



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Microbiologie

قسم : مكر وبيولوجيا.

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Écologie microbienne.

Intitulé :

---

**Isolement et caractérisation de quelques bactéries responsables d'infections nosocomiales à l'hôpital militaire de Constantine.  
Étude rétrospective de 16 mois.**

---

Présenté et soutenu par : AIDI ZINEB

Le : 19/06/2017

Jury d'évaluation :

**Président du jury :** Mme. BOUBEKRI Karima (Maitre de conférences A -UFM Constantine).

**Rapporteur :** Mme. GUERGOURI Ibtissem (Maitre assistante A - UFM Constantine).

**Co-encadreur:** Dr. GHIT Oualid (Maitre assistant B - hôpital militaire Constantine).

**Examineur :** Mme. OULMI Lamia (Maitre de conférences B-UFM Constantine).

*Année universitaire  
2016 - 2017*

# *REMERCIEMENT*

*MERCI À DIEUX LE TOUT PUISSANT, QUI M'A DONNÉ LE COURAGE POUR RÉALISER  
CE MODEST TRAVAIL.*

*JE VEUX EXPRIMER MES REMERCIEMENTS LES PLUS SINCÈRES À MON ENCADREUR  
MADAME GUERGOURI IBTISSEM MAITRE ASSISTANTE A - UFM CONSTANTINE.*

*JE VOUDRAIS ÉGALEMENT REMERCIER LES MEMBRES JURY POUR AVOIR ACCEPTÉ  
D'ÉVALUER CE TRAVAIL ET POUR TOUTES LEURS REMARQUES ET CRITIQUES.*

*JE REMERCIE AUSSI MON CO-ENCADREUR DOCTEUR GUID OUALID, MÉDECIN  
MICROBIOLOGISTE À L'HÔPITAL MILITAIRE.*

*À MR KHMISISALIM, CHEF D'UNITÉ DE LABORATOIRE DE BACTÉRIOLOGIE ET SON  
ÉQUIPE SURTOUT AMIRA, TOUFIK, ROKAYÁ, LAMIA ET TOUTE L'ÉQUIPE DU  
LABORATOIRE DE L'HÔPITAL MILITAIRE DE CONSTANTINE.*

*POUR LEUR GÉNÉROSITÉ ET LA GRANDE PATIENCE DONT ILS ONT SU FAIRE  
PREUVE MALGRÉ LEURS CHARGES PROFESSIONNELLES.*

## *DÉDICACES*

*Je dédie fruits de ce modeste travail à :*

*Primo à mes parents : ma chère mère et mon cher père qui m'ont beaucoup soutenu et m'encourager jusqu'à bout, et que Dieu les accorde une longue vie.*

*Mes sœurs : Rania et Hanin qui ont toujours cru à ma réussite.*

*Mes frères : Oussama et Islam.*

*Je dédie spécialement à mon oncle : Kamel*

*A mon mari CHAMS EDDINE et sa famille.*

*Mes amies : Cherifa ; Besma, Youssera, Bouchra.....*

*Je n'oublie pas de dédier à ma très chère Souad et je la souhaite une belle vie.*

*Tous mes camarades surtout : Chaima, Iman, Roumaissa, Amina, Chahinez,  
Rokaya, Maissa, Oumnia.*

*A toute ma famille.*

*Enfin, je le dédie à ma promotion, à tous mes proches et amies qui m'ont toujours soutenues et encouragées au cours de la réalisation de ce mémoire.*

*Merci à toutes et à tous.*

## Liste des tableaux

Numéro de tableau	Titre	page
<b>Tableau 1</b>	-Origine des infectieux nosocomiales	2
<b>Tableau 2</b>	-Le taux et le siège habituel de l'infection de différentes espèces.	4
<b>Tableau 3</b>	-Les infections nosocomiales fongiques et leurs localisations.	6
<b>Tableau 4</b>	- Les différents milieux utilisés pour l'isolement.	17
<b>Tableau 5</b>	-Lliste des antibiotiques à testés.	22
<b>Tableau 6</b>	-profil de résistance de <i>Staphylocoques</i> .	29
<b>Tableau 7</b>	- Profil de résistance de <i>l'Acinetobacter sp.</i>	29
<b>Tableau 8</b>	- Profil de résistance du <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	30
<b>Tableau 9</b>	-Profil de résistance de <i>l'Escherichia coli</i> .	31
<b>Tableau 10</b>	-Profil de résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> .	32

## Liste des figures

Numéro de figure	Titre	page
<b>Figure 1</b>	-Fréquences des différents types d'infections nosocomiales en USA et Europe.	7
<b>Figure 2</b>	-Les infections d'origine endogène.	10
<b>Figure 3</b>	-Aspect de colonies de <i>Staphylococcus aureus</i> sur milieu Chapman.	23
<b>Figure 4</b>	-Aspect de colonies de <i>Staphylococcus épidermidis</i> sur milieu Chapman.	23
<b>Figure 5</b>	- Aspect de Gram positive des Staphylocoques.	23
<b>Figure 6</b>	- Résultat positif du test coagulase.	24
<b>Figure 7</b>	- Résultat négatif du test coagulase.	24
<b>Figure 8</b>	- Présence de catalase chez les cocci à Gram positif.	24
<b>Figure 9</b>	-Répartition des <i>Staphylococcus aureus et Staphylococcus epidermidis</i> .	25
<b>Figure 10</b>	- Couleur des colonies bactériennes (Gram-) sur milieu héktoen.	26
<b>Figure 11</b>	- Couleur des colonies bactériennes (Gram-) sur milieu héktoen.	26
<b>Figure 12</b>	- Coloration de Gram (bactéries à Gram-).	26
<b>Figure 13</b>	- Résultats d'identification d' <i>E.coli</i> .	27
<b>Figure 14</b>	-Résultats d'identification de <i>P. aeruginosa</i> .	27
<b>Figure 15</b>	- Répartition des isolats à Gram négatif selon les genres bactériennes.	27
<b>Figure 16</b>	- Répartition des isolats à Gram négatif selon l'espèce.	28
<b>Figure 17</b>	- Résultat de l'antibiogramme de <i>Staphylococcus</i> .	28
<b>Figure 18</b>	- Résultat de l'antibiogramme de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	30

<b>Figure 19</b>	- Résultat de l'antibiogramme d' <i>E. coli</i> .	31
<b>Figure 20</b>	- Répartition des prélèvements reçus selon le service hospitalier.	33
<b>Figure 21</b>	- Répartition des prélèvements au service de réanimation selon leur culture.	34
<b>Figure 22</b>	- Répartition par tranche de sexe.	34
<b>Figure 23</b>	- Répartition selon les types des échantillons.	35
<b>Figure 24</b>	- Répartition des isolats selon le type de Gram.	36

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Résumé	
Introduction .....	1
<b>Chapitre 01 : Revue Bibliographiques</b>	
<b>I. Les infections nosocomiales.....</b>	<b>2</b>
1-Définition d'une infection nosocomiale.....	2
2- Origine des infections nosocomiales .....	2
3- Microbiologie des infections nosocomiales.....	3
3-1 Les bactéries.....	3
3-1-1 Bacilles gram négatif .....	3
3-1-2 Les espèces à gram positif .....	4
3-2 Les virus.....	5
3-3 Les parasites .....	5
3-4 Les champignons.....	5
4- Épidémiologie des infections nosocomiales .....	6
5- Principales infections nosocomiales .....	7
5-1 Les infections urinaires.....	7
5-1-1 Les facteurs de risque.....	8
5-2 Pneumonies nosocomiales.....	8
5-3 Les infections sur cathéters.....	8
5-4 Bactériémies nosocomiales.....	8
5-5 Les infections du site opératoire.....	9
5-5-1 Infection superficielle du site opératoire.....	9

## Table de Matières

---

5-5-2 Infection profonde du site opératoire .....	9
6-Le mode de transmission .....	9
6-1- Transmissions directes.....	10
6-2 Transmissions indirectes.....	10
7- Facteurs favorisant la survenue d'infection nosocomiale .....	11
7-1 État général du patient.....	11
7-2 Gestes et techniques invasives .....	11
7-3 Une antibiothérapie préventive.....	11
7-4 La nature des soins .....	11
8- Conséquences globales des infections nosocomiales .....	11
9-Prévention des infections nosocomiales .....	12
9-1 Mesures générales de prévention .....	12
9-2 Préventions institutionnelles.....	13
<b>II. L'antibiothérapie</b>	
1-Définition .....	13
2- Modes d'action.....	13
2-1 Toxicité sélective au niveau de la synthèse.....	14
2-2 Inhibition compétitive.....	14
3-Critères de classification .....	14
4- Mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques.....	14
4-1 Introduction .....	14
4-2 Principaux mécanismes de résistances .....	14
<b>Chapitre 02 : Matériel et Méthodes</b>	
1- Lieu d'étude .....	16
2- Matériel biologique :.....	16
2-1 Les urines .....	16



## Table de Matières

---

2-2 Liquide céphalo-rachidien (LCR).....	16
2-3 Hémoculture .....	16
2-4 Pus.....	16
2-5 Les dispositifs invasifs.....	16
2-6 Prélèvement distal protégé (PDP).....	16
3-Méthode.....	16
3-1 Examens directs.....	16
3-1-1 Examen macroscopique .....	16
3-1-2 Examen microscopique :.....	17
3-2 Isolement et purification .....	17
3-3 Identification .....	17
3-3-1 Aspect des colonies :.....	18
3-3-2 Examens microscopiques :.....	18
3-3-3 Testes complémentaires .....	19
3-3-4 Identification biochimique (la galerie miniaturisée API 20 E) :.....	19
3-4 L'antibiogramme.....	20

### Chapitre 03 : résultats et Discussion

I- Isolement et identification des bactéries responsables d'infections nosocomiales.....	23
1- Caractères phénotypiques des souches de Staphylocoques isolées .....	23
1-1 Aspect des colonies.....	23
1-2 Coloration de Gram.....	23
1-3 Test de coagulase.....	24
1-4 Test de catalase.....	24
1-5 Caractères biochimiques.....	24
2- Caractères phénotypiques des bactéries à Gram négatifs :.....	26

## Table de Matières

---

2-1- Aspect des colonies .....	26
2-2 Coloration de Gram.....	26
2-3 Identification biochimique par galerie API 20 E.....	27
<b>II- Profil de résistance aux antibiotiques des principaux germes isolés.....</b>	<b>28</b>
1- <i>Staphylococcus sp</i> .....	28
2- <i>Acinetobacter sp</i> .....	29
3- <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	30
4- <i>Escherichia coli</i> .....	31
5- <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	32
<b>III. Statistiques des données de l'archive 2016-2017.....</b>	<b>33</b>
1-Répartition des prélèvements selon le service hospitalier .....	33
2-Répartition des prélèvements selon la positivité.....	33
3-Répartition des cas infectés selon le sexe .....	34
4-Répartition des cas infectés selon le type de prélèvement.....	35
5- Répartition des bactéries selon le Gram .....	36
Conclusion.....	37
Références Bibliographiques	
ANNEXES	

## Résumé :

L'infection nosocomiale bactérienne étant l'une des principales causes de morbidité et de mortalité.

Le but de notre travail est l'isolement, l'identification et l'étude de l'antibiorésistance des souches bactériennes responsables de ce type d'infections isolées à partir de prélèvements effectués sur les patients admis au service de réanimation.

Nous avons réalisé une étude rétrospective portant sur 173 patients hospitalisés au sein du service de réanimation de l'Hôpital Militaire de Constantine, sur une période de 17 mois (1 janvier 2016 jusqu'à 30 avril 2017).

Au cours de cette période, nous avons colligé 197 isolats dont 70 % étaient des bacilles à Gram négatif et 30% des cocci à Gram positif. Les espèces à Gram négatif les plus fréquemment isolées étaient *Acinetobacter* 33,33%, et *Pseudomonas* 21,01 %. Les *Entérobactéries* représentaient 45,65 % avec prédominance de *E. coli* (28,57 %), *Klebsiella pneumoniae* 23,8 % et *Entorobacter cloacae* 11,11 %.

Les cocci à Gram positif les plus fréquemment isolées étaient *Staphylocoque* 30% avec la prédominance de *Staphylococcus aureus* 81,48% et *Staphylococcus epidermidis* 18,53%.

La majorité des souches isolées présentent une résistance accrue vis à vis les antibiotiques testés principalement aux bêta-lactamines.

L'imipénème, colistine et amikacine restent les antibiotiques les plus régulièrement actifs sur les bacilles à Gram négatifs isolées.

La lutte contre les bactéries multirésistantes s'intègre dans une politique globale de prévention des infections et repose, en particulier, sur la prévention de la transmission croisée nosocomiale et la réduction de la pression de sélection par un usage rationnel des antibiotiques.

**Mots clés :** Infection nosocomiale, isolement, identification, antibiorésistance, Réanimation.

## **Abstract :**

The bacterial nosocomial infection is one of main major of morbidity and mortality. The aim of our work is the isolation, identification and study of antimicrobial resistance of bacterial strains, which are responsible of this type of infection isolated from samples collected from patients admitted in intensive care unit.

We have done a retrospective study of 173 hospitalized patients of intensive care unit in military hospital of Constantine, for a period time of 17 months (January 1<sup>st</sup> to april 30<sup>th</sup> 2017).

During that period, we have collected 197 isolates which 70% among them were Gram negative bacilli and 30% of them were Gram positive cocci.

The most frequent isolated species was Gram negative which was *Acinetobacter* sp 33,33%, and *Pseudomonas* represented 21,01%. The *Enterobacteria* represented 45,65% with predominance of *E.coli* (28,57% and *Klebsiella pneumonia* 23,8% and *Enterobacter cloacae* 11,11%.

The most frequent isolated Gram positive cocci were Staphylocoque 30% with predominance of *Staphylococc aureus* 81,48% and *Staphylococcus epidermidis* 18,53%.

The majority of the isolated strains present an increased resistance for tested antibiotics mainly to beta-lactamins.

The imipenem, colistine and amikacineremain the most regularly active antibiotics on the Gram-negative bacilli.

The fight against multi-resistant bacteria is part of global infection control policy and it is based particularly on the prevention of nosocomial cross-transmission and the reduction of selection pressure by rational use of antibiotics.

**Key words:** Nosocomial infection, isolation, identification, antimicrobial resistance, intensive care unit.

## الملخص:

عدوى المستشفيات هي أحد أهم وأبرز الأسباب التي تؤدي إلى مختلف الأمراض و الوفيات. لأهم السلالات البكتيرية المسؤولة عن هذه الهدف من عملنا هذا هو عزل ومعرفة هوية ودراسة مقاومة المضادات الحيوية التي أجريت على عينات المرضى الذين يتم إدخالهم في وحدة الإنعاش. قمنا بدراسة مرجعية على 173 مريض في وحدة الإنعاش على مستوى المستشفى العسكري بقسنطينة في الفترة الممتدة من 1 جانفي 2016 إلى غاية 30 افريل 2017 خلال هذه الفترة تحصلنا على 197 سلالة حيث 70% عبارة عن عصيات سالبة الغرام بينما العصيات موجبة الغرام تمثل 30%.

الأنواع سالبة الغرام الأكثر انتشارا هي *Acinetobacter* وبنسبة 33,33% و *Pseudomonas* بنسبة 21,01%. *les Entérobactéries* تمثل 45.65% حيث *E. coli* تمثل الأغلبية بنسبة 27.58% و *Klebsiella pneumoniae* بنسبة 23.8% و *Entorobacter cloacae* بنسبة 11.11% بنسبة 30% حيث الأكثر انتشارا هي العصيات موجبة الغرام *Staphylococcus aureus* هو السلالة الأكثر انتشارا بنسبة 81.41% ويليه *Staphylococcus epidermidis* بنسبة 18,59%. أغلبية السلالات المدروسة تمثل نسبة مقاومة مرتفعة للمضادات الحيوية المستعملة خصوصا للمضاد الحيوي

### Betalactamines

هي المضادات الحيوية الأكثر فعالية و تأثيرا على العصيات سالبة الغرام المدروسة. *colistine* , *amikacine* , *imipenème* ,

ان مكافحة البكتيريا متعددة المقاومة تدخل ضمن السياسة الجوهرية للحماية ضد هذه الالتهابات وذلك بمنع الانتقال عن طريق المستشفيات والتقليل من استخدام المضادات الحيوية بطريقة عشوائية.

**الكلمات المفتاحية:** وحدة الإنعاش, عدوى المستشفيات, عزل, طرق تشخيص البكتيريا , مقاومة المضادات الحيوية.



# **Introduction**

## Introduction

---

Les infections nosocomiales sont les infections acquises en milieu hospitalier. Elles affectent 5 à 7% des patients hospitalisés (C.Naucial, 2005). Lorsque l'état infectieux au début de la prise en charge n'est pas connu précisément, un délai d'au moins 48 heures ou un délai supérieur à la période d'incubation est couramment accepté pour définir une infection associée aux soins.

Les infections nosocomiales les plus fréquentes sont : la pneumopathie, l'infection urinaire, la bactériémie, la méningite et l'infection du site opératoire. Les bactéries représentent les principaux germes responsables des infections nosocomiales avec essentiellement *l'Acinetobacter baumannii*, *l'Escherichia coli*, le *Staphylococcus aureus* et le *Pseudomonas aeruginosa*. L'infection nosocomiale constitue un véritable problème de santé publique, elle est responsable d'une morbi-mortalité et d'un coût très élevés, d'où l'intérêt de la prévention (El marfi, 2014).

Selon le professeur Soukhel, chef service au CHU de Beni Messous : « la sécurité des patients dépend de la qualité des soins et des mesures d'hygiène prises. Entre 50 à 60 % de ces infections sont dues au manque d'hygiène, particulièrement des mains. En Algérie, pas moins de 15% des hospitalisés contractent chaque année des infections associées même aux actes médicaux les plus banals tels que l'accouchement, les circoncisions ou les appendicectomies ».

Le présent travail est l'étude d'une durée de un mois (25 avril au 25 mai 2017) qui a été menée au niveau du laboratoire de bactériologie de l'hôpital militaire de Constantine. Cette étude a pour objectif d'identifier les principaux germes responsables des infections nosocomiales au service de réanimation, dans divers prélèvements cliniques issus des patients hospitalisés en réanimation médicale.

Par ailleurs, l'étude des profils d'antibiorésistance des souches a été effectuée en testant les antibiotiques couramment recommandés dans l'antibiothérapie des infections nosocomiales au service de réanimation.



**Chapitre 01 :**  
**Revue Bibliographique**



### I. Les infections nosocomiales

#### 1-Définition d'une infection nosocomiale

Une infection nosocomiale (IN) est une infection acquise dans un établissement de santé publique ou privé. Elle est désormais intégrée au concept plus large d'infection associée aux soins (IAS). Une infection est considérée comme IAS si elle n'était ni présente, ni en cours d'incubation à l'admission du patient.

Lorsque l'état infectieux du patient au début de la prise en charge à l'admission n'est pas connu précisément, l'infection est habituellement considéré comme nosocomiale si elle survient après un délai au moins de 48 heures d'hospitalisation. Pour les infections du site opératoire, l'infection est considéré comme associée aux soins dans les 30 jours suivant l'intervention chirurgicale ou s'il y a mise en place d'un implant, d'une prothèse ou d'un matériel prothétique dans l'année qui suit l'intervention (Qayyum et al, 2010).

#### 2- Origines des infections nosocomiales

Le tableau suivant présente les différentes origines des germes qui provoquent les infections nosocomiales :

**Tableau1** : Origines des infections nosocomiales (Popi, 2003).

<b>Le patient et le personnel</b>	Constituent la plus importante source de germes. Tout être humaine est porteur d'un grand nombre de germes.
<b>Le matériel de soin et les surfaces</b>	Sont recouverts naturellement de nombreux microorganismes, et peuvent aussi être contaminés par les germes apportés par les personnes, présent sur les mains, dans la bouche...etc.
<b>L'environnement</b>	Il représente aussi une source de germe, mais ceux-ci sont moins fréquemment en cause.

### 3- Microbiologie des infections nosocomiales

Les bactéries, les virus, les parasites et les champignons peuvent être responsables d'infections nosocomiales, cependant les bactéries sont les germes les plus fréquemment incriminées. Elles seraient responsables dans 90% à 95% des cas. Surtout les bactéries aérobies ou aérobie-anaérobie facultatives représentent la quasi-totalité des espèces bactériennes responsables des infections hospitalières (Mchich, 2002).

#### 3-1 Les bactéries

Les bactéries les plus souvent responsables d'infection nosocomiales sont :

**3-1-1 Bacilles Gram négatif** : représentent 60% à 70% des agents responsables d'infection hospitalière parmi elles prédominent : *E. coli* avec 35% et *Pseudomonas aeruginosa* avec un pourcentage de 23%.

**a-Enterobactérie** : les espèces de ce groupe constituent les agents principaux de l'auto-infection, ils sont devenus résistants sous pression de la sélection des antibiotiques, les espèces les plus rencontrées sont : *Klebsiella*, *Proteus*, *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Serratia*.

**b-Pseudomonas** : c'est un germe regroupant environ 30 espèces. Le plus redoutable est l'espèce *Pseudomonas aeruginosa*. C'est l'agent dont la mortalité est la plus élevée. D'autres espèces du genre *Pseudomonas* peuvent être rencontrées dans les infections nosocomiales, c'est le cas de *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas alcaligenes*. Ces espèces profitent généralement d'un défaut d'hygiène ou de stérilisation (Mchich, 2002).

**c-Les Acinetobacter** : sont des cocobacilles, ubiquitaires à Gram négatif. Ce sont des bactéries aérobies strictes, non fermentaires, immobiles, souvent encapsulé ne réduisant pas les nitrates, oxydase négatif, catalase positive. Les espèces appartenant à ce genre sont fréquemment impliquées dans un grand nombre d'infections nosocomiales du fait de leurs capacités d'acquérir des résistances aux antibiotiques (Fomba, 2006 ; Oulymata, 2007).

### 3-1-2 Les espèces à Gram positif

Les bactéries Gram positif sont isolées dans 20 à 30% des infections hospitalières. Ces essentiellement les streptocoques du groupe D et surtout des staphylocoques

**a-Les staphylocoques :** le staphylocoque est leader des infections nosocomiales, les résultats du (center disease control) en 1980 montrent que le *Staphylococcus aureus* se situe comme germe responsable de l'ensemble des infections derrière *E. coli* et devant *Pseudomonas aeruginosa*.

**b-Les streptocoques :** le risque des espèces de ce germe a relativement baissé, grâce à l'avènement des règles d'hygiène et grâce à leur sensibilité stable aux antibiotiques. Ils sont souvent portés au niveau de la gorge.

On distingue, les streptocoques du groupe A, ceux-ci surinfectent surtout les brûlés, les streptocoques du groupe B, responsable des surinfections chez les nouveaux nés. Et enfin les streptocoques du groupe D qui sont très résistants aux antibiotiques et qui peuvent être à l'origine de diverses surinfections.

### c- Autres germes des infections nosocomiales

Certaines bactéries sont rarement rencontrées dans les surinfections. Il s'agit parmi les bacilles Gram négatif, de *Listeria monocytogene*, d'*alcaligene*, et parmi les Grams positifs, de *Streptocoque pneumoniae*, de *Mycobacterium tuberculosis*, *Bacillus cereus* (Mchich, 2002).

## Revue Bibliographique

**Tableau 2 :** Taux et le siège habituel de l'infection de différents espèces (Mchich, 2002).

Espèce	Pourcentage	Siège habituel de l'infection
<i>S. aureus</i>	10,2	Cutané, septicémie.
<i>S. epidermidis</i>	3,7	Septicémie, plaie chirurgicale.
Gp A	0,4	Cutané, septicémie.
Gp B	1,4	Septicémie.
Gp D	8,9	plaie chirurgicale, génito-urinaire.
<i>E. coli</i>	19,1	plaie chirurgicale, génito-urinaire, Septicémie.
<i>Klebseilla</i>	8,4	Poumon, Septicémie. génito-urinaire.
<i>Entérobactérie</i>	4,1	Poumon, génito-urinaire.
<i>Proteus</i>	7,1	plaie chirurgicale, génito-urinaire.
<i>P. aeruginosa</i>	7.7	Poumon, génito-urinaire.
<i>Autres</i>	7.6	Poumon, génito-urinaire.
<i>Serratia</i>	2.2	Poumon, Septicémie.
<i>B. fraglisi</i>	1.1	Septicémie, plaie chirurgicale.
Autres	13	Septicémie.
Indéterminées	11	Poumon.

### 3-2 Les virus

Les infections nosocomiales dues aux virus surviennent dans un contexte très particulier, leurs fréquence est vraiment sous estimées à 5% du fait des difficultés du recel et des méthodes de diagnostic biologique. Il existe un lien très étroit entre ces infections et le terrain clinique. Elles se manifestent le plus souvent par épidémies comme les infections à rota virus ou à virus syncytial respiratoire dans le service de nourrisson et dans les services des personnes âgées(Mchich, 2002).

Les virus intervenants dans la majorité des infections nosocomiales sont : adénovirus, rota virus, virus de l'immunodéficience humaine (HIV), virus respiratoire syncytial (RSV) (Pozzetto, 2009).

### 3-3 Les parasites

Les parasites les plus rencontrées sont les espèces de *Pediculus*(Pozzetto, 2009).

### 3-4 Les champignons

Les champignons ou mycètes constituent un règne très important, dont seul un petit nombre de représentants sont pathogènes pour l'homme. Ce sont des eucaryotes, possédant un noyau et une paroi cellulaire composée de chitine. Les champignons peuvent se présenter sous forme unicellulaire (levure) ou pluricellulaire lorsque les cellules s'allongent pour former des filaments ou hyphes (qui constituent le mycélium). Les quatre principaux embranchements des champignons vrais (eumycètes) se distinguent par leur mode de reproduction. (Delmont, 2016).

**Tableau 3 :** les infections nosocomiales fongiques (Mchich, 2002).

Fongiques	Infections provoquées	Localisation
<i>Candida albicans</i>	Candidose	Bouche, gorge.....
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Infections pulmonaires	Air
<i>Aspergillus histolytica</i>	Infection respiratoire grave	Poussière, terre

### 4- Épidémiologie des infections nosocomiales

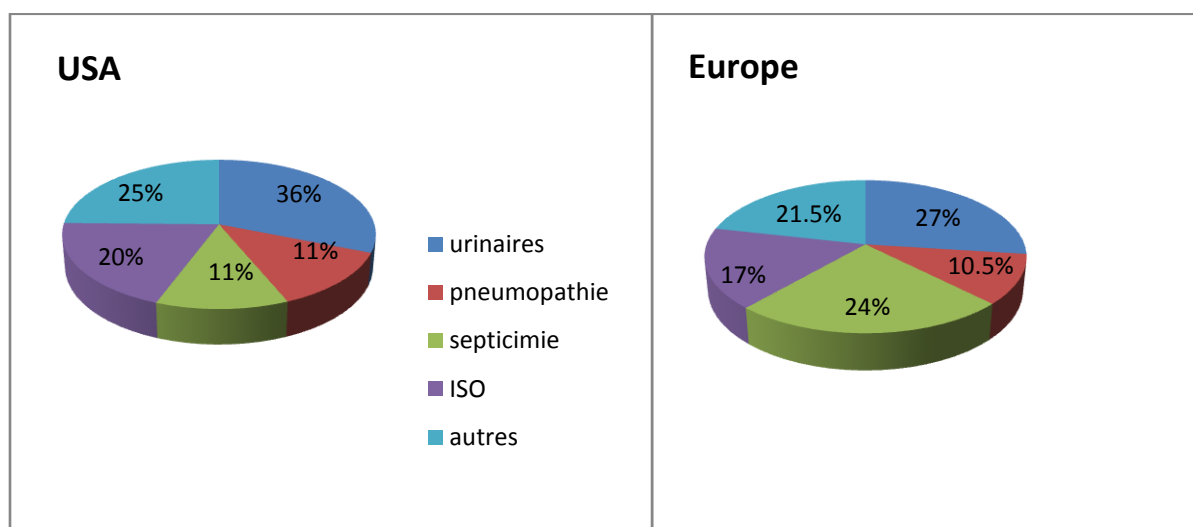
L'organisation mondiale de santé (OMS) estime qu'en moyenne 190 millions de personnes sont hospitalisées chaque année dans le monde et que 9 millions d'entre elles contractent une infection hospitalière. Environ 1 million de patients meurent chaque année, dans le monde de ces IN qui sont une cause majeure de mortalité et de morbidité.

En Algérie, de 2004 à 2010, 437 d'IN sont notifiées, le taux de déclaration hebdomadaire oscille autour de 12%. Le taux de morbidité par IN est passé de 0,43% en 2005 à 0,24% en 2010. Le taux de prévalence est en diminution 12,6% en 2003 à 7,7% en 2010 mais les taux de mortalité et de létalité sont en augmentation, en rapport avec l'émergence des bactéries multi résistantes (Toudeft et al, 2012).

### 5- Principales infections nosocomiales

Les programmes de surveillance mis en place dans les établissements hospitaliers visent habituellement les cinq types d'infection nosocomiale suivants : infection urinaire, infection respiratoire et pneumopathie, infection sur cathéter veineux central en réanimation, infection du site opératoire en chirurgie et bactériémie dans tous les services, à partir du laboratoire de bactériologie.

Les infections nosocomiales les plus fréquentes et les mieux identifiées sont des infections bactériennes. La particularité des bactéries en cause est leur sensibilité aux antibiotiques qui peut être modifiée par rapport aux bactéries « sauvages ». Les bactéries multi résistantes aux antibiotiques ont été sélectionnées en milieu hospitalier chez les patients par la pression induite par les antibiotiques utilisés pour traiter ou prévenir les infections. La sélection s'opère sur toute la flore commensale, oro-pharyngée, digestive, cutanée, ou ces bactéries résistantes peuvent persister plusieurs mois après l'arrêt de l'antibiothérapie (Delmont, 2016).



**Figure 1** : Fréquences des différents types d'infections nosocomiales en USA et Europe (Monnet, 2011).

### 5-1 Les infections urinaires

Les infections urinaires présentent, bien loin en tête, les infections nosocomiales les plus fréquentes.

Ainsi, l'incidence des infections urinaires représente entre 30 et 40% des infections nosocomiales avec des variations selon les services : 21% en réanimation, 39% en médecine, 37% en chirurgie, 12% en pédiatrie, 23% en psychiatrie, 50% en moyen séjour et 34% en long séjour (Mchich, 2002).

Parmi ces infections un tiers est provoqué par : *E. coli*, et autre tiers par *P.aeruginosa*, *Enterococcus fecalis*.

La plus parts des infections restantes sont provoqué par d'autres bactéries à Gram négatif (Perry et al, 2004).

### 5-1-1 Les facteurs de risque

On distingue deux types :

#### a-Facteurs intrinsèques

- Le sexe : le risque est deux fois plus élevé chez la femme.
- L'âge supérieur à 50 ans.
- L'antibiothérapie à large spectre

#### b-Facteurs extrinsèque

- Le sondage urinaire : le risque infectieux est associé étroitement en réanimation.
- Le sondage vésical (Mchich, 2002).

### 5-2 Pneumonies nosocomiales

Les infections respiratoires qui apparaissent comme une forme de pneumonie, sont la 2<sup>ème</sup> cause d'IN (20%), touchant 0,5 à 1% des patients hospitalisés (Pilly, 2004). Elles peuvent être provoquées par : *P. aeruginosa*, *S. aureus* ou par *Klebseillaspp*. ces infections, qui peuvent entraîner la mort, sont dues à des appareils respiratoires et à l'incapacité du patient à dégager ses poumons (Perry et al, 2004).

### 5-3 Les infections sur cathéters

Les infections sur cathéters représentent environ 20% des IN. Les cathéters sont la porte d'entrée d'au moins 30% des bactériémies primitives nosocomiales (Pilly, 2004).

### 5-4 Bactériémies nosocomiales

Les bactériémies nosocomiales présentent 6 à 7% des IN. Elles sont définies par la présence des bactéries dans le sang. Elles se traduisent soit par un tableau de fièvre avec signes d'appel urinaire soit avec un syndrome septique sévère (Eyquem et al, 2000).

La distribution des principales infections hospitalières varie selon les services et les institutions. Une importante proportion d'IN est constatée dans les centres hospitalo-universitaires que dans les hospitaliers généraux, en raison de leurs activités médico-chirurgicales spécifiques, notamment en termes de greffes, de chimiothérapies lourdes ou de traitements de grands brûlés.

Le service à risque plus élevé est le service de réanimation avec un taux d'IN en moyenne de 28,1%.(Marsoudon, 1998).

### **5-5 Les infections du site opératoire**

Elles sont la troisième cause d'IN (17 à 20%). Une infection du site opératoire est dite nosocomiale lorsqu'elle survient dans les 30 jours qui suivent l'infection, ou dans l'année d'il y a mise en place d'une prothèse ou d'un implant. Il existe deux variétés d'infection nosocomiale du site opératoire (Pebert, 2003).

#### **5-5-1 Infection superficielle du site opératoire**

Infection survenant dans les 30 jours suivant l'intervention et affectant la peau (ou les muqueuses), les tissus sous-cutanés ou les tissus situés au-dessus de l'aponévrose de revêtement diagnostiquée par écoulement purulent de l'incision, Ouverture de l'incision par le chirurgien et présence de l'un des signes suivants: douleur ou sensibilité à la palpation, tuméfaction localisée, rougeur, chaleur, et micro-organisme isolé par culture ou culture non faite (une culture négative, en l'absence de traitement antibiotique).

#### **5-5-2 Infection profonde du site opératoire**

Infection survenant dans les 30 jours suivant l'intervention, ou dans l'année s'il y a eu mise en place d'un implant, d'une prothèse ou d'un matériel prothétique, affectant les tissus ou organes ou espaces situés au niveau ou au-dessous de l'aponévrose de revêtement, ou encore ouverts ou manipulés durant l'intervention, diagnostiquée par : écoulement purulent provenant d'un drain sous aponévrotique ou placé dans l'organe ou le site ou l'espace.

Déhiscence spontanée de l'incision ou ouverture par le chirurgien et au moins un des signes suivants: fièvre supérieure à 38°C, douleur localisée ou sensibilité à la palpation. Et micro-organisme isolé par culture, obtenue de façon aseptique, d'un prélèvement de l'organe ou du site ou de l'espace ou culture non faite (une culture négative en l'absence de traitement antibiotique,) (Qassimi, 2010).

### **6-Le mode de transmission**

Ces infections peuvent être directement liées aux soins dispensés au patient (par exemple l'infection sur cathéter) ou simplement survenir lors de l'hospitalisation, indépendamment de tout acte médical (par exemple une épidémie de grippe) (MTES, 2010).



On distingue deux modes de transmission :

**6-1- Transmissions directes** sont le fait de maladies infectieuses qui vont se transmettre via l'air, comme la tuberculose ou la grippe. La victime est en contact avec le germe. Dans ce mode de transmission, il faut noter aussi les infections d'origine endogène ou auto-infection (le malade s'infecte avec ses propres germes à la faveur d'un acte invasif, ou en raison d'une fragilité particulière) (Marco, 2007).

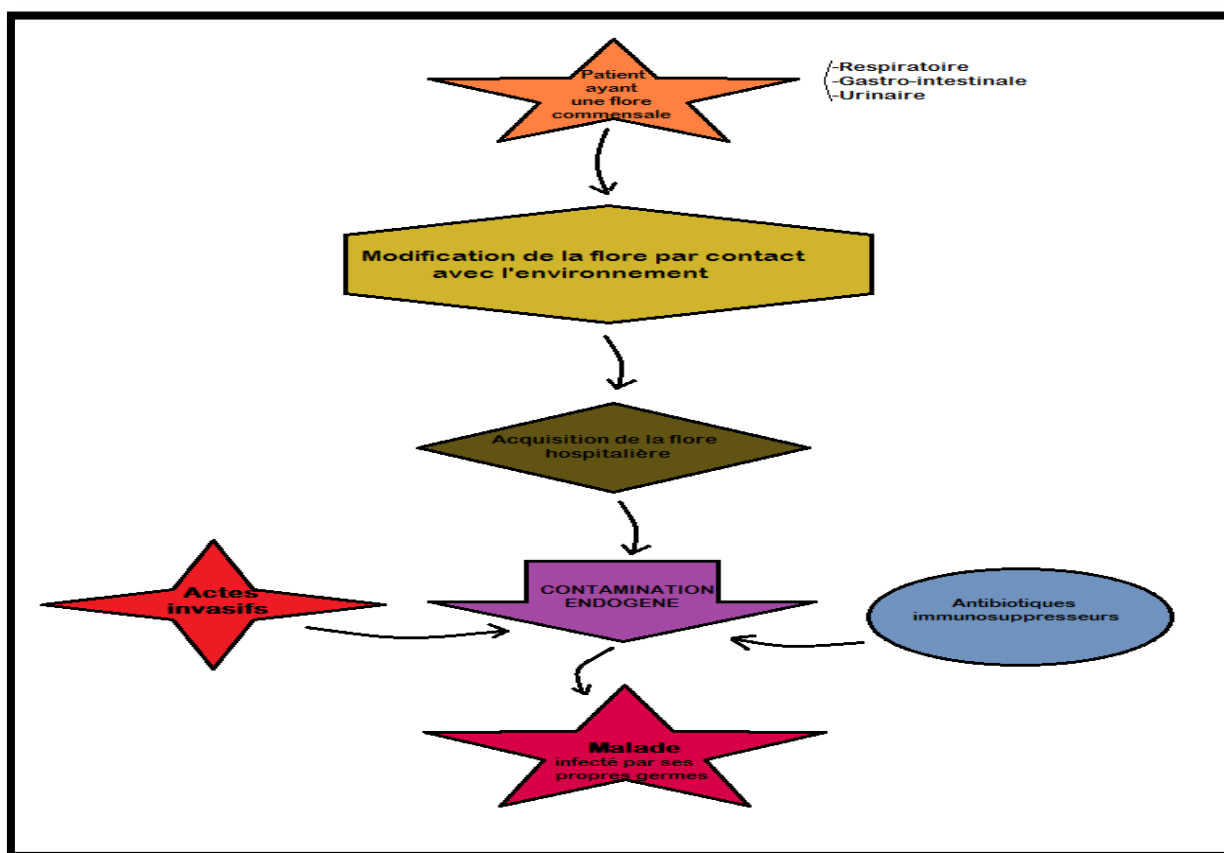


Figure 2 : les infections d'origine endogène (Marco, 2007).

**6-2 Transmissions indirectes** ce mode de transmission caractérise les infections d'origines exogènes (Marco, 2007). Il s'agit d'infections croisées transmises d'un malade à l'autre par les mains ou les instruments de travail, d'infections provoquées par les germes du personnel ou encore d'infections liées à la contamination de l'environnement hospitalier par des médicaments ou greffes (Legault et al., 2004).

### **7- Facteurs favorisant la survenue d'infection nosocomiale**

Quel que soit son mode de transmission, la survenue d'une infection nosocomiale est favorisée par la situation médicale du patient qui dépend de : **(MTES, 2010)**.

**7-1État général du patient**: les patients les plus exposés à l'infection nosocomiale sont ceux âgés de plus de 60 ans, touchés par une affection grave (poly traumatisme, brûlés...etc.), grabataire (pathologie de décubitus), immunodéprimés (cancer, chimiothérapie, SIDA...etc.) ou déjà infectés.

**7-2Gestes et techniques invasives** : cathéter vasculaires (veineux, ou artériels), cathétérisme urinaire, intubation-ventilation artificielle, endoscopie, cœlioscopie, biopsie d'un organe (moelle, foie...etc.), mise en place de perfusion **(Malek et al, 1996)**.

**7-3Une antibiothérapie préventive** :qui sélectionne des micro-organismes résistants. Cette résistance pourra être transmise d'espèce à espèce par les plasmides de résistance ;

#### **7-4La nature des soins**

- Transmission par contact avec le personnel soignant (les bactéries de la flore cutanée du soignant peuvent contaminer un malade fragilisé).
- Transmission par le matériel médical.
- Transmission par le linge et la literie **(Baudry et Brezellec, 2006)**.

### **8- Conséquences globales des infections nosocomiales**

Les infections nosocomiales constituent un important problème s'exprimant en termes de morbidité, qui peut être apprécié par l'allongement de la durée d'hospitalisation, de mortalité et de surcout.

Certains chiffres font classer les infections nosocomiales parmi les grands fléaux de notre temps, ainsi :

1% des infections nosocomiales causent directement la mort de la malade et 3% d'entre elles y contribuent indirectement.

L'allongement de la durée d'hospitalisation est un élément intéressant de comparaison, il est estimé qu'une infection urinaire nosocomiale augmente la durée d'hospitalisation de 2 à 4 jours en moyenne, une infection du site opératoire de 2 à 7 jours, voir 20 à 30 jours pour les infections graves, une pneumopathie nosocomiale de 20 à 15 jours dans une unité de

réanimation et pour septicémie de 7 à 14 jours. Le cout direct lié à la consommation antibiotique est rarement considéré (Mchich, 2002).

### **9-Prévention des infections nosocomiales**

Malgré tous les efforts de prévention qui peuvent être déployés, il est évident que le taux résiduel d'infection nosocomiale en réanimation persistera à être le plus élevé de toutes les disciplines médicales. La fragilité croissante des malades, l'importance des procédures invasives, et un environnement contraint font que la fréquence des infections en réanimation ne pourra être sensiblement réduite que par une amélioration des capacités de résistance des malades. Ceci par la mise à disposition de moyens efficaces et suffisamment bien tolérés de renforcement immédiat des défenses contre l'infection, la substitution de procédures invasives par des procédures moins à risque chaque fois que possible, et par une organisation adaptée comportant des moyens appropriés (Zeroual, 2012).

#### **9-1 Mesures générales de prévention**

**9-1-1 L'antisepsie :** C'est l'ensemble des méthodes et moyens destinés à prévenir l'infection en détruisant ou en inhibant la croissance des microorganismes sur les tissus vivants ou les objets inanimés en utilisant des procédés physiques (filtre, rayonnement) ou chimiques (substances bactéricides, virucides ou fongicides).

**9-1-2 Asepsie :** Selon le dictionnaire médical Larousse 1981, l'asepsie est l'absence de tout germe microbien de tout élément susceptible de produire la putréfaction ou l'infection. Cette définition est élargie par le dictionnaire français de médecine et de biologie (Flammarion 1970) qui définit l'asepsie comme l'ensemble des moyens visant à empêcher la contamination d'objet, de substance, d'organisme ou de locaux.

**9-1-3 La décontamination :** C'est éliminer, tuer, ou inhiber les micro-organismes indésirables, et diminuer leur nombre sur le matériel utilisé.

**9-1-4 La désinfection :** Elle permet d'éliminer la plupart mais pas tous les micro-organismes à l'origine des maladies sur le matériel utilisé.

**9-1-5 La stérilisation :** C'est l'ensemble des méthodes permettant de tuer les microorganismes.

vivants de nature bactérienne (végétative ou sporulé), virale ou parasitaire y compris les endospores portés par un objet. Pour une bonne stérilisation il faut les étapes suivantes : décontamination (10 à 20minutes) ; nettoyage, désinfection (froid, chaud) ; séchage et enfin stérilisation proprement dite (Zeroual, 2012).

**9-1-6 L'antibioprophylaxie :** C'est l'administration d'antibiotique avant la contamination bactérienne potentielle liée à l'acte opératoire. Elle a pour objectif la réduction de la fréquence des infections chirurgicales superficielles au niveau des sites opératoires (Misset, *et al*, 2004).

**9-1-7 Lavages régulières des mains (Zeroual, 2012).**

### **9-2 Préventions institutionnelles**

- Organisation de la surveillance permanente des infections dans l'hôpital, au moyen de méthode épidémiologiques adaptées.
- Encouragement et encadrement des actions de prévention contre l'infection hospitalière.
- L'amélioration de l'organisation des soins et des pratiques des professionnels ayant un impact sur le risque infectieux.
- Diffusion de la formation sur les infections nosocomiales et communication sur le risque infectieux liée aux soins (Ducel *et al*, 2008).

## **II. L'antibiothérapie**

### **1-Définition**

On appelle antibiotique toute substance naturelle d'origine biologique élaborée par un organisme vivant (champignon ou bactérie) ou substance chimique produite par synthèse ou substance semi synthétique obtenue par modification chimique d'une molécule de base naturelle et ayant comme propriétés une activité antibactérienne, une activité en milieu organique et une bonne absorption et bonne diffusion dans l'organisme (Nauciel, 2005).

### **2- Modes d'action**

Les antibiotiques ont la propriété d'interférer directement avec la prolifération des micro-organismes à des concentrations tolérés par l'hôte. Ils agissent à l'échelon moléculaire au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie. Selon leur nature et leur concentration, les antibiotiques agissent selon deux principes différents, la bactériostase et bactéricide.

Le mécanisme d'action des antibiotiques n'est pas toujours parfaitement élucidé mais on distingue deux grands modes d'actions (Kheira, 2013).

### 2-1 Toxicité sélective au niveau de la synthèse

- de la paroi bactérienne.
- des enveloppes membranaires.
- des protéines.
- ses acides nucléiques.

### 2-2 Inhibition compétitive

Dans ce cas l'antibiotique est un analogue structural, il interfère avec une fonction essentielle à la bactérie (Kheira, 2013).

## 3-Critères de classification

La classification des antibiotiques peut se faire selon :

- **L'origine** : élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique).
- **Le mode d'action** : inhibition de la synthèse de la paroi, de la membrane cytoplasmique, des protéines ou des acides nucléiques.
- **Le spectre d'activité** : liste des espèces sur les quelles les antibiotiques sont actifs (spectre large ou étroit).
- **La nature chimique** : très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle  $\beta$ -lactame) sur laquelle il y a hémi-synthèse. La classification selon la nature chimique nous permet de classer les antibiotiques en familles ( $\beta$ -lactamines, aminosides, tétracycline, etc.)(Bombeke, 2008).

## 4- Mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques

### 4-1 Introduction

L'utilisation souvent abusive des antibiotiques favorise l'évolution des bactéries vers la résistance entraînant fréquemment des échecs thérapeutiques.

En réponse, les bactéries ont développé tant sur le plan biochimique (synthèse d'enzymes) que génétiques (plasmide, intégrons, transposons), de nombreux mécanismes conférant sa résistance vis-à-vis de l'antibiotique ainsi que sa capacité à la transmettre à d'autres bactéries.

**-La résistance acquise :** c'est l'augmentation de la résistance d'une souche bactérienne à un ou plusieurs antibiotiques d'une même famille (résistance spécifique) ou à plusieurs familles d'antibiotiques (multirésistance). Elle peut provenir d'une mutation sur gènes chromosomiques ou d'acquisition de gènes de résistance en provenance d'autres espèces (ex : plasmides, des transposons, intégrons, ou véhiculé par des phages). Comme ça peut être des gènes préexistant dans la nature (ex : chez les organismes producteurs d'antibiotiques). (Kheira, 2013).

### 4-2 Principaux mécanismes de résistances

- **Inactivation enzymatique de l'antibiotique :** il existe de nombreuses enzymes qui détruisent l'antibiotique par divers mécanismes chimiques.
- **Modification de la cible :** les cibles subissent des mutations entraînant l'apparition d'une nouvelle cible non reconnue par l'antibiotique.
- **Imperméabilité membranaire :** par diminution quantitative ou modification des porines (canaux de pénétration des antibiotiques à travers la membrane externe de la bactérie) provoquant la résistance par défaut de pénétration passive de l'antibiotique.
- **Efflux actif :** ce sont des protéines qui agissent comme de pompes, insérées dans la membrane cytoplasmique et externe, elles expulsent les antibiotiques dans le milieu extérieur en utilisant l'énergie produite par la membrane cytoplasmique. (Naucial, 2005).



**Chapitre 02 :**  
**Matériel et Méthode**

## **Mt ariel et M ethodes**

---

### **1- Lieu d'étude**

Ce travail a été réalisé au laboratoire d'analyses biologiques à Hôpital militaire, Constantine. Durant la période allant du 25/04/2017 au 25/05/2017. Il s'agit d'une étude épidémiologique, descriptive et transversale dans le service de réanimation de l'année 2016 et jusqu'à 30 avril 2017.

### **2-Matériel biologique**

L'étude porte sur 173 patients hospitalisés 41 femmes et 132 hommes des différents âges. Les types d'échantillons bactériologiques considérés dans l'étude sont :

**2-1 Les urines** : les prélèvements sont prélevés dans des tubes.

**2-2Liquide céphalo-rachidien (LCR)** : les prélèvements sont prélevés au niveau lombaire et recueilli dans des tubes stériles accompagnés d'un minimum de renseignement cliniques (l'âge, le diagnostic pr sumptif, les traitements antibiotiques antérieurement reçus par le malade). L'aspect macroscopique du LCR est noté dès sa réception.

**2-3 Hémoculture** : les prélèvements de sang sont prélevés dans des flacons à hémocultures (flacons castan da diphasique), puis incubé à 37 c pendant 2 à 8 jours pour permettre la croissance des microorganismes.

**2-4 Pus** : le prélèvement de pus est effectué par écouvillonnage pour les infections superficielles et par ponction à l'aide d'une seringue pour les infections profondes.

**2-5 Les dispositifs invasifs** : les dispositifs médicaux invasifs couramment utilisés en réanimation. ces dispositifs sont les suivants : sondes vésicales, sondes endotranchi ales, drains et cathéters veineux.

**2-6 Prélèvement distal protège (PDP)** : Prélèvement des sécrétions bronchiques distales chez un patient intubé ou trachéotomisé en évitant la contamination par les germes présents dans les voies aériennes supérieures.

### **3-M ethodes d'analyse**

#### **3-1 Examens directs**

##### **3-1-1Examen macroscopique**

C'est la première étape d'identification ou on vérifier l'état de prélèvement si sont troublés claires ou hémorragique.



## Mtériel et Méthodes

---

### 3-1-2 Examen microscopique

L'observation microscopique à l'état frais à grossissement\*40 pour observer : les cocci, les bacilles, les polynucléaires, les hématies, les cellules épithéliales, levures, les cristaux...etc.

### 3-2 Isolement et purification

L'isolement est réalisé sur 5 milieux de culture sont variés en fonction de la nature de prélèvement et surtout en fonction des bactéries suspectées.

**Tableau 4 :** Les différents milieux utilisés pour l'isolement.

prélèvement	Milieu de culture
LCR	2 boîtes de gélose au sang cuit.
Sonde, PDP, pus	1 boîte pour chaque milieu : Chapman, hektoen, gélose au sangfrais, gélose au sang cuit.
Urines	1 boîte de gélose nutritive.
sang	Incubation direct dans des flacons castanida à 37°C pendant 2 à 8 jours, puis ensemercer sur 1 boîte de gélose au sang cuit et 1 boîte d'hektoen.

A partir de prélèvement obtenu, une goutte est prélever et déposée sur la surface de milieu gélosé préalablement coulés en boîte de pétri. L'ensemencement est réalisé par la technique de strie série en quatre cadrons de façon à isoler les bactéries et obtenir des colonies bactériennes distinctes. Les boîtes ainsi ensemencées, sont incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures, que les boîtes de gélose au sang cuit et gélose au sang frais sont incubés en étuve ou atmosphère enrichie à CO<sub>2</sub> (milieu anaérobie).

### 3-3 Identification :

L'identification des bactéries s'effectue sur les colonies pures et bien isolées sur les milieux déjà mentionnées, on appliquant les tests suivants :

### 3-3-1 Aspect des colonies :

Les différents caractères des colonies sur les milieux solides : la couleur, pigmentation, le diamètre, la forme, l'aspect de surface, la consistance, l'opacité et la fermentation de lactose permettent une bonne orientation pour l'identification.

### 3-3-2 Examens microscopiques :

L'examen microscopique après coloration de Gram, permet d'observer morphologie des cellules bactériennes, leurs modes de regroupement et différencier entre les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif.

La coloration s'effectue selon les étapes suivantes :

#### a-Préparation de frottis mince :

Une colonie bactérienne est prélevée, à l'aide d'une anse de platine, et étalée sur une lame propre. Par la suite, la préparation est fixée à la flamme de bec bunsen par des passages successifs. Elle est laissée refroidir avant d'entamer la coloration.

#### b- La coloration :

- Déposer la lame sur le support au-dessous de l'évier.
- Couvrir la lame avec le violet de gentiane. Laisser agir 60 secondes. Rincer à l'eau et enlever le surplus d'eau.
- Couvrir la lame avec la solution d'iode (lugol) pendant 60 secondes. Rincer soigneusement avec l'eau et enlever le surplus d'eau.
- Couvrir la lame avec l'alcool-acetone pendant 15 à 30 secondes. Rincer à l'eau et enlever le surplus d'eau.
- Couvrir la lame avec la fuchsine. Laisser agir 30 secondes. Rincer à l'eau et enlever le surplus d'eau.
- En suivant les règles d'utilisation du microscope, examiner à X100 à l'immersion.

## Matériel et Méthodes

---

### 3-3-3 Testes complémentaires :

#### a- Le teste de catalase :

C'est une enzyme présente chez les bactéries aérobies et représente un caractère utile dans l'identification bactérienne et spécifiquement pour l'identification des *staphylococcus*.

Une goutte de solution d'eau oxygénée H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est déposée sur une lame. Une colonie est prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur et déposée dans la goutte d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Si le teste est positif c'est-à-dire la bactérie possède l'enzyme on observe un dégagement de bulle d'air immédiatement.

#### b- Le teste d'oxydase :

Ce teste est employé couramment pour l'identification des bacilles à Gram négatif.

La colonie est déposée sur un papier d'oxydase. Une réaction positive se traduit par l'apparition d'une coloration violette soit immédiatement soit après quelques secondes.

#### c-Test de coagulase :

Est un test complémentaire pour différencier entre les *Staphylococcus aureus* et les *Staphylococcus* à coagulase négatif.

Une goutte de solution de bouillon coagulase déposée sur une lame ou dans un tube. Une colonie prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur déposée sur la lame ou tube dans le bouillon coagulase.

Si on observe une coagulation ce signifie que le résultat est positif et la bactérie est *Staphylococcus aureus*.

### 3-3-4 Identification biochimique (la galerie miniaturisée API 20 E) :

La galerie API 20 est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif.

Elle comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui constitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs.

## **Mtériel et Méthodes**

---

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification (**voir annexe 03**).

### **a- Préparation de l'inoculum :**

Une colonie bactérienne est prélevée, à partir d'une culture jeune de 18 à 24 heures, et déposée dans un tube d'eau physiologique stérile à 0.9% NaCl de façon à obtenir une suspension bactérienne.

### **b-Inoculation de la galerie :**

Les tubes sont remplis par la suspension bactérienne déjà préparée en évitant d'introduire les bulles d'air à l'aide d'une pipette pasteur,

- Les tests : ADH, LDC, ODC, H<sub>2</sub>S, URE doivent être remplis dans leurs cupules d'huile afin de créer les conditions d'anaérobiose.

- Les tests : CIT, VPet GEL sont remplis tube et cupule.

- L'incubation se fait à 37°C pendant 24h

### **3-4 L'antibiogramme :**

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé Mueller-Hintonet pour les bactéries non exigentes et Mueller- Hintonet riche par le sang pour les bactéries exigentes selon les normes de Ministère de la santé de la population et de la Réforme Hospitalière Réseau algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques 2014.

#### **3-4-1Inoculum :**

-Racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques à partir d'une culture pure de 18 H sur milieu d'isolement.

-Décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9 %.

-Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0.5 Mac Farland ou à une D.O de 0.08 à 0.10 lue à 625 nm.L'ensemencement doit se faire dans les 15 min qui suivent la préparation de l'inoculum.

## **Matériel et Méthodes**

---

### **3-4-2 Ensemencement :**

- Un écouvillon stérile est trempé dans la suspension bactérienne.
- L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube.
- L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas en stries serrées.
- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Application des disques d'antibiotiques.
- Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide d'une pince bactériologique stérile pour s'assurer de son application. Une fois appliquée le disque ne doit pas être déplacé.

### **3-4-3 Incubation :**

- Mettre à l'étuve à 37 °C pendant 18 à 24 h.

### **3-4-4 Lecture :**

- Mesurer avec précision, les diamètres des zones d'inhibition en utilisant le pied à coulisse.
- Comparer ces résultats aux valeurs critiques figurant dans la table de lecture.
- Classer la bactérie dans l'une des catégories : sensible, intermédiaire ou résistante selon **(Ministère de la santé de la population et de la Réforme Hospitalière Réseau algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques 2014)**.

## Mtériel et Méthodes

**Tableau 5 :** Liste des antibiotiques à tester.

Famille de l'antibiotique	Antibiotique	Code	Charge du disque	Diamètre critique (mm)	
				SENSIBLE	RÉSISTANTE
PENICILLINE G	Pénicilline G	P	6µg	≥29	< 8
PENICILLINE A	Ampicilline	AMP	10 µg	≥19	<14
	Amoxicilline	AMX	25 µg	≥21	< 14
	Amoxicilline+	AMC	30 µg	≥21	< 14
PENICILLINE M	Acide clavulanique				
CARBAPENEMES	Pipéracilline	PIP	100 µg	≥21	<17
CEPHALOSPORINES	Ticarcilline	TIC	75 µg	≥20	<14
	Génération 1(C1G)	Oxacilline	OX	5 µg	< 14
	Génération 2(C2G)	Imipenème	IPM	10 µg	< 20
Génération 3(C3G)	Céfalotine	CF	30 µg	< 17	
AMINOSIDES	Cefuroxime	CFM	30 µg	< 12	
	Cefotaxime	CTX	30 µg	< 22	
	Ceftriaxone	CRO	30 µg	< 23	
	Ceftazidime	CAZ	30 µg	< 23	
CYCLINES	Amikacine	AK	30 µg	< 19	
QUINOLONES	Gentamicine	GN	15 ou 500 µg	< 15	
	2ième Génération	Tobramycine	TOB	< 16ou< 11	
	Netilmycine	NET	10 µg	< 16	
POLYMYXINES	Tétracyclines	TE	30 IU	< 19	
SULFAMIDES	Ciprofloxacine	CIP	5 µg	< 17	
	Norfloxacine	NOR	5 µg	< 22	
GLYCOPEPTIDES	Ofloxacine	OFX	5 µg	< 22	
	Colistine	CT	25 µg	< 22	
MACROLIDES	Sulfamethoxazole+	SXT	25 µg	< 15	
	trimethoprim		30 µg	< 10	
AUTRES	Vancomycine	VA	30 µg	-	
	Téicoplanine	TEI	15IU	-	
	Erythromycine	ERY	15 µg	< 17	
	Lincomycin	LIN	10 µg	< 17	
		FD		< 15	

A decorative horizontal border with rounded ends, resembling a scroll. It has a thin black outline and a light gray shadow on the top edge. The text is centered within this border.

**Chapitre 03 :**  
**Résultats et Discussion**

### I- Isolement et identification des bactéries responsables d'infections nosocomiales

#### 1- Caractères phénotypiques des souches de Staphylocoques isolées

##### 1-1 Aspect des colonies

Sur le milieu Chapman, les colonies présentant l'aspect macroscopique caractéristiques du genre *Staphylococcus* ont été prélevées, le développement bactérien sur ce milieu ne constitue qu'une indication, d'autres bactéries (enterocoques) peuvent y cultiver. Sur ce milieu, les colonies de *Staphylococcus* apparaissent souvent pigmentées et entourées d'une auréole jaune dans le cas où le mannitol est fermenté, si non les colonies sont de couleur blanche. Les colonies sont arrondies à bords régulier de 1 à 2 mm de diamètre (après 24h d'incubation à 37°).



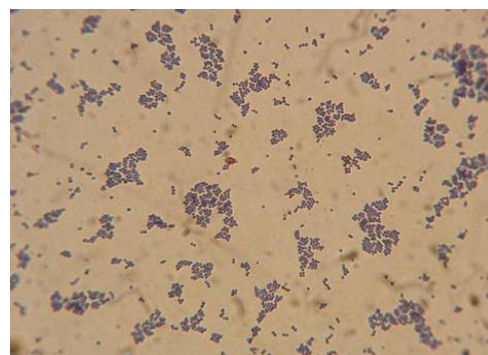
**Figure 3:** Aspect de culture de *Staphylococcus aureus* milieu sur milieu Chapman.



**Figure 4 :** Aspect de culture de *S. epidermidis* sur milieu chapman.

##### 1-2 Coloration de Gram

La coloration de Gram des colonies isolées sur la gélose Chapman, nous a permis de décrire l'aspect des bactéries, qui sont sous la forme de cocci en grappe de raisin ou en diplocoques.



**Figure 5:** Aspect de Gram positive des Staphylocoques.



## Résultats et Discussion

---

### 1-3 Test de coagulase

Certaines bactéries avaient une coagulase positive, ce qui les caractérise parmi les *Staphylococcus aureus* (Figure6), contrairement aux bactéries à coagulase négative, qui forment le groupe des staphylocoques blancs (Figure7).



**Figure6:** Résultat positif du test coagulase



**Figure 7 :** Résultat négatif du test coagulase

### 1-4 Test de catalase

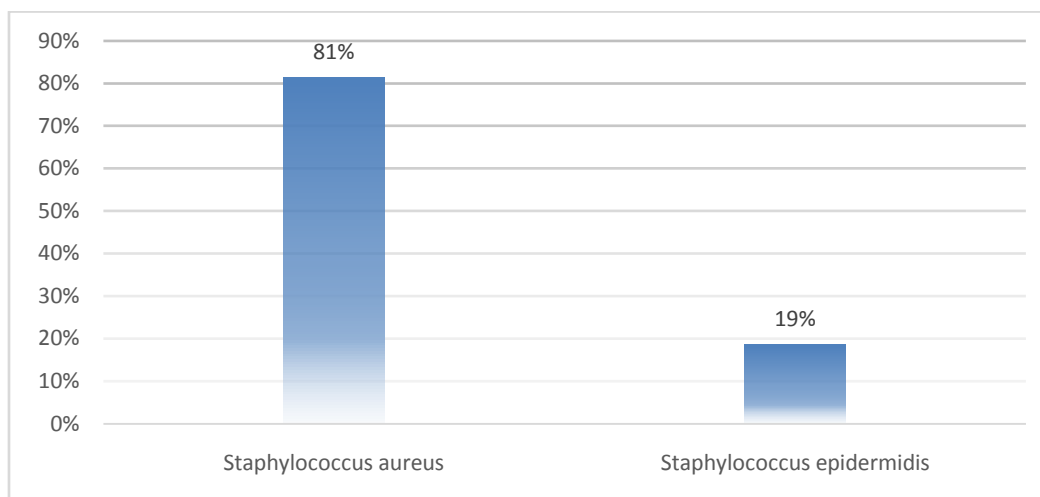
Les tests de catalase étaient positifs pour l'ensemble des bactéries à Gram positif.



**Figure 8 :**Présence de catalase chez les cocci à Gram positif.

### 1-5 Caractères biochimiques

C'est un Coque à Gram positif, capable de fermenter le glucose (métabolisme anaérobie) à la différence des microcoques. Il est habituellement capable de fermenter le mannitol. Ce caractère est souvent, mais pas obligatoirement associé à la pathogénicité. Il est utilisé dans le milieu Chapman. La fermentation se traduit par le virage au jaune du milieu de culture. Après caractérisation des Staphylocoques isolés, il s'est avéré qu'ils se répartissent comme suit :



**Figure 9 :** Répartition des *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*.

La figure 9 montre que parmi les 54 souches de Staphylocoques isolées dans le service de réanimation 10 appartiennent aux Staphylocoques à coagulase négative (SCN) et 44 Souches de *Staphylococcus aureus* à coagulase positive.

Le staphylocoque est un leader de l'infection nosocomiale, les résultats du (center disease control) en 1980 montrent que le *staphylocoque aureus* se situe comme germe responsable de l'ensemble de l'infection derrière l'*E. Coli* et devant *Pseudomonas aeruginosa* (Mchich, 2002).

Selon une étude rétrospective descriptive à partir des résultats bactériologiques ayant inclus toutes les souches bactériennes isolées des différents prélèvements adressés à laboratoire de bactériologie de l'hôpital militaire de Constantine à partir du service de réanimation sur une période de 03 années (2010-2011-2012), avec détermination de leur profil de résistance aux antibiotiques, les staphylocoques représentent 13% de taux total.

Selon plusieurs études, *Staphylococcus aureus* est l'espèce bactérienne la plus fréquemment isolée des infections nosocomiales et est l'agent causal le plus répandu dans les infections sur dispositifs médicaux implantables (Otto, 2012).

## 2- Caractères phénotypiques des bactéries à Gram négatifs :

### 2-1- Aspect des colonies

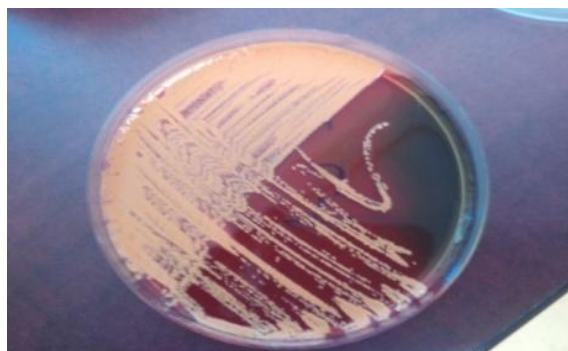
Sur le milieu de Hektoen, les colonies présentant l'aspect macroscopique caractéristiques de la famille des *Enterobacteriaceae* et *Pseudomonaceae* ont été prélevées, sur ce milieu les

## Résultats et Discussion

colonies des bactéries qui fermentent l'un ou les trois sucres présent dans le milieu (lactose, saccharose, salicine) forment des colonies de couleur "saumon", les autres donnant des colonies bleues ou vertes. En présence de thiosulfate de sodium, les microorganismes producteurs de sulfure d'hydrogène donnent, avec le citrate ferrique, des colonies à centre noir, après 24h d'incubation à 37°.



**Figure 10:** Couleur des colonies bactériennes (Gram-) sur milieu héktoen.



**Figure 11 :** Couleur des colonies bactériennes (Gram-) sur milieu héktoen.

### 2-2 Coloration de Gram

La coloration de Gram des colonies isolées sur milieu de Hektoen, nous a permis de donner l'aspect des bactéries, qui est sous la forme de bacilles.



**Figure 12 :** coloration de Gram (bactéries à Gram-).

### 2-3 Identification biochimique par galerie API 20 E

Cette galerie nous a permis d'identifier particulièrement les bactéries de la famille des *Enterobacteriaceae* et *Pseudomonadacea*. Les résultats sont interprétés selon **annexe 3**.

## Résultats et Discussion



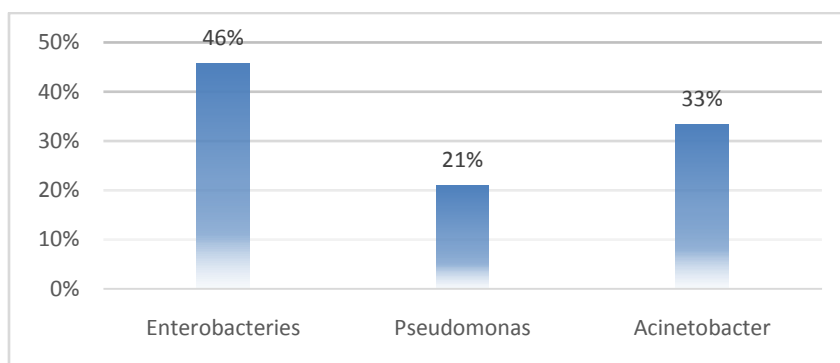
**Figure 13** : Résultats d'identification d'*E.coli*.



**Figure 14**: Résultats d'identification de *P. aeruginosa*.

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.

Après caractérisation des bactéries à gram négatif isolées, il s'est avéré qu'elles se répartissent comme suit :

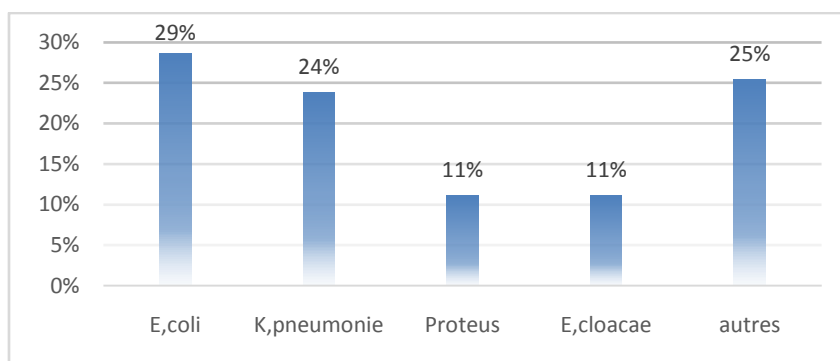


**Figure 15** : Répartition des isolats à Gram négatif selon les genres bactériennes.

La figure 16 montre la prédominance des Enterobacteries isolées avec 63 soit 46 % au niveau du service de réanimation, alors que le nombre de souches de *Acinetobacter*, classée la deuxième responsables d'infections liées à la présence d'implant était 46 Soit 33 % et *Pseudomonas* avec 29 souches soit 21%.

Après caractérisation des Entérobactéries isolées par galerie API20E, leur répartition selon l'espèce s'est faite comme suit :

## Résultats et Discussion



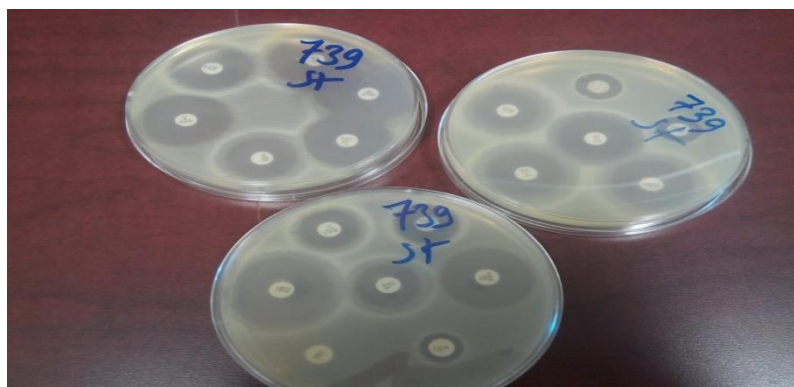
**Figure 16** : Répartition des isolats à Gram négatif selon l'espèce.

Les bacilles à Gram négatif (BGN) sont les germes les plus incriminés (70,05%) dans les infections nosocomiales, ils sont dominés par *l'Acinetobacter baumannii* (33,33%), germe le plus fréquemment isolé, suivie de *Pseudomonas aeruginosa* (21.01%), *l'Escherichia coli* (13,04%), *Klebsiella pneumoniae* (10,08 %), et des autres enterobacteries.

## II- Profil de résistance aux antibiotiques des principaux germes isolés.

### 1- *Staphylococcus sp*

Un antibiogramme complet a été réalisé sur 54 isolats. Étant donnés leurs phénotypes de résistance très différents, les fréquences de résistance pour chaque antibiotique ont été calculées et représentées dans le **tableau 6**.



**Figure 17** : Résultat de l'antibiogramme de *Staphylococcus*.

## Résultats et Discussion

**Tableau 6** : profil de résistance de Staphylocoques.

Antibiotique	Résistance (%)
P	96
ERY	12
SXT	12
OX	2.3
LIN	0
TE	0
GN	0
CIP	0
VA	0
TEI	3
TEC	0
FOS	0

Les résultats portés sur le tableau 6 montre que les souches isolées des Staphylocoque présentent des résistances importantes aux  $\beta$ -Lactamines (P) 96 %. Quant aux ERY et SXT avec 12 %. Le taux le plus faible a été observé pour OX (2.3%). La sensibilité pour les autres antibiotiques est 100%.

### **2-Acinetobactersp**

Les profils de résistance montrent que les 46 souches d'*Acinetobacter* présentent différents comportements vis-à-vis les antibiotiques testés. **Le tableau 7** montre la fréquence de ces résistances.

**Tableau 7** : Profil de résistance de l'*Acinetobactersp*.

Antibiotique	Résistance (%)
TIC	93.93
PIP	100
CAZ	100
CIP	100
IPM	100
AK	20.16
CT	98.82
LVX	100
TOB	100



## Résultats et Discussion

Dans notre étude, la résistance à la PIP, CAZ, CIP, IPM, LVX, et TOB est 100%.

L'imipénème a été pendant des années considéré comme « gold standard » dans le traitement des infections à *A. baumannii* mais nos chiffres montrent une résistance plus élevée (100%) que dans les données relevées de 9<sup>ème</sup> rapport national (25,9%) (**surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques, 2008**). Ainsi 37% de souches ont été résistantes à IPM selon l'étude réalisée par **Arsalane et al, 2010**. Le pourcentage 20,16% est celui souches résistantes aux AK est liée à l'acquisition d'enzymes modificatrices (**Elouennas et al, 2001**).

### 3-*Pseudomonas aeruginosa*



**Figure 18** : Résultat de l'antibiogramme de *Pseudomonas aeruginosa*.

**Tableau 8** : Profil de résistance du *Pseudomonas aeruginosa*.

Antibiotique	Résistance (%)
CIP	0
SXT	0
GN	0
CAZ	52
IPM	0
AK	0
FOS	42.5
PIP	0
CT	0

Le *Pseudomonas aeruginosa* a montré une résistance intermédiaire à la céftazidime dans 52% des cas et FOS dans 42,5% des cas. Par ailleurs, toutes les souches étaient sensibles à l'imipénème et l'amikacine et les autres antibiotiques testés.

### 4-*Escherichia coli*



**Figure 19 :** Résultat de l'antibiogramme d'*E. coli*.

**Tableau 9:** Profil de résistance de l'*Escherichia coli*.

Antibiotique	Résistance (%)
AMX	100
AMC	55
CF	52
CTX	52
CRO	52
CIP	52
NOR	66
SXT	60
GN	30
AK	0
IPM	0
CT	0

Le profil de sensibilité aux antibiotiques des différents germes isolés a montré un taux de résistance élevé pour l'amoxicilline (100%) plus important pour l'association amoxicilline-acide clavulanique, le taux de résistance était de 55%. Le taux de résistance aux céphalosporines de troisième génération ainsi que pour la ciprofloxacine a été de l'ordre de 52%. Les aminosides gardent une bonne activité sur le germe, avec une sensibilité de 100% pour l'Amikacine et 30 % pour la gentamicine.



## Résultats et Discussion

---

### *5-Klebsiellapneumoniae*

**Tableau 10:** Profil de résistance de *Klebsiella pneumoniae*.

Antibiotique	Résistance (%)
AMX	100
AMC	77
CF	82
NOR	21
CTX	66
CAZ	73
CIP	6
GN	40
SXT	6
AK	0
IPM	0
CT	0

La résistance des souches de *Klebsiella pneumoniae* était de 77% pour l'association amoxicilline-acide clavulanique, 73% pour les céphalosporines de troisième génération et de 6% pour la ciprofloxacine. Concernant les aminosides, le *Klebsiella pneumoniae* était sensible dans 60% pour la gentamicine et 100% pour l'amikacine. Toutes les souches étaient sensibles à l'Imipénème et à la Colistine. La résistance est très importante pour Amoxicilline avec 100.%

### III. Statistiques des données de l'archive 2016-2017:

#### 1-Répartition des prélèvements selon le service hospitalier

Durant la période allant du premier janvier 2016 au 30 avril 2017, 417 échantillons de nature différente, ont été analysés au laboratoire de bactériologie. Ces échantillons étaient prélevés chez des patients hospitalisés dans le service de réanimation. Cela constitue 5% du total des prélèvements reçus par ce laboratoire d'analyse.

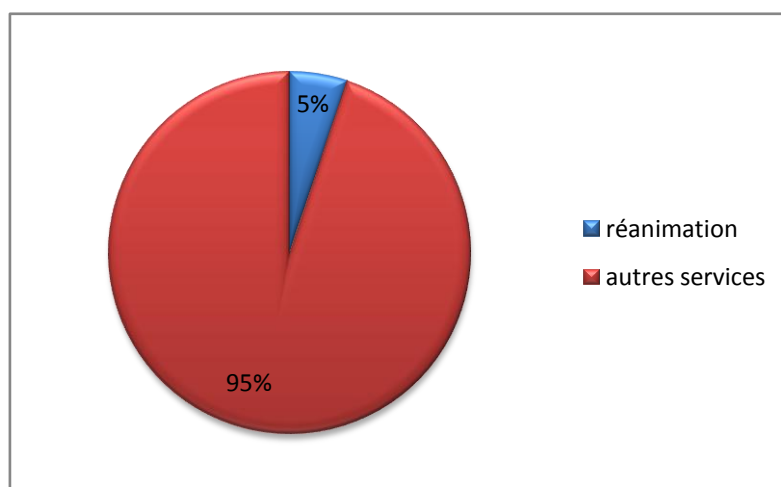
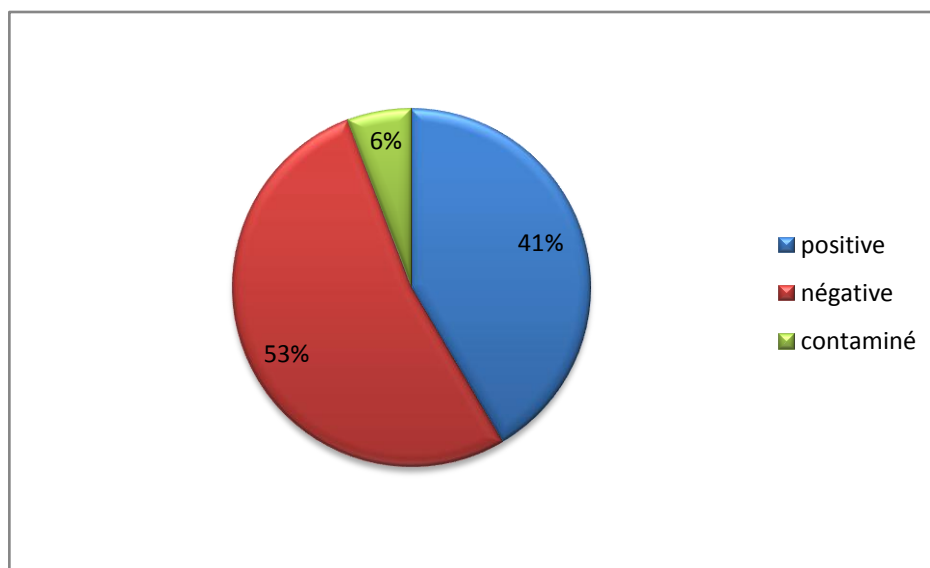


Figure 20 : Répartition des prélèvements reçus selon le service hospitalier.

#### 2-Répartition des prélèvements selon la positivité

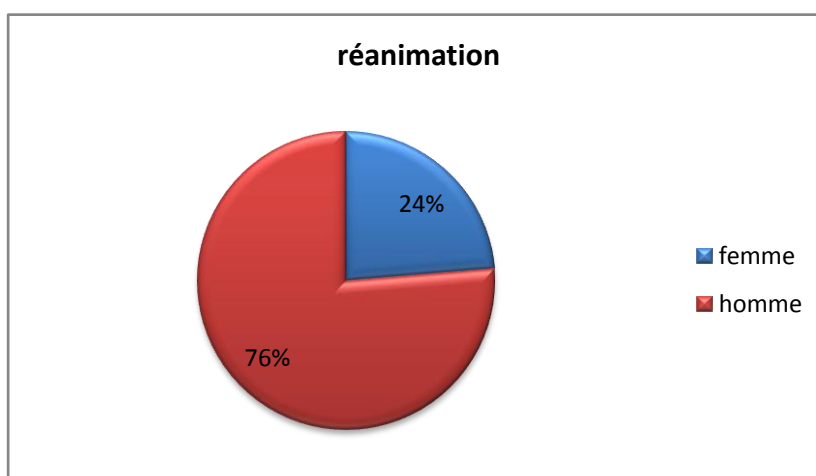
Sur 417 prélèvements analysés, 173 prélèvements se sont révélés positifs, soit un taux de 41% alors que 53% se sont révélés négatifs.



**Figure 21** : Répartition des prélèvements au service de réanimation selon leur culture.

Nous constatons aussi, que 24 prélèvements se sont révélés contaminés. Un prélèvement est déclaré comme contaminé si nous isolons 3 germes et plus. Les principales causes de la contamination est le manque d'hygiène qui engendre l'inoculation des bactéries de l'environnement hospitalier qui ne sont pas en relation avec l'infection mais qui peuvent coloniser le malade, surtout les immunodéprimés et provoque chez lui une infection nosocomiale (zohoum et al, 2012).

### 3-Répartition des cas infectés selon le sexe



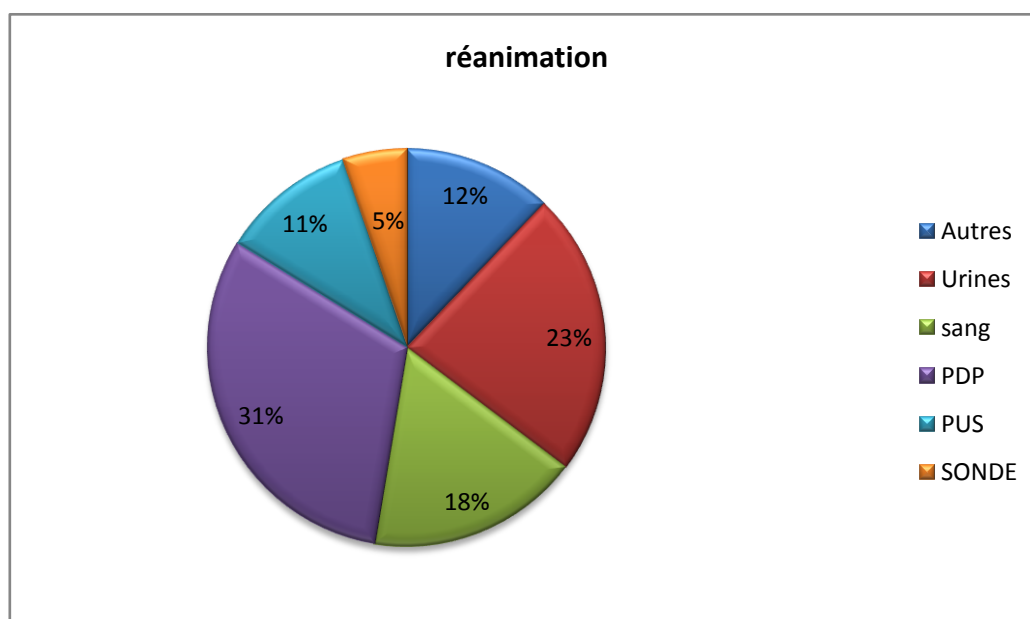
**Figure 22** : Répartition par tranche de sexe.

## Résultats et Discussion

La répartition des infections nosocomiales est variée selon le sexe des patients. Que 173 patients se répartissent en 132 hommes (76%) et 41 femmes (24%).

Les hommes apparaissent plus infectés que les femmes. D'autres études antérieures ont apportées la prédominance du sexe male (**Bendadi, 2012 ; RAISIN, 2014**).

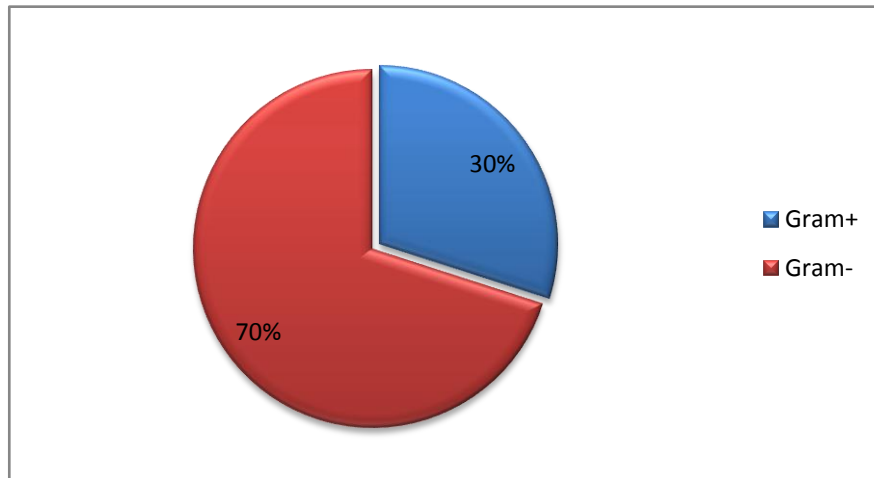
### 4-Répartition des cas infectés selon le type d'échantillon



**Figure 23 :** Répartition selon les types des échantillons.

La répartition des IN est aussi variée selon le type de prélèvement que : le PDP représente le prélèvement majeure avec 31%, les urines 23%, hémoculture 18%, pus 11%, sonde 5% et autres prélèvements (LCR, crachat...etc.) représentent 12%.

### 5- Répartition des isolats selon le Gram



**Figure 24:** Répartition des isolats selon le type de Gram.

Selon la figure, les bactéries à Gram négatif occupent la première place avec 70% dans le service de réanimation par contre des bactéries à Gram positif isolées avec 30%.

Bacilles à Gram positif représentent 60 à 70% des agents responsables d'infections nosocomiales (**Espinasse et al, 2010**).



## **Conclusion**

## Conclusion

---

### Conclusion :

Les infections nosocomiales sont un indicateur d'une qualité médiocre des lieux. Leur maîtrise accroît la crédibilité de la structure hospitalière. Elles admettent des facteurs de risque multiples ; certains de ces facteurs peuvent être évités grâce à la surveillance et à la prévention.

Ces activités de collecte de données, de surveillance, de stratégies de lutte doivent être menées dans chaque structure de santé sous l'égide d'un comité de lutte contre les infections nosocomiales, qui est un instrument fondamental pour améliorer la qualité dans un hôpital. Ce travail nous a permis de montrer que sur 417 échantillons cliniques (urines, hémoculture, LCR...etc.) récoltés dans les services de réanimation du l'hôpital militaire Constantine, 173 étaient infectés.

L'analyse bactériologique de différents échantillons cliniques variés entre monomicrobiennes et polymicrobiennes, révèle par ordre de fréquence les Gram négatif comme étant les germes les plus fréquemment isolées par rapport aux isolats à Gram positifs.

L'identification de 197 souches bactériennes isolées montre la prédominance des entérobactéries suivit par les staphylocoques et le genre *Acinetobacter* puis les *Pseudomonas*.

La majorité des souches isolées présentent une résistance accrue vis à vis les antibiotiques testés. L'identification des souches des staphylocoques et des entérobactéries par les méthodes conventionnelles et la mise en évidence de leurs résistances aux antibiotiques ont révélé une fréquence importante des souches multi-résistantes à divers antibiotiques spécifiquement aux  $\beta$ - lactamines (pénicilline, oxacilline), aux cephalosporines (CF, CTX) utilisés en antibiothérapie à l'hôpital militaire Constantine.

La pénicilline a montré des activités sur la totalité des espèces à Gram positifs, cet antibiotique demeure la molécule de choix contre les infections à staphylocoques.

L'imipénème, reste l'antibiotique le plus régulièrement actif sur la majorité des bacilles à Gram négatifs isolées.

L'étude du profil d'antibio-résistances des souches des *Pseudomonas* isolées possèdent une résistance impertinente aux antibiotiques (CAZ et FOS). *Acinetobacter* est actuellement multi-résistances à plusieurs antibiotiques entre autres (TIC, CAZ, CIP, IPM).

La survenue d'infection nosocomiale augmente la morbi-mortalité des patients.

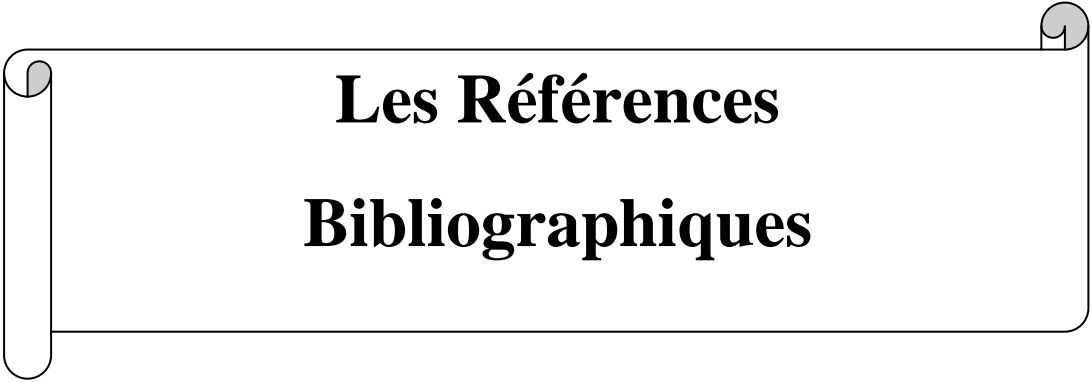
L'émergence et la découverte de germes de plus en plus résistants compliquent la gestion des malades et des infections nosocomiales.

## Conclusion

---

Le principal moyen de lutte contre ces infections est la sensibilisation continue des personnels, en insistant sur l'intérêt du lavage des mains.





**Les Références**  
**Bibliographiques**

## Les références bibliographiques :

**1-Baudry, C et Brezellec, H. (2006).** Cahiers du préparateur en pharmacie, Microbiologie Immunologie. 2ème édition. Éditions : Porphyre. 61p.

**2-Ducel, G (2008).**prévention des infections nosocomiales. Guide pratique 2ème édition. Organisation mondiale de la santé.

**3-El marfi, A (2014).** Les infections nosocomiales au service de réanimation polyvalente A1. Mémoire de doctorat : faculté de médecine et de pharmacie. Casablanca : université de sidi Mohammed ben Abdellah, 8p.

**4- Elounnas, M (2001).** Infection à *Acinetobacter* en milieu hospitalier. Biologie et infectiologie, 2 (1), 5-13p.

**5-Espinasse F, Bernard P, Brigitte C.B (2010).** Risques infectieux associées aux dispositifs invasifs. Revue francophone des laboratoires - novembre 2010 - N°426.

**6-Eyquem, A., Aloufet,J. et Montagnier, L (2000).** Traité de microbiologie clinique : deuxième mise à jour et compléments, Italie. 30p.

**7-Malek, K (1996).** Santé publique-Médecine légale. Médecine du travail. Paris : lavoisier,48 (2), 45.

**8-Marco, L (2007).** Revue scientifique semestrielle, Management de la santé, nouvelles perspectives, histoire et sciences de gestion. Éditions l'Harmattan.15-16.

**9-Mchich, A (2002).** Les infections nosocomiales a propos de 55 cas colligent au Maroc. Mémoire de doctorat : département pharmacie. Dakar : université Cheikh Anta Diop.11-14.

**10-Ministère du travail, de l'emploi et de la santé (2010).** Infections Nosocomiales : Direction générale de l'offre de soins- Bureau qualité et sécurité des soins. 3p.

**11-Misset, B., Timsit, JF., Dumay, MF., Garrouste-Orgeas, M et Chalfine, A (2004).**A continuous quality improvement program reduces nosocomial infection rates in the ICU. Intensive Care Med. 30:395–400.

- 12-Munnet, T (2011).** Les infections nosocomiales : l'importance d'un suivie épidémiologique et de l'identification rapide des bactéries en couse. Mémoire de doctorat : faculté de pharmacie. Grenoble : université Joseph Fourier. 18.
- 13-Nouciel, C (2005).** Bactériologie médicale. Pari : Masson. 42.
- 14- Otto, M (2012).***Staphylococcal* infections: mechanisms of biofilm maturation and detachment as critical determinant of pathogenicity. Review of Medicine. 64:p.1-14.
- 15-Pbert, F (2003).** Maladies infectieuses toutes les pathologies des programmes officiels des études médicales ou paramédicales. Paris : Heures de France. p592.
- 16-Perry, J., Staby, J. et lory, S (2004).**Microbiology. Paris :Dunod. 780p.
- 17- Pilly, E (2004).** Maladies infectieux et tropicale. CMIT, 19 (2), 780.
- 18-Popi,M (2003).** Maladies infectieuses. Paris: vivactus plus. 350p.
- 19-Quassimi, L (2010).**Épidémiologie des infections nosocomiales en milieu de réanimation. Mémoire de doctorat : medecine et pharmacie. Casablanca : université de sidi Mohammed ben Abdellah. 13-16p.
- 20- Qayyum, S., Sattar., et Waqas, B (2010).** Hospital acquired infections. Knowledge about it and its preventions. Professional Med j, 17 (2) ,168-173.
- 21- Rahal, K (2013).** Les antibiotiques. Alger : place centrale Ben Aknoun.
- 22- Toudeft, F., Aridj, B. et Bellil, L (2012).**surveillance épidémiologiques des infections nosocomiales au sein du CHU de Tizi-Ouzou, Algérie.
- 23- Zerouali, Z (2012).** Profile épidimiologique et bactériologique des infections nosocomiales. Mémoire de doctorat en pharmacie : medecine et de pharmacie. Rabat : université mohamedV. p39-49.
- 24- Zohoum, A., Dao, I., Karfo, R. et Boust, M (2012).** Méningite nosocomiale post opératoire à *Acinetobater bnoumannii* multi résistant et neurochirurgie : à propos d'un cas. Pathologie biologie, 60 (4), p 6-8.

## Les références électroniques:

**1- Bendadi, A (2012).** Profil épidémiologique de l'*Acinetobacter boumannii* au niveau des services de réanimation du Chu Hassan II. Mémoire pour l'obtention du doctorat en médecine. Fes : université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Disponible sur : [http://scolarite.fmp-usmba.ac.ma/cdim/mediatheque/memoires/e\\_memoires/12-12.pdf](http://scolarite.fmp-usmba.ac.ma/cdim/mediatheque/memoires/e_memoires/12-12.pdf). consulté le :03/06/2017.

**2- Bombeke, F (2008).** Pharmacologie et Pharmacothérapie. Mémoire pour l'obtention du doctorat en médecine : Unité de Pharmacologie Cellulaire et Moléculaire. Louvain : Université catholique, 39p.

**3-CASFM (2012).** Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. <http://www.sfm.asso.fr/>.

**4-Delmont, J (2016).** Maladies infectieuses tropicales. Édition web : mise à jour août 2016. Disponible sur : [www.infectiologie.com](http://www.infectiologie.com). Consulté le 20/05/2017.

**5-Fomba, M (2006).** Rôle pathogène et sensibilité aux antibiotiques des *Acinetobacter* et *Staphylococcus* à coagulase négative. Mémoire pour l'obtention d'un grade de docteur en pharmacie. Mali : université de Bamako. 95p. disponible sur : <http://www.keneya.net/fmpos/theses/2006/pharma/pdf/06P61.pdf>. Consulter le: 03/05/2017.

**6-Legault, D (2002).** L'Avant-garde. Le journal des soins infirmiers du CHUM, 5 (1), printemps 2004.

**7- Olymata, G (2007).** Utilisation des méthodes biométriques dans l'identification de quelques bacilles à Gram négatif. Mémoire pour l'obtenir le grade de docteur en pharmacie. Dakar : université cheikh AntaDiop. P 120. disponible sur : <http://www.microcsb.net/IMG/pdf/doc-59.pdf> . Consulter le: 03/05/2017.

**8-Pozzetto, B (2009).** Microorganismes responsables d'infection nosocomiales. Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux. Saint Etienne, CCLIN sud Est. P : 10. Disponible sur : [http://ccclin-sudest.chu-lyon.fr/Doc\\_Reco/guides/FCPRI/IAS/IAS\\_microorganismes.pdf](http://ccclin-sudest.chu-lyon.fr/Doc_Reco/guides/FCPRI/IAS/IAS_microorganismes.pdf). Consulté le : 30/04/2017.



# **LES ANNEXES**

## **ANNEXE01: Milieux de culture**

### **Gélose nutritive**

#### **Composition :**

Extrait de viande : ..... 1g/l

Extrait de levure : .....2g/l

Peptone:.....5g/l

Nacl :.....5g/l

Agar: .....15g/l

pH =7.3

### **Gélose au sang frais**

#### **Composition :**

Mélange spécial de peptones :....23g/l

Amidon :.....1g/l

Nacl :.....5g/l

Agar :.....10g/l

Sang de mouton :.....50ml

pH =7.3

#### **Préparation :**

**1-** Liquifier la base au bain marie bouillant.

**2-** Attendre son refroidissement à 45°C.

**3-** Y ajouter stérilement, à l'aide d'une pipette pasteur, la quantité de sang nécessaire pour obtenir une concentration finale en sang 5%.

**4-** Homogénéiser en faisant rouler le tube entre les mains, en évitant la formation des bulles d'air.

**5-** Couler en boîte de pétri.

## **Gélose au sang cuit**

### **Composition :**

Mélange spécial de peptones :.....23g/l  
Amidon :.....1g/l  
Nacl :.....5g/l  
Agar :.....10g/l  
Sang de mouton :.....50ml

pH =7.3

### **Préparation :**

- 1- Liquéfier la base au bain marie bouillant.
- 2- Attendre son refroidissement à 45°C.
- 3- Y ajouter stérilement, à l'aide d'une pipette pasteur, la quantité de sang nécessaire pour obtenir une concentration finale en sang 5%.
- 4- Homogénéiser en faisant rouler le tube entre les mains, en évitant la formation des bulles d'air.
- 5- Porter le milieu additionné de sang au bain d'eau à 75°C pendant environ 10 minutes.

## **Gélose Hektoen**

### **Composition :**

Peptone.....12g/l  
Extrait de levure.....3g/l  
Nacl.....5g/l  
Sels biliaires.....9g/l  
Thiosulfate de sodium.....5g/l  
Citrate de fer ammoniacal.....1.5g/l  
Lactose.....12g/l  
Salicine.....2g/l  
Saccharose.....12g/l  
BBT.....0.002g/l  
Fuchsine acide.....0.1g/l

Agar.....14g/l

### **Gélose Mueller-Hinton (MH)**

#### **Composition :**

Infusion de viande de bœuf.....300ml

Peptone de caséine.....17.5g/l

Amidon de maïs.....1.5g/l

Agar.....17g/l



## ANNEXE 02 : Les Réactifs

### Violet de gentiane

#### Composition :

Phénol.....	2.0 g
Violet de gentiane.....	1.0 g
Éthanol à 90°.....	10 ml
Eau distillée.....	100 ml

### Lugol

#### Composition :

Iodure de potassium.....	2.0 g
Iode métalloïde.....	1.0 g
Eau distillée .....	300 ml

### Fuschine de ziehl

#### Composition :

Fuchine basique.....	1.0g
Phénol.....	5.0 g
Éthanol à 90°.....	10 ml
Eau distillée .....	100 ml

### Alcool 90°.

### Huile à immersion.

### -les Réactifs utilisés pour API 20 E :

Huile de vaseline stérile.

Voges - proskauer : vp1 et vp2.

KOVACS.

Tryptophane désaminase : TDA.

Nitrate réductase : NIT1 et NIT2.

## ANNEXE 03 : Tableau de lecture API 20 E

Tests	Réaction/Enzymes	Résultats	
		Négatif	Positif
<b>ONPG</b>	B-galactosidase	incolore	jaune
<b>ADH</b>	Arginine dihydrolase	jaune	Rouge/orangé
<b>LDC</b>	Lysine décarboxylase	jaune	Rouge/orangé
<b>ODC</b>	Omithine décarboxylase	jaune	Rouge/orangé
<b>CIT</b>	Utilisation du citrate	Vert pale/jaune	Bleu-vert/bleu
<b>H2S</b>	Production d'H2S	Incolore/grisâtre	Dépôt noir/fin liseré
<b>URE</b>	urease	jaune	Roge/orangé
<b>TDA</b>	Tryptophane désaminase	TDA/immédiat	
		Jaune	marron rougeâtre
<b>IND</b>	Production d'indole	Kovacs/2min	
		Incolore/jaune	rose
<b>VP</b>	Production d'acétoine	VP1+VP2/10min	
		Incolore/rose pale	rose/rouge
<b>GEL</b>	gélatinase	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
<b>GLU</b>	Fermentation/oxydation de Glucose	bleu	jaune
<b>MAN</b>	Fermentation/oxydation de manitol	bleu	jaune
<b>INO</b>	Fermentation/oxydation d'inositol	bleu	jaune
<b>SOR</b>	Fermentation/oxydation de sorbitol	bleu	jaune
<b>RHA</b>	Fermentation/oxydation de rhamnose	bleu	jaune
<b>SAC</b>	Fermentation/oxydation de saccharose	bleu	jaune
<b>MEL</b>	Fermentation/oxydation	bleu	jaune

	de melebiose		
<b>AMY</b>	Fermentation/oxydation d'amygdaline	bleu	jaune
<b>ARA</b>	Fermentation/oxydation d'arabinose	bleu	jaune
<b>No2/N2</b>	Nutrate réductase	Nit1 + Nit2/ 2 min Incolore <span style="float: right;">Rouge</span>	

TABLEAU D'IDENTIFICATION / IDENTIFICATION TABLE / PROZENTABELLE / TABLA DE IDENTIFICACION / TABELLA DI IDENTIFICAZIONE / QUADRO DE IDENTIFICACAO

ΠΙΝΑΚΑΣ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ / IDENTIFIKATIONSTABELL / IDENTIFIERINGSTABELL / TABELA IDENTYFIKACYJNA

% de réactions positives après 18-24 / 48 h à 36°C ± 2°C / % of positive reactions after 18-24 / 48 hrs. at 36°C ± 2°C / % der positiven Reaktionen nach 18-24 / 48 Std. bei 36°C ± 2°C /  
 % de las reacciones positivas después de 18-24 / 48 h a 36°C ± 2°C / % di reazioni positive dopo 18-24 / 48 ore a 36°C ± 2°C / % de reações positivas após 18-24 / 48 h a 36°C ± 2°C /  
 % θετικών αντιδράσεων μετά από 18-24 / 48 ώρες στους 36°C ± 2°C / % pozytywnych reakcji po 18-24 / 48 godzinach w 36°C ± 2°C

API 20 E	ONPG	ADH	LDC	ODC	CT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	IND	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX	NO2	N2	MCB	M4C	GFO	DFE
<i>Bifidobacterium</i>	100	0	0	85	25	0	0	0	0	0	0	100	100	0	1	99	0	92	99	100	0	100	0	100	100	100	
<i>Bifidobacterium</i>	99	89	0	99	75	0	0	0	0	83	0	100	100	10	0	0	100	0	100	1	0	99	0	87	100	100	
<i>Clostridium</i>	99	99	0	0	75	0	0	0	0	0	0	100	93	0	0	0	0	0	100	0	0	100	0	87	100	100	
<i>Clostridium</i>	50	45	0	89	75	81	1	0	4	0	0	100	100	1	100	100	1	91	99	99	0	100	0	95	100	100	
<i>Clostridium</i>	90	24	0	0	75	75	1	0	1	0	0	100	99	25	99	99	82	40	99	0	0	100	0	95	100	100	
<i>Citrobacter</i>	99	75	0	100	97	0	1	0	99	0	0	100	100	25	99	99	1	1	98	89	0	100	0	95	100	100	
<i>Citrobacter</i>	99	2	0	100	25	0	1	0	99	0	0	100	100	1	99	99	80	99	89	0	0	100	0	95	100	100	
<i>Citrobacter</i>	100	50	0	1	80	30	0	0	1	0	0	100	100	0	95	100	1	0	25	100	0	100	0	98	100	100	
<i>Edwardsiella</i>	0	0	100	99	50	94	0	0	99	0	0	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	98	100	100	
<i>Edwardsiella</i>	0	0	100	99	1	75	0	0	99	0	0	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	98	100	100	
<i>Enterobacter</i>	99	0	99	98	82	0	1	0	0	85	0	99	99	99	99	99	99	99	99	99	0	100	0	97	100	100	
<i>Enterobacter</i>	99	25	0	99	40	0	0	0	0	75	0	100	100	0	1	100	89	99	99	99	0	100	0	92	100	100	
<i>Enterobacter</i>	99	80	0	99	80	0	0	0	0	75	0	100	100	0	99	100	1	99	99	99	0	100	0	100	100	100	
<i>Enterobacter</i>	100	25	0	99	80	0	0	0	0	10	0	100	99	25	100	0	99	0	100	0	0	100	0	95	100	100	
<i>Enterobacter</i>	100	75	0	99	99	0	0	0	0	83	0	100	100	0	1	100	1	1	100	0	0	100	0	95	100	100	
<i>Enterobacter</i>	98	82	1	92	90	0	1	0	0	85	0	99	99	12	90	85	96	90	99	99	0	100	0	90	100	100	
<i>Enterobacter</i>	99	0	32	100	75	0	99	0	0	80	0	100	99	23	0	88	99	40	99	99	0	100	0	92	100	100	
<i>Enterobacter</i>	99	0	0	99	1	0	0	0	0	2	0	100	97	0	88	99	40	99	99	99	0	100	0	96	100	100	
<i>Enterobacter</i>	100	96	0	91	94	0	1	0	25	91	10	100	100	75	8	99	99	99	99	99	0	100	0	95	100	100	
<i>Enterobacter</i>	90	1	74	70	0	1	3	0	88	0	0	99	98	1	91	82	36	75	3	99	0	100	0	95	100	100	
<i>Escherichia</i>	26	1	45	20	0	1	1	0	50	0	0	99	90	1	42	30	3	3	1	70	0	98	0	5	100	100	
<i>Escherichia</i>	96	1	99	100	1	0	0	0	99	0	0	100	99	1	0	87	0	1	99	99	0	100	0	93	100	100	
<i>Escherichia</i>	100	0	1	100	1	0	0	0	99	0	0	100	100	0	0	99	25	0	99	99	0	100	0	99	100	100	
<i>Escherichia</i>	100	30	50	0	0	0	0	0	99	0	0	100	100	0	1	95	7	95	95	99	0	100	0	100	100	100	
<i>Escherichia</i>	98	0	0	75	0	0	0	0	99	0	1	99	99	0	0	1	0	1	50	1	0	100	0	60	100	100	
<i>Erwinella</i>	98	0	0	99	50	10	0	0	95	1	0	99	99	0	0	1	99	0	25	99	0	100	0	85	100	100	
<i>Hafnia</i>	50	0	99	99	1	0	1	0	10	0	0	99	98	0	1	1	1	0	0	25	99	0	100	0	100	100	
<i>Hafnia</i>	50	0	99	99	1	0	1	0	10	0	0	99	98	0	1	1	1	0	0	25	99	0	100	0	100	100	
<i>Klebsiella</i>	100	0	99	89	89	0	85	0	100	65	0	100	100	99	100	100	100	100	100	100	0	100	0	0	100	100	
<i>Klebsiella</i>	99	0	80	0	88	0	78	0	99	80	0	100	100	99	100	99	99	100	100	100	0	100	0	0	100	100	
<i>Klebsiella</i>	94	18	25	1	18	0	1	0	1	0	1	99	96	57	65	53	20	80	97	85	0	100	0	0	100	100	
<i>Klebsiella</i>	99	0	73	0	86	0	75	0	0	0	0	100	99	99	99	99	99	99	99	99	0	100	0	0	100	100	
<i>Klebsiella</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	99	100	90	90	75	75	1	99	10	0	100	0	0	100	100	
<i>Klebsiella</i>	100	0	99	6	52	0	0	0	75	0	0	99	99	99	99	99	100	100	100	100	0	100	0	94	100	100	
<i>Klebsiella</i>	95	0	25	99	60	0	0	0	80	0	0	100	99	0	25	93	89	99	99	99	0	100	0	100	100	100	
<i>Kluyvera</i>	99	0	0	0	0	0	1	0	99	0	1	100	99	0	2	100	66	99	99	100	0	100	0	100	100	100	
<i>Lactera</i>	97	0	0	40	0	0	0	0	15	1	0	100	1	0	0	0	100	99	0	0	0	90	0	0	100	100	
<i>Morganella</i>	1	0	10	98	1	1	99	93	99	0	0	99	0	0	0	0	1	0	0	0	0	88	0	85	100	100	
<i>Morganella</i>	85	1	0	0	13	0	1	0	1	9	1	100	99	1	26	1	98	25	59	61	0	85	0	85	100	100	
<i>Parvula</i>	99	1	0	0	99	0	1	0	53	62	4	100	99	36	82	90	98	81	99	99	0	100	0	85	100	100	
<i>Parvula</i>	99	1	0	0	21	0	1	0	1	86	15	100	99	34	1	97	93	23	65	97	0	100	0	85	100	100	
<i>Parvula</i>	86	1	0	0	29	0	1	0	69	1	1	99	100	10	32	99	72	89	99	99	0	100	0	85	100	100	
<i>Parvula</i>	1	0	0	99	90	75	99	98	1	1	82	98	0	0	0	0	0	0	0	0	0	93	0	95	100	100	
<i>Proteus</i>	1	0	0	0	1	20	100	99	0	0	50	99	0	0	0	0	100	0	1	0	0	99	0	85	100	100	
<i>Proteus</i>	1	0	0	0	12	83	99	99	92	0	74	99	1	1	0	1	89	0	66	1	0	100	0	94	100	100	
<i>Proteus</i>	1	0	0	0	80	0	0	0	100	99	0	99	1	1	0	0	1	0	0	1	0	100	0	96	100	100	
<i>Providencia</i>	1	1	0	0	74	0	99	99	90	0	0	98	82	78	1	50	25	0	40	1	0	98	0	94	100	100	
<i>Providencia</i>	1	0	0	0	85	0	30	98	95	0	0	98	3	80	0	0	15	0	0	0	0	100	0	85	100	100	
<i>Providencia</i>	100	0	0	0	50	0	0	1	0	89	0	100	100	0	98	99	100	97	100	98	0	100	0	6	100	100	
<i>Salmonella</i>	98	75	97	98	75	99	0	1	0	0	0	100	99	0	99	99	1	78	0	99	0	100	0	99	100	100	
<i>Salmonella</i>	0	15	99	99	6	64	0	0	0	0	0	100	99	0	98	99	0	20	0	0	0	100	0	95	100	100	
<i>Salmonella</i>	0	1	100	1	0	25	0	0	0	0	0	100	100	0	0	1	0	0	0	100	0	100	0	0	100	100	



**Isolement et caractérisation de quelques bactéries responsables d'infections nosocomiales à l'hôpital militaire de Constantine. Étude rétrospective de 16 mois.**

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en : ÉCOLOGIE MICROBIENNE.

L'infection nosocomiale bactérienne étant l'une des principales causes de morbidité et de mortalité. Le but de notre travail est l'isolement, l'identification et l'étude de l'antibiorésistance des souches bactériennes responsables de ce type d'infections isolées à partir de prélèvements effectués sur les patients admis au service de réanimation.

Nous avons réalisé une étude rétrospective portant sur 173 patients hospitalisés au sein du service de réanimation de l'Hôpital Militaire de Constantine, sur une période de 17 mois (1 janvier 2016 jusqu'à 30 avril 2017).

Au cours de cette période, nous avons colligé 197 isolats dont 70 % étaient des bacilles à Gram négatif et 30% des cocci à Gram positif. Les espèces à Gram négatif les plus fréquemment isolées étaient *Acinetobacter* 33,33 %, et *Pseudomonas* 21,01 %. Les *Entérobactéries* représentaient 45.65 % avec prédominance de *E. coli* (28,57 %), *Klebsiella pneumoniae* 23,8 % et *Enterobacter cloacae* 11,11 %.

Les cocci à Gram positif les plus fréquemment isolées étaient Staphylocoque 30% avec la prédominance de *Staphylococcus aureus* 81,48 % et *Staphylococcus epidermidis* 18,53 %.

La majorité des souches isolées présentent une résistance accrue vis à vis les antibiotiques testés principalement aux bêta-lactamines.

L'imipenème, colistine et amikacine restent les antibiotiques les plus régulièrement actifs sur les bacilles à Gram négatifs isolées.

La lutte contre les bactéries multirésistantes s'intègre dans une politique globale de prévention des infections et repose, en particulier, sur la prévention de la transmission croisée nosocomiale et la réduction de la pression de sélection par un usage rationnel des antibiotiques.

**Mots clés :** Infection nosocomiale, Réanimation, isolement, identification, antibiorésistance.

**Laboratoire de recherche :** laboratoire de bactériologie de l'hôpital militaire.

Jury d'évaluation :

**Président du jury :** Mme. BOUBEKRI Karima (Maitre de conférences A -UFM Constantine).

**Rapporteur :** Mme. GUERGOURI Ibtissem (Maitre assistante A - UFM Constantine).

**Co-encadreur:** Dr. GHIT Oualid (Maitre assistant - hôpital militaire Constantine).

**Examineurs :** Mme. OULMI Lamia (Maitre de conférences B-UFM Constantine).

**Date de soutenance :** 19/06/2017