiales et leur dissémination dans l'environnement hospitalier de la région de Guelma. [Thèse].176 p.

Bouguenoun W., Bakour S., Bentorki A.A., Al Bayssari C., Merad T., Rolain J.M. (2016).Molecular epidemiology of environmental and clinical carbapenemase-producing Gram- negative bacilli from hospitals in Guelma, Algeria: multiple genetic lineages and first report of OXA-48 in *Enterobacter cloacae*. *J. Global Antimicrob. Resis.*, 7: 135-140.

Bouguenoun W, Bentorki A.A., Bouguenoun I, Merad T. (2016). Nosocomial infection caused by multidrug resistant Enterobacteriaceae and their spread in inanimate surfaces in East-Algerian hospitals. *Afr. J. Microb. Res.*, 10: 1286-1297.

Bouvet P. J et Crimont P. (1989). *Acinetobacter*. In : Le MINOR L et VERON M, eds. Bactériologie Médicale. Paris : Flammarion .Pp 599-604.

Ƨ

Cécile T. (2012). Aspect clinique des infection cutanées a *Staphylococcus . aureus* sécréteurs de Leucocidine Depanto Valentine à propose de 15 cas .Thèse de doctorat en Médecine .Nancy : université de Lorraine. Nancy39P.

Chanfir A .(2016). Les pneumonopathies nosocomiales en milieu de réanimation à l'Hôpital militaire Avicenne Marrakech .Thèse de doctorat en Médecine. université Cadi Ayyad . Marrakech.92p.

Cholley P. (2010). Analyse génétique des souches multi-résistantes de *Pseudomonas aeruginosa* dans l'est de la France, apport prédictif potentiel sur le risque infectieux .Thèse de doctorat en science de la vie et de la santé. Université de Franche –compte. Besancon .21p.

Ƨ

Dali A.A. (2015). Infections nosocomiales a bactéries multirésistantes (BMR) en réanimation adultes a l'EHUO: Profile épidémiologique, facteurs de risque et facteurs pronostiques. [Thèses]. Université d'Oran 1 Ahmed BENBELLA (Algérie). 197p.

Dancer S. J. (2004).How do we assess hospital cleaning? A proposal for microbiological standards for surface hygiene in hospitals.J Hosp Infect.56P.

Dembele S. (2001) .Les infections nosocomiales à l'hôpital national du point G. Thèse de doctorat en médecines. Université de Bamako. P70

Djennane F., Mohammedi D., Tiouit D., Touati D. et Rahal K. (2009). Examen Cytobactériologique des Urines. Techniques Microbiologiques. Institut Pasteur d'Algérie.76P

Dubois V., Arpin C., Dupart V., Scavelli A., Coulange L., Andre C.,Fischer I., Grobost F., Brochet JP., Lagrange I., Dutilh B., Jullin J., Noury P., Larribet G., Quentin C. (2008).Beta-lactam and aminoglycoside resistance rates and mechanisms among

Pseudomonas aeruginosa in French general practice (community and private healthcare centres). *J. Antimicrob. Chemother.*,62: 316-323

Ducel G. (2002) .Prévention des infection nosocomiales .organisation mondial de la santé, 2^{ème} édition .Fondation Hygie : Genève ,suisse .80P.

Ɖ

Elanzi O. (2014). Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus aureus* isolés au centre hospitalier IBN SINA de Rabat .Thèse de doctorat en médecine .Université de Mohammed V- Souissi. Rabat. 95P.

El Bakkouri J., Belabbes H., Zerouali K., Belaiche A., Messaouidi D., Gros Claude J. D. P., El Mdaghri N. (2009). Résistance aux Antibiotiques d'Escherichia coli Uropathogène Communautaire et Consommation d'Antibiotiques à Casablanca (Maroc). *European Journal of Scientific Research*, 36: 49-55.

El-Mahdy T.S. (2013). The extended-spectrum AmpC genotype of *Pseudomonas aeruginosa* strains from Egypt: an underlying threat to anti-pseudomonal treatment options. *J. Chemother.*, 26: 187-189

Elmeskini K. (2011). Etude épidémiologique des infection à *pseudomonas aeruginosa* . Thèse de doctorat. Pharmacie .RABAT : Université Mohammed V .4p.

Eric P. (2002).Manuels de maladie infectieuse pour l'Afrique. Paris : John Libbey Eurotext.332P.

Ɖ

Fagon J.Y. (1998). Pneumopathies nosocomiales à *Pseudomonas aéruginosa*.

Med Mal Inf. Pp 66-159.

Franche R. (2004). Maladie infectieuses .Paris : Ed. Heure de France .Chapitre 6, les infections nosocomiales. Pp.144-156.

Francois D., Edouard B., Christian M., Maric C et Renald. (2007) .Bactériologie médical : technique usuelles .2 end édition .Elsevier Masson .274P.

Frédéric et al. (2008). Les difficultés d'interprétation de l'examen cyto bactériologique des urines. Elsevier Masson SAS .N° 406.Pp 51-59.

G

Garcia-Rodriguez J.A., Jones R.N. (2002).Antimicrobial resistance in Gram-negative isolates from European intensive care units: data from the Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection (MYSTIC) programme. J. Chemother., 14: 25-32.

Ghernout S. (2013). Prévalence du portage nasal de *Staphylococcus aureus* : son rôle dans l'infection de site opératoire .Thèse de doctorat en science médicale .Tlemcen : université Aboubeker Belkaid. 15- 68 Pp.

Ghachie J., Astragneau P., Ranger B. Gayet S et al. (1996). Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales .Rapport .161P.

Granier F et Denis F.(2007). Hémoculture. In: Denis F., Ploy M.C., Martin C., Bingen E. et Quentin R . Bactériologie médicale: Techniques usuelles. Ed Elsevier Masson . Paris.Pp107-115.

H

Haeggman S., Lofdahl S., Burman L.G. (1997). An allelic variant of the chromosomal gene for class a beta-lactamase k2, specific for klebsiella pneumoniae, is the ancestor of shv-1. Antimicrobial Agents and Chemotherapy.Pp 2705-2709.

Hamza R. (2003) .L'infection hospitalière : épidémiologie, surveillance et prévention. Édité par le Ministère de la santé publique, Direction de l'hygiène du milieu et de la protection de l'environnement. P128.

Hota B. (2004).Contamination, Disinfection, and Cross-Colonization: Are Hospital Surfaces Reservoirs for Nosocomial Infection? Clin Infect Dis. Pp : 1182-1189.

Hygis N .(1998). Hygiènes Hospitalière. Lyon : presses universitaire de Lyon. Pp 68-70.

J

Jalalpoor S. 2011. Study of the antibiotic resistance pattern among the bacterial isolated from the hospital environment of Azzahra Hospital, Isfahan, Iran. African J. Microbiol. Res., 5: 3317-3320

Jean Paul G. (2002). « Entre biologiste militaire et industriel : l'introduction de la pénicilline en France à la libération » la revue pour l'histoire. 7P.

K

Kalai S., Jouaihia W., Mahjoubi F., Ghozzi R., Thabet L., Ben R.S., Hammami A., Kechrid A., Ben Hassen A. (2004). Pseudomonas aeruginosa: a multicentric study of antibiotic resistance (1999-2000). Tunis Med., 82: 1070-1074.

Khadhraoui M. (1996).Surveillance des infections nosocomiales. Enquête de prévalence pour passages répétés : CHU. Sahloul (1992-1995) Sousse, Tunisie. Thèse de Médecine. Sousse : Faculté de Médecine. 77 p.

khayar Y. (2011). Comportement des entérobactéries isole des urines vis-à-vis de l'Amoxiciline –Acide clavulanique l'imipeneme et l'ertapeneme. Thèse de doctorat. Pharmacie .Université Mohammed V. Rabat .Pp 10-15 .

.Kone komba D. (2010) .Fréquence d'isolement des *Klebsiella* au laboratoire de bactériologie Duchu Gabriel Toure de 2002 a 2007.Thèse de doctorat en Pharmacie . Université de Bamako . Mali. 21 p.

L

Lee J.K., Lee Y.S., Park Y.K., Kim B.S. (2005). Alterations in the GyrA and GyrB subunits of topoisomerase II and the ParC and ParE subunits of topoisomerase IV in ciprofloxacin- clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa. Int. J. Antimicrob. Agents, 25: 290-295

Le Heurt M., Gomila H., Guirot S. et Rafaoni M. J. (1995).Hygiène. In. Nouveau Cahier de l'Infirmière. Ed. Masson. Paris. 158P

Le minor C ., Richard C. (1993). Méthode de laboratoire pour l'identification des entérobactéries. Institut Pasteur, Frans

.Leulmi Z. (2015). Les proteus incriminé dans les infection communautaire et hospitalière :étude moléculaire de la résistance au antibiotique Thèse de doctorat .Université des Frère Mentouri Constantine .148P.

Lucet J. C., Astragneau P. (1998).Transmission des infections nosocomiales. Principe et prévention. In: Infection nosocomiales et environnement hospitalier. Ed. Flammarion. Paris. Pp : 7-10.



Madji F et Mahtout S. (2017). Isolement et caractéristique des bactéries multi-résistantes impliqués dans les infections nosocomials au niveau de L'EPH de sidi aich .Mémoire Master. université A.Mira Bejaia.40p.

Mariam S.K. (2010).Bilan de sept (7) ans d'hémoculture en milieu hospitalier pédiatrique de Bamako .Université de Bamak., faculté de médecine, pharmacie et d'odonto-stomatologie .20P.

Maryem L. (2016).les infection nosocomial en réanimation pédiatrique .Thèse de doctorat en médecine .Université de Kaddy Ayyad .Faculté de médecine et de pharmacie .Marrakech .117P

Mereghetti L. (1998).Surveillance et contrôle de l'environnement hospitalier. In. Hygiène Hospitalière . Ed . Presses universitaires de Lyon. Lyon .Pp: 337-346.

Mesli E. (2014). Etude multicentrique de la résistance aux antibiotiques chez Acinetobacter baumannii. [Thèse]. Université Aboubekr Belkaid-Tlemcen (Algérie). 94p

Minardi J.C et Quincampoix J.L. (2001).Mécanisme de résistance des cocci a gram positif .service de microbiologie clinique ,hôpital européen Georges-Pompidou Paris, France .Edition scientifique et médicale. *Elsevier SAS*. Réanimation ;10 :267-75 .

Mkaouar D., Mahjoubi F., Mezghani S., Znazen A., Ktari S et Hammami A. (2008).

Étude de la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de troisième génération dans les hôpitaux de Sfax, Tunisie (1999–2005). *Médecine et maladies infectieuses*; 38: 293-298.

Monnet T. (2011) *Les infections nosocomiales : L'importance d'un suivi épidémiologique et de l'identification rapide des bactéries en cause* . Thèse de doctorat en Pharmacie .Grenoble :Université Joseph Fourier. 21p.

Montalegre R. (2016) *évaluation du risque d'émergence de résistances de pseudomonas aeruginosa à différents antibiotiques antityrocyaniques en réanimation*. Thèse médecine .Université de Toulouse III .86P.

Moselio S., Gerald M et Barry E. (1993). *Microbiologie et pathologie infectieuse* .2ème édition .285P.

Mulvey M., Simor R. (2009). Antimicrobial resistance in hospitals: How concerned should we be? *CMAJ* 180(4): Pp 408-415.



Nakajima A., Sugimoto Y., Yoneyama H. et Nakae T. 2002. High-level fluoroquinolone resistance in *Pseudomonas aeruginosa* due to interplay of the MexAB-OprM efflux pump and the DNA gyrase mutation. *Microbiol. Immunol.*,46: 391-395.

Neely A. N., Maley M. P. (2000). Survival of enterococci and staphylococci on hospital fabric and plastic. *J Clin Microbiol.* Pp: 724-726.



Oliveira D.C., Tomasz A., de Lencastre H. (2002). Secrets of success of a human pathogen: molecular evolution of pandemic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet Infect. Dis.*; 3:180-189.

Otter J. A., Yezli S., French G.L. (2011). The role played by contaminated surfaces in the transmission of nosocomial pathogens. *Infection Control and Hospital Epidemiology*.32 (7): 687-699 Pp.

Ouhibi B. (2015). Epidémiologie des infection nosocomial en milieu de réanimation. .thèse de doctorat en médecine . Université de Cadi Ayyad .Jerrada.50P.

P

Paule L (2001). *Pneumonie*. Paris : John Libbey Eurotext . 37 P.

Paul G., Robert C et al. (1998).antibiotic .use in the int .car unit .Int.Care, clin .28P.

Poole K. (2004).Efflux-mediated multiresistance in Gram-négative bacteria. Clin Microbiol Infect.126 Pp.

Poly C., Denis F (2002) .L'érysipèle : donné microbiologique et pathologique. Pp296-305.

R

Rutala W. A., Weber D. J. (1999).Infection control: the role of disinfection and sterilization. J Hosp Infect. Pp : 43-55.

Roland Y. (2016) .Profil antibiotypique des bactéries responsables d'infection urinaire communautaires. Thèse de doctorat en pharmacie .Université de BAMAKO,Mali .97P.

S

Sahu M.K., Siddharth B., Choudhury A., Vishnubhatla S., Singh S.P., Menon R., Kapoor P.M., Talwar S., Choudhary S., Airan B.(2016). Incidence, microbiological profile of nosocomial infections, and their antibiotic resistance patterns in a high volume Cardiac Surgical Intensive Care Unit. Ann. Card. Anaesth., 19: 281-287.

Samou F. S. (2005) . Les infections nosocomiales dans le service de chirurgie «B» de l'hôpital de point G .thèse de doctorat en Médecine. Université de Mali .Pp :33-57.

Sartor C et al. (1992). Enquête de prévalence sur les infections nosocomiales à l'assistance publique de Marseille en 1992, Mèd Mal infet1995 : Pp 16-121.

Saouide el ayne N., Echchelh A., Chaouch A., Auajjar N., Hamama S., Soulaymani A.

(2014). Rôle de l'environnement hospitalier dans la prévention des infections nosocomiales: surveillance de la flore des surfaces a l'hôpital el Idrissi de Kenitra – Maroc. European Scientific J., 10 : 238-247.

Sédallian A. (1988). Les méthodes de transport des prélèvements pathologiques pour la mise en évidence des anaérobies. Rev. Fr. Lab. Pp: 734-744.

Sefraoui I. (2015). Etude de la résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* au niveau de différents hôpitaux de l'ouest algérien. [Thèse]. Université Abou Baker Belkaied-Tlemcen (Algérie). 78p.

Sheretrez R.J ., et Basseti B .(2001). «cloud» health –care workers .Emerge infect .Pp: 241-244.

Slaninova J. (2016). Pertinence de l'ECBU aux urgences adulte du CHU de Nantes .Thèse de doctotat en médecine .Université de Nantes, Paris.40p.

Strateva T., Yordanov D. (2009). *Pseudomonas aeruginosa*.a phenomenon of bacterial resistance.J. Med. Microbiol.,58: 1133-1148.



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

Traig D ., Touati Y. (2017) .Etude Bactériologique des infection urinaire chez l'enfant et le nourisson au laboratoire de microbiologie CHU –Tlemcen .Université Abou Beker Belkaid , Tlemcen .81P.

Touati A., Brasme L., Benallaoua S., Gharout A., Madoux J., De C.C. (2008).First report of qnrB-producing *Enterobacter cloacae* and qnrA-producing *Acinetobacter baumannii* recovered from Algerian hospitals. Diagn.Microbiol. Infect. Dis., 60:287–290.

Touati A, Zenati K, Brasme L, Benallaoua S, De Champs C. (2010). Extended-spectrum beta-lactamase characterisation and heavy metal resistance of Enterobacteriaceae strains isolated from hospital environmental surfaces. *J. Hosp. Infect.* 75:78-79

Touati M. 2013. Antibio-résistance des bacilles à Gram négatif non fermentants isolés au niveau des services de réanimation - CHU Annaba. [Thèse]. Université Badji Mokhtar-Annaba (Algérie). 137p.

Y

Yernault J ., .Demedts M. (1993).Infection respiratoire en médecine générale .Louvain : Garant, 100P.

Yernault J ., M.Demedts.(1997).Infection respiratoire pour le spécialiste .Louvain : Garant . 115P.

Yves L ., Michel G . (2009). *Staphylococcus aureus* .Paris : Lavoisier . Pp :1-61.

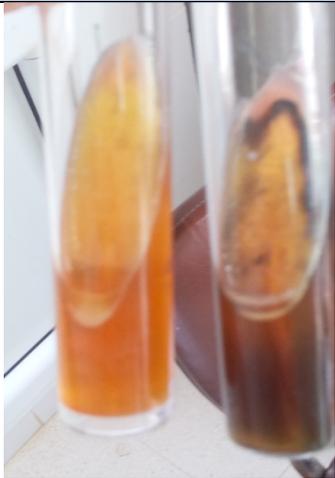
Z

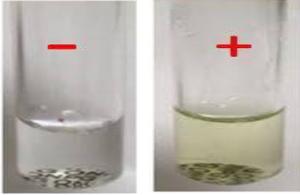
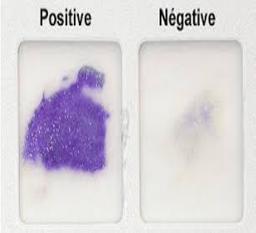
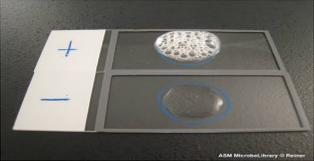
Zenati K., Touati A., Bakeur S., Sahli F.,Rolain J.M.(2016). Characterisation of NDM-1and OXA-23-producing *Acinetobacter baumannii*isolates from inanimate surface in a hospital environnement in Algeria. *Journal of hospital Infection* .Pp :19-26.

Zeroual Z. (2012). Profil épidémiologique et Bactériologique des infections nosocomiales .Thèse de doctorat en Pharmacie : Université de Mohammed V. 52P.

ANNEXE I

la lecture des résultat des test biochimique (Le Minor et richard ., 1993)

Les tests	Lecture	Figure
TSI	<p>Lactose + ; Saccharose+</p> <p>Glucose+ : virage de culot au jaune.</p> <p>production de Gaz+ : apparition des bulles ou des poches gazeuses qui décalent la gélose de fond de tube.</p> <p>Production d'H₂S : Noircissement du milieu .</p>	
Urée-indole	<p>Uréase+ : Virage du milieu au rouge/ rose.</p> <p>Indole+ : Apparition d'un anneau rouge en surface après l'ajout de quelques gouttes de réactif de kovacs</p>	
Citrate de simmons	<p>Citrate + : virage de milieu au bleu et une culture de colonie sur la pente.</p>	
Mannitol mobilité	<p>Mannitol+ : Coloration jaune du milieu.</p> <p>Mobilité+ : apparition de la diffusion des bactéries dans la gélose de part est d'autre de la piqûre centrale</p>	

<p>ONPG</p>	<p>ONPG+ : apparition de couleur jaune qui signifie que la bactérie a hydrolysé l'ONPG en ONP.</p>	
<p>Oxydase</p>	<p>Oxydase + : l'apparition d'une coloration violette</p>	
<p>Recherche de décarboxylase : LDS , ODS , ADH</p>	<p>LDS+, ODS+, ADH+ : près l'acidification du milieu, la présence de décarboxylase induit à la ré-alcalinisation du milieu donc le milieu revient à sa couleur initiale.</p>	
<p>Catalase</p>	<p>Catalase+: dégagement gazeux abondant sous forme de mousse</p>	
<p>Coagulase</p>	<p>Coagulase+: la formation d'un coagulum</p>	

ANNEXE II

Résultat des tests biochimiques

Souche	Citrate	Urée	Indole	ONPG	Gaz	LAC	H ₂ S	ADH	LDC	Catalase	Oxydase
<i>E. coli</i>	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-
<i>Proteus</i>	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-

ANNEXE III

Composition des milieux de culture

Solution	Composition
Urée-indole	<ul style="list-style-type: none"> • Tryptophane 3g/L • Urée 20g/l • KH₂PO₄ 1g/l • K₂HPO₄ 1g/l • Na Cl 5g/l • Alcool à 95° 10 mL • Rouge de phénol 2,5 mL
Violet de Gentiane	<ul style="list-style-type: none"> • Violet de Gentiane 10 g • Phénol 20 g • Éthanol (90 °GL) 100 ml • Eau distillée 1 l
	<ul style="list-style-type: none"> • Iodure de potassium 2 g • Iode métalloïde I₂ 1 g

Lugol	<ul style="list-style-type: none"> Eau q.s. ad 100 g <p>q.s. ad 100 g signifie "quantité suffisante pour obtenir 100 g de solution"</p>
Fuchsine	<ul style="list-style-type: none"> Fuchsine basique 10 g Phénol 50 g Éthanol 100 mL Eau distillée 1 L
Milieux de culture solides	Composition
TSI	<ul style="list-style-type: none"> Peptones de caséine 15 g/l Peptones de viande 5 g/l Extraits de viande 3 g/l Peptones de levure 3 g/l NaCl 5 g/l Lactose 10 g/l Saccharose 10 g/l Glucose 1 g/l Citrate ammoniacal de Fer (III) 0,5 g/l Thiosulfate de sodium 0,5 g/l Rouge de phénol 0,024 g/l Agar 12 g/l
Mueller Hinton	<ul style="list-style-type: none"> fusion de viande de bœuf 300,0 g/l Hydrolysate de caséine 17,5 g/l Amidon 1,5 g/l Agar 17,0 g/l Eau distillée (qsp) 1L
	<ul style="list-style-type: none"> Protéoseptone 12g

<p>Gélose Hektoen</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Extrait de levure 3g • Chlorure de sodium 5g • Thiosulfate de sodium 9g • Citrate de fer III et d'ammonium 1,5g • Salicine 2g • Lactose 12g • Saccharose 12g • Fuschine acide 0,1g • Bleu de bromothymol 0,065g • Agar 14g • Eau distillée (qsp) 1000mL
<p>Chapmen</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Peptone 11.0 g/l • Extrait de viande 1,0 g/l • Chlorure de sodium 75 g/l • Mannitol 10,0 g/l • Rouge de phénol 0,025 g/l • Agar 15,0 g/l • PH 7,4
<p>Gélose nutritives</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Extrait de viande 1,0 g/l • Extra de levure 2,0 g/l • Peptone 5,0 g/l

	<ul style="list-style-type: none"> • Chlorure de sodium 5,0 g/l • Agar 15,0 g/l • PH = 7
<p style="text-align: center;">Citrate de Simmons</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Sulfate de Mg 0,2 g/l • Phosphate monoammoniaqué 1g/l • Phosphate bipotassique 1g/l • Citrate de sodium 2g/l • Na Cl 5g/l • Bleu de bromothymol 0,08g/l • Agar 15g/l • pH 6,8

24	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S
25	R	R	R	R	S	R	S	S	S	R	R	S
26	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S
27	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S
28	R	R	R	S	R	S	S	S	R	S	R	S
29	R	R	R	R	S	R	S	S	R	R	R	S

Les diamètres de résistance des *Entérobacter* aux β -lactamine et des autre familles des antibiotiques dans les prélèvements clinique.

E/ ATB	AMP	AMX	CZ	CTX	AK	K	GN	TOB	CL	C	COT	NIT
01	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	R	R
02	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S
03	R	R	R	S	S	R	R	S	R	S	R	S
04	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	R	S
05	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	R	S
06	R	R	R	S	R	S	S	S	R	R	R	S

Les diamètres de résistance de *Proteus* aux β -lactamine et des autres familles des antibiotiques dans les prélèvements cliniques

E/ATB	AMP	AMX	CZ	CTX	AK	K	GN	TOB	CL	C	COT	NIT
01	R	R	R	R	S	S	R	R	R	S	R	R
02	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	R	S
03	R	R	R	S	S	S	S	S	R	R	S	S
04	R	R	R	R	S	S	R	S	R	S	S	S
05	R	R	R	R	R	S	S	S	R	S	R	R
06	R	R	R	R	R	S	R	S	R	S	R	S

Les diamètres de résistance de *Klebsilla pneumoniae* aux β -lactamine et des autres familles d'antibiotiques

E/ ATB	AM P	AMX	CZ	CTX	AK	K	GN	TOB	CL	C	COT	NIT
01	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S
02	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S	R	S
03	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S
04	R	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S
05	R	R	R	S	R	R	R	S	S	R	R	S
06	R	R	R	S	R	R	R	S	S	R	R	S
07	R	R	R	R	R	S	R	S	R	S	R	S
08	R	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	S

Les diamètres de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux β -lactamine et des autres familles des antibiotiques

E/ ATB	CAZ	CZ	IPM	AK	K	GN	TOB	CL	C	COT	C IP
01	S	R	S	S	S	R	S	R	S	R	R
02	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	S
03	S	R	S	R	R	S	S	R	S	R	S
04	R	R	S	S	R	S	R	S	R	R	R
05	R	R	S	S	R	S	S	R	R	R	R

Les diamètres de résistance de *Staphylococcus aureus* aux β -lactamine et des autres

Familles des antibiotiques

E/ ATB	AMP	P	CZ	OX	CTX	E	SR
01	R	R	R	R	R	R	R
02	R	R	R	R	R	R	S
03	R	R	R	R	R	S	S
04	R	R	R	R	R	R	S
05	R	R	R	R	R	R	R
06	R	R	R	R	R	R	R
07	R	R	R	R	R	R	S
08	R	R	R	R	R	R	S
09	R	R	R	R	R	R	R
10	R	R	R	R	S	R	R
11	R	R	S	R	R	R	S
12	R	R	R	R	R	R	S
13	R	R	R	R	R	R	S
14	R	R	R	R	R	R	S
15	R	R	R	R	R	R	S
16	R	R	R	R	R	R	S
17	R	R	R	R	R	R	S
18	R	R	R	R	R	R	S
19	R	R	S	R	R	R	S
20	R	R	R	R	R	R	S
21	R	R	R	R	R	S	R
22	S	R	R	R	R	R	S

	RP	AK	K	GEN	VA	CD	L	COT	RIF
01	R	S	S	S	R	R	R	S	R
02	R	S	R	R	S	S	S	S	S
03	S	S	S	S	S	R	R	S	S
04	R	S	R	S	S	S	R	R	R
05	R	S	R	S	S	R	R	R	R
06	R	S	R	S	S	S	R	R	R
07	R	S	R	R	S	S	R	S	R
08	R	R	R	R	S	S	S	R	S
09	R	S	R	S	S	R	R	S	R
101	R	S	S	S	R	R	R	S	S
11	R	S	R	S	S	R	S	S	R
12	R	S	R	S	S	R	S	S	S
13	R	S	R	R	S	S	S	R	S
14	R	S	R	R	S	S	S	R	S
15	R	S	R	R	S	S	S	R	S
16	R	S	R	S	S	S	S	R	S
17	R	R	R	R	S	S	S	R	S
18	R	S	R	S	S	S	S	R	R
19	R	S	R	S	S	S	S	R	S
20	R	S	R	R	S	R	S	R	S
21	S	S	S	R	S	S	S	S	S
22	R	S	S	S	S	S	S	S	S

Diamètre critique de résistance des *Staphylococcus aureus* aux β -lactamines et des autres familles des antibiotiques

E/ ATB	A M P	P	CZ	OX	CTX	E	AK	K	GN	CD	SR	RP	VA	L	COT	RIF
PLv 1	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	S	R	R	R
	R	R	S	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	R	R	S

Diamètre critique de résistance de *pseudomonas aeruginosa* aux β -lactamines et des autres familles des antibiotiques

E/ATB	CAZ	CZ	IMP	AK	K	GN	TOB	CL	C	COT	CIP
PLv	R	R	S	S	S	R	R	R	R	S	R
PLv	S	R	S	S	R	S	S	R	R	S	R
PLv	R	R	S	R	R	R	R	S	R	S	S

Valeur critiques des diamètres (mm) des zones d'inhibition pour les entérobactéries

Antibiotique	La charge	Résistant ®	Sensible (S)
Ampicilline	10	<13	≥17
Amoxicilline	25	<14	≥18
Céfazoline	30	<19	≥23
Céfotaxine	30	<22	≥26
Gentamycine	10	<14	≥17
Kanamycine	30	<13	≥18
Amykacine	30	<15	≥18
Tombramycine	10	<14	≥17
Cotrimoxazol	25	<17	≥23
Colistine	25	<11	≥11
Chloramphénicol	30	<12	≥18
Nitroxoline	20	<14	≥18

Valeur critiques des diamètres (mm) des zone d'inhibition pour les *Pseudomonas aeruginosa*

Antibiotique	La charge	Résistant	Sensible
Imipénème	10	<15	≧ 19
Céftazidim	10	<16	≧ 17
Céphazoline	30	<19	≧ 24
Amykacine	30	<15	≧ 23

Kanamycine	30	<13	$\cong 18$
Gentamycine	10	<17	$\cong 23$
Tobramycine		<19	$\cong 25$
Chloramphénicol	30	<12	$\cong 18$
Colistine	50	<11	$\cong 15$
Cotrimoxazole	25	<20	$\cong 26$
Ciprofloxacine	10	<25	$\cong 30$

Valeur critiques des diamètres (mm) des zones d'inhibition pour *Staphylococcus aureus*

Antibiotique	La charge	Résistant	Sensible
Ampicilline	10	<28	≥ 29
Pénicilline G	10	<28	≥ 29
Céfazoline	30	<14	≥ 15
Oxaciline	5	<27	≥ 36
Céfotaxime	30	<14	≥ 23
Erythromycine	15	<13	≥ 23
Spiramycine	100	<15	≥ 18
Pristinamycine	15	<18	≥ 21
Amikacine	30	<16	≥ 18
Kanamycine	30	<13	≥ 18
Gentamycine	10	<19	≥ 27
Vancomycine	30	<17	≥ 17
Clindamycine	2	<19	≥ 22
Lincomycine	2	<15	≥ 23
Co-trimoxazoline	25	<14	≥ 17
Rifampycine	30	<23	≥ 26

Annexe : Instrument et appareillage

Pots stériles pour les prélèvements, Sachets collecteurs, Glacière, Gants stérile, Pincés métalliques, Bec Bunsen, Boîtes de Pétri, Ecouvillons, Pipettes Pasteur, Anses de platine, Etuves, Bains marie, Lames et lamelles, Microscope optique, Distributeurs des disques d'antibiotiques et réfrigérateur pour la conservation des réactifs.

Réactif

. Violet de gentiane, Lugol, Alcool, Fuschine basique, Bleu de méthylène, Ancre de chine, Huile à immersion, Eau oxygénée, Eau distillée, Eau physiologique, Disques d'antibiotiques-citrate de simmons-TSI-, Kovacs-Mannitlo mobilité-uréeIndol-Huil d'himersion.

Résumé

Dans notre étude nous avons réalisé une étude sur les patients hospitalisés de l'hôpital de Lakhdaria ainsi que des prélèvements de surface. Nous avons recueilli 175 prélèvements où les prélèvements urinaire sont majoritaire avec 56%. 97 souche ont été isolées et identifiées, les BGN prédominant avec 67% contrairement au CGP avec 33%, chirurgie homme et médecine femme occupe la première place avec 41% et 26% des isolats (clinique et surface respectivement). 20 souches ont été isolées et identifiées à partir des prélèvements d'environnement hospitalier où *Staphylococcus aureus* est l'espèce la plus isolée avec un taux de 45%. L'étude de la sensibilité des souches aux antibiotiques a sélectionné 71 souches résistantes . 34 souches sont des *entérobactéries* ,32 souches sont des *Staphylococcus aureus*, 5 souches sont des *Pseudomonas aeruginosa*.

Mot clés : Infection nosocomiale, Environnement hospitalier, Résistance bacterienne.

Abstract

In our study we carried out a study on hospitalized patients at Lakhdaria Hospital and surface samples. We collected 175 samples where urinary samples are the majority with 56%. 97 strains were isolated and identified, BGN predominate with 67% unlike CGP with 33%, male surgery and female medicine occupies the first place with 41% and 26% of isolates (clinical and surface respectively). 20 strains have been isolated and identified from hospital environment samples where *Staphylococcus aureus* is the most isolated species with a rate of 45%. The study of the susceptibility of strains to antibiotics selected 71 resistant strains. 34 strains are *enterobacteriaceae*. 32 strains are *Staphylococcus aureus*, 5 strains are *Pseudomonas aeruginosa*

Key words: nosocomial infection, Hospital environment, Bacterial resistance.

ملخص

في دراسة أجريناها حول مرضى مستشفى الاخضرية وكذلك عينات سطحية .جمعنا 175 عينة حيث العينات البولية هي الغالبة بنسبة 56 % . 97 سلالة قمنا بعزلها والتعرف عليها , حيث العصيات السالبة هي السائدة بنسبة 67% على عكس المكورات الموجبة بنسبة 33%,مصلحة جراحة الرجال والطب النسائي يحتل المركز الأول بنسبة 41% و 26% من العينات المعزولة (السريرية والسطحية . 20 سلالة عزلناها وتحديدها من عينات محيط المستشفى أين المكورات العنقودية الذهبية هي النوع الأكثر عزلة مع معدل 45%. دراسة حساسية السلالات للمضادات الحيوية أختيرت 71 سلالة مقاومة . 34 سلالة من المعويات و 32 سلالة من المكورات العنقودية الذهبية,5 سلالات من الزائفة الزنجارية.

الكلمات المفتاحية: عدوى المستشفيات , بيئة المستشفى , البكتيريا المقاومة.