



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 والحياة

Département : Microbiologie

قسم : ميكروبيولوجيا

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Ecologie et Environnement

Spécialité : Ecologie Microbienne

Intitulé :

Les infections du site opératoire

Préparé par : Touil Boutheina

Le : 11/10/2020

Zater Fatima Zohra

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : Mme Oulmi L. (Maître de Conférences- UFM Constantine 1).

Rapporteuse : Mme Gaci M. (Maître Assistante- UFM Constantine 1).

Examinatrice : Mme Arabet D. (Maître de Conférences- UFM Constantine 1).

*Année universitaire
2019- 2020*

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 encadrante M^{me} Gaci M. pour sa disponibilité, son aide, son soutien et ses précieux conseils qui nous ont permis de mener à bien ce travail.

Nous remercions M^{me} Oulmi L. pour avoir accepté de présider ce jury.

Nos remerciements vont également à l'égard de M^{me} Arabet D. pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous tenons également à remercier tous nos professeurs qui nous ont imbibés de leur savoir et leur passion.

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

Merci à tous...

Dédicaces

C'est avec un grand plaisir que je dédie ce modeste travail :

À l'être le plus cher de ma vie : ma mère.

À mon père qui nous a quittés déjà dix ans.

À mes chers frères Midou, Youcef et ma sœur Hind.

À mes besties Baraa, Manel et Nina.

Et à tous ceux que j'ai connus durant mes études.

Fatima

En ce moment particulier dans ma vie, je tiens à dédier ce modeste travail

A mon cher papa, école de mon enfance, qui a été mon ombre durant toutes les années des études et à mis à ma disposition tous les moyens nécessaires pour que je réussisse, qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner l'aide et à me protéger

A 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. Sois fière de moi aujourd'hui et vois à travers ce travail mon amour sincère et ma gratitude profonde. Que dieu te garde et te protège pour moi inchallah.

A ma chère sœur CHOUBEILA

A mes chers frères SKENDER et AYMEN

A mon mari AHMED CHAWKI qui m'a encouragé et m'a donné la force et la volonté de surmonter tous les obstacles et les difficultés

A toute ma famille

A ma promotrice

A tous mes amis et camarades

Boutheina

Résumé

Les infections du site opératoire (ISO) sont des infections nosocomiales (IN) survenant suite à une intervention chirurgicale. Les principaux facteurs de risque impliqués sont l'environnement pré-per- et postopératoires du malade ainsi que de l'équipe soignante, les défenses immunitaires de l'hôte et surtout le niveau de propreté de l'acte chirurgical. Afin de diminuer l'incidence de cette pathologie, il est nécessaire d'en améliorer la détection et la surveillance pour optimiser les mesures et le protocole d'hygiène au bloc opératoire ou salle d'hospitalisation et d'adapter les traitements prophylactiques au niveau du risque correspondant. Tout ceci nécessite une prise en charge pluridisciplinaire, une information éclairée des patients sur ce risque, et une implication consciente de l'ensemble des acteurs de soins. Ce mémoire se focalise sur la classification, la pathogénicité, les facteurs de risque, la prévention, le traitement ainsi que les microorganismes responsables des ISO. Dans toutes les interventions chirurgicales confondues, *Staphylococcus aureus* est la bactérie la plus souvent isolée lors d'ISO (40 %), suivie par les staphylocoques à coagulase négative tel que *S. epidermidis* (10 à 30 %), *Escherichia coli* (8-13 %), les entérocoques (8-12 %), *Pseudomonas aeruginosa* (7-8%), *Enterobacter* spp. (3-7 %), divers streptocoques (4-5 %), *Bacteroides fragilis*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae* (2-4 %) chacun. La fréquence relative de ces différentes bactéries dépend du type de chirurgie. Chez les patients immunosupprimés, on peut voir, au-delà des bactéries classiques, des infections à germes atypiques (mycobactéries, *Nocardia* spp.) ou à champignons (*Candida*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Fusarium*, *Cryptococcus*). Les techniques d'analyses du contenu phénotypique et génomique sont des méthodes nécessaires pour l'identification, la comparaison et le suivi de l'évolution des souches pathogènes, et qui se révèle indispensable à meilleure caractérisation épidémiologique des souches hospitalières pour déterminer l'origine clonale ou non d'une souche. Le chapitre trois de ce présent mémoire traite toutes ces techniques employées.

Mots clés : Infection du site opératoire, Bloc opératoire, Intervention chirurgicale, *Staphylococcus aureus*, Identification.

Abstract

Surgical site infections (SSI) are nosocomial infections (NI) that occur following surgery. The main risk factors developed are the pre-per- and postoperative environment of the patient as well as the nursing team, the host's immune defenses and especially the level of cleanliness of the surgical act. In order to reduce this pathology, it is necessary to improve detection and monitoring to optimize the measures and the hygiene protocol in the operating room or hospital room and to adapt the prophylactic treatments to the level of the corresponding risk. All this requires a multidisciplinary charge, enlightened patient information on this risk, and conscious involvement of all care providers. This thesis focuses on classification, pathogenicity, risk factors, prevention, treatment and the microorganisms responsible of SSI. In all surgical procedures combined, *Staphylococcus aureus* is the bacterium most often isolated during SSI (40 %), followed by coagulase negative staphylococci such as *S. epidermidis* (10 to 30 %), *Escherichia coli* (8-13 %), *enterococci* (8-12 %), *Pseudomonas aeruginosa* (7-8 %), *Enterobacter spp.* (3-7 %), *various streptococci* (4-5 %), *Bacteroides fragilis*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae* (2-4 %) each. The relative frequency of these different bacteria depends on the type of surgery. In immunosuppressed patients, we can see, beyond classic bacteria, infections with atypical germs (*mycobacteria*, *Nocardia spp.*) or fungi (*Candida*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Fusarium*, *Cryptococcus*). The techniques for analyzing the phenotypic and genomic content are necessary methods for the analysis, comparison and monitoring of the evolution of pathogenic strains, and which is essential for a better epidemiological characterization of hospital strains to determine the origin. Clonal or not of a strain. Chapter three of this memo discusses all of these techniques employed.

Keywords: Surgical site infection, Operating room, Surgical intervention, *Staphylococcus aureus*, Identification.

الملخص

التهابات ما بعد العمليات الجراحية هي عدوى المستشفيات التي تحدث بعد الجراحة. عوامل الخطر الرئيسية التي ينطوي عليها الأمر هي بيئة ما قبل، أثناء وبعد الجراحة وكذلك فريق التمريض والدفاعات المناعية للمريض وخاصة مستوى نظافة العملية الجراحية. من أجل التقليل من حدوثها، من الضروري تحسين اكتشافها ومراقبتها لتحسين الإجراءات وبروتوكول النظافة في غرفة العمليات أو غرفة المستشفى وتكييف العلاجات الوقائية مع مستوى الخطر. كل هذا يتطلب رعاية متعددة التخصصات، معلومات المريض عن هذا الخطر، وتوعية جميع مقدمي الرعاية. تركز هذه المذكرة على التصنيف وطريقة تطور المرض، عوامل الخطر والوقاية والعلاج وكذلك الكائنات الحية الدقيقة المسؤولة عن التهابات ما بعد العمليات الجراحية. في جميع التدخلات الجراحية مجتمعة، تكون *Staphylococcus aureus* هي البكتيريا التي يتم عزلها في أغلب الأحيان خلال التهابات الموقع الجراحي (40%)، تليها المكورات العنقودية السلبية المخثرة مثل *S. epidermidis* (10 إلى 30%)، *Pseudomonas aeruginosa* (8-13%)، المكورات المعوية (8-12%)، *Enterobacter spp.* (3-7%)، *Bacteroides fragilis*، *Proteus mirabilis*، *Klebsiella pneumoniae* (2-4%) لكل منهما. يعتمد التردد النسبي لهذه البكتيريا المختلفة على نوع الجراحة. عند المرضى الذين يعانون من كبت المناعة، يمكننا رؤية إلى جانب البكتيريا التقليدية، عدوى بالجراثيم غير النمطية (المتفطرات، *Nocardia spp.*) أو الفطريات (*Candida*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Fusarium*, *Cryptococcus*). تعد تقنيات تحليل المحتوى الظاهري والمورثي طرقاً ضرورية لتحديد ومقارنة ومراقبة تطور السلالات المسببة للمرض، وهي ضرورية لتوصيف وبائي أفضل لسلالات المستشفى لتحديد الأصل النسيلي للسلالة من عدمه. يناقش الفصل الثالث من هذه المذكرة كل هذه الأساليب المستخدمة.

الكلمات المفتاحية: التهابات ما بعد العمليات الجراحية، غرفة العمليات، التدخل الجراحي، *Staphylococcus aureus*، تحديد الهوية.

Liste des abréviations

ADH	Arginine Dihydrolase
AIRHH	Association Internationale pour la Recherche en hygiène hospitalière
ADN	Acide Désoxyribonucléique
AFLP	Amplified Fragment-Length Polymorphism
ASA	American Society of Anesthesiologists
ASS	Allocation de Solidarité Spécifique
ATCC	American Type Culture Collection
BCP	Pourpre de Bromocrésol
BET	Bromure d’Ethidium
BGN	Bacilles à Gram Négatif
BGNnF	Bacilles à Gram négatif non Fermentaires
CA-SFM	Conseil d’Administration de la Société Française de Microbiologie
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CES	Certificat d’Etudes Spécialisées
CIT	Cognitive Impairment Test
CLED	Cystine Lactose Electrolyte Déficient
CLIN	Comités de Lutte contre les Infections Nosocomiales
CMI	Concentration Minimale d’Inhibition
DAS	Direction de l’Action Sociale
DO	Densité Optique
ECA	Enterobacterial Common Antigen
EMB	Eosine Methylen Blue
ENA	Ecole Nationale d’Administration
ENSP	Ecole Nationale de Santé Publique
EPIIC	European Prevalance of Infection in intensive Care
HH	Hygiène Hospitalière
IAS	Infection Associée aux Soins
IN	Infections Nosocomiales
INSP	Institut National de Santé Publique
IPA	Institut Pasteur Algérie
ISO	Infection du Site Opérateur
IU	Infections Urinaires

Kb	Kilobase
LDC	Lysine Décarboxylase
LPS	Lipopolysaccharides
mF	millifarad
MNT	Mutuelle Nationale Territoriale
NIT	Nitrate de Potassium
NNIS	National Nosocomial Infections Surveillance
ODC	Ornithine Décarboxylase
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
ONPG	Ortho-Nitrophenyl- β -Galactoside
PAGE	PolyAcrylamide Gel Electrophorsis
PAL	β -Naphtyl Phosphate
PCR	Polymerase Chain Reaction
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA
RFLP	Random Fragments Length Polymorphism
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> Résistant à la Méricilline
SASM	<i>Staphylococcus aureus</i> Sensible à la Méricilline
SDS	Sodium Dodecyl Sulfate
SIDA	Syndrome d'Immunodéficiencie Acquise
TAE	Tris-Acetate-EDTA
TDA	Tryptophane Désaminase
TE	Tris-EDTA
TSI	Triple Sugar Iron
UFC	Unité Formant Colonie
VBH	Virus d'Hépatite B
VHC	Virus d'Hépatite C
VIH	Virus de l'Immunodéficiencie Humaine
VP	Voges-Pouskauer
VRS	Virus respiratoire syncitial

Liste des figures

Figure 1. La classification des ISO.....	5
Figure 2. Les sources d'ISO	10
Figure 3. Les couleurs du pus	43
Figure 4. Les réactions de la catalase	46
Figure 5. Les réactions de la coagulase	47
Figure 6. Le test d'oxydase	47
Figure 7. Les résultats du TSI	48
Figure 8. Le test d'ONPG	49
Figure 9. Le test Citrate de Simmons	50
Figure 10. Le test Mannitol-Mobilité	50
Figure 11. Le test de Décarboxylase	51
Figure 12. La visualisation de bandes d'ADN sur gel d'agarose.....	54
Figure 13. Le principe d'électrophorèse sur gel de polyacrylamide	55

Liste des tableaux

Tableau 1. Caractères biochimiques de <i>S. pneumoniae</i>	29
Tableau 2. Les but de l'examen microscopique.....	41

Table des matières

Remerciments

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Table des matières

Introduction 1

Chapitre 1. Généralités

1. Histoire 2

1.1. Dans le monde 2

1.2. En Algérie 3

2. Définitions 4

2.1. Infections nosocomiales 4

2.2. Infections du site opératoire 5

3. Classification des ISO 5

3.1. Infection superficielle de l'incision 6

3.2. Infection profonde de l'incision 6

3.3. Infection de l'espace de l'incision 6

4. Pathogénicité des ISO 7

4.1. Paramètres déterminants des ISO 7

4.2. Voies de contamination 8

4.3. Sources de contamination 8

4.4. Facteurs de risque 10

4.5. Index de risque NNIS 14

5. Traitements 15

5.1. Traitement curatif 15

5.2. Traitement préventif 15

6. Mesures préventives 16

6.1. Bloc opératoire 16

6.2. Personnel soignant du bloc opératoire 16

6.3. Lavage des mains 17

6.4. Barrières 17

6.5. Patient	17
Chapitre 2. Microbiologies des ISO	
1. <i>Staphylococcus aureus</i>	18
2. Staphylocoques à coagulase négative	19
2.1. <i>S. epidermidis</i>	20
3. <i>Escherichia coli</i>	20
4. <i>Enterococcus</i> spp.	21
5. Autres entérobactéries	23
5.1. Les principales espèces incriminées dans les ISO	24
5.1.1. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	24
5.1.2. <i>Proteus mirabilis</i>	25
5.1.3. <i>Enterobacter cloacae</i>	26
6. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27
7. <i>Streptococcus pneumoniae</i>	28
8. <i>Acinetobacter baumannii</i>	30
9. Mycobactéries	32
10. <i>Nocardia</i> spp.	33
11. Autres microorganismes en cause	34
11.1. <i>Candida</i> spp.	34
11.2. <i>Aspergillus</i>	35
11.3. <i>Mucor</i>	36
11.4. <i>Fusarium</i>	37
11.5. <i>Cryptococcus</i>	37
Chapitre 3. Techniques d'identification des agents pathogènes	
1. Prélèvement	39
1.1. Techniques de prélèvement	39
1.2. Consignes d'acheminement des prélèvements	40
2. Examen microscopique	40
2.1. Examen direct à l'état frais	41
2.2. Examen cytologique « Coloration au bleu méthylène »	41
2.3. Identification microscopique « La coloration de Gram »	42
3. Examen macroscopique	43
3.1. Couleur	43
3.2. Consistance	43
3.3. Odeur	43

4. Culture	44
4.1. Enrichissement	44
4.2. Isolement	44
4.3. Aspect macroscopique des colonies	45
5. Identification biochimique	45
5.1. Tests d'identification biochimique classique	45
5.2. Identification par la galerie API Staph	52
5.3. Identification par la galerie API 20E	52
6. Les techniques de biologie moléculaire	52
6.1. Extraction d'ADN	52
6.2. Détermination de la concentration d'ADN	53
6.3. Électrophorèse sur gel d'agarose	53
6.4. Électrophorèse sur gel de polyacrylamide	54
6.5. Amplification de l'ADN	55
6.6. Purification de l'ADN par chromatographie	57
6.7. Hybridation	57
6.8. Séquençage des gènes	57
6.9. MALDI TOF	58
7. Antibiogramme	58
7.1. La méthode par diffusion	58
7.2. La méthode de dilution	59
7.3. Détermination automatisés de la CMI	59
7.4. Bandelette imprégnées (E-test)	59
Conclusion	60
Références Bibliographiques	62
Annexes	

Introduction

Les infections contractées en milieu hospitalier ou infections nosocomiales (IN) sont le premier plan des évènements indésirables liés aux soins. Parmi ces infections celle du site opératoire constitue une contamination microbienne de la plaie chirurgicale dans les 30 jours suivant l'intervention chirurgicale ou un an s'il s'agit d'un implant (Bernet *et al.*, 2005).

Les infections du site opératoire (ISO) sont toujours constituées un problème important de santé publique par sa fréquence et son retentissement humain et économique (Birgand, 2014).

Les ISO sont une complication chirurgicale qui peut être sévère. Elles limitent le bénéfice potentiel des interventions chirurgicales (OMS, 2002). Parmi ces complications on trouve l'infection qui est le résultat d'interactions complexes entre le mécanisme de défense du patient, le site d'intervention et les bactéries (Ghernout, 2013).

Les ISO constituent la première cause de mortalités et morbidités en chirurgie abdominale propre (Bourrama, 2011). Parmi les microorganismes les plus incriminés dans ces infections, on retrouve *Staphylococcus aureus* du groupe des cocci à Gram positif (Oliveria *et al.*, 2007).

Certaines attitudes au niveau des établissements hospitaliers orientent sur l'ampleur du problème tels que ; l'absence de protocole standards spécifique à la prévention des ISO, notamment les protocoles sur l'anti prophylaxie et préparation cutanées de l'opéré (Pujol *et al.*, 1996).

Ce présent travail est une synthèse bibliographique sur les ISO divisé en trois chapitres : Le premier chapitre est consacré aux généralités sur les ISO en déterminant les divers facteurs du risque favorisant les ISO et résumant l'histoire d'hygiène hospitalière...

Le deuxième chapitre est consacré aux différents germes responsables des ISO.

Le troisième chapitre est consacré aux différentes techniques, phénotypiques ainsi que moléculaires, pour identifier les agents causals.

Chapitre 1

Généralités

1. Histoire d'hygiène hospitalière

1.1. Dans le monde

Le mot hygiène est emprunté du grec *hugieion*, dérivé d'*hugieia* « santé » (Galmiche, 1999). L'hygiène hospitalière (HH) est un thème d'actualité, mais pas du tout nouveau. En effet du moyen âge au début du XIX^{ème} siècle, la mortalité dans les hôpitaux est élevée à cause des germes. Certaines notions d'hygiène et de contagiosité étaient connues (mise en quarantaine, emploi d'essence balsamique, masques protégeant les médecins en visite chez les pestiférés) mais elles étaient souvent mal comprise et mal enseignée (Benhabyles *et al.*, 2012). Mais à partir du XIX^{ème} siècle, des progrès font évoluer la situation :

- En 1847 en Autriche, un médecin obstétricien hongrois Ignac Philippe Semmelweis identifie les fièvres puerpérales et leur caractère contagieux, il établit les probables transmissions des germes par les mains des étudiants en obstétrique. Cela montre donc l'importance de se laver les mains avant d'examiner une femme ou de lui faire des soins (Semmelweis, 1861).
- En 1860, le biologiste et le chimiste Pasteur découvre le rôle des microbes dans les infections hospitalières des plaies et de l'asepsies et donne les bases de l'hygiène (Pasteur, 1864).
- En 1866, utilisation d'acide phénique (base d'antisepsie) sur les plaies et pour la chirurgie et en le pulvérisant dans l'air de salle d'opération proposé par le professeur de chirurgie à Glasgow « Joseph Lister » (Avril et Carlet, 1998).
- En 1874, les chirurgiens en France commencèrent à appliquer les méthodes d'asepsies, proposé par Lister en 1867.
- De 1885 à 1900 la mortalité opératoire en chirurgie abdominale va passer de 2 à 50 % (Roué, 2002).
- En 1910, l'application de la méthode d'utilisation protectrice des gants de caoutchouc pour opérer, suggérée par William Halsted en 1889 (Avril et Carlet, 1998).
- En 1950, l'utilisation des antibiotiques dans le traitement des infections et guérison des maladies infectieuses (Freney et Fabry, 2001).
- De 1950 à 1960 grandes épidémies d'infection hospitalière (Freney et Fabry, 2001).
- En 1970 naît aux États-Unis, le réseau *National Nosocomial Infections Surveillance* (NNIS), et a été actualisé en 1992, puis en 2004 (NNIS, 2004).

- Entre 1980 et 1990, l'émergence de nouvelles menaces infectieuses (hépatite C, SIDA, grippe, fièvre hémorragique, maladie de Creutzfeldt-Jakob, etc...) et l'augmentation du taux de bactéries multi-résistantes (Galmiche et Jean-Marie, 1999). A cet effet sont créés en 1988 les Comités de Lutte contre les Infections Nosocomiales (CLIN). L'installation des CLIN est rendue obligatoire par un décret de mai 1988 (Galmiche et Jean-Marie, 1999).
- Durant les années 1990, plusieurs pays européens ont commencé à mettre en place des réseaux nationaux voire régionaux de surveillance des infections acquises à l'hôpital. La majorité de ces réseaux dépendent du modèle du système NNIS des *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) américains (Mertens *et al.*, 1996).

1.2. En Algérie

Les bienfaits de la civilisation en matière d'hygiène et la prévention ne se répercutent pas sur l'Algérie avant l'indépendance. Le système de santé en Algérie a commencé depuis l'indépendance, il a débuté par une première étape caractérisé par une stratégie de l'édification progressive d'un système national de santé (1962-1973) puis consacré au code de santé publique et les premiers ajustements (1974-1989), c'est le premier mouvement de réforme (Oufriha, 1992).

La législation en matière d'hygiène hospitalière a commencé à partir du début des années 80, suivi d'une chaîne des textes réglementaires :

- En 1982, l'accélération de l'adoption des textes relatif aux risques professionnels (MSPRH, 2015).
- En 1985, il y'a eu l'avènement de la loi n° 85-05 relative à l'actualisation du code de santé publique (Benhabyles *et al.*, 2012).
- En 1989, l'Ecole Nationale de Santé Publique (ENSP) est créé. La formation initiale d'Allocation de Solidarité Spécifique (ASS) continue d'être assurée par l'Ecole Nationale d'Administration (ENA) (décret n° 64-155 du 08 juin 1964). Elle sera transférée à l'ENSP en 2004 (MSPRH, 2015).
- En 1995, la sortie du texte régit le tri et l'élimination des déchets hospitaliers (Annexe 1).
- En 1996, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et l'Institut Pasteur Algérie (IPA) ont établi en partenariat un réseau de surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques (Benhabyles *et al.*, 2012).

- En 1998, création d'assise nationale de l'HH responsable de définir les éléments d'une politique de santé en matière d'HH et de lancement d'un programme de prévention des infections hospitalières (Benhabyles *et al.*, 2012).
- En 2000, sous l'auspice de l'institut national de santé publique (INSP), dans le but de réduire la propagation de la maladie de 50 % en 5 ans, un programme national de lutte contre les IN a été élaboré. Dans le but de réaliser des audits et des enquêtes sur la base des protocoles standards, un programme euro-méditerranéen (NOSO-MED) a été mis en place afin d'obtenir des données qui permettent une comparaison. Un Certificat d'Etudes Spécialisées en science médicales (CES) en hygiène hospitalière, afin de mieux approcher le problème et pour la formation continue des praticiens (Abdelmoumene et Benkaddour, 2007 ; Benhabyles *et al.*, 2012).
- En 2001, élaboration d'un document portant sur la stratégie et les perspectives de développement du système national de santé (MSPRH, 2015).
- En 2002, l'obligation de vaccination contre l'hépatite B et la prévention des hépatites virales, de VIH et des accidents exposant au sang en pratique dentaire (Annexe 1).
- En 2003, interdiction d'utilisation du savon en pain dans les blocs opératoires, il est recommandé de le remplacer par du savon liquide avec distributeur automatique (Annexe 1).
- En 2005, la première enquête nationale sur la prévalence d'IN et le remplacement des deux comités nationaux par le comité national de lutte contre les IN (Benhabyles *et al.*, 2012).
- En 2008, la gestion du secteur d'élimination des Direction de l'Action Sociale (DAS) n'était pas saturée.
- Entre 2013 et 2014, la création de l'agence des réalisations et des équipements de santé et mettre en place d'un comité national multisectoriel pour prévenir et contrôler contre les Mutuelles Nationale Territoriale (MNT) (MSPRH, 2015).

2. Définitions

2.1. Infections nosocomiales

Les infections nosocomiales (IN) peuvent être liées aux soins dispensés ou simplement survenir lors de l'hospitalisation, indépendamment de tout acte médical. Leur l'origine peut être endogène quand le patient s'infecte avec ses propre germes ou exogène lorsque les

germes proviennent d'autres personnes – on parle d'une infection croisée du personnel ou de l'environnement hospitalier (eau, air, équipement, alimentation) (Ayaho *et al.*, 2014).

Les IN aussi appelées infections hospitalières sont des infections acquises pendant un séjour à l'hôpital et qui n'étaient ni présentes ni en incubation au moment de l'admission du patient. Les infections survenant plus de 48 heures après l'admission sont habituellement considérées comme nosocomiales (OMS, 2002).

2.2. Infections du site opératoire

Les ISO est une infection d'incision d'organe ou d'espace, survenant dans les 30 jours suivant l'intervention ou dans les 90 jours en cas d'infection virale ou dans l'année en cas de mise en place d'un implant ou d'un matériel prothétique (CCLIN Sud-Est, 1999 ; Hodonou *et al.*, 2016). C'est un écoulement purulent autour de la plaie ou du site d'insertion du drain, ou cellulite extensive à partir de la plaie. L'infection est en général acquise pendant l'intervention elle-même, avec une origine soit exogène (air, matériel médical, chirurgiens et autre soignants), soit endogène (flore cutanée ou flore présente sur le site opératoire ou, dans rares cas, sang utilisé en préopératoires) (Ducel, 2002).

3. Classification des ISO

L'ISO est définie selon les critères standardisés et validés par le CDC et comprenant trois niveaux (superficiel, profond, organe ou espace) (Figure 1) (CDC, 1999).

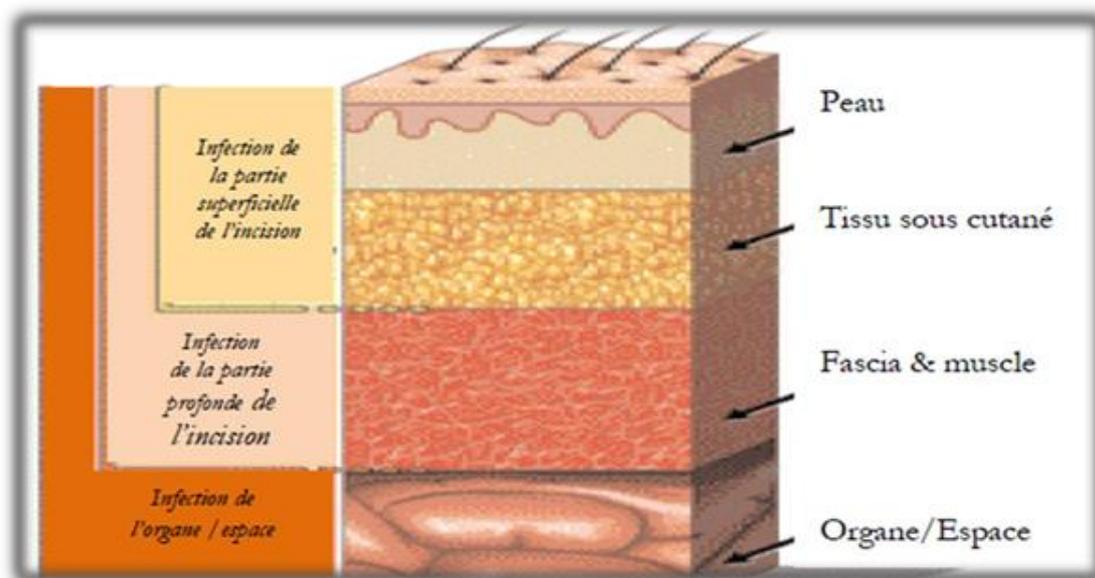


Figure 1. Classification des ISO (CDC, 1999).

Les ISO superficielles et profondes se divisent en infections primaires s'il s'agit de l'incision du site de la chirurgie principales (ex : plaie sternale d'un pontage coronarien), et secondaires s'il s'agit d'une infection du site d'une deuxième incision lors de la même chirurgie (ex : plaie de saphénectomie pour prélèvement de vaisseaux pour pontage coronarien) (Lowe, 2014).

3.1. Infection superficielle de l'incision

Infection survenant dans les 30 jours suivant l'intervention, affectant la peau (ou les muqueuses), les tissus sous-cutanés ou les tissus situés au-dessus de l'aponévrose de revêtement, diagnostiquée par :

Cas 1 – écoulement purulent de l'incision ou du drain.

Cas 2 – germe isolé par culture de liquide produit par une plaie fermée ou d'un prélèvement tissulaire.

Cas 3 – ouverture de l'incision par le chirurgien et présence de l'un des signes suivants : douleurs ou sensibilité à la palpation, tuméfaction localisée, rougeur, chaleur et microorganismes isolés par culture.

NB : Si la culture n'est pas réalisée ou si elle est négative, en l'absence de traitement antibiotique, l'affection est exclue (CTIN, 1999).

3.2. Infection profonde de l'incision

Infection survenant dans les 30 jours suivant l'intervention, ou dans l'année, s'il y a eu mise en place d'un implant ou d'une prothèse, intéressant les tissus au niveau ou au-dessous de l'aponévrose, diagnostiqué par :

Cas 1 – écoulement purulent provenant d'un drain sous-aponévrotique.

Cas 2 – déhiscence spontanée de l'incision, de la cicatrice ou de la paroi, ou ouverture par la chirurgie en cas de fièvre supérieure à 38 °C, douleur localisée, ou sensibilité à la palpation ou si culture non faite (culture négative, en l'absence de traitement antibiotique, exclut le cas).

Cas 3 – abcès ou autres signes d'infection observés lors d'une intervention chirurgicale ou d'un examen (CTIN, 1999).

3.3. Infection de l'espace de l'incision

Infection survenant dans les 30 jours suivant l'intervention ou dans l'année, s'il y a eu mise en place d'un implant et si l'infection peut être attribuée à l'intervention. Il s'agit d'une infection d'un organe ou d'un espace, ouvert ou traité pendant l'intervention, diagnostiqué par :

Cas 1 – présence de pus.

Cas 2 – germe isolé par la culture d'un prélèvement de l'organe ou du site.

Cas 3 – signes évidents d'infection impliquant l'organe ou du site ou de l'espace.

Cas 4 – diagnostic d'infection établi par le chirurgien ou le médecin (CTIN, 1999).

4. Pathogénicité des ISO

4.1. Paramètres déterminants des ISO

La contamination microbienne du site opératoire et préalable indispensable à la survenue d'ISO. Ce risque a été mis en équation selon la relation suivante (Pittet *et al.*, 2004) :

$$\text{Risque d'ISO} = \frac{\text{Quantité bactérienne} \times \text{virulences des bactéries}}{\text{Résistance du système immunitaire de l'hôte}}$$

Il est communément admis qu'un site opératoire contaminé avec plus de 10^5 microorganismes par gramme de tissu, présente un risque accru d'ISO (Hejblum *et al.*, 2008). Dans certaines situations, la dose de microorganismes requise pour le processus infectieux peut être beaucoup plus faible. C'est le cas lorsqu'un matériel étranger est laissé en place dans le site opératoire (Ex : 100 *Staphylococcus* par gramme de tissu introduit sur des fils de suture) (Nunnally et Bernstein, 1994 ; Seror *et al.*, 2010). Les microorganismes peuvent contenir ou produire des toxines ou d'autres substances augmentant leur capacité à détruire les tissus de l'hôte. Par exemple, de nombreuses bactéries à Gram négatif produisent des endotoxines qui stimulent la production de cytokines, qui modulent la réponse de syndrome inflammatoire systémique peuvent parfois mener à des défaillances multi-viscérales (Fleiss, 2003 ; Wong, 2004). L'une des plus importantes causes de défaillances multi-viscérales post-chirurgicales est l'infection intra-abdominale (Chalfine *et al.*, 2006 ; Glenister *et al.*, 1993). Des constituants de la surface bactérienne, notamment les polysaccharides de la capsule, peuvent inhiber la phagocytose (Yokoe, 2004) qui constitue la réponse immunitaire rapide et importante de défense contre les microorganismes. Certaines souches de *Clostridium* et de streptocoque bêta-hémolytique produisent des endotoxines qui détruisent la membrane ou altère le métabolisme cellulaire (Taylor *et al.*, 1990). Une large variété des microorganismes, incluant les bactéries à Gram négatif, produisent des glycocalyx et des composants associés nommés « slime » (Rosenthal *et al.*, 2010 ; Wilson *et al.*, 2007), permettant d'éviter la phagocytose et inhibent la fixation ou la pénétration des agents antimicrobiens. Bien que ces

facteurs de virulence soient bien définis, leur relation mécanistique avec la survenue des ISO n'a pas été clairement déterminée (Perla *et al.*, 2009).

4.2. Voies de contamination

On décrit trois voies de contamination (Ittah-Desmeulles, 2004 ; Kadi, 2011) :

- Contamination préopératoire : plaie ouvertes, séjour préopératoire, etc...
- Contamination peropératoire : endogène, exogène.
- Contamination post-opératoire : drains, pansements, soignants.

4.3. Sources de contamination

Les microorganismes responsables des ISO peuvent être acquis par voie endogène à partir de la flore microbienne du patient, ou par voie exogène à partir de l'environnement ou du personnel de la salle d'opération. En cas de chirurgie dite contaminée ou propre contaminée, les microorganismes seront avant tout des sources endogènes, alors que pour la chirurgie propre, source exogène ont une importance relativement grandes. Les données cliniques et expérimentales indiquent que 24 à 48 heures après l'opération, le site chirurgical s'est suffisamment rétabli pour être résistant à toute infection d'origine exogène (Figure 2) (Kitzis et Andreassin, 1993).

4.3.1. Source endogène

La flore des patients présente au niveau ou à contiguïté du site opératoire est à l'origine de la majorité des ISO (Tartari et Mamo, 2011). *Staphylococcus aureus* et staphylocoques à coagulase négative, premier et second microorganismes les plus fréquemment rencontrés, sont résident de la peau et des muqueuses, et sont à haut risque de contamination du site opératoire durant l'incision ou les manipulations. Ces microorganismes sont inégalement répartis sur notre peau selon les zones concernées : de 10^2 microorganismes / cm^2 dans la zone sèche à 10^7 / cm^2 dans les zones humides (aisselle, plis inguinaux, etc...). Pour le *S. aureus*, le portage nasal ou cutané est un facteur de risque de survenue des ISO et peut quadrupler le risque des ISO à ce même germe, en comparaison de patients non porteurs (Borer *et al.*, 2001). Ce constat a amené la formulation de recommandations pour la décontamination systématique des patients porteurs allant bénéficier d'une chirurgie cardiaque (Wan *et al.*, 2001). La préparation cutanée de l'opéré est maintenant inscrite dans la routine. Elle permet de réduire la flore résidente cutanée et de réduire le risque des ISO. En revanche, si la peau devient fortement colonisée suite à des atteintes cutanées, la flore résidente peu persister et contaminer le site opératoire. Par ailleurs, une antisepsie optimale ne

permet pas d'éradiquer entièrement la flore cutanée. Environ 20 % des bactéries vivent en dessous de la surface cutanée, le long des follicules pileux et dans les glandes sébacées. Lors d'une chirurgie contaminée, en plus du rôle de la flore cutanée de contiguïté, les flores intestinale, respiratoire, génitale ou urinaire peuvent contaminer le site opératoire (Yinnon *et al.*, 2012).

4.3.2. Source exogène

Les sources exogènes des ISO incluent le personnel chirurgical, l'environnement du bloc opératoire (incluant l'air) et les outils, instruments et matériel apportés dans le champ stérile durant l'intervention. Les principaux véhicules de cette flore sont donc :

- L'équipe chirurgicale : les mains et les ongles de l'équipe chirurgicale portent des microorganismes qui peuvent contaminer le site chirurgical par inoculation directe durant la procédure chirurgicale (Panahi, 2012 ; Wan *et al.*, 2001). Ce phénomène a mené à l'utilisation de gants chirurgicaux stériles comme barrière au transfert de microorganismes et à l'hygiène chirurgicale des mains pour diminuer la population microbienne sur la peau et les mains. En plus des mains, les cheveux du personnel (aussi bien que ceux du patient lui-même), le nez, l'oropharynx ont été montrés comme pouvant porter des bactéries pathogènes comme *S. aureus* ou des bactéries Gram-négatifs.
- Le matériel chirurgical (problème de stérilisation, de contamination...) (Krikhland *et al.*, 1990).
- L'air : traitement de l'air, concentration des microorganismes en suspension proportionnelle à l'activité et/ou nombre de personnes en salle.

La flore exogène est principalement constituée par les anaérobies Gram-positifs (staphylocoque et *Streptococcus*). Les contaminations fongiques sont rares, que ce soit en source endogène ou exogène et leur pathogénicité n'est pas complètement comprise (figure 2) (Rackham *et al.*, 2007).

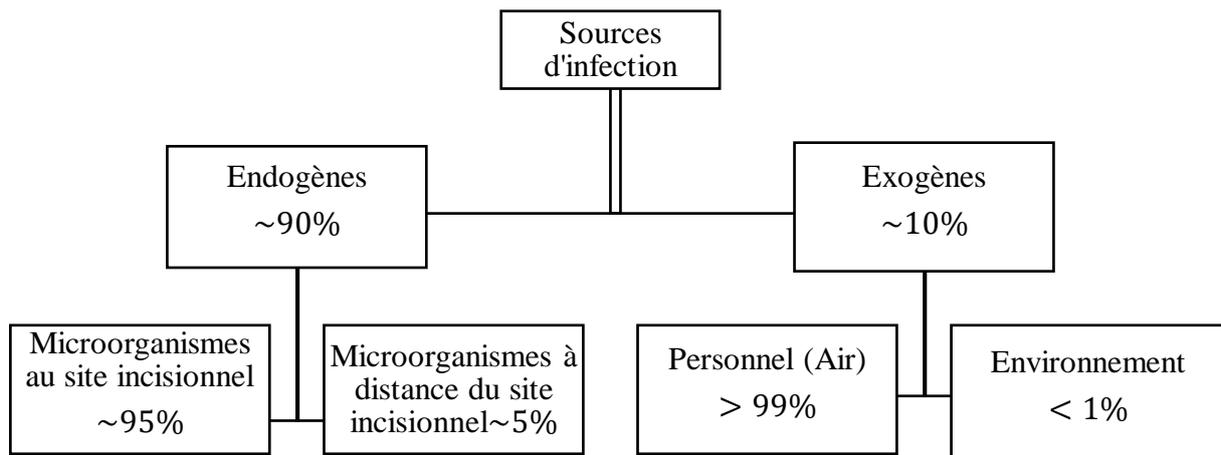


Figure 2. Sources d'ISO (SWISS-NOSO, 1996)

4.4. Facteurs de risque

Grace aux différentes études multicentriques des facteurs de risque de survenue d'une ISO, il a été démontré la nécessité de prendre en compte trois paramètres : le terrain du patient, le degré de contamination du site opératoire qui est à l'origine de la classification d'artémie et la durée opératoire (Carlet, 1998).

4.4.1. Facteurs liés au patient

4.4.1.1. Age extrême

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

4.4.1.2. Obésité

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

4.4.1.3. Infection à distance

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

4.4.1.4. Contamination peropératoire

Le malade s'infecte avec ses propres germes (la flore bactérienne cutanée), à la faveur d'un acte invasif et /ou en raison d'une fragilité particulière (Avril et Carlet, 1998 ; Mangram *et al.*, 1999).

4.4.1.5. Séjour préopératoire prolongé

L'allongement de la durée d'hospitalisation avant l'intervention est un facteur augmentant le risque d'infection de l'incision allant de 1 % pour une durée inférieure à 1 jour, à 4 % pour une durée supérieure à 14 jours en chirurgie propre. Ceci peut être expliqué par une colonisation par des germes hospitaliers et l'exposition à des procédures diagnostiques ainsi que l'administration de divers médicaments (stéroïdes, antibiotiques). Aussi, le fait de la modification de la flore microbienne cutanée qui survient en 3 à 4 jours et à la place de germes sensibles, laissera la place à des germes multi-résistants en particulier des staphylocoques résistants à la méticilline. Le même phénomène s'observe au niveau de la flore digestive avec une prédominance de bacilles gram négatifs multi-résistants. On peut ainsi expliquer la prédominance de germes multi-résistants dans les infections profondes postopératoires (Ittah-Desmuller, 2004 ; Mangram *et al.*, 1999).

4.4.1.6. Autres facteurs de risque

D'autres facteurs sont probablement liés à l'ISO, ils sont représentés par l'association de plus de trois comorbidités la dénutrition notamment l'hypo albuminémie, le diabète, le cancer, le traitement immunosuppresseur (corticoïdes, antimétabolites), l'alcool et tabac (Ittah-Desmuller, 2004).

4.4.2. Facteurs liés à l'intervention

4.4.2.1. Type de chirurgie

La classification des actes chirurgicaux en fonction de leur risque infectieux a été réalisée par Altemeier, elle se divise en quatre classes (Kientega, 2012) :

Classe 1 correspond à la chirurgie propre, la plaie opératoire est non infectée, sans symptômes inflammatoires, sans ouverture d'un viscère creux et sans rupture de l'asepsie comme par exemple la hernie inguinale. Le risque infectieux est inférieur à 5 %.

Classe 2 est la chirurgie propre-contaminée. Elle se définit par l'ouverture d'un viscère creux avec contamination minime (oropharynx, tube digestif, voies biliaires, voie respiratoire appareil uro-génital). Le risque infectieux est inférieur à 10 %.

Classe 3 est la chirurgie contaminée. Elle se définit comme un traumatisme ouvert de moins de 4 heures, une chirurgie des voies biliaires ou urines infectées, une contamination importante par le contenu digestif comme par exemple abcès appendiculaire, chirurgie colorectale. Le risque infectieux est inférieur à 20 %.

Classe 4 est la chirurgie sale/infectée. Elle se définit comme un traumatisme ouvert de plus 4 heures ou de corps étrangers, des tissus dévitalisées ou par la présence d'une contamination fécale, d'une infection bactérienne du site opératoire, tels que la péritonite généralisée et perforation digestive. Le risque infectieux est supérieur 30 %.

4.4.2.2. Douche antiseptique avant l'intervention

Les douches et bains antiseptiques réduisent la quantité de colonisation microbienne de la peau, et le rôle plus bénéfique de la Chlorhexidine, comparativement à la povidone-iodine, a été démontré par plusieurs études. Cependant, il n'a pas été démontré de façon définitive le rôle des douches antiseptiques dans la réduction du taux d'ISO (Mangran *et al.*, 1999).

4.4.2.3. Rasage

Il est clairement établi depuis 1971, que le rasage est un facteur de risque d'ISO, d'autant plus que le délai entre le rasage et l'incision est long. Dans une étude, le taux d'ISO est de 0,6 % en utilisant une crème dépilatoire, 3,1 % lorsque le rasage est effectué immédiatement avant l'intervention et 7,1 % lorsqu'il est effectué 24 heures avant (Veysier *et al.*, 1998). Plusieurs enquêtes ont montré que cette technique est la plus néfaste alors qu'elle est malheureusement la plus répandue. La nocivité du rasage s'explique par la fréquence des plaies cutanées pouvant être colonisées par des germes hospitaliers (Avril et Carlet, 1998 ; Mangram, 1999).

4.4.2.4. Absence de préparation peropératoire

La peau est couverte naturellement par des germes sporophytes ou non, elle est couverte de poils qui peuvent être des gîtes bactériens importants (Kritzis et Andrearsin, 1993) et donc l'absence de la préparation cutanée constitue un facteur de risque infectieux.

Plusieurs agents antiseptiques peuvent être utilisés, cependant, il a été démontré l'efficacité de la Chlorhexidine gluconate par apport aux eidofores) (Mangran *et al.*, 1999).

4.4.2.5. Hygiène des mains et avant-bras de l'opérateur

Il est clairement établi que les mains de l'opérateur sont colonisées par des microorganismes qui peuvent contaminer le site opératoire par inoculation directe pendant l'intervention (Avril et Carlet, 1998 ; Mangran *et al.*, 1999). Le débat actuel est autour du choix de l'antiseptique. La technique et la durée de nettoyage sont aussi des facteurs qui influencent l'efficacité du nettoyage de la peau. Le port de faux ongles, la flore bactérienne ou fongique des mains, malgré un nettoyage adéquat de la peau (Mangran *et al.*, 1999).

4.4.2.6. Durée de l'intervention

L'allongement de la durée de l'intervention influence négativement sur le taux d'infection post-opératoire par exposition de la plaie. Une durée de 2 heures est une limite au-delà de laquelle le risque augmente. Des études ont montré que la durée de l'intervention augmente la probabilité d'infection post-opératoire par une augmentation de la durée de l'exposition aux risques infectieux dû aux manipulations, à l'air et à la flore endogène profonde non détruite par les antiseptiques (Sidibe, 2014).

4.4.2.7. Absence d'antibioprophylaxie

L'utilité de l'antibioprophylaxie est maintenant reconnue dans la plus part des types d'intervention. Ce rôle a été prouvé dans l'intervention de chirurgie propre, propre contaminée et contaminée (Avril et Carlet, 1998 ; Mangram *et al.*, 1999).

4.4.2.8. Hygiène en salle d'opération

L'hygiène en salle opération est un facteur influençant le taux d'infection de la plaie opératoire. Le mouvement du personnel en salle d'opération, le nombre de personnes assistant à l'intervention, aggravent le taux d'ISO et l'air pulsé semble avoir un rôle favorable (Mangran *et al.*, 1999). Une stérilisation inadéquate des instruments chirurgicaux conduit à des épidémies, portage du personnel d'agents microbiens, actifs ou non, est lié à l'éclosion de cas d'ISO (Avril et Carlet, 1993).

4.4.2.9. Asepsie et technique chirurgicale

La technique chirurgicale joue certainement un rôle central dans le risque infectieux. Elle est dépendante de l'expérience et l'habileté de l'opérateur. En effet, plusieurs études montrent qu'il existe une relation significative entre un nombre réduit d'intervention réalisée

par un opérateur et le taux d'infection élevé. Aussi d'autres facteurs rentrent en considération, il s'agit de la qualité technique de l'intervention par rapport au degré du traumatisme et d'hémorragie, la qualité hémostase, le type de drainage ; le drainage aspiratif semble le plus fiable et le moins pathogène et la suture cutanée (Francoli *et al.*, 1996), la peau doit être fermée mais en cas de risque infectieux profond ou de faute d'asepsie peropératoire, une fermeture secondaire semble préférable (Kitizis et Andreassian, 1993).

4.4.2.10. Autres facteurs liés à l'intervention

L'urgence et les procédures multiples sont probablement liées à une augmentation du taux d'ISO (Mangram *et al.*, 1999).

4.5. Index de risque NNIS

Il constitue un moyen d'autoévaluation. Différents paramètres permettent de graduer le risque infectieux postopératoire selon les types d'interventions, dont les principaux sont : la classe de contamination d'Altemeier (voir les pages 11 et 12), le score ASA (Annexe 2) et la durée d'intervention (Annexe 3). Ils sont recodés de la façon suivante :

Classe de contamination

0 = Chirurgie propre ou propre contaminée

1 = Chirurgie contaminée, sale ou infectée

Score ASA

0 = Patient sain ou avec maladie systémique légère

1 = Patient avec atteinte systémique sérieuse ou invalidante, ou patient moribond

Durée de l'intervention

0 = Durée inférieure au 75^{ème} percentile pour l'intervention considérée

1 = Durée supérieure ou égale au 75 percentile pour l'intervention considérée (NNIS, 2003)

L'indice de risque NNIS est la somme des variables recodées et peut donc prendre des valeurs de 0 à 3, il se calcule à partir de la somme suivante :

Classe de contamination + Score ASA + Durée de l'intervention = NNIS

5. Traitements

5.1. Traitement curatif

Le traitement des ISO est surtout basé sur l'antibiothérapie après avoir identifié le germe et réalisé l'antibiogramme. Dans certains cas le traitement peut être chirurgical. Il s'agit dans ce cas de supprimer le foyer septique par des moyens physiques : drainage, mise à plat, lâchage des sutures (Thiolet *et al.*, 2007).

5.2. Traitement préventif

5.2.1. Antibioprophylaxie

Le but est la prévention de l'ISO, mais pas le traitement d'infections distales (autres sites que le site chirurgical) ni la prévention d'IN. Les antibiotiques servent principalement à diminuer l'inoculum bactérien de telle sorte que les microorganismes restants puissent être éliminés par les mécanismes de défense naturels du patient (le rôle des mécanismes de défense propre du patient est au moins aussi important que celui des antibiotiques). Une antibioprophylaxie chirurgicale permet de réduire de façon significative le risque de l'ISO. L'utilisation d'antibiotiques à titre prophylactique est seulement justifiée en cas de chirurgie propre contaminée, contaminée, sale/infectée, et/ou un patient à risque (Thiolet *et al.*, 2007).

5.2.2. Principes de l'antibioprophylaxie

- Début de l'antibioprophylaxie : la stratégie de choix est le moment de l'induction anesthésique. Elle permet des concentrations tissulaires d'antibiotiques suffisantes dès le début de l'acte.
- Voie d'administration : La voie intraveineuse est la voie optimale pour avoir des taux d'antibiotiques fiables et adéquats pendant l'intervention.
- Doses : La dose utilisée est volontiers au niveau des doses unitaires curatives les plus fortes (voire 2x). La tolérance des antibiotiques utilisés dans ces conditions (durée brève) est habituellement bonne. Si l'intervention est longue, le principe général est de ré-administrer l'antibiotique toutes les deux demi-vies à demi-dose pendant l'intervention.
- Durée de l'antibioprophylaxie : Il n'y a pas lieu de débiter ou de poursuivre une antibioprophylaxie en dehors de la période per- opératoire, sauf indication précise justifiant sa poursuite jusqu'à 24 heures le plus souvent et jamais plus de 48 heures. Il n'y a pas lieu, même lorsque les drains ou cathéters restent en place, de prolonger l'antibioprophylaxie, ou de pratiquer des réinjections lors de leur ablation.

- Choix de l'antibiotique : L'antibiotique sélectionné doit être actif sur les bactéries les plus fréquemment responsables d'ISO. Le principe est de préférer les antibiotiques ne favorisant pas rapidement l'émergence de résistances bactériennes. Il est souhaitable de choisir des antibiotiques non utilisés en curatif dans le même service (Bzrnasconi et Francioli, 2002 ; Classen *et al.*, 1992 ; Harbarths *et al.*, 2012).

6. Mesures préventives

Les événements les plus à risque surviennent en pré et peropératoire, les mesures doivent être appliquées avant ou pendant la période opératoire. Le patient et le personnel sont les cibles principales de ces mesures qui reposent essentiellement sur le contrôle des réservoirs exogènes et l'interruption de la transmission. L'architecture du bloc opératoire peut contribuer à cette prévention. Parce qu'elles se réfèrent aux mêmes règles générales d'hygiène et d'asepsie, les recommandations sont présentées de façon commune, en soulignant les spécificités liées à la pratique anesthésique ou chirurgicale (Hajjar, 1998).

6.1. Bloc opératoire

C'est le lieu principal des activités et le point de départ de la plupart des infections postopératoires. L'architecture du bloc doit permettre la séparation entre les interventions septiques et les interventions aseptiques et doit comporter : les salles d'intervention ; une salle de stérilisation contiguë et communiquant avec les salles d'intervention ; un vestiaire ; une salle de réveil ; une salle de préparation du chirurgien ; une salle de préparation du malade (Ducel *et al.*, 2008 ; SFHH, 2004).

Le bloc doit avoir un système de remplacement de l'air ; les murs et le sol doivent être lavables et les portes coulissantes ; la salle d'intervention doit comporter deux portes (une pour l'entrée et l'autre pour la sortie du malade) et deux fenêtres (une pour le matériel stérile et l'autre pour le matériel sale) ; la température ne doit pas dépasser 20 °C ; la salle d'opération doit être nettoyée après chaque intervention et lavée à grande eau après chaque programme opératoire avec une solution désinfectante. Pour la collecte des déchets, les objets coupants et piquants sont placés dans un récipient avec couvercle et contenant une solution de décontamination puis enfouis (CDC Guidelum, 2012 ; SFHH, 2004).

6.2. Personnel soignant du bloc opératoire

La plupart des infections viennent du chirurgien et des matériaux de travail. Le nombre de personne au bloc doit être limité au strict nécessaire. Les mouvements du

personnel de la salle d'opération vers l'extérieur doivent être limités. Le personnel doit se débarrasser de sa tenue de ville dans les vestiaires au profit de celle réservée exclusivement au bloc. Le personnel porteur d'une infection susceptible d'être transmise à l'opéré doit s'abstenir d'entrer en salle d'opération jusqu'à ce qu'il ne représente plus un risque pour le malade. Tout le personnel rentrant au bloc doit être muni d'un bonnet cachant largement les cheveux, d'une bavette en tissu imperméable prenant le nez, la bouche et le menton, et de chaussures ou couvre-chaussures réservées uniquement au bloc opératoire (CDC Guidelum, 2012 ; Ducel *et al.*, 2008).

6.3. Lavage des mains

Il est fait dans un lavabo chirurgical débitant de préférence de l'eau stérile avec un savon antiseptique. Le lavage durera 3 à 5 minutes. Il doit comporter 4 temps :

1^{er} temps : Eau simple de la main jusqu'au coude.

2^{ème} temps : Eau savonneuse de la main jusqu'au coude.

3^{ème} temps : Brossage (ongles) puis l'eau savonneuse jusqu'à la moitié de l'avant- bras.

4^{ème} temps : savonnage de la main au poignet suivi de rinçage (Ducel *et al.*, 2008; SGHH, 2004).

6.4. Barrières

C'est l'ensemble des dispositifs entre les chirurgiens, le patient et la plaie opératoire afin d'éviter les contaminations. Elles comprennent : les blouses opératoires avec bavette, les bonnets, les tabliers imperméables, les gants stériles, les masques et lunettes, les champs opératoires stériles, les bottes imperméables. Les barrières doivent respecter les normes établies (CDC Guidelum, 2012 ; SFHH, 2004).

6.5. Patient

La flore saprophyte du patient est pour beaucoup dans la survenue des IN. Le malade doit arriver au bloc vêtu d'une tenue à cet effet, il doit se laver avec un savon antiseptique. Toutes les tares, affections ou infections susceptibles d'entraîner une infection de la plaie doivent être corrigées ou traitées auparavant. Il faut éviter les rasages la veille de l'intervention. Ils favorisent la survenue des infections ; préférer plutôt l'épilation. Toute intervention sur le tube digestif (programmée) doit être précédée d'une préparation de l'organe à l'intervention (CDC Guidelum, 2012 ; Ducel *et al.*, 2008).

Chapitre 2

Microbiologie des ISO

La probabilité de développer une ISO est le résultat d'une interaction complexe entre les caractéristiques du microorganisme (degré de contamination, virulence du pathogène), les caractéristiques du patient (statut immunitaire, diabète, etc.) et les caractéristiques intrinsèques de l'intervention (introduction de matières étrangères, étendue des lésions tissulaires) (Sganga, 2014).

Les micro-organismes qui causent les ISO peuvent être présents sur la peau ou les muqueuses du patient ou transmis au patient par le personnel soignant, l'environnement ou d'autres éléments dans le cadre péri-opératoire. Les agents infectieux responsables sont différents selon que la chirurgie est réalisée sur site stérile (chirurgie «propre», par exemple cardiaque ou orthopédique programmée) ou potentiellement contaminée (E.Pilly, 2016).

En chirurgie propre, les staphylocoques sont isolés dans plus de la moitié des cas et proviennent principalement de la flore cutanée : *Staphylococcus aureus* (40 %), staphylocoques à coagulase négative (10 à 30 %). En chirurgie non propre, les agents causaux provenant des flores digestives sont les plus fréquents : *Escherichia coli*, entérocoques, autres entérobactéries, parfois *Pseudomonas aeruginosa* (E.Pilly, 2016), streptocoques (Sganga, 2014) et *Candida* spp. (Di Benedetto *et al.*, 2013).

Dans le cas d'une chirurgie prothétique (par exemple, des prothèses vasculaires ou des prothèses orthopédiques), même des micro-organismes légèrement pathogènes tel que *S. epidermidis* (coagulase négative) peuvent provoquer de graves ISO (Sganga, 2014). Chez les patients immunosupprimés, par neutropénie et/ou une compromission du système immunitaire cellulaire (corticostéroïdes, anti-TNF, etc.) on peut voir, au-delà des bactéries classiques, des infections à germes atypiques (mycobactéries, *Nocardia* spp.) ou à champignons (*Candida*, *Aspergillus*, *mucor*, *Fusarium*, *Cryptococcus*) (Stevens *et al.*, 2005). Plus rarement, des germes inhabituels peuvent être inoculés lors d'un traumatisme avec contact terrestre, aquatique ou encore par morsure (champignons, *Mycobacterium marinum*, etc...) (Di Benedetto *et al.*, 2013). Les infections sont souvent polymicrobiennes. Dans ce présent chapitre, ces agents causaux des ISO seront détaillés par ordre de fréquence.

1. *Staphylococcus aureus*

Le *S. aureus* est communément appelé staphylocoque doré. Il a été nommé ainsi par Rosenbach en 1884 en raison de la production de caroténoïdes donnant à la bactérie sa pigmentation de surface caractéristique (Licitra, 2013). C'est un coccus à Gram positif

appartenant à la famille des *Staphylococcaceae*, à coagulase positive, catalase positive, immobile, asporulé (Becker *et al.*, 2004 ; Murray *et al.*, 2003). Son diamètre est d'environ 0,5 à 1,5 µm et habituellement disposé en grappes. Il est très résistant dans le milieu extérieur et peu exigeant en culture. C'est une bactérie commensale de la peau et des muqueuses dont la niche principale est la fosse nasale. La colonisation est définie comme le portage asymptomatique de la bactérie et concerne environ 30 à 50 % de la population générale au niveau nasal (Wertheim *et al.*, 2005). D'autres sites peuvent également être colonisés par *S. aureus* tels que le pharynx, l'intestin, le périnée, la peau et les aisselles. Si l'homme est le principal réservoir, ces bactéries sont également retrouvées dans l'environnement (eau, air, surfaces, aliments) et chez l'animal, notamment d'élevage.

- Facteurs de risque de l'infection

La colonisation par *S. aureus* a été décrite comme facteur de risque d'infection. Plusieurs arguments vont dans ce sens, à savoir que les patients colonisés sont généralement infectés par leur propre souche (Luzar *et al.*, 1990 ; Wertheim *et al.*, 2004). De plus, les porteurs de *S. aureus* présentent un taux d'infection plus élevé que les non-porteurs (Luzar *et al.*, 1990). Les patients colonisés par le *S. aureus* résistant à la méticilline (SARM) sont par ailleurs plus à risque de développer une infection que les patients colonisés par le *S. aureus* sensible à la méticilline (SASM) ou non colonisés (Honda *et al.*, 2010 ; Safdar *et al.*, 2008).

- Pouvoir pathogène

Bien qu'étant commensal, *S. aureus* est également responsable d'un grand nombre d'infections chez l'homme, il reste le germe numéro 1 dans tous les sites opératoires, en dehors de la chirurgie abdominale où les bâtonnets Gram négatifs prévalent (Misteli *et al.*, 2011 ; Sievert *et al.*, 2013). Il possède de nombreux facteurs de virulence et de pathogénicité (facteurs d'adhésion, toxines, enzymes) et exerce son pouvoir pathogène par la libération d'une ou de plusieurs toxines.

2. Staphylocoques à coagulase négative

Les staphylocoques à coagulase négatives (SCN) sont des germes ubiquitaires (Grosjean *et al.*, 2016), ils peuvent vivre dans la nature comme saprophytes ou comme des commensales généralement inoffensives sur la peau, les tissus membranaires et les muqueuses de l'homme et des animaux (mammifères et oiseaux) (Delarras, 2014).

2.1. *S. epidermidis*

Parmi les SCN, *S. epidermidis* est l'espèce la plus fréquemment isolée des épithéliums humains, colonisant principalement l'aisselle, la tête et les narines. Leur capacité à produire des facteurs d'adhérence et à supporter des concentrations élevées de sel est importante pour coloniser les tissus humains (Kloos, 1975).

Malgré que *S. epidermidis* est une bactérie faiblement virulente avec peu de facteurs de virulence, des circonstances particulières ont fait de cette bactérie un pathogène humain opportuniste important, reflétant l'utilisation accrue de dispositifs médicaux implantables et un nombre croissant de patients ayant un système immunitaire affaibli, par ex. les patients recevant un traitement immunosuppresseur, les enfants prématurés, les malades du SIDA et les toxicomanes (Otto, 2004). *S. epidermidis* est maintenant considérée comme l'une des causes les plus fréquentes d'IN (Vuong et Otto, 2002).

- **Pouvoir pathogène**

Les staphylocoques sont en cause dans la grande majorité des ISO en chirurgie vasculaire avec une prothèse en place. *S. aureus* est plutôt responsable d'infections prothétiques précoces, alors que les SCN (*S. epidermidis* en premier lieu) sont responsables d'infections tardives pouvant survenir plusieurs années après la chirurgie initiale (O'Brien et Collin, 1992). La plupart de ces infections, même tardives, sont probablement acquises lors du geste opératoire (Archer, 1995). La gravité semble être plus importante en cas d'infection de prothèse par du SAMR (Chalmers *et al.*, 1999).

3. *Escherichia coli*

E. coli appartient à la microflore commensale de l'homme et de nombreux animaux (Gordon et Cowling, 2003). Cette bactérie est présente principalement au niveau du colon et du cæcum à des concentrations supérieures à 10^6 UFC/g de contenu intestinal. *E. coli* se niche plus particulièrement dans le mucus recouvrant les cellules épithéliales de la paroi du tube digestif qui constitue une niche écologique propice à son développement de par ses conditions de température, d'humidité et de disponibilité en nutriment (Smati *et al.*, 2013).

E. coli est une bactérie mobile ou rarement immobile, avec une structure flagellaire péritriche et non-sporulée. Sa température optimale de croissance est de 37 °C. Elle est non exigeante, capable de croître sur des milieux ordinaires tels que le milieu TSA (trypticase-

caséine-soja). Elle fermente le lactose, produit l'indole et possède différentes enzymes telles que la lysine décarboxylase (LDC), l'ornithine décarboxylase (ODC) et la β -glucuronidase (β -Glu). La majorité des souches fermentent le sorbitol. La plupart des caractéristiques biochimiques sont partagées par l'ensemble des *E. coli* en dehors du sérotype O157: H7 qui ne fermente pas le sorbitol et à l'exception de certains mutants qui ont la capacité de fermenter ce sucre (king *et al.*, 2014) et qui sont dépourvus de l'activité β -glucuronidase. Ces caractéristiques particulières sont utilisées pour sa recherche et son isolement dans l'environnement et l'aliment (ISO 16654: 2001). *E. coli* possède les antigènes somatique (O), flagellaire (H) et pas capsulaire (vi). L'espèce *E. coli* est une bactérie versatile qui comprend, à la fois, des bactéries commensales du tube digestif, des bactéries pathogènes et des bactéries adaptées à l'environnement (Tenaillon *et al.*, 2002).

- Facteurs de virulence

Les facteurs de virulence d'*E. coli* sont des flagelles et des pili qui permettent l'adhésion à la muqueuse intestinale ainsi qu'une capsule qui prévient la phagocytose et les entérotoxines (Goubau et Pellegrims, 2000).

- Pouvoir pathogène

La majorité des souches d'*E. coli* sont commensales, certaines d'entre elles sont associées à des pathologies intestinales (Montet, 2009) ou extra-intestinales très diverses chez l'homme. Comme la plupart des pathogènes des muqueuses, les souches d'*E. coli* pathogènes utilisent une stratégie d'infection dont les points clés sont la colonisation de muqueuses, éventuellement l'invasion des cellules, la multiplication, l'évasion des défenses de l'hôte et les dommages à l'hôte (Bergey, 2001). Elles sont responsables de différents types d'infections tels que les infections des plaies notamment des cicatrices chirurgicales.

4. *Enterococcus spp.*

Les entérocoques sont des bactéries à Gram positif, non sporulées qui se présentent sous forme de coques isolés ou arrangés en paires ou en chaînettes, dont le génome contient un faible pourcentage en G+C (37,5 à 44 %), de taille de 3,2 Mb. Les entérocoques sont des bactéries ubiquitaires, présentes dans différentes niches écologiques telles que le tractus intestinal des mammifères dont l'homme, plus rarement au niveau du vagin ou de la cavité buccale (Beargie *et al.*, 1975 ; Schloissnig *et al.*, 2013). Ils sont également retrouvés chez d'autres espèces

animales dont les reptiles, les oiseaux et même les insectes. On les retrouve également dans les eaux usées, l'eau douce, l'eau de mer et le sol.

Les entérocoques poussent sur milieu ordinaire, sur milieu hostile (NaCl 6,5 %, bile) (Leclerc *et al.*, 1996). En présence de 40 % de bile et à pH de 9,6, ils hydrolysent l'esculine en noircissant le milieu bile esculine (Bouvet et Couvry, 1994). Ils présentent un trouble en bouillon et des colonies légèrement opalescentes de plus ou moins 1,5 mm sur gélose. Sur gélose au sang, les colonies peuvent être non hémolytiques, β -hémolytique ou α -hémolytiques (Calfee *et al.*, 2003).

La température optimale de croissance est de 35 °C (Teixeira *et al.*, 2007). L'intervalle de croissance tolère de 10 à 45 °C, chimio-hétérotrophes (Lansing *et al.*, 2010). Capables de résister durant 30 minutes de chauffage à 60 °C (Schleifer et Kilpper-Balz, 1984).

De nombreuses réactions biochimiques ont été décrites pour le diagnostic des entérocoques, généralement sont catalase négative (Schleifer *et al.*, 1984), dépourvus de cytochromes oxydases, de nitrate réductase, exigeants en facteur de croissance. De plus, la majorité des entérocoques ne produisent pas d'indole, ni d'hydrogène sulfureux. Ils sont positifs au test de voges-proskauer. Les entérocoques sont homo-fermentaires, ils produisent essentiellement de l'acide lactique et en quantité moindre, de l'acétate, et de l'éthanol. Les produits finaux du métabolisme peuvent changer en fonction de la présence ou non de l'oxygène. En anaérobiose, le lactate est le principal produit du métabolisme du glucose. Tandis qu'en condition d'aérobiose, les produits du métabolisme sont l'acétate et le CO₂. Ils sont capables de métaboliser divers types de sucres comme le lactose, le ribose, le tréhalose, le glucose et le maltose (Le Blanc, 2006 ; Schleifer *et al.*, 1984).

- Facteurs de virulence

Les facteurs de virulence permettent la colonisation et l'invasion des tissus ainsi que la perméabilisation des cellules épithéliales contournant ainsi les défenses immunitaires de l'hôte. Les facteurs de virulence les plus couramment étudiés chez les entérocoques sont la production de substances d'agrégation, la production de cytolysine (bactériocine) et les activités enzymatiques (Franz et Holzapfel, 2004).

Les entérocoques deviennent occasionnellement des agents pathogènes entraînant des IU ou des suppurations profondes, et plus rarement, des endocardites ou des septicémies. Les

infections à entérocoques sont principalement d'origine endogène, elles proviennent directement du microbiote digestif du patient. Mais une forte contamination exogène, par l'environnement, est aussi démontrée (Werner *et al.*, 2008). C'est également le genre le plus souvent cité lors des ISO dans les unités de soins intensifs (Murray, 1990).

- **Pouvoir pathogène**

Du fait de leur caractère commensal, il est parfois difficile, dans un prélèvement superficiel, de distinguer une infection d'une colonisation (1/3 des isollements). L'infection est plus déterminée par le terrain que par la nature du germe (Lobel *et al.*, 2007).

Une étude mondiale incluant tous les continents et portant sur la prévalence des infections à entérocoques a été publiée auparavant. En fonction du continent, les entérocoques sont responsables de 4,8 à 9,1 % des ISO (Low *et al.*, 2001). Comme pour les autres infections à entérocoques, la plupart des isolats sont *E. faecalis* avec un pourcentage variant selon les études entre 60 et 80 % (Vergis *et al.*, 2001). Dans les ISO, un traitement actif contre les entérocoques doit être mis en route soit par une β -lactamine de type pipéracilline-tazobactam (16 g·j⁻¹) ou imipénème (2 à 3 g·j⁻¹) en association avec la vancomycine (30 mg·kg⁻¹·j⁻¹) au moindre doute d'isolement d'entérocoque résistant (Dupont *et al.*, 2000).

5. Autres entérobactéries

La famille des entérobactéries est une vaste famille de bactéries qui sont rencontrées tous les jours en bactériologie médicale. Elles ont une morphologie habituellement typique de type bacilles à Gram négatif de 2 à 3 μm de long sur 0,6 μm de large, immobiles (*Klebsiella*, *Shigella*, *Yersinia pestis*) ou mobile grâce à une ciliature pérित्रиче, aérobies anaérobies facultatives, se développant aisément sur des milieux ordinaires, fermentant le glucose, ne possèdent pas l'oxydase, possèdent une catalase (à l'exception de *Shigella dysenteriae*) et réduisant les nitrates en nitrite (Annexe 4) (Zouhdi, 2009). La présence d'une capsule visible au microscope est habituelle chez *Klebsiella*. La plupart des espèces pathogènes pour l'homme possèdent des pili (Zouhdi, 2009). Les entérobactéries se développent rapidement *in vitro* à une température optimale de 37 °C mais la culture est possible entre 20 et 40 °C. Leur exigences nutritionnelles sont, en général, réduites et la plupart se multiplient en milieu synthétiques avec une source de carbone simple comme le glucose. Sur milieux gélosés, les colonies d'entérobactéries sont habituellement lisses, brillantes, de structure homogène (type « smooth » ou S). Cet aspect peut évoluer après cultures successives pour donner des colonies à surface

sèche rugueuse (type « rough » ou R). Les *Klebsiella* forment des colonies souvent très muqueuses, large et luisantes. Les *Proteus* ont tendance à envahir la gélose et à former un tapis uniforme. En milieu liquide, les entérobactéries occasionnent un trouble uniforme du bouillon (Avril *et al.*, 2000 ; Decoster, 2005 ; Morice, 2003).

5.1. Les principales espèces incriminées dans les ISO

En plus d'*E. coli*, d'autres espèces des entérobactéries peuvent être rencontrées dans les ISO, parmi lesquelles : *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* et *Enterobacter cloacae*.

5.1.1. *Klebsiella pneumoniae*

K. pneumoniae est une espèce ubiquitaire. Elle est commensale des voies respiratoires. Après 24 heures d'incubation à 37 °C sur des milieux non sélectifs et des milieux sélectifs lactosés, les colonies sont rondes, grandes de 3 à 4 mm de diamètre et d'aspect muqueux à cause de la présence de la capsule (Joly et Reynaud, 2002).

K. pneumoniae peut être définie comme une entérobactérie immobile, VP (+), RM (-), uréase (+)(elle est moins active que celle des *Proteus*), ONPG (+), β -xylosidase (+), H₂S (-), indole (-), désaminase oxydative (-), LDC (+), ODC (-), lipase, DNase et gélatinase (-), KCN (+), fermentant de nombreux substrats glucidiques avec production de gaz, utilisant le citrate de Simmons et le malonate (Joly et Reynaud, 2002).

- Facteurs de virulence

a. La capsule

Leur capsule a été le premier facteur de virulence décrit (Hennequin *et al.*, 2012 ; Hsieh, 2012). Elle confère à *K. pneumoniae* un fort pouvoir invasif en protégeant les bactéries de la phagocytose. C'est une véritable enveloppe de nature polysaccharidique présentant un antigène k (Hennequin *et al.*, 2007). Parmi les 77 sérotypes capsulaires K1, K2, K21 et K55 sont associés aux souches les plus virulentes (Joly et Reynaud, 2002).

b. Facteurs d'adhésion

Ils sont produits par la majorité des souches dont deux types ont été mis en évidence chez des souches pathogènes pour l'homme : les pili de type 1 et de type 3 qui permettent l'adhérence de la bactérie à la face baso-latérale des cellules trachéales et bronchiques et une

adhésine non filamenteuse (adhésine CF 29 K) qui permet l'adhérence de la bactérie aux cellules intestinales et uro-épithéliales (Joly et Reynaud, 2002 ; Hennequin et al, 2007).

c. Le fer

Les souches de *K. pneumoniae* sont aptes à synthétiser des sidérophores (systèmes de chélation du fer) de type aéro bactéline (hydroxamate) et entérochéline (phénolate) qui favorisent la multiplication bactérienne dans les tissus (Joly et Reynaud, 2002).

- Pouvoir pathogène

K. pneumoniae est à la fois une bactérie commensale de l'organisme, et un agent pathogène responsable d'infections variées (Lau *et al.*, 2008). La transmission des souches de *K. pneumoniae* se fait par voie manuportée. Pour des raisons encore imparfaitement élucidées, ces infections communautaires sont plus fréquentes et plus graves où une virulence supérieure des souches est démontrée (Baudrand *et al.*, 2009). *K. pneumoniae* est essentiellement responsable des infections méningées post-chirurgicale.

5.1.2. *Proteus mirabilis*

Les *P. mirabilis* sont largement répandus dans l'environnement naturel, y compris l'eau polluée, le sol et le fumier, on les rencontre aussi dans la viande putride, des abcès. Elles sont pour la plupart des habitants de voies urinaires de l'homme où elles sont censées causer des IU associés à la formation de calculs rénaux et de la vessie (Kelley Struble *et al.*, 2009). Environ un quart de la population humaine sont porteurs intestinaux de *Proteus* et les patients peuvent être infectés par leurs propres flore (autoinfection). Ces infections peuvent également être contactées par la transmission des bactéries provenant d'autres patients ou à partir d'un réservoir commun (Holt, 1986). *P. mirabilis* nécessite un environnement qui a une alcalinité élevée, qui est mesurée en termes de pH, qui doit être élevée. Un milieu approprié pour *P. mirabilis* doit avoir un pH supérieur à 7 (frasca *et al.*, 2008). Elle se développe en aéro-anaérobiose et n'a pas d'exigence particulière en poussant bien sur les milieux ordinaires. Les colonies grosses, non hémolytiques, envahissant la surface de la gélose en ondes concentriques (cette propriété est liée à la mobilité exceptionnelle que lui confèrent plusieurs centaines de flagelles). Sur BCP, les colonies sont petites, transparentes en 24 heures (Maryse et Danielle, 2004). En bouillon, les cultures se développent en donnant souvent un voile en surface.

P. mirabilis présente les caractères généraux des entérobactéries, elle est RM (+) et VP (-) (peut être à la fois RM et VP positif) (Maryse et Danielle, 2004). Les caractères TDA, ONPG indiquent qu'il s'agit d'un *P. mirabilis*. Elle peut utiliser l'urée, forme des films transparents sur un milieu de croissance, utilise le citrate. Elle peut vivre dans des environnements hautement alcalins. Ces caractères biochimiques sont facilement mis en évidence sur les galeries miniaturisées (Maryse et Danielle, 2004).

- Facteurs de virulence

Cette bactérie est bien adaptée à l'hôte. La colonisation du tractus urinaire est accomplie grâce à l'expression de plusieurs facteurs de virulence. Ces facteurs sont liés aux processus d'adhésion, la toxicité, l'évasion et la motilité (Cristiani *et al.*, 2014). Elle est très virulente et contient de nombreuses caractéristiques qui aident sa pathogénicité. Elle possède un flagelle qui est nécessaire pour la motilité et qui impliqué dans l'apparition des infections. Cette bactérie produit également de l'uréase, qui est responsable des calculs rénaux à la suite de l'hydrolyse de l'urée en ammoniac. En outre, l'hémolysine que la bactérie sécrète est cytotoxique pour les cellules épithéliales des voies urinaires qui sont soumis à l'invasion par les *Proteus* (Misra *et al.*, 1984).

- Pouvoir pathogène

P. mirabilis est une espèce non pathogène. Cependant, il est en cause dans la plupart des infections humaines. Il est souvent isolé à partir des plaies superficielles, en particulier chez des patients dont la flore normale a été éliminée par antibiothérapie (Abbott, 2007). Il peut également coloniser le tractus urinaire, dans certaines circonstances, comme après une intervention chirurgicale dans le système génito-urinaire (Manos et Belas, 2006).

5.1.3. *Enterobacter cloacae*

Les *E. cloacae* sont des bactéries fréquemment retrouvées dans les eaux de surface, le sol et les végétaux. Elles sont susceptibles de se développer à basse température et d'acquérir, en particulier l'espèce *cloacae*, une résistance importante aux agents antibactériens (Lefrère, 2000). Les *Enterobacter* sont généralement mobiles, fermentent ou non le lactose et ils ont une β -galactosidase (Fauchère et Avril, 2002). Les membres de l'espèce *E. cloacae* donnent des réactions positives avec les tests de VP, d'OCD et d'ADH mais des résultats négatifs pour les tests de LDC, d'indole, d'ADNase et de lipase (Bergan, 1984). Sur gélose nutritive, *E. cloacae*

forme des colonies rondes avec un diamètre de 2 à 3 mm et légèrement plates avec des bords irréguliers (Grimont et Grimont, 2006).

- Pouvoir pathogène

Enterobacter cloacae est un germe qui colonise souvent les patients hospitalisés et plus particulièrement ceux traités par antibiotiques, et peut être à l'origine des infections au point de chirurgie, surtout des infections postopératoires ou liées à des dispositifs comme des prothèses biliaires (Russo et Johnson, 2008).

6. *Pseudomonas aeruginosa*

Elle est communément appelée bacille pyocyanique, est l'espèce type du genre *Pseudomonas* (Richard et Kiredjian, 1995). C'est une bactérie ubiquiste, saprophyte de l'eau, des matières en décomposition et des végétaux. Ses exigences nutritionnelles modestes lui permettent de survivre et de se multiplier dans un environnement humide (évier, siphons, certaines solutions antiseptiques) (Lahlou *et al.*, 2008). Bien qu'elle ne fasse pas partie physiologiquement de la flore microbienne commensale de l'homme, elle peut coloniser le tube digestif, l'oropharynx et les zones cutanées humides (Richet, 2003).

C'est un bacille à Gram négatif de 0,5 à 0,8 µm de diamètre sur 1.5 à 3.0 µm de longueur, aérobic strict, à métabolisme oxydatif, non sporulé, mobile grâce à un flagelle polaire généralement unique, capable de se développer sur les milieux usuels à une température de croissance comprise entre 30 et 37 °C (Floret *et al.*, 2009). Cependant les souches d'origine humaine peuvent se développer à des températures allant jusqu'à 41 °C (Yétérian, 2010). Un milieu sélectif, contenant du céramide, peut être utilisé afin d'isoler *Pseudomonas* à partir d'un prélèvement polymicrobiens. Les aspects des colonies sont de trois types : colonie la (large) sont grande, rugueuses avec un centre plus bombé et un bord irrégulier, colonie SM (Small) sont rondes, petites, convexes et lisses et colonie M (muqueuses) sont bombées, opaques, visqueuses, filantes ou parfois coulantes (Gellen, 2007).

- Facteurs de virulence

P. aeruginosa synthétise de nombreux facteurs de virulence, qui lui permettent de survivre aussi bien dans les différents hôtes que dans l'environnement (Lazdunski, 1998). Ils comprennent des facteurs impliqués dans l'adhérence et la motilité de *P. aeruginosa* qui

permettent la colonisation de l'hôte. Les adhésines bactériennes sont typiquement des structures macromoléculaires assemblées à la surface bactérienne comme le flagelle, les pili de type IV et les alginates. Le lipopolysaccharide (LPS) intervient également dans l'adhésion de *P. aeruginosa* sur l'épithélium respiratoire (Pier *et al.*, 1996 ; Pier, 2002). Des toxines et des protéases qui provoquent des lésions tissulaires facilitant aussi la multiplication et la dissémination bactérienne dans les tissus de l'hôte : L'exotoxine A, l'élastase, les phospholipases C, les rhamnolipides et les exo enzymes sécrétées par le système de sécrétion de type III.

- Pouvoir pathogène

P. aeruginosa est un agent pathogène opportuniste qui envahit souvent le tissu de leur hôte et cause une infection et une bactériémie chez les hôtes immunodéprimés (Liu et Mercer, 1963). *P. aeruginosa* responsable des ISO et cause une décoloration de la peau non brûlée sur le pourtour de la plaie et pigmentation verte dans la graisse sous-cutanée (Pruitt *et al.*, 1998 ; Zaidi *et al.*, 2006).

7. *Streptococcus pneumoniae*

Le *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* décrit les streptocoques comme des bactéries à Gram positif, catalase négative, anaérobie facultative formant des cellules ovoïdes ou sphériques de moins de 2 µm de diamètre. L'ADN du génome contient 34 à 46 % molaire de nucléotides C et G (C = Cytosine ; G = Guanine) (Ruoff *et al.*, 2004). Ce sont des bactéries pathogènes strictement humaines, retrouvées partout dans l'environnement, dans les téguments, les muqueuses de l'homme et des animaux. Les streptocoques ont une température optimale de croissance qui varie entre 35 et 37 °C. Leur croissance est favorisée par une atmosphère riche en CO₂ et se développent sur des milieux riches type gélose Columbia additionné de sang. Les colonies apparaissent avec une dépression centrale caractéristique, cet aspect est dû à l'autolyse. Les colonies sont entourées d'une plage légèrement verte correspondant à la transformation par la bactérie de l'hémoglobine présente dans le milieu en biliverdine (hémolyse alpha) (Denis *et al.*, 2011).

En plus de l'absence de catalase et d'oxydase, caractères communs à l'ensemble des streptocoques, le pneumocoque possède deux caractéristiques qui aident à son identification : sa sensibilité aux sels biliaires et à l'optochine (sel de cuivre). Cependant, 1 % des souches sont résistantes à l'action de l'optochine. Le pneumocoque est une bactérie fragile dans le milieu

extérieur dont le transport à température ambiante avant culture ne doit pas excéder deux heures (Kellogg *et al.*, 2001 ; SFM, 2015). *S. pneumoniae* fermente le glucose, le lévulose, le maltose, pousse sur la gélatine sans la liquéfier. D'autres caractères biochimiques sont présentés dans le tableau 1 (Lemozy et Suc, 1997).

Tableau 1. Caractères biochimiques de *S. pneumoniae* (Lemozy et Suc, 1997)

Test	VP	ESC	ADH	BHS	ARA	MAN	SOR	TRE	RAF	SOS	INU	LAC	RIB	AMI	GLY
Résultat	-	-	d	-	-	-	-	+	+	d	d	+	-	-	d

(-) : Caractère négatif (+) : Caractère positif (d) : Caractère variable

- Facteurs de virulence

La capsule polysaccharidique du pneumocoque est un élément essentiel dans sa virulence car elle protège la bactérie de la phagocytose et de l'opsonisation, en cachant certaines protéines de surface. La nature et l'épaisseur de la capsule varient suivant le sérotype. Il existe 91 sérotypes capsulaires (Park *et al.*, 2007). La paroi de la bactérie comporte un polysaccharide C ou substance C qui est constitué d'acides teichoïques spécifiques d'espèce. La protéine A (PspA) est présente à la surface du pneumocoque et inhibe l'activité du complément et la réponse humorale (Saumyaa *et al.*, 2016). La bactérie produit une adhésine CbpA nécessaire à la colonisation de l'oropharynx (Rosenow *et al.*, 1997), une pneumolysine qui est une cytotoxine excrétée lors de la lyse de la bactérie entraînant la lyse des cellules à proximité, une neuraminidase qui clive l'acide sialique présent à la surface des cellules hôtes et joue un rôle dans la colonisation ainsi qu'une hyaluronidase et une autolysine LytA.

- Pouvoir pathogène

S. pneumoniae fait partie de la flore naturelle des muqueuses dès la naissance. Sous l'influence de certains facteurs, il pourra devenir pathogène et être responsable d'ISO. L'infection se manifeste en général une à deux semaines après l'intervention et des infections sévères (ex : fasciite nécrosante) surgissent précocement (DLStevens, 2005).

8. *Acinetobacter baumannii*

A. baumannii est une bactérie à Gram négatif appartenant à la famille des *Moraxellaceae* (Rossau *et al.*, 1991). Les bactéries du genre *Acinetobacter* sont ubiquitaires (eau, sol, végétaux, etc.). Chez l'homme, les *Acinetobacter* font partie de la flore saprophyte cutanée de la peau saine et sont souvent retrouvés dans les localisations humides (creux axillaires, aines, espaces interdigitaux) (Joshi et Litake, 2013).

A. baumannii est un aérobie strict, poussant sur des milieux usuels (gélose nutritive au sang, gélose Mac conkey, Hektoen), et la seule espèce capable de croître à 44 °C (critère essentiel dans le diagnostic différentiel avec les autres espèces qui poussent à 37 °C) en formant des colonies arrondies de 1 à 3 mm de diamètre, convexes, ayant un aspect lisse, parfois mucoïde, à contours réguliers). Les souches capsulées forment sur la boîte des colonies muqueuses de couleur blanche-grise (elles sont dites « Smooth » ou lisses), alors que les souches non capsulées présenteront des colonies non muqueuses, d'aspect rugueux, de couleur blanche grise et de taille plus petite (elles sont dites « Rough » ou rugueuses) (Hidri, 2012).

Les espèces d'*Acinetobacter* sont catalase positives et oxydase négatives. Elles ont un certain nombre de caractéristiques métaboliques typiques, liées en grande partie à leur utilisation limitée des glucides en tant que source unique de carbone et d'énergie, avec des voies métaboliques essentiellement limitées au D-glucose, D-ribose, D-xylose et L-arabinose. Cependant, l'acidification de certains sucres, y compris le glucose, l'arabinose, le cellobiose, le galactose, le lactose, le maltose, le mannose, le ribose et le xylose, via un aldose déshydrogénase, a été documentée (Towner, 2006). Les tests classiques sont le plus souvent négatifs (Wafi, 2017).

- Facteurs de virulence

Bien qu'à l'origine il s'agisse de saprophyte de l'environnement, de virulence limitée, l'*Acinetobacter* possède en réalité plusieurs facteurs de virulence qui s'expriment selon les conditions de son développement :

- **LPS** : Composante de l'enveloppe cellulaire, impliqué dans le choc septique endotoxinique (Joly-Guillou *et al.*, 2006).
- **Hydrophobicité de la surface cellulaire** : Cette hydrophobicité protège la bactérie de la phagocytose et lui confère la capacité d'adhérer à des surfaces plastiques comme les

cathéters et les prothèses. La propriété hydrophobe des souches bactériennes dépend de leur structure superficielle ; plus la surface de la cellule est rugueuse, plus l'hydrophobicité est grande et vice-versa. Chez *Acinetobacter*, la présence de protrusions protéiques sur la surface cellulaire confère une hydrophobicité importante (Doughari *et al.*, 2011).

- **Enzymes extracellulaires** : Ce sont des estérases, amino-peptidases et les phosphatases d'acides (Rathinavelu et Bergogne-Bérézin, 2006 ; Towner, 2006). Les estérases ont une forte activité d'hydrolyse contre les acides gras à chaîne courte, ce qui provoque des lésions tissulaires. Les phospholipases C et D sont responsables de la survie d'*Acinetobacter* dans le sérum et de l'envahissement de cellules épithéliales (Camarena *et al.*, 2010 ; Jacob *et al.*, 2010).
- **Protéine de membrane externe « Outer Membrane Protein » (OMP)** : La principale protéine, OmpA est impliquée dans l'apoptose cellulaire, et est à l'origine de la réponse inflammatoire. Au cours d'une infection, l'OmpA se lie à la cellule hôte et se déplace dans le noyau où il provoque la mort cellulaire (Choi *et al.*, 2005).
- **Exopolysaccharide capsulaire** : Cette capsule fabriquée pendant la phase exponentielle de croissance est composée de L-rhamnose, D-glucose, l'acide D-glucuronique et D-mannose (Kablan *et al.*, 1985). Elle protège de la phagocytose et contribue à la formation de biofilm (en synergie avec les fimbriae), et à l'adhésion aux surfaces épithéliales (Braun et Vidotto, 2004).
- **Sidérophores** : Ce sont des chélateurs de fer synthétisés et sécrétés par les microorganismes pour leur permettre de puiser le fer essentiel pour leur développement. Les sidérophores d'*Acinetobacter* sont appelés « acinetobactins » et sont principalement constitués de histamine (Mihra *et al.*, 2004).
- **Biofilm** : Il s'agit d'une matrice polymérique de bactéries, hydratée, constituée de polysaccharides, de protéines et d'acides nucléiques (Sauer *et al.*, 2007). C'est une barrière qui empêche la pénétration d'oxygène, de nutriments, de désinfectants et des agents antimicrobiens. Il empêche également la dessiccation de la bactérie et ainsi contribue à sa persistance en milieu hospitalier (Longo *et al.*, 2014).
- **Quorum sensing** : Il est décrit comme la capacité d'une bactérie à percevoir et à répondre à la densité de la population bactérienne au moyen d'une molécule de lactone-homosérine acétylée (Joly-Gouillou et Bergogne-Bérézin, 2006). Une homosérine lactone a été détectée chez *Acinetobacter* et pourrait être à l'origine du mécanisme de régulation de l'expression de la virulence chez cet opportuniste (Gonzàle *et al.*, 2001).

- Pouvoir pathogène

A. baumannii est à l'origine d'infections opportunistes non spécifiques ; ainsi les symptômes de l'infection à *A. baumannii* sont souvent indiscernables cliniquement de ceux d'infections provoquées par d'autres bactéries opportunistes ce qui implique le passage obligatoire par le diagnostic. Il peut causer des infections des plaies ou osseuses survenant après un traumatisme ou une chirurgie, ou encore des méningites post-chirurgicales (principalement après une procédure neurochirurgicale) (Daghrar, 2016). Ils ne cesse de prendre de l'ampleur dans les unités de soins postopératoire créant ainsi, un vrai problème de prise en charge thérapeutique devant le faible nombre d'antibiotiques diffusant dans le liquide céphalorachidien, le pronostic vital est souvent engagé avec un taux de mortalité non négligeables. Néanmoins la cause de cette mortalité est non encore élucidée (Delbos, 2012 ; Chahmout, 2011).

9. Mycobactéries

Le genre *Mycobacterium* appartient à la famille des *Mycobacteriaceae* dans l'ordre des *Actinomycetales*. Il regroupe de nombreuses espèces, dont certaines sont pathogènes pour l'être humain. Ce sont des bactéries aérobies strictes, généralement non sporulantes, non mobiles, et en forme de fin bâtonnet d'environ 4 µm de long et 0,4 µm de large ou légèrement incurvées et dépourvues de capsule (Pfyffer, 2007). Elles se caractérisent par leur acido-alcool-résistance c'est-à-dire leur capacité à résister à la décoloration par les acides et les alcools et leur croissance particulièrement lente (développent des colonies en plus de sept jours sur milieu solide avec un temps de génération supérieur ou égal à 24 heures) (Harshey et Ramakrishnan, 1977). Les différentes espèces de mycobactérie donnent des colonies lisses ou rugueuses, présentant une taille importante (colonie eugonique) ou non (colonie dysgonique). Certaines espèces produisent des pigments caroténoïdes non diffusibles à la lumière (espèce photochromogène) ou à l'obscurité (espèce scotochromogène), et d'autres non (achromogène) (Euzéby 2010).

- Pouvoir pathogène

Les infections à mycobactéries sont rares, bien que les germes soient fréquents dans l'environnement, touchent surtout les sujets immunodéprimés, même si les patients immunocompétents peuvent également être atteints (Brown et Wallace, 2007). Les actes chirurgicaux, comme les laparoscopies, sont des facteurs augmentant le risque d'infection à *M.*

chelonae, peuvent vivre dans des réserves d'eau chaude, même les fontaines stériles des blocs opératoire justifiant de suivre les recommandations de l'ATS de ne jamais utiliser cette eau au contact des plaies (Declud *et al.*, 2000).

10. *Nocardia* spp.

Les *Nocardia* sont des bactéries ubiquitaires largement distribuées dans le sol où elles participent aux processus de fertilisation. Elles sont aussi isolées des eaux (douces et salées), des végétaux, de la poussière. Elles peuvent coloniser la peau, le tractus respiratoire, le tractus digestif chez l'homme et les animaux (Cathrine, 2013).

Les *Nocardia* sont des bactéries à métabolisme aérobic strict, à coloration de Gram positive et partielle avec la technique de Ziehl-Neelsen modifiée (acido-alcool résistance partielle). Les *Nocardia* forment des filaments dont la longueur, l'arborescence et l'homogénéité varient en fonction des conditions de culture. L'aspect des colonies sur milieux solides peut être différent selon les espèces ou même selon la souche. Cependant, les colonies présentent toutes des hyphes aériennes qui peuvent leur donner l'aspect de *Streptomyces* spp. Certaines souches de *Nocardia* produisent un pigment de type caroténoïde, les colonies observées ont alors des couleurs qui varient du jaune au rouge en passant par l'orange et le rose. Certaines souches sont également capables de produire un pigment brun soluble dans l'eau généralement excrété et capable de colorer le milieu de culture. La présence et l'intensité de chacun de ces pigments dépend des conditions spécifiques de culture utilisées (Brown-Elliott *et al.*, 2006).

Les techniques classiques de bactériologie ont longtemps permis l'identification des *Nocardia*. En effet, ce sont des microorganismes à catalase positive, à métabolisme oxydatif et capables de croître en utilisant le citrate, le sorbitol, le rhamnose, l'acétamide et le mannitol. Elles sont également caractérisées par une paroi bactérienne avec un peptidoglycane composée d'acide méso-diaminopimélique, d'arabinose, de galactose et d'acides mycoliques. Un autre critère permettant la différenciation de *Nocardia* des autres Actinobactéries est sa résistance au lysozyme, à l'exception de l'espèce *N. amarae* qui a été renommée *Gordonia amarae* (Klatte *et al.*, 1994).

- Facteurs de virulence

Certains facteurs de virulence des *Nocardia* sont connus à l'heure actuelle mais beaucoup de données manquent encore afin de comprendre les mécanismes conduisant à l'installation de la maladie. Les souches virulentes de *Nocardia* sont des pathogènes intracellulaires facultatifs qui peuvent coloniser une grande variété de cellules humaines et animales. Cette pathogénie repose sur des mécanismes complexes, multiples qui ne sont pas encore complètement élucidés. La virulence de *Nocardia* semble être associée à la phase de croissance de la bactérie. En effet, les cellules en phase exponentielle de croissance sont plus virulentes dans les macrophages que des cellules en phase stationnaire (Beaman et Maslan, 1978). Comme d'autres pathogènes intracellulaires, ces souches sont aussi capables de bloquer la fusion phagosome–lysosome, de neutraliser l'acidification des macrophages, de résister aux mécanismes de stress oxydatifs de la phagocytose, d'altérer les enzymes lysosomes dans le macrophage et, pour certaines d'entre-elles, d'envahir et de croître dans le cerveau d'animaux de laboratoire (Beaman et Beaman, 1994).

- Pouvoir pathogène

Les infections à *Nocardia* spp. sont des maladies rares, touchant des sujets immunodéprimés. Les services hospitaliers accueillant les patients ayant subi une transplantation cardiaque ou rénale ont été les plus touchés par ce type de transmission (Exmelin *et al.*, 1996).

11. Autres microorganismes en cause

11.1. *Candida* spp.

Candida spp. est un champignon opportuniste faisant normalement partie de la flore commensale d'individus et d'animaux sains. On le retrouve associé à la muqueuse buccale chez environ 80 % d'individus sains. Il est également présent dans l'appareil digestif, sur l'épiderme et dans l'appareil génital (McCullough *et al.*, 1996).

L'examen macroscopique des espèces de *Candida* cultivées en aérobiose, sur un milieu sélectif dont le pH varie de 2,5 à 7,5 et à une température de 37 °C montre qu'il s'agit de colonies ovalaires, crémeuses, non pigmentées et ayant une odeur de levure (McCullough *et al.*, 1996). La membrane cellulaire est formé de 80 à 90 % de carbohydrates qui sont des polymères de

glucose (α-glucanes), de N-acétyl-D-glucosamine (chitine) et des polymères de mannose associés d'une façon covalente aux protéines (mannoprotéines), 6 à 25% de protéines et 1 à 7% de lipides (Chaffin *et al.*, 1998).

- Facteurs de virulence

La virulence de *Candida* spp. est due à un ensemble complexe de facteurs. En effet, le genre *Candida* possède des caractéristiques communes à tous les microorganismes pathogènes tels que : la capacité de coloniser et d'envahir l'ensemble des tissus et des organes de l'organisme, la capacité de croître rapidement à 37 °C et la possession d'une paroi cellulaire résistante aux enzymes de dégradation de l'hôte. Cependant, le genre *Candida* possède des caractéristiques propres comprenant la sécrétion d'adhésive servant à la reconnaissance de l'hôte et à l'attachement aux muqueuses, la production d'enzymes hydrolytiques telles que les phospholipases et les aspartylprotéases et la variation de la morphologie assurée par la transition (dimorphisme) entre la forme levure et la forme mycélienne (Calderone et Fonzi, 2001).

- Pouvoir pathogène

Candida spp. représente la quatrième cause de septicémie et la première cause d'infection fongique invasive chez les patients hospitalisés. Les candidoses disséminées sont des infections sévères mettant en jeu le pronostic vital ; elles sont de plus en plus souvent observées chez des patients de réanimation, notamment chirurgicale. Cet événement est favorisé par la fragilisation des muqueuses après les chimiothérapies et par des traitements antibiotiques prolongés (Dromer, 2013).

11.2. *Aspergillus*

Aspergillus est un champignon présent dans tous les milieux, mais sa niche écologique primaire est le sol, au niveau de la végétation en décomposition, où il joue un rôle important dans la transformation des matières organiques. Il peut vivre en saprobie en tirant partie de substances organiques mortes et n'a pas de besoins nutritionnels spécifiques (Bennett, 2006).

Les *Aspergillus* sp. se développent habituellement bien sur les milieux classiques de mycologie comme le milieu de Sabouraud. Après 24 à 48 heures de culture, on observe des colonies plates, formées de courts filaments aériens blancs. C'est avec la maturation des structures conidiogènes (48 à 96 heures selon les espèces) que ces colonies vont prendre leur

teinte caractéristique, brune, verte, jaune, ou noire selon les espèces. La couleur de la culture oriente rapidement le diagnostic d'espèce. Enfin, les *Aspergillus* sp. poussent à 22-25 °C et à 37 °C pour les espèces thermophiles (Kozakiewicz et Smith, 1994).

- Facteurs de virulence

Ce mycète joue un rôle essentiel dans la nature ; il est continuellement inhalé par les humains et est éliminé efficacement par des barrières naturelles intactes et par un système immunitaire adéquat. Cependant, chez les hôtes immunocompromis, l'infection à *Aspergillus fumigatus* est l'infection fongique opportuniste aéroportée la plus fréquente et celle qui engendre le taux de mortalité le plus élevé. En plus de tirer profit des défenses affaiblies de l'hôte, l'*Aspergillus fumigatus* produit des substances biochimiques spécifiques possédant des caractéristiques biologiques qui augmentent ses capacités opportunistes. Les principaux facteurs de virulence de ce mycète sont de fait sa capacité à se développer à 37 °C et sa production de toxines cytotoxiques (Latge, 2003).

- Pouvoir pathogène

Aspergillus spp. regroupe de nombreuses espèces, dont une quarantaine qui sont une cause documentée d'infection chez l'être humain ou l'animal. Le terme aspergillose est une appellation générique utilisée pour décrire les infections causées par différentes espèces du genre *Aspergillus* (Verweij et Brandt, 2007).

11.3. Mucor

Les membres de Mucorales sont des champignons cosmopolites présents dans le sol, divers aliments (maïs, oignons, tomates, haricots, etc.), déjections d'animaux et dans l'air. Ils sont pathogènes des plantes et capables de contaminer des fruits ou des céréales (Ribes *et al.*, 2000). Ces champignons sont aussi fréquemment rencontrés comme contaminants de laboratoire. Ils peuvent cependant provoquer des IN (Rammaert *et al.*, 2012). La mise en culture des prélèvements mycologiques sur des milieux sélectifs adaptés tels que le milieu de Sabouraud glucosé contenant des antibiotiques (chloramphénicol, gentamicine) est recommandée (Schwarz *et al.*, 2007). Les températures d'incubation conseillées sont 25 et 37 °C pendant un minimum de 5 jours pour optimiser la croissance (Kontoyiannis *et al.*, 2007).

- Pouvoir pathogène

Les mucormycoses regroupent des infections invasives mortelles provoquées par les *Mucorales*. La majorité des cas surviennent chez des patients immunodéprimés (diabète, hémopathies) ou ayant subi une transplantation d'organe (Lanternier *et al.*, 2012 ; Lanternier *et al.*, 2012). Des cas ont été également décrits chez des individus immunocompétents après souillure de plaies (polytraumatisme) (Adam *et al.*, 1994 ; Kontoyiannis *et al.*, 2010).

11.4. *Fusarium*

Les *Fusarium* sont des champignons capables de se développer comme saprophytes et sont communs dans les sols, partout dans le monde. Dans le sol, les *Fusarium* peuvent persister pendant plusieurs années grâce à la formation de chlamydospores ou par le développement d'hyphes sur des résidus organiques (Burgess *et al.*, 1994). Sur gélose Czapeck à 25 °C, les colonies de *Fusarium* se développent rapidement, atteignant 4 à 5 cm en dedans de dix jours. Les colonies sont plates, soit veloutées, soit cotonneuses ; au commencement, elles sont blanches ou jaunes puis deviennent souvent rosâtres ou gris clair avec le temps. Quelques espèces ont, à maturité, une large frange blanche de mycélium, et le revers a souvent des nuances de rose à rouge (DeHoog et Guarro, 1995 ; Sutton *et al.*, 1999).

- Pouvoir pathogène

Depuis une vingtaine d'année on sait que certaines espèces de *Fusarium* sont susceptibles de réaliser de graves infections opportunistes chez l'homme ou les animaux, surtout chez les personnes immunodéprimées. Les infections dues aux *Fusarium* spp. sont collectivement regroupées sous le terme de fusarioses (Anaissie *et al.*, 1989).

11.5. *Cryptococcus*

Cryptococcus sp. est un champignon saprophyte présent dans plusieurs environnements tels que le sol, les légumes en état de putréfaction, le bois, les produits laitiers et les plantes (Sorrell et Ellis, 1997).

La culture est indispensable pour l'identification de l'espèce sur milieu de Sabouraud sans Actidione® (cycloheximide) auquel le genre *Cryptococcus* est constamment sensible. Le *Cryptococcus neoformans* pousse bien à 37 °C contrairement aux autres espèces, mais il est très sensible à la température et est tué à 40-42 °C. La levure pousse en 3 à 5 jours. Des souches

poussant lentement (jusqu'à 3 semaines) peuvent parfois être isolées. Macroscopiquement, les colonies sont lisses, d'aspect muqueux, prenant très rapidement un aspect brillant, coulant, de couleur beige à ocres (Dromer et Lortholary, 2003).

- Facteurs de virulence

Cryptococcus possède de nombreux facteurs de virulence, parmi lesquels la capsule polysidique, la mélanine, la capacité de croître à 37 °C et différentes enzymes secrétées qui lui donnent les facultés de modifier et de manipuler les mécanismes de défense de l'hôte qu'il envahit (Almeida *et al.*, 2001 ; Frases *et al.*, 2007 ; Perfect, 2006).

- Pouvoir pathogène

Le cryptocoque est présent partout dans le monde, mais l'infection était relativement rare avant l'épidémie de SIDA. La cryptococcose est l'infection fongique potentiellement mortelle la plus répandue chez les personnes atteintes du SIDA (Dromer et Lortholary, 2003).

Chapitre 3
Techniques
d'identification des agents
pathogènes

1. Prélèvement

Les prélèvements les plus examinés en bactériologie sont des produits de suppuration d'origines divers. On distingue habituellement les suppurations primitives (anthrax, furoncle) et les suppurations secondaires dues à des manœuvres chirurgicales (surinfections à bactéries opportunistes) (Le REMIC, 1998). Le prélèvement du pus est obtenu par ponction franche en zone saine, d'une collection, d'un abcès, d'une infection profonde qui contient des polynucléaires neutrophiles à l'examen direct des bactéries ou en culture sur milieu gélosés enrichis (Desplaces, 2012).

1.1. Techniques de prélèvement

La quantité doit être suffisante ; réalisées avec un matériel stérile pour éviter la contamination. Les prélèvements sont réalisés à l'hôpital au lit du malade pour les patients hospitalisés et en salle de soins pour les malades qui viennent consulter (SFM, 2004). Ils sont réalisés sur la surface des plaies post-opératoires infectées.

1.1.1. Prélèvement à l'aide d'un écouvillon

Dans le cas des suppurations superficielles, il s'agit de collections suppurées provenant de zones superficielles possèdent leurs propre flore commensale (escarres, brûlures). Les débris cellulaires et tissulaires sont enlevés par lavage avec de l'eau physiologique. Puis à l'aide d'un écouvillon le prélèvement est effectué le plus profond possible. L'écouvillon est frotté sur la surface de façon verticale, horizontale, en appliquant une pression aussi forte que possible. Il est ensuite replacé délicatement dans son tube, puis l'ensemble des prélèvements est acheminé au laboratoire pour une utilisation immédiate (Chibi, 2015 ; Denis, 2011).

1.1.2. Prélèvement à l'aide d'une seringue

Dans le cas des suppurations profondes, il s'agit d'un prélèvements provenant de zones profondes fermées, normalement stériles comme le liquide de séreuse, le liquide pleural, le liquide articulaire, le liquide péricardique, le liquide synovial, etc... Ces prélèvements sont obtenus à l'aide d'une aiguille montée d'une seringue, ou bien par ponction à travers la peau ou les muqueuses après une désinfection soigneuse du point de la ponction (SFM, 2004). Le contenu est mis dans un tube. Après prélèvement, un étiquetage doit être fait avec le nom, prénom, service, lit, origine du prélèvement et les renseignements cliniques du patient (Azèle, 1982).

1.2. Consignes d'acheminement des prélèvements

L'acheminement au laboratoire doit être le plus rapidement possible. En effet, Si les prélèvements sont laissées pendant longtemps à température ambiante, les bactéries se multiplient et peuvent fausser l'intégration des résultats. Par ailleurs, certaines bactéries sont fragiles, leur exposition à l'air et à la dessiccation peut les tuer (bioMérieux, 1994 ; SFM, 2004).

Le milieu de transport protégé est le plus souvent recommandé. C'est un milieu réducteur, solide et tamponné. Il permet de conserver la viabilité de la plupart des germes aérobies ou aérobies pendant 48 heures à 20-25 °C. Le milieu Stuart qui permet de conserver les bactéries jusqu'à 6 heures après le prélèvement peut être également utilisé. Au laboratoire, des précautions doivent être également prise. Les prélèvements ne doivent pas être conservés à une température de +4 °C car elle inhibe la croissance bactérienne. En revanche, il est recommandé de les conserver à la température optimale de croissance de la plupart des bactéries pathogènes (bioMérieux, 1994 ; SFM, 2004).

2. Examen microscopique

Il est fondamental et suffit parfois pour établir un diagnostic immédiat. Un frottis pour la coloration de Gram ou coloration au bleu méthylène et un examen microscopique doit être fait pour chaque prélèvement (Tableau 2) (Bassole, 2012).

Pour ce faire, à l'aide d'une anse, un frottis uniforme, de la partie la plus purulente du prélèvement, est préparé sur une lame propre. Dans le cas d'un écouvillon de coton, il est étalé doucement sur la surface de la lame sans frotter ni appuyer. La lame est laissée séchée à l'air ou dans étuve. Le frottis est ensuite fixé à la chaleur, coloré et examiné à l'objectif (X100) afin de noter les éléments suivants :

- Granulocytes (cellule de pus).
- Cellules épithéliales qui marquent une éventuelle contamination par la flore commensale.
- Cocci à Gram positif disposé en grappe, évoquant des staphylocoques.
- Cocci à Gram positif en chaînette, évoquant des streptocoques.
- Bacilles à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*), autres *Enterobacteriaceae* (*Enterobacter*, *Providencia*, etc...), bacilles non fermentaires (*Pseudomonas* sp.), ou anaérobies obligatoires (*Bacteroides* sp.) (Nauriel et Vildé, 2005 ; Vendepitte *et al.*, 1994).

Tableau 2. Le but de l'examen microscopique (Guizlane *et al.*, 2008)

Examen direct à l'état frais	Examen après coloration	
Permet d'examiner la mobilité et la formes des bactéries ainsi que leur mode de regroupement	Coloration au bleu méthylène	Coloration de Gram
	Pour observer la cytologie du prélèvement (présence des polynucléaires) ainsi que la présence éventuelle des germes (forme et mode de regroupement)	Permet de diviser les germes en deux parties les bactéries à Gram positif colorées en violet foncé et les bactéries à Gram négatif colorées en rose. On peut aussi observer la disposition des germes et leurs morphologies (cocci, bacilles, coccobacille).

2.1. Examen direct à l'état frais

Il consiste à observer entre lame et lamelle une suspension bactérienne sans fixation préalable par la chaleur ou l'alcool. L'examen direct proprement dit se réalise en déposant, sur la lame une goutte du liquide ou de la suspension microbienne à examiner. Cette goutte est recouverte d'une lamelle. Observer au microscope optique à l'objectif $\times 40$ (Carbonnelle *et al.*, 1988).

2.2. Examen cytologique « Coloration au bleu méthylène »

2.2.1. Principe

Cet examen permet de mettre en évidence les différentes cellules et leur aspect. Essentiellement celui des polynucléaires neutrophiles et des lymphocytes dans les pus après une coloration au bleu de méthylène (Meziane *et al.*, 2018).

La coloration au bleu de méthylène est une technique qui permet de confirmer la cytologie et d'apprécier la réaction cellulaire car il est important de savoir si la réaction immunitaire est faite de lymphocytes ou de polynucléaires et de connaître l'état des cellules (intacte ou altérée) (Leulmi, 2015).

2.2.2. Protocol

- Une solution de bleu de méthylène est versée sur un frottis correctement fixé sur une lame propre. Le temps de contact est d'une durée allant de 20 à 30 minutes.
- La lame est rincée avec l'eau de robinet, puis séchée entre deux feuilles de papier buvard.
- Elle est ensuite observée au microscope optique G10X100. Les structures colorables qui sont des polynucléaires altérés apparaissent en bleues (Denis *et al.*, 2011).

2.3. Identification microscopique « La coloration de Gram »

2.3.1. Principe

Cette coloration est largement utilisée, elle permet d'étudier les affinités tinctoriales des bactéries. Elle donne aussi des renseignements sur la prédominance des espèces présentes (espèces pure ou une flore complexe). Le résultat permet de distinguer les bactéries à Gram positif de celles à Gram négatif (Leulmi, 2015). Elle est basée sur la différence de perméabilité des bactéries à l'alcool, et donc sur leur capacité à retenir dans leur cytoplasme et leur paroi un colorant primaire. Cette solution de différence de perméabilité est liée à une différence de structure pariétale des deux grands groupes (Béraud, 2014).

2.3.2. Protocol

Après réalisation et fixation du frottis, recouvrir la lame par le violet de Gentiane durant 30 secondes.

- Laver à l'eau.
- Recouvrir la lame d'une solution de Lugol durant 30 secondes.
- Laver à l'eau.
- Recouvrir la lame à l'alcool (90 %) durant 10 secondes.
- Laver rapidement et recouvrir la lame de Fuchsine durant 15 à 30 secondes.
- Laver à l'eau puis sécher la lame.
- Observer au microscopique optique (objectif X100). Les bactéries à Gram (+) seront colorées en violet et les bactéries à Gram (-) en rose (Romadhane, 2011).

3. Examen macroscopique

Lorsqu'un prélèvement est assez abondant, l'examen macroscopique peut fournir des renseignements intéressants : l'odeur nauséabonde des pus à anaérobies, l'aspect granuleux, mal lié des pus à streptocoques, les pus crémeux à staphylocoques ou à pneumocoques sont des éléments d'orientation dont il faut tenir compte (Danis *et al.*, 2007).

3.1. Couleur

La couleur des prélèvements qui sont généralement du pus va du jaune-vert au rouge brun (Figure 3). 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* (Vendepitte *et al.*, 1994).



Figure 3. Les couleurs du pus (Alamystock, 2006 ; Istock, 2012)

(a) Rouge-brun, (b) jaune, (c) vert

3.2. Consistance

Le pus peut être : épais, visqueux, élastique, mélangé ou non de sang, fluide, séreux ou séro-hématique. Il peut être homogène ou granuleux. Dans certains cas, de petits grains jaunes, noirs (fongiques), rouges (actinomycosiques) ou blancs (fongiques ou actinomycosiques) sont apparents (Tchalla, 2006).

3.3. Odeur

L'odeur des prélèvements peut orienter le biologiste. En effet, une odeur fétide, excrémentielle, est l'une des caractéristiques des infections anaérobies ou mixtes (aérobie-anaérobies) (Vendepitte *et al.*, 1994).

4. Culture

4.1. Enrichissement

La présence de certaines bactéries à pouvoir pathogène spécifique dans un prélèvement, a une signification pathologique indiscutable, même si elles sont peu représentées. Leur proportion peut être minime par rapport à celle de la flore commensale et leur présence ne peut être révélée par un isolement. Le prélèvement est ensemencé sur le bouillon et incubé à 37 °C pendant 24 à 48 heures à l'étuve. Le bouillon d'enrichissement est ensuite repiqué sur des milieux gélosés pour isolement (Vendepitte *et al.*, 1994).

4.2. Isolement

L'isolement utilise essentiellement des milieux solides. Les milieux solides utilisés en routine sont des milieux, dont certains sont additionnés de sang et incubés entre 35 et 37 °C sous diverses atmosphères (aérobie, anaérobie, dioxyde de carbone). Ces milieux permettent la croissance en 24 heures de la plupart des bactéries rencontrées en pathologie humaine. Indépendamment des résultats de la microscopie, tous les prélèvements de pus ou d'exsudat doivent être de préférence ensemencés sur au minimum trois milieux de culture (SFM, 2004). Plusieurs milieux de culture peuvent être utilisés :

- Milieux non sélectifs

- Milieu Cystine Lactose Electrolyte Déficiant (CLED) : il permet la culture des germes pathogènes et contaminants. Sa faible teneur en électrolytes évite l'envahissement des cultures par *Proteus* (Pasteur, 1987).

- Gélose Columbia : c'est une gélose particulièrement adaptée à l'isolement des streptocoques et autres germes exigeants (bioMérieux, 1994).

- Gélose au sang : gélose utilisée pour l'isolement des 15 streptocoques et autres germes exigeants. La gélose, après ensemencement, est incubée pendant 24 à 48 heures sous atmosphère riche en CO₂ (bioMérieux, 1994).

- Milieux sélectifs

- Milieu *Eosine Methylene Blue* (EMB) : c'est un milieu d'isolement et d'identification des entérobactéries particulièrement d'*E. coli*. Ce milieu inhibe la croissance des germes à Gram positif (Pasteur, 1987).

- Milieu de Chapman Mannité : c'est une gélose sélective pour l'isolement des staphylocoques. Les boîtes doivent être maintenues pendantes 24 à 48 heures à l'étuve à 37 °C (bioMérieux, 1994).

4.3. Aspect macroscopique des colonies

L'observation macroscopique des cultures se fait en décrivant la forme et la taille des colonies, l'opacité et l'aspect de la surface, ainsi que la consistance et la pigmentation des colonies. La taille peut être mesurée à l'aide d'une règle graduée pour les grandes colonies ou à l'aide du microscope au grossissement le plus faible pour mesurer la taille des petites colonies en utilisant de micromètres oculaires. L'allure de contours peut être lisse, dentelés, déchiquetés ou irréguliers. La forme est soit bombée, soit demi-bombée ou plate. Le centre de la colonie peut être surélevé ou ombiliqué (en creux). La surface d'une colonie bactérienne peut être lisse, rugueux, renvoyer la lumière de façon à leur donner un reflet métallique ou un aspect irisé. Les colonies sont décrites comme : opaques, translucides ou transparentes. Au moment du prélèvement il est possible d'apprécier si les colonies sont grasses, crémeuses (on obtient facilement des suspensions homogènes), sèches ou encore muqueuses (on obtient difficilement des suspensions homogènes). Plusieurs colonies n'ont pas une couleur bien définie (blanc, gris), par contre, certaines bactéries produisent un pigment insoluble qui donnent un aspect bien caractéristique à la colonie (rose, jaune, rouge ...), tandis que d'autres produisent un pigment soluble qui diffuse et colore le milieu (Hennine et Serière, 2017).

5. Identification biochimique

L'identification comporte une série d'étapes, se succédant le plus souvent dans un ordre déterminé (bioMérieux, 2004).

5.1. Tests d'identification biochimique classique

A l'aide d'une anse de platine bien stérile, une colonie est prélevée puis déposée dans un tube à essai contenant de l'eau distillée stérile ; cette suspension est ensuite homogénéisée pour être ensemencée sur différents tests.

5.1.1. Recherche de la catalase

Ce test est appliqué pour les cocci à Gram positif, il permet de différencier entre *Streptococcus* spp., *Micrococcus* spp. et *Staphylococcus* spp. (Jaouhar, 2017). La catalase (Ferro porphyrine de poids moléculaire élevé) à la propriété de décomposer l'eau oxygénée (H_2O_2) avec dégagement d'oxygène (O_2). C'est l'action directe de l'enzyme qui est mise en évidence dans la masse bactérienne. Une goutte d'eau oxygénée (H_2O_2) à 10 volumes est déposée sur une lame avec une colonie bien distincte de culture jeune de 24 heures, le dégagement immédiat de bulles d'oxygène exprime la présence d'une catalase, en absence de bulles la bactérie ne possède pas la catalase (Figure 4) (Garnier et Denis, 2007).

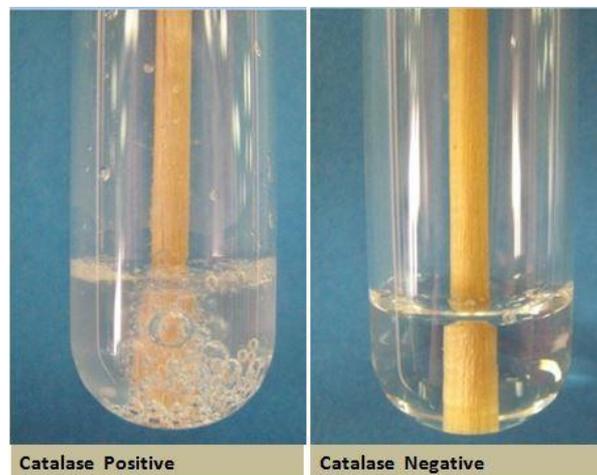


Figure 4. Les réactions de la catalase (Tille, 2017)

5.1.2. Recherche de la coagulase

La coagulase libre est présente chez *S. aureus*, mais aussi peut être produite par *S. intermedius* ou *S. hyicus*. Ce test consiste à mettre en évidence la coagulase libérée dans le milieu extérieur. La détection de cette coagulase s'effectue en ajoutant dans un tube à hémolyse 0,5 ml de plasma humain et 0,5 ml d'une culture de staphylocoques de 24 heures en bouillon. Le mélange est placé à l'étuve à 37 °C et incubé pendant 24 heures. Les souches de *S. aureus* provoquant la coagulation du plasma le plus souvent les trois premières heures. Un test positif se traduit par la formation d'un coagulum et dans le cas d'un test négatif il n'y aura pas de formation de caillot. Si vous vérifiez le plasma, vous remarquerez qu'il reste entièrement liquide (Figure 5) (Garnier et Denis, 2007).

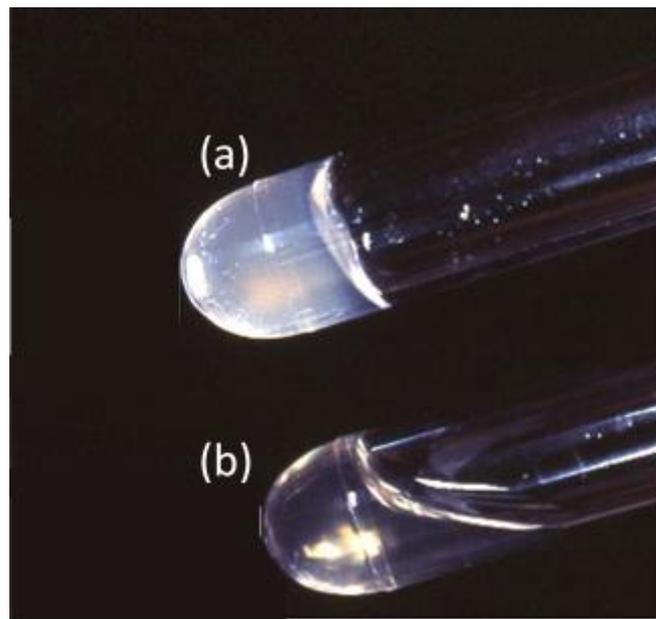


Figure 5. Les réactions de la coagulase (Willey, 2008)

(a) Coagulase positive, (b) coagulase négative

5.1.3. Recherche de l'oxydase

L'oxydase est une enzyme recherchée en bactériologie systématique. Sa présence ou son absence représente un des critères les plus discriminatifs et les plus employés pour l'identification des bacilles à Gram négatif. La technique consiste à déposer un disque imprégné de réactif sur une lame ensuite une goutte d'eau distillée stérile est ajoutée puis une colonie parfaitement isolée est prélevée avec une pipette Pasteur bouclée et écrasée sur le disque pendant une dizaine de secondes. Une réaction positive se traduit par un virage rapide du réactif de l'incolore au violet. Dans le cas contraire, il reste incolore (Figure 6) (Marchal et Bourdon, 1982).

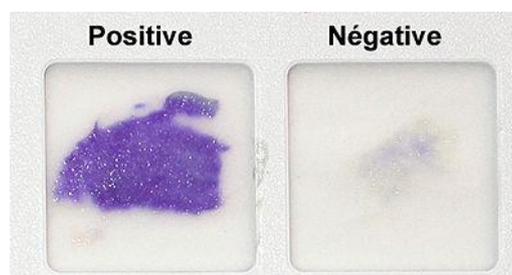


Figure 6. Le test d'oxydase (Bendjama, 2018)

5.1.4. Test TSI

La gélose *Triple Sugar Iron* (TSI) permet l'identification des entérobactéries par la mise en évidence rapide de la fermentation du lactose, du glucose, du saccharose et de la production de sulfure d'hydrogène H_2S . L'indicateur de pH contenu dans ce milieu est le rouge de phénol. La technique consiste à ensemencer le milieu par des stries sur la pente et par piqure centrale dans le culot puis incubé à l'étuve à 37 °C pendant 24 heures (Biokar, 2003). Après incubation, l'interprétation des résultats se fait de la manière suivante (Figure 7) : Si le culot est jaune, la souche est glucose positif (fermentation du glucose). S'il est rouge ou inchangé, la bactérie est dite glucose négatif. S'il devient noir, cela se traduit par la formation du sulfure d'hydrogène. Les bulles ou les fissures dans la gélose indiquent la formation de gaz à partir du glucose. Quant à la pente de la gélose, Si elle devient jaune, la bactérie est dite lactose et/ou saccharose positif (utilisation du lactose et/ou du saccharose). Si elle reste rouge ou inchangée, la bactérie est lactose et/ou saccharose négatif (Hajna, 1945).

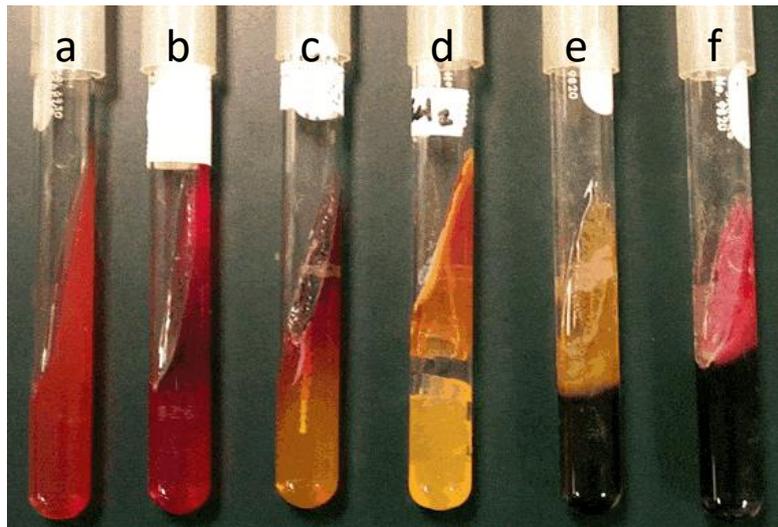


Figure 7. Les résultats du TSI (Clark College, 2013)

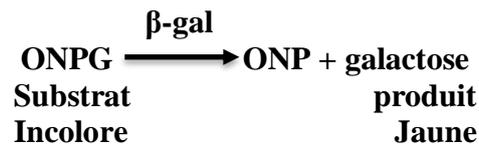
(a) Témoin non ensemencé ; (b) Pente rouge/ Culot rouge (pas de gaz, pas d' H_2S) ; (c) Pente rouge/ Culot jaune (pas de gaz, pas d' H_2S) ; (d) Pente jaune/ Culot jaune (gaz (+), pas d' H_2S) ; (e) Pente jaune/ Culot jaune (gaz (+), H_2S (+)); (f) Pente rouge/ Culot jaune (gaz (+), H_2S (+)).

5.1.5. Test d'ONPG

Ce test est destiné à la révélation de la β -galactosidase des entérobactéries, enzyme nécessaire au métabolisme du lactose (Richard, 1978). Les entérobactéries acidifiant le lactose doivent posséder 2 enzymes :

- Une β -galactoside perméase, nécessaire à la pénétration du lactose à l'intérieur de la bactérie
- Une β -galactosidase, permettant de scinder la molécule de lactose.

En absence de la première enzyme, une entérobactérie β -galactosidase [+] ne pourra pas exprimer son caractère lactose [+] (Leminor et Ben hamida, 1962). Le test ONPG permet de détecter l'expression de cette enzyme : l'hydrolyse de l'ONPG par la β -galactosidase libère l'orthonitrophéno1, composé coloré en jaune (Lowe, 1960).



Ce test doit être effectué à partir d'une souche lactose - cultivée dans un milieu contenant du lactose. Faire une suspension dense en eau stérile (tube à hémolyse). Déposer un ½ disque d'ONPG. Placer au bain-marie à 37 °C. Lire après 30 minutes. Si la réaction est positive il y aura apparition d'une coloration jaune dans le tube. La réaction négative se traduit par l'absence de coloration jaune à 24 heures (Figure 8).

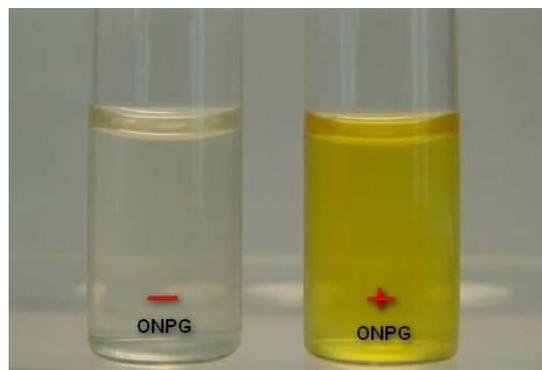


Figure 8. Le test d'ONPG (Sagar, 2019)

5.1.6. Utilisation du citrate

Le milieu citrate de Simmons permet la recherche de l'utilisation du citrate de sodium comme seule source de carbone et d'énergie par les bactéries. La fermentation du citrate de sodium entraîne alors une acidification qui provoque une coloration bleue du milieu en présence de bleu de bromothymol (Pasteur, 1987). La pente du milieu citrate de Simmons estensemencée avec une strie centrale sur toute la surface de la gélose. Les tubes sont incubés à 37 °C pendant 1 à 10 jours et le bouchon doit être légèrement dévissé. Une réaction positive se traduit par une alcalinisation du milieu en faisant virer l'indicateur de pH du vert au bleu. Une réaction négative

ne donne aucun changement de couleur du milieu, même après plusieurs jours d'incubation (Figure 9) (Boudouda, 2015).

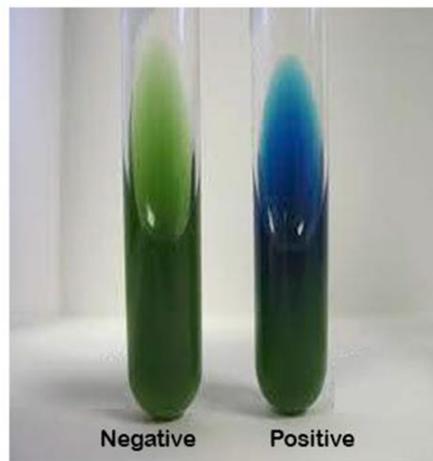


Figure 9. Le test Citrate de Simmons (Arlet et Champs, 2009)

5.1.7. Mannitol-Mobilité

Le test permet de chercher simultanément la fermentation du mannitol et l'étude de la mobilité de la souche en présence d'un indicateur de pH, le rouge de phénol. L'ensemencement du milieu se fait par piqûre centrale dans le culot jusqu'au fond du tube. L'incubation dure 24 heures à 37 °C (Pasteur, 1987). La fermentation du mannitol se révèle par une acidification du milieu qui fait virer l'indicateur de pH au jaune. Si la souche ne fermente pas le mannitol, le milieu reste rouge (mannitol -) (Figure 10). La mobilité se traduit par la diffusion des bactéries à partir de la ligne d'ensemencement vers la périphérie, en créant une turbidité. Les bactéries immobiles poussent uniquement le long de la piqure centrale (Figure 10) (Marchal *et al.*, 1982).

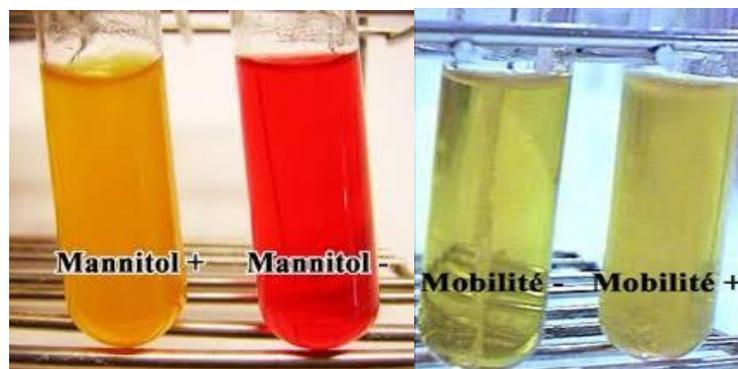


Figure 10. Le test Mannitol-Mobilité (Cavalla, 2005)

5.1.8. Mise en évidence des décarboxylases et la dihydrolase

Plusieurs milieux sont utilisés notamment le milieu de Moeller pour la recherche de la lysine décarboxylase (LDC), L-arginine dihydrolase (ADH) et l'Ornithine décarboxylase (ODC). Ce milieu ne renferme qu'un seul acide aminé, celui dont on veut étudier (la lysine, l'arginine ou l'ornithine), du glucose et le pourpre de bromocrésol (BCP) comme indicateur de pH. Les différents milieux de Moeller sontensemencés à partir d'une culture jeune de la souche, les tubes sont ensuite recouverts par l'huile de vaseline stérile afin de créer une anaérobiose relative. Les tubes sont mis à l'étuve pendant 24 heures à 37 °C (Marchal *et al.*, 1982). En cas d'absence de l'enzyme, un virage du BCP au jaune due à l'acidification du milieu par la fermentation du glucose. En cas de présence de l'enzyme, elle va induire une réalcalinisation du milieu après son acidification (par fermentation du glucose) donc il revient à sa couleur initiale violette avec trouble (Figure 11).



Figure 11. Test de Décarboxylase (Sagar, 2019)

5.1.9. Mise en évidence de l'uréase, tryptophane désaminase (TDA) et la production d'indole

Ce test consiste à inoculer dans le milieu urée indole des colonies bactériennes identiques, suite à une incubation de 18 heures à 37 °C, la révélation de la présence de l'uréase se traduit par une alcalinisation du milieu d'où une coloration rose rouge. Les bactéries possédant une uréase transforment l'urée en carbonate d'ammonium entraînant une alcalinisation qui provoque une coloration rouge violacé du milieu en présence de rouge de phénol. L'addition du réactif de Kovacs montre la production de l'indole qui se traduit par un anneau rouge en surface du milieu. La désamination du tryptophane se manifeste par une coloration brune après l'adjonction de perchlorure de fer (Marchal et Bourdon, 1982).

5.2. Identification par la galerie API Staph

API Staph est un système standardisé pour l'identification des genres *Staphylococcus*, *Micrococcus* et *Kocuria* comprenant 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne réalisée dans API Staph Medium qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide d'un tableau de lecture (Annexe 5) et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification (bioMérieux, 1994).

5.3. Identification par la galerie API 20E

C'est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux, comprenant 21 tests biochimiques miniaturisés dans 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. La galerie est incubée ensuite à 37 °C pendant 18 à 24 heures. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture (Annexe 6) et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification Apiweb (bio Mérieux, 1994).

6. Les techniques de biologie moléculaire

Les méthodes d'étude de biologie moléculaire suivent un schéma commun qui peut être divisé en trois étapes. Chacune doit être la plus performante possible pour assurer le meilleur seuil de détection de la méthode prise dans sa globalité. Toutes ces méthodes débutent par une extraction de l'ADN, cette étape est essentielle car la quantité et la qualité de l'ADN microbien récupéré conditionne les étapes qui constituent la suite de l'analyse (Vincent, 2006).

6.1. Extraction d'ADN

L'extraction de l'ADN est une technique permettant d'isoler l'ADN de cellules ou de tissus. L'ADN ainsi extrait peut ensuite être utilisé pour des recherches de biologie moléculaire, telles que la PCR. Plusieurs techniques d'extraction d'ADN sont possibles, certaines permettent une extraction rapide et directe de l'ADN à partir des cellules, d'autres indirectes nécessitent

de recourir à un protocole en plusieurs étapes, mais le principe est à peu près toujours le même :

- Lyse des cellules, c'est-à-dire qu'on utilise un détergent afin de casser les membranes cellulaires et nucléaires.
- Élimination des protéines.
- Élimination des autres acides nucléiques (ARN...).
- Concentration de l'ADN par précipitation à l'alcool (Vincent, 2006).

6.2. Détermination de la concentration d'ADN

La concentration d'une solution d'ADN peut être estimée par la mesure de l'absorbance à 260 nm, une unité d'absorbance correspondant à 50 µg/ml d'ADN bicaténaire. Le calcul du rapport des absorbances 260/280 nm permet d'estimer la pureté de la solution (absence de protéines), ce rapport devant être compris entre 1,8 et 2 (Sambrook *et al.*, 1989).

6.3. Électrophorèse sur gel d'agarose

L'électrophorèse sur gel d'agarose est communément utilisée pour séparer des molécules en fonction de leur charge, leur taille et leur forme. Il s'agit d'un moyen de séparation particulièrement efficace pour des biomolécules chargées telles que l'ADN, l'ARN et les protéines (Sambrook *et al.*, 1989).

Les fragments d'ADN de taille inférieure à 50 kb sont séparés selon leur taille par migration sur gel d'agarose à 1 % (Figure 12). On peut estimer la taille et la concentration de l'ADN en comparaison avec la migration d'un marqueur de taille moléculaire. L'ADN est d'abord digéré par une enzyme de restriction (ex : *EcoRI* ou *HindIII*), la migration s'effectue sous une tension pouvant varier de 20 à 100 V dans un tampon d'électrophorèse, le Tris Acétate EDTA (TAE). Les fragments d'ADN séparés sont visibles aux UV à 300 nm grâce au Bromure d'Ethidium (BET) qui est soit ajouté au moment de la préparation du gel ou après migration. Le BET est un agent d'intercalation utilisé comme marqueur des acides nucléiques ; il devient fluorescent quand il est exposé aux rayonnements ultraviolets ; c'est un produit dangereux, qui possède un effet mutagène et peut être cancérigène, il doit donc être manipulé avec des gants sous une hotte aspirante (Bâ *et al.*, 2011).

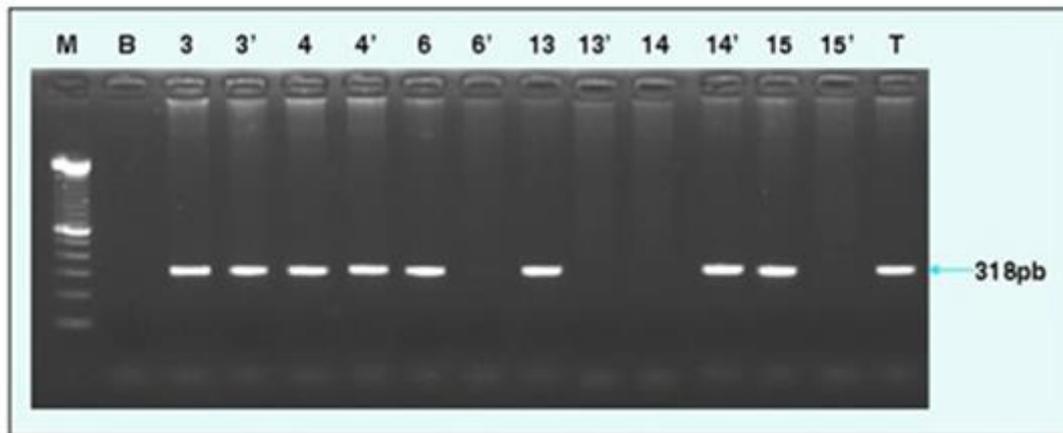


Figure 12. La visualisation de bandes d'ADN sur gel d'agarose
(https://wiki.aurea.eu/index.php/La_technique_PCR)

6.4. Électrophorèse sur gel de polyacrylamide

Les gels de polyacrylamide appelés en anglais *PolyAcrylamide Gel Electrophoresis* (PAGE) sont utilisés pour des fragments plus petits que les gels d'agarose, en général inférieur à 1 kb (Figure 13).

Les échantillons déposés sur le gel sont séparés en fonction de leur taille. Tout comme pour les gels d'agarose, une concentration plus élevée permet une séparation plus nette des fragments de très petites tailles. Ils sont utilisés pour séparer les PCR d'ITS et les fragments du polymorphisme de longueur des fragments de restriction ou encore *Random Fragments Length Polymorphism* (RFLP) (Huybens *et al.*, 2009 ; Nolan *et al.*, 2003).

L'électrophorèse en gel de polyacrylamide contenant du laurylsulfate de sodium ou SDS-PAGE (sigle anglophone de *sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis*) est une technique de biochimie et de biologie moléculaire, qui est utilisée pour analyser les protéines et les séparer en fonction de la masse moléculaire de la chaîne polypeptidique. C'est une technique dénaturante qui dissocie les complexes protéiques non-covalents (Shapiro *et al.*, 1967).

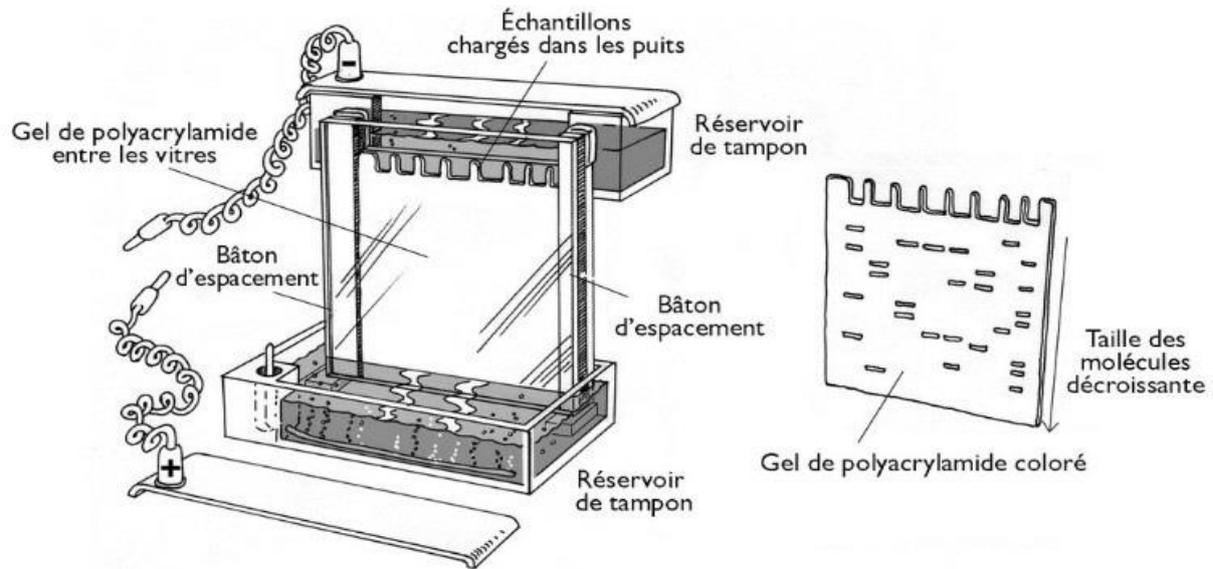


Figure 13. Le principe d'électrophorèse sur gel de polyacrylamide
(Lionnet et Croquette, 2005)

6.5. Amplification de l'ADN

Afin de comparer ou d'étudier l'ADN extrait, celui-ci doit donc être amplifié par la réaction de polymérisation en chaîne ou encore *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Kary Mullis a mis au point la PCR en 1983 alors qu'il était chimiste, sa découverte lui a valu le prix Nobel de chimie (Hoshino, 2012 ; Raven *et al.*, 2011).

6.5.1. Définition de la PCR

La PCR est basée sur le mécanisme de répllication de l'ADN *in vivo*, dont le but est d'amplifier ou de copier de façon exponentielle un fragment d'ADN (ou parfois d'ARN) cible de longueur définie. Son principal objectif est alors de faire un grand nombre de copies d'un fragment ou d'un gène cible pour avoir assez d'ADN matrice pour d'autres études (Thiao, 2005).

Face à la méthode microbiologique traditionnelle, et aux méthodes non spécifiques, la PCR apporte des solutions de détection de hauts niveaux de rapidité (réponse entre 24 à 48 heures), de sensibilité (1 à 5 germes/ml), et de spécificité. Mais elle reste relativement chère et nécessite un personnel qualifié pour les opérations d'extraction, et de fragmentation (Gerland, 2010). Aussi, comme inconvénients, cette technique ne fournit aucune information sur le niveau

de contamination (Delaherche *et al.*, 2004) et peut souvent générer des faux positifs car la réaction amplifie indifféremment l'ADN des cellules vivantes et /ou mortes.

La technique de PCR est utilisée pour amplifier différentes parties du génome ayant pour cibles l'ADN total, l'ADNr nucléaire ou l'ADNr mitochondrial. L'ADN total est analysé par des techniques comme la RFLP, le polymorphisme de longueur des fragments amplifiées ou encore *Amplified Fragment-Length Polymorphism* (AFLP), l'amplification aléatoire d'ADN polymorphe ou encore *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) et les microsatellites pour accéder au polymorphisme de larges portions d'ADN (Bâ *et al.*, 2011 ; Chikere, 2013).

6.5.2. Principe

L'amplification se fait par l'utilisation d'une polymérase thermostable, d'oligonucléotides, des amorces et des quatre dNTP, que l'on soumet à une série de cycles de température. Plusieurs cycles alternant une dénaturation de l'ADN, l'hybridation des oligonucléotides et la polymérisation de l'ADN sont ainsi effectués. La durée et la température des différentes étapes sont des paramètres essentiels qui sont définis pour chaque expérience. Quand on répète ce mécanisme, on obtient une grande quantité de séquences correspondant à l'ADN situé entre les deux amorces (Bâ *et al.*, 2011 ; Raven *et al.*, 2011).

6.5.3. Les étapes de la PCR

L'ADN bicaténaire est déroulé en ADN monocaténaire, puis dupliqué et ré-enroulé, selon des cycles répétitifs comprenant les trois étapes suivantes :

- Dénaturation de l'ADN par fusion à haute température pour convertir l'ADN bicaténaire en ADN monocaténaire. Cette étape est réalisée à une température comprise entre 93 et 96 °C.
- Hybridation à l'ADN cible de deux oligonucléotides utilisés comme amorces. Cette hybridation a lieu à une température comprise entre 55 et 65 °C.
- Extension de la chaîne d'ADN par addition de nucléotides à partir des amorces en utilisant l'ADN polymérase comme catalyseur en présence d'ions Mg^{2+} . La température optimale de travail de l'ADN polymérase est de 72 °C (Bâ *et al.*, 2011 ; Raven *et al.*, 2011).

6.6. Purification de l'ADN par chromatographie

Cette méthode de purification, très rapide, est utilisée pour séparer l'ADN double brin, amplifié par PCR, des autres substances présentes dans le milieu réactionnel après amplification (amorces en excès, dNTP, sels). L'ADN purifié peut ensuite être utilisé pour d'autres réactions : PCR, digestion par une enzyme de restriction, séquençage etc... Cette méthode de chromatographie d'exclusion (gel-filtration) est basée sur la séparation des molécules selon leur taille dans une résine de Séphacryl sous l'action d'une force centrifuge. Les impuretés (dNTP, sels) et les petits fragments d'ADN (amorces de taille inférieure à 25-mer) sont retenus par la résine, alors que les grands fragments d'ADN (500-mer et davantage) passent rapidement à travers. Les colonnes utilisées préalablement équilibrées dans du tampon TE. La colonne est d'abord remise en suspension, placée dans un microtube et centrifugée pour éliminer l'excès de tampon. Après avoir placé la colonne dans un nouveau microtube, l'échantillon est déposé délicatement à la surface de la résine, puis centrifugé. La solution d'ADN purifiée est récupérée dans le microtube (Jarrell *et al.*, 1992).

6.7. Hybridation

L'hybridation des acides nucléiques est un outil de base en génétique moléculaire. Elle repose sur la capacité des acides nucléiques simple brin, dont les séquences sont partiellement ou totalement complémentaires, à former une molécule bicaténaire (double brin) par appariements des bases les unes avec les autres (hybridation). L'hybridation des acides nucléiques peut être faite de nombreuses façons différentes, mais il y a un principe de base sous-jacent commun : une population connue et bien caractérisée de molécules d'acides nucléiques ou d'oligonucléotides synthétiques est utilisée pour analyser une population complexe (mélangée) d'acides nucléiques dans un échantillon à tester imparfaitement connu, ayant un intérêt biologique ou médical (Strachan et Read, 2004).

6.8. Séquençage des gènes

Le séquençage de l'ADN constitue une méthode dont le but est de déterminer la succession linéaire des bases A, C, G et T prenant part à la structure de l'ADN. La lecture de cette séquence permet d'étudier l'information biologique contenue par celle-ci. Étant donné l'unicité et la spécificité de la structure de l'ADN chez chaque individu. En médecine, le séquençage nous permet de mieux comprendre comment certains gènes influencent l'apparition des maladies, mais aussi de déceler les prédispositions des individus à certaines maladies. Selon

la situation du patient et les besoins diagnostiques, différentes techniques de séquençage peuvent être utilisées. Elles permettent, soit de cibler l'analyse génétique lorsque l'on a déjà des informations assez précises sur le gène en cause, soit de rechercher des anomalies dans plusieurs gènes à la fois (panel de gènes) lorsque l'information n'est pas assez précise (Bayley, 2006).

6.9. MALDI TOF

La principale application de la spectrométrie de masse MALDI TOF en microbiologie clinique est l'identification des microorganismes par l'analyse de leur protéines totales (protéines ribosomales et protéines associées aux membranes). Cette technique permet en particulier d'identifier la plupart des bactéries en quelques minutes seulement. Actuellement, il est possible d'identifier pas moins de 3200 bactéries et 260 champignons par cette nouvelle technique. La méthode est rapide, précise et fiable en comparaison avec les méthodes conventionnelles (E.Pilly, 2016).

7. Antibiogramme

L'antibiogramme permet de tester sur milieu de culture, l'action de molécules antibiotiques sur une souche bactérienne. Afin de pouvoir conclure sur la sensibilité d'une souche à un antibiotique donné, il faut déterminer sa concentration minimale inhibitrice (CMI) vis à vis de cette molécule. Plusieurs méthodes sont à la disposition du laboratoire. On différencie (CASFM, 2008).

7.1. La méthode par diffusion

Méthode couramment utilisée en routine, elle permet une approximation acceptable de la CMI. Des disques de buvard imprégnés d'une quantité définie d'un antibiotique sont déposés à la surface d'un milieu gélosé (Mueller-Hinton) préalablement ensemencé avec une suspension de la bactérie à étudier. Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm. L'incubation des boîtes de Pétries se fait à 35 °C pendant 24 heures. Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés avec précision à l'aide d'un pied à coulisse. Les résultats obtenus sont ensuite comparés, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes. La bactérie est classée dans l'une des catégories Sensible (S), Résistante (R) ou Intermédiaire (I) (Bergey, 2010 ; E.Pilly, 2016).

7.2. La méthode de dilution

La souche bactérienne à tester est cultivée en milieu liquide à concentration standardisée (10^5 CFU/ml) dans des plaques ou tubes contenant des concentrations croissantes d'antibiotique, en déterminant la plus petite concentration pour laquelle aucune pousse n'est visible. Cette technique de référence n'est pas adaptée à la routine (E.Pilly, 2016).

7.3. Détermination automatisés de la CMI

Certains automates utilisés pour l'étude de la sensibilité aux antibiotiques rendent des résultats en CMI. La bactérie à étudier est mise en suspension et déposée dans des cartes contenant différentes concentrations d'antibiotiques. Après incubation, l'automate rend une CMI et propose une interprétation des résultats selon les critères du Conseil d'Administration de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) révisés annuellement (E.Pilly, 2016).

7.4. Bandelette imprégnées (E-test)

Cette méthode consiste en l'application d'une bandelette imprégnée d'un gradient de concentration croissant de l'antibiotique sur une géloseensemencée avec une suspension de la souche bactérienne à étudier (10^6 CFU/ml). Après incubation, la CMI est lue directement sur l'échelle de la bandelette à son intersection avec l'ellipse de la zone d'inhibition de croissance (E.Pilly, 2016).

Conclusion

Les ISO sont souvent rencontrées après l'intervention. Elles constituent une complication majeure en milieu chirurgical.

Le type de chirurgie, l'âge, la durée d'hospitalisation sont des facteurs qui influencent sur l'apparition et la fréquence des ISO.

Les infections sont souvent poly microbiennes d'origine humaine (peau, muqueuse etc). *Staphylococcus aureus* est la bactérie la plus incriminée, suivie par les staphylocoques à coagulase négative, *E. coli*, les entérocoques, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp., divers streptocoques, *Bacteroides fragilis*, autres entérobactéries et les germes atypiques (*Nocardia* spp. etc) ou à champignons (*Candida*, *Aspergillus* etc).

Les techniques d'identification des agents pathogènes (techniques microscopiques, tests biochimiques, les techniques de biologie moléculaire etc...) sont spécifiques et souvent précis. Ils permettent de valider l'hypothèse initiale qui découle soit d'un diagnostic soit d'une simple observation des symptômes, si ceux-ci sont facilement reconnaissables et caractéristiques de l'agent.

La lutte contre les ISO doit être une préoccupation perpétuelle et que la prévention et la surveillance régulière des ISO doivent être une stratégie pour cette lutte. Il faut donc :

- Avoir une tenue vestimentaire et un comportement général adapté au bloc opératoire.
- Lutter contre le manu portage et la transmission croisée par une hygiène rigoureuse des mains (lavage des mains, solutions alternatives, usage réfléchi des gants).
- Respecter les règles de l'antisepsie (antisepsie cutanée pour la pose des cathéters, antisepsie pour la décontamination des bouchons de flacons de perfusion ou de produits anesthésiques et pour la manipulation des robinets à trois voies).
- Changer toutes les seringues entre deux patients (y compris celles utilisées lors de l'administration de produits anesthésiques par seringue auto-pulsée, ainsi que leurs prolongateurs).
- Ne pas changer seulement les aiguilles, ne pas changer seulement une partie des seringues. Si des produits anesthésiques sont administrés par perfusion, changer le perfuseur et le flacon entre deux patients.
- Ne pas réutiliser du matériel stérile à usage unique.
- Appliquer les précautions universelles pour tous les patients et les mesures d'isolement septique quand elles sont indiquées. Appliquer les précautions

universelles pour tous les patients et les mesures d'isolement septique quand elles sont indiquées.

- Utiliser du matériel d'anesthésie décontaminé et nettoyé, puis désinfecté ou stérilisé (selon la catégorie de matériel et la nature des matériaux) en respectant les procédures codifiées pour le matériel médico-chirurgical.
- Travailler sur du mobilier propre et désinfecté en respectant les techniques recommandées du bio-nettoyage et en adaptant la fréquence aux différents moments de l'activité.
- Respecter les recommandations spécifiques à la prévention de chaque type d'IN et principalement les IU, respiratoires, et celles liées aux dispositifs intravasculaires.
- Travailler avec du personnel compétent, motivé, formé et contrôlé.

**Références
bibliographiques**

A

Aartsen J.J., Stahlhut S.G., Harrison E.M., Crosatti M., Ou H.Y., Krogfelt K.A., Struve C. et Rajakumar K., 2012. Characterization of a novel chaperone, usher fimbrial operon present on KpGI-5, a methionine tRNA gene-associated genomic island in *Klebsiella pneumoniae*. Van Aartsen *et al.* *BMC Microbiology*, 12:59.

Abbott S.L., 2007. *Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas, and Other Enterobacteriaceae*. In P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. L. Landry & M. A. Pfaller (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology*. 9th ed. Washington, USA: ASM Press. pp. 698-711

Abdelmoumene T. et Benkaddour M., 2007. Enquête de prévalence des infections nosocomiales dans 4 hôpitaux algériens. XVIIIe Congrès national de la SFHH - Strasbourg - 7 et 8 juin.

Adam R.D., Hunter G., DiTomasso J. et Comerci G.J., 1994. Mucormycosis: emerging prominence of cutaneous infections. *Clin Infect Dis.* 19 : 67.-76.

Allegranzi B., Bagheri Nejad S. et Combescure C., 2011. Burden of endemic health-care associated infection in developing countries: systematic review and meta-analysis. *Lancet*, 377: 228-241.

Almeida G.M. et R.M. Andrade., 2001. "The capsular polysaccharides of *Cryptococcus neoformans* activate normal CD4 (+) T cells in a dominant The pattern." *J Immunol* 167(10): 5845-5851.

Anaïssie E.J., Bodey G.P. et Rinaldi M.G., 1989. Emerging fungal pathogens. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 8: 323-330.

Archambaud M. et Clave D., 2004. Fiche technique : Bactériologie 051 en ftbac, Laboratoire de Bactériologie, Hygiène CHU Toulouse Rangueil, voll, p. 4.

Archer G.L., 1995. *Staphylococcus epidermidis* and other coagulase-negative staphylococci. In: Mandell I, Gerald L, Dolin R, eds. *Mandell, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases*. New York: Churchill Living stone. p. 1777-84.

Arlet G. et Champs C., 2009. Bactériologie. Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale.p. 4-6.

- Benhabyles, Hached N., Guerchani M.K., 2012.** Histoire de l'hygiène hospitalière en Algérie. docstoc.com/docs/130401615/Diapositive-1.
- Bennett J., 2010.** An overview of the genus *Aspergillus* molecular biology and genomics. Caister Academic Press. Norwich: Caister Academic Press. P. 238.
- Bergan T., 1984.** Methods in Microbiology. Academic Press ; 14: 228.
- Bergey's Manual of Determinative Bacteriology., 2010.** All of the unknowns will fall into the following groups in Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (The pink book on the shelf in the laboratory).
- Bernasconi E. et Francioli P., 2000.** Recommandations pour la prophylaxie antibiotique péri-opératoire. Swiss-Noso;7:9-12.
- bioMérieux., 1994.** Manuel milieux de culture. p. 105.
- Biokar Diagnostics., 2003.** Gélose TSI. www.biokar-diagnostics.fr.
- Birgand et Gabriel., 2014.** Infections du site opératoire: approches originales du diagnostic et de la prévention.
- Bisson G., Fishman N.O., Patel J.B., Edelstein P.H. et Lautenbach E., 2002.** Extended spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* species: risk factors for colonization and impact of antimicrobial formulary interventions on colonization prevalence. *Infect Control Hosp Epidemiol*; 23 (5): 254-260.
- Borer A., 2001.** Impact of active monitoring of infection control practices on deep sternal infection after open-heart surgery. *Ann. Thorac. Surg.* 72, 515–520.
- Bouvet A. et Couvry G., 1994.** Identification des entérocoques et microbiologie clinique. *Méd. Mal.Infect.* 24 (suppl.): 1-9.
- Brown-Elliot B.A. et Wallace R.J., 2007.** *Mycobacterium*: Clinical and Laboratory Characteristics of Rapidly Growing Mycobacteria. In P. R. Murray (Ed.), *Manual of Clinical Microbiology* (9th ed., pp. 589-600). Washington, D.C.: ASM Press.
- Burgess L.W., Summerell B.A., Bullock S., Gott K.P. et Backhouse D., 1994.** Laboratory manual for *Fusarium* research, 3rd ed. University of Sydney, Sydney, Australia.

C

C.CLIN Sud-Est., 1999. Surveillance et prévention des infections du site opératoire. Lyon, 112 p. (NosoBase n°5909).

CA-SFM., 2008. Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. <http://www.sfm.asso.fr/>.

Calfee D.P., Giannetta E.T. et Durbin L.J., 2003. « Control of endemic vancomycin-resistant *Enterococcus* among inpatients at a university hospital » *Clinical Infectious Diseases* ; 37 (3): 326-32.

Carbonnelle D., Kouyoumdjian S. et Audurier A., 1988. Bactériologie médicale techniques usuelles. Méd. Mal. Inf. France. p. 251.

Cathrine Dalmes., 2013. Fiche technique; Laboratoire microbiologie.

CDC Guidelines., 2004. For the Prevention and Control of Nosocomial Infections. Infect Control 1986 ;14 : 71–80. Société Française D'hygiène Hospitalière. Conférence de consensus <<gestion pré-opératoire du risque infectieux>> Paris. p. 31.

CDC., 1999. Guideline for prevention of surgical site infection,. Infect Control Hosp Epidemiol. 20 : 247280. (NosoBase n°6273).

Centers for Disease Control and prevention CDC., 2004. Active bacterial core surveillance (ABCs) report; emerging infections program network group A. URL <http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/abcs/survreports.htm>.

Chabasse D., Bouchara JP., De Gentile L., Cimon B., Brun S., Penn P., 2002. Les moisissures d'intérêt médical. *Cahier de Formation Biologie Médicale*, n°25, EGOPRIM éd., Paris, p 189.

Chahmout Samya., 2011. Pneumopathies nosocomiales à *A.baumannii* en réanimation.

Chalfine A., Cauet D., Lin W.C., Gonot J. et Calvo-Verjat N., 2006. Highly sensitive and efficient computer-assisted system for routine surveillance for surgical site infection. *Infect Control Hosp Epidemiol* 27: 794-801. Epub 2006 Jul 2020.

Chalmers R.T., Wolfe J.H., Cheshire N.J., Stansby G., Nicolaidis A.N. et Mansfield A.O., 1999. Improved management of infrainguinal bypass graft infection with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Br J Surg*. 86 : 1433-6.

Chow J.W., Fine M.J. et Shlaes D.M., 1991. Enterobacter bacteremia: clinical features and emergence of antibiotic resistance during therapy. *Ann Intern Med*; 115: 585-90.

Classen D.C., Evans R.S., Pestotnik S.L., Horn S.D., Menlove R.L. et Burke J.P., 1992. The timing of prophylactic administration of antibiotics and the risk of surgical- wound infection. *N Engl J Med*. 326:281-6.

Cocuroccia B., Gaido J., Gubinelli E., Annessi G. et Girolomoni G., 2003. Localized cutaneous hyalohyphomycosis caused by a *Fusarium* species infection in a renal transplant patient. *J Clin.Microbiol*. 41(2), 905-907.

Comité technique des infections nosocomiales., 1999. Recommendations pour la surveillance et la prévention des infections nosocomiales. Ministre de la santé, 2ème édition. <http://www.sante.gouv.fr>.

Creanor S., Barton A. et Marchbank A., 2012. Effectiveness of a gentamicin impregnated collagen sponge on reducing sternal wound infections following cardiac surgery: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Ann R Coll Surg Engl*. 94(4):227–31.

Cristianib, Sérgio P et Dejato R.A., 2014. Virulence Factors Of Uropathogenic *Proteus mirabilis*, A Mini Review, *International Journal of Scientific & Technology Research*, Vol 3, issue 11, pp 4-27.

D

Daghrar Aicha., 2016. Etude de la résistance d'*A.baumannii* aux antibiotiques.

Dagnara A.Y. et Tigoussou S.D., 2006. Manuel de standarisation des procedures en bacteriologie medicale (premiere edition).Lomé, togo ; 32.

- Davis K.A., Stewart J.J., Crouch H.K., Florez C.E. et Hospenthal D.R., 2004.** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) nares colonization at hospital admission and its effect on subsequent MRSA infection. *Clin Infect Dis*, 39: 776–82.
- DeHoog G. et Guarro J., 1995.** Atlas of clinical fungi. Baarn, Centraalbureau voor Schimmelcultures.
- Delarras C., 2014.** Pratiques en microbiologie de laboratoire. Lavoisier, France.
- Delbos V., 2012.** Manifestations cliniques et traitement des infections à *Acinetobacter baumannii*. *Revue Francophone des Laboratoires*. (441):59-65.
- Denis F., Poly M.C., Martin C., Bingen E. et Quentin R., 2011.** Bactériologie médicale ; techniques usuelles. Edition MASSON. pp 295-301.
- Denton M. et Kerr K.C., 1998.** Microbiological and clinical aspects of infection associated with *Stenotrophomonas maltophilia*, *Clin. Microbial. Rev.* 11 : 57-80.
- Deollaras C., 2007.** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Paris : Lavoisier, p. 387, 393, 394.
- Dromer F. et Lortholary O., 2003.** *Cryptococcose*. EMC – Maladies infectieuses ; 8-613-A-10, 10 p.
- Ducel G., 2002.** Prévention des infections nosocomiales. Organisation mondiale de la santé. 2^{ème} édition. Fondation hygiène : Genève, suis. 80 p.
- Ducki S., Francini N., Lance P., Berhaili H. et Setta K., 2004.** Zone environnement maîtrisé : comparaison de six méthodes de mesure du taux de renouvellement d'air ; *Technique hospitalières*; (683): 34-38.
- Dupont H., Carbon C. et Carlet J., 2000.** Monotherapy with a broad-spectrum beta-lactam is as effective as its combination with an aminoglycoside in treatment of severe generalized peritonitis: a multicenter randomized controlled trial. *Antimicrob Agents Chemother* ; 44 : 2028-33.

E

E.Pilly., 2016. Examen Microbiologiques en Pathologie infectieuse. *In* Maladie Infectieuses et Tropicales (25^{ème} édition) : ALINEA Plus Ed ; 20164 : p 22-27.

Exmelin L., Malbruny B., Vergnaud M., Prosvost F., Boiron P. et Morel C., 1996. Molecular study of nosocomial nocardiosis outbreak involving heart transplant recipients. *J Clin Microbiol* 34(4): 1014-1016.

Eyquem A., Alouf J. et Montagnier L., 2000. Traité de microbiologie clinique : Deuxièmes mises à jour et compléments. pp43.

F

Farmer I.J., Boatwright K.D. et Janda J.M., 2007. *Enterobacteriaceae*: introduction and identification. *In*: manual of clinical microbiology. 9^{eme}. Patrick r. Murray; p. 649-66.

Fauchère J.L. et Avril J.L., 2002. Bactériologie générale et médicale. Ellipses Edition Marketing. Paris. p. 250-260.

Flandrois J.P., Courcol R., Lemeland J.f., Ramuz M., Sirot J. et Soussy C.J., 1997. Bactériologie Médicale. Presses universitaires, Lyon.

Flandrois J.P., 1997. « Bactériologie médicale ». Chapitre :« Les bactérie d'intérêt médicale » Presses universitaire de Lyon „Ouvrage collectif de l'association des professeurs de bactériologie-virologie-hygiène hospitalière des facultés de médecine., Collection AZAY., p. 127-129.

Fleiss J.L., 2003. Statistical Methods for Rates and Proportions, Third Edition. New York: John Wiley & Sons, Inc.

Floret N., Bertrand X., Thouverez M. et Talon D., 2009. Infection nosocomiale à *Pseudomonas aeruginosa* : origine exogène ou endogène de la bactérie responsable ? Pathologie biologique.

Follath F., Costa E. et Thommen A., 1987. Clinical consequences of development of resistance to third generation cephalosporins. *Eur J Clin Microbiol*; 6: 446-50.

Fomba Modibo., 2006. Rôle pathogène et sensibilité des antibiotiques des *Acinetobacter* et de *Staphylococcus* à coagulas négatif à l'hôpital du point G. Thèse de doctorat en pharmacie.

Frasca D., Dahyot-Frizeltier C. et Mimosz O., 2008. La colistine en réanimation, Vol 17, p. 8- 251.

Frases S. et Salazar A., 2007. "*Cryptococcus neoformans* can utilize the bacterial melanin precursor homogentisic acid for fungal melanogenesis." *Appl Environ Microbiol* 73(2): 615-621.

Freney J. et Fabry J., 2001. L'hygiène hospitalière : émergence d'une fonction ; *Revue HygieneS* ; IX(6) : 371-379.

G

Galmiche J.M., 1999. Histoire et actualités des maladies nosocomiales. Hygiene et Medecine. France: Maury Eurolivre.

Garcia-Hermoso D., Dannaoui E., Lortholary O. et Dromer F., 2011. Agents of systemic and subcutaneous mucormycosis and entomophthoromycosis. *In: Manual of clinical microbiology.* Washington DC : American Society for Microbiology.

Gardam M.A., Burrows L.L. et Kus J.V., 2002. Is surveillance for multi-drug resistant Enterobacteriaceae an effective infection control strategy in the absence of an outbreak? *J Infect Dis*; 186 (12): 1754-1760.

Gelinas P., 1995. Répertoire des micro-organismes pathogènes transmis par les aliments, Edisem, St Hyacinthe, Québec.

Gellen-Dautremer J., 2007. Bactériémies à *Pseudomonas aeruginosa* en médecine interne : revue rétrospective de 51 épisodes. Thèse de doctorat en médecine Paris.

Gemmell et Dawson., 1982. Identification of Coagulase Negative Staphylococci with the API Staph System. *Journal of clinical microbiology.* Vol: 16 (5): 874-877.

Glenister H.M., Taylor L.J., Bartlett C.L., Cooke E.M. et Sedgwick J.A., 1993. An evaluation of surveillance methods for detecting infections in hospital inpatients. *J. Hosp. Infect.* 23: 229-242.

Gordon D.M. et Cowlin A., 2003. The distribution and genetic structure of *Escherichia coli* in Australian vertebrates: host and geographic effects. *Microbiology*, 149(12):3575–3586.

Goubau P. et Pellegrims E., 2000. Repère en biologie, Edition Garant. p. 391.

Grimont F. et Grimont P.A.D., 2006. The Genus *Enterobacter*. *Prokaryotes*; 6:197–214.

Grosjean J., Clavé D., Archamband M. et Pasquier C., 2016. Bactériologie et virologie pratique. De Boeck, Belgique.

H

Hajjar J., 1998. Prevention Du Risque Infectieux Au Bloc Operatoire. France : MAPAR. 26953 Valence Cedex 9.

Hajna A.A., 1945. Triple Sugar Iron medium for the identification of the Intestinal group of bacteria. *Journal of bacteriology* 49: 516 - 517.

Harbarth S., Bernard L., Bühler L., Christenson J., DeTribolet P., Dulguerov N., Garnerin P. et Gervaz P., 2006. Antibioprophylaxie chirurgicale : Recommandations pour des hôpitaux universitaires de Genève. stephan.harbarth@hcuge.ch consulté le 08-08-2012.

Harshey R.M. et Ramakrishnan T., 1977. Rate of ribonucleic acid chain growth in *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Journal of bacteriology* 129:616-622.

Hejblum G., Ioos V., Vibert J.F., Boelle P.Y. et Chalumeau-Lemoine L., 2008. A webbased Delphi study on the indications of chest radiographs for patients in ICUs. *Chest* 133: 1107-1112.

Hennequin C., Robin F., Cabrolier N., Bonnet R., et Forestiera C., 2012. Characterization of a DHA-1-Producing *Klebsiella pneumoniae* Strain Involved in an Outbreak and Role of the AmpR Regulator in Virulence. 0066-4804/12/\$12.00 Antimicrobial Agents and Chemotherapy. p. 288–294.

Hennequin C., Forestier C., 2007. Influence of capsule and extended-spectrum betalactamases encoding plasmids upon *Klebsiella pneumoniae* adhesion. *Research in Microbiology* 158(2007) 339-347.

Henry D.A., Mahenthiralingam E., Vandamm P., Coenye T. et Speer D.P., 2001. Phenotypic methods for determining genovar status of *Burkholderia cepacia* complex. *J Clin. Microbiol*; 39: 1073-1078.

Hidri N., 2012. Identification d'*Acinetobacter spp.* au laboratoire. *Revue Francophone des Laboratoires*. (441):37-42.

Holt J., 1986. Bergey's Manual of Systemic Bacteriology, Williams & Wilkins, Baltimore MD, Vol. I & II.

Hsieh P.F., Lin T.L., Yang F.L., Wu M.C., Pan Y.J, Wu S.H. et Wang J.T., 2012. Lipopolysaccharide O1 Antigen Contributes to the Virulence in *Klebsiella pneumoniae* Causing Pyogenic Liver Abscess. Volume 7 : Issue 3 : e33155.

Huybens N., Mainil et Marlier D., 2009. Les techniques de biologie moléculaire d'analyse des populations bactériennes complexes. Ed. Université de Liege. Belgique.

I

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

J

Jaouhar M., 2017. Validation d'un protocole de désinfection des surfaces d'un service hospitalier. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah Faculté des sciences et Techniques. Mémoire de master. 74 p.

Jarrell K.F., Faguy D., Hebert A.M. et Kalmokoff M.L., 1992. A general method of isolating high molecular weight DNA from *Methanogenic archaea* (archaeobacteria). *Canadian journal of microbiology*, 38(1), 65-68.

Joly B. et Reynaud A., 2002. *Entérobactéries*. Systématique et méthodes de diagnostic. p. 79-80, 83.

Joly B. et Reynaud A., 2007. *Entérobactéries* : systématique et méthodes de diagnostic. Edition Techniques et Documentation. Paris. p 3-182.

Joshi S.G. et Litake G.M., 2013. *Acinetobacter baumannii*: An emerging pathogenic threat to public health. *World J Clin Infect Dis* ;3:25-36.

Juan-Torres A. et Harbarth S., 2007. Prevention of primary bacteraemia. *Int J Antimicrob Agents*;30 (Suppl. 1):S80-7.

K

Kadi Z., 2011. CCLIN Paris-Nord : Diaporama « Les infections du site opératoire (ISO) : épidémiologie, facteurs de risque et prévention » DU HH.

Kelley Struble, Michael Stuart Bronze, Rhett L., Jackson et Gusgonzalez., 2009. "Proteus Infections: Overview", Medicine.

Kellogg J.A., Bankert D.A., Elder C.J., Gibbs J.L. et Smith M.C., 2001. Identification of *Streptococcus pneumoniae* Revisited. *J Clin Microbiol.* 39(9):3373.

Ki-Zerbo G.A. et Bithiou B., 1987. Etude des hémocultures positive au CHU de FANN-DAKAR. Bilan de trois années de laboratoire de bactériologie. Médecine d'Afr. Noire.

Kirkland K.B., Briggs J.P., Trivette S.L., Wilkinson W.E. et Sexton D.J., 1999. The impact of surgical-site infections in the 1990s: attributable mortality, excess length of hospitalization, and extra costs. *Infect. Control Hosp. Epidemiol. Off. J. Soc. Hosp. Epidemiol. Am.* 20, 725–730.

Klatte S., Rainey F.A. et Kroppenstedt R.M., 1994. Transfer of *Rhodococcus aichiensis* Tsukamura 1982 and *Nocardia amarae* Lechevalier and Lechevalier 1974 to the genus *Gordona* as *Gordona aichiensis* comb. nov. and *Gordona amarae* comb. nov. *Int J Syst Bacteriol* 44(4): 769-773.

Kloos W.E. et Mussel White M.S., 1975. Distribution and Persistence of *Staphylococcus* and *Micrococcus* Species and Other Aerobic Bacteria on Human Skin. *Applied Microbiology.* Vol: 30(3): 381-395.

Kontoyiannis D.P., Marr K.A. et Park B.J., 2010. Prospective surveillance for invasive fungal infections in hematopoietic stem cell transplant recipients, 2001–2006: overview of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (Transnet) Database. *Clin Infect Dis.* 50 : 1091–1100.

Kontoyiannis D.P., Chamilos G. et Hassan S.A., 2007. Increased culture recovery of Zygomycetes under physiologic temperature conditions. *Am J Clin Pathol* ; 127 : 208-12.

Koutsoumbelis S., Hughes A.P. et Girardi F.P., 2011. Risk factors for postoperative infection following posterior lumbar instrumented arthrodesis. *J Bone Joint Surg Am*; 93:1627-33.

Kozakiewicz K. et Smith D., 1994. Physiology of *Aspergillus*. In *Aspergillus* biotechnology handbooks Vol. 7 (ed. J.E. Smith) 23–41 (Plenum Press, New York).

Kristensen B. et Schonheyder H.C., 1995. A 13-year survey of bacteraemia due to *betahaemolytic streptococci* in a Danish county. *J Med Microbiol* ;43:63-67.

L

Lahlou Amin I., Salord H., Gille Y., Roure C., Tigaud S., Bajou T., Ratbi N. et Kassmi H.L., 2008. *Pseudomonas aeruginosa* et résistance isolée à l'imipénème : clone émergent en milieu hospitalier. Les techniques de laboratoire. 11 : 347-353.

Lansing M., Prescott L.M., Harly J.P., Klein D. et Linda M., 2010. Shewood, Christopher, J.Woolverton.. « Microbiologie »; 3^{ème} édition française., édition de Boech Université.

Lanternier F., Dannaoui E. et Morizot G., 2012. A global analysis of mucormycosis in France: the Retrozygo study (2005–2007). *Clin Infect Dis.* 54 : (suppl 1) : :S35.–S43.

Lanternier F., Sun H.Y. et Ribaud P., 2012. Mucormycosis in organ and stem cell transplant recipients . *Clin Infect Dis.* 54 : :1629.–1636.

Latge J.P., 2003. *Aspergillus fumigatis*, a saprotrophic pathogenic fungus. *Mycologist.* 17[Part 2], 56.

Lau H., 2008. Host and microbiota factors that control *Klebsiella pneumoniae* mucosal colonization in mice. *Microbes Infect.* 10(12-13): 1283–1290.

Lautenbach E., Strom B.L., Bilker W.B., Patel J.B., Edelstein P.H. et Fishman N.O., 2001. Epidemiological investigation of fluoroquinolone resistance in infections due to extended-spectrum β -lactamase- producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Clin Infect Dis*; 33(8): 1288-1294.

- Lazdunski., 1998.** Les facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa* et leur régulation. *Méd Mal Infect* ; 28 : 09-18.
- LeBlanc D., 2006.** *Enterococcus*. Prokaryotes, 4, 175-204.
- Leclerc H., Devriese L.A. et Mossel D.A.A., 1996.** Taxonomical changes in intestinal (faecal) *Enterococci* and *Streptococci*: consequences on their use as indicators of faecal contamination in drinking water. *J Appl Bacteriol.*;81:459–466. [PubMed].
- Lee C.R., Lee J.H., Park M., Park K.S., Bae I.K. et Kim Y.B., 2017.** Biology of *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, Antibiotic Resistance Mechanisms, and Prospective Treatment Options. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*.7:55.
- Lefrère J.J., 2002.** Transfusion sanguine: une approche sécuritaire. John Libbey Eurotext. p 450.
- Le Rémic., 2015.** Référentiel en Microbiologie médicale, 5^{ème} édition.
- Leulmi Z., 2015.** Les *Proteus* incriminés dans les infections communautaires et hospitalières : étude moléculaire de la résistance aux antibiotiques. Thèse de Doctorat en Microbiologie. Université des Frères Mentouri Constantine. 232 p.
- Liaw S.J., Lee Y.L. et Hsueh P.R., 2010.** Multidrug resistance in clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia*: roles of integrons, efflux pumps, phosphoglucomutase (SpgM), and melanin and biofilm formation. *International Journal of Antimicrobial Agent*.35: 126-130.
- Lionnet T. et Croquette V., 2005.** Introduction a la biologie moléculaire.
- Liu P.V. et Mercer C.B., 1963.** Growth, Toxigenicity and Virulence of *Pseudomonas Aeruginosa*. *The Journal of Hygiene*, 61, 485-491.
- Low D.E., Keller N. et Barth A., 2001.** Clinical prevalence, antimicrobial susceptibility, and geographic resistance patterns of *Enterococci*: results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999. *Clin Infect Dis* ; 32 : S133-45.
- Lowe et Anne-Marie., 2014.** Surveillance des infections du site opératoire: outils et méthodologies pour les milieux de soins.

Lowe G.H., 1960. A study of the factors controlling lactose fermentation in the coliform and paracolon groups - *J. Gen. Microbiol*, 23 : 127.

M

Manos J. et Belas R., 2006. The Genera *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella*. In: Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer KH, Stackebrandt E, editors. The Prokaryotes. Springer New York; p. 245-69.

Martin I., 2007. Infections associées aux soins Mesures de prévention. Formation des Correspondants en Hygiène 20 novembre 2015. Prévalence des infections nosocomiales, France, 2006 Bull Epidemiol Hebdo (51-52).

Matthaiou D.K., Chasou E., Atmatzidis S. et Tsolkas P., 2011. A Case of bacteremia due to *Burkholderia cepacia* in a patient without cystic fibrosis. *Respiratory Medicine CME*. 4: 144-145.

Meghdas I., Loie C., Baida N., Hamze M. et Husson., 2003. Epidémiologie des infections provoquées par les bactéries du complexe *Burkholderia cepacia* au cours de la mucoviscidose. *Archives de pédiatre*. 11 :360-366.

Mertens R., van den Berg J.M.J., Fabry J. et Jepsen O.B., 1996. HELICS: projet européen pour standardiser la surveillance des infections hospitalières, 1994- 1995. Euro Surveill; 1(4):28-30.

Meyer K.S., Urban C. et, Eagan J.A., 1993. Nosocomial outbreak of *Klebsiella* infection resistant to late-generation cephalosporins. *Ann Intern Med*; 119: 353-8.

Minchella A., Molinari L., Alonso S., Bouziges N., Sotto A. et Laving J.P., 2010. Evolution de la résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* dans un centre hospitalier universitaire entre 2002 et 2006. *Pathologie Biologie*. 58 : 1-6.

Misra T., Silver S., Mobley et Rosen B., 1984. Molecular genetics and biochemistry of heavy metal resistance in bacteria. In A.H. Tashjian, Jr. (ed.), *Molecular and Cellular Approaches to Understanding Mechanisms of Toxicity*. Harvard School of Public Health, pp 63-81.

Misteli H., Widmer A.F. et Rosenthal R., 2011. Spectrum of pathogens in surgical site infections at a Swiss university hospital. *Swiss Med Wkly* ;140:w13146.

MSPRH., 2015. les réformes en santé évolution et perspectives, Alger. [En ligne]. Format PDF. Disponible sur: http://196.20.107.97/Rencontre_evaluation_alger_2015/reformes_sante.pdf.

N

Nauriel C. et Vilde J.L., 2005. Bacteriologie medicale 2^{ème} édition ; Masson, Paris :257.

NNIS, 2003. (System National Nosocomial Infections) Surveillance System Report, data summary from January 1992 through June 2003 issued August 2003. *Infect. Control*; 31: 481-498.

Nauriel C. et Vilde J.L., 2005. Bacteriologie medicale deuxieme edition ; Masson, Paris :257.

Nunnaly J.C., Bernstein I.H., 1994. Editors Psychometric Theory. New York: McGraw - Hill.

O

O'Brien T. et Collin J., 1962. Prosthetic vascular graft infection. *Br J Surg* ; 79 : 1262-7.

Otto M., 2004. Virulence factors of the coagulase-negative staphylococci. *Front Biosci.* Vol: 1(9): 841-863.

Oufriha F.Z., 1992. Cette chère santé : une analyse économique du système de soins en Algérie. OPU, Alger.

P

Panahi P., Stroh M., Casper D.S., Parvizi J. et Austin M.S., 2012. Operating room traffic is a major concern during total joint arthroplasty. *Clin. Orthop.* 470, 2690–2694.

Park I.H., Pritchard D.G., Cartee R., Brandao A., Brandileone M.C.C. et Nahm M.H., 2007. Discovery of a New Capsular Serotype (6C) within Serogroup 6 of *Streptococcus pneumoniae*. *J Clin Microbiol.*45(4):1225- 33.

- Pasteur., 1987.** Milieux et réactifs de laboratoire. Microbiologie – Immunologie. 3^{ème} édition. Diagn. Past. Paris: 728 p.
- Percival S.L. et Williams D.W., 2014.** *Acinetobacter*. In: Percival, SL, Yates, MV, Williams, DW et al. (eds) Microbiology of Waterborne Diseases. 2^{ème} édition. Elsevier, 35–48.
- Perfect J.R., 2006.** "Cryptococcus neoformans: the yeast that likes it hot." *FEMS Yeast Res* 6(4): 463-468.
- Perla R.J., Peden C.J., Goldmann D. et Lloyd R., 2009.** Health care-associated infection reporting: the need for ongoing reliability and validity assessment. *Am J Infect Control* 37: 615-618.
- Petti C.A., Sanders L.L. et Trivette S.L., 2002.** Postoperative bacteremia secondary to surgical site infection. *Clin Infect Dis*; 34 : 305-8.
- Pfyffer G.E., 2007.** *Mycobacterium*: General Characteristics, Laboratory Detection, and Staining Procedures. In P. R. Murray (Ed.), *Manual of Clinical Microbiology* (9^{ème} édition., p. 543-572). Washington D.C.: ASM Press.
- Pier G.B., 2002.** CFTR mutations and host susceptibility to *Pseudomonas aeruginosa* lung infection. *Curr opin Microbiol*; 5(1) : 81-6.
- Pier G.B., Grout M., Zaidi T.S., Olsen J.C., Johnson L.G., Vankaskas J.R. et Goldberg J.B., 1996.** Role of mutant CFTR in hypersusceptibility of cystic fibrosis patients to lung infections. *Science* ; 271 (5245) : 64-7.
- Pittet D., Simon A., Hugonnet S., Pessoa-Silva C.L. et Sauvan V., 2004.** Hand hygiene among physicians: performance, beliefs, and perceptions. *Ann Intern Med* 141: 1-8.
- Podschun R. et Ullmann U., 1998.** *Klebsiella spp.* as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clin.Microbiol.Rev.* 11:589-603.
- Pruitt B.A., Jr McManus A.T., Kim S.H. et Goodwin C.W., 1998.** Burn wound infections: current status. *World Journal of Surgery*, 22(2), 135-145.

R

- Rackham M.S.L.M., Mintz A., Cain C.M.J. et Cundy P.J., 2010.** Theatre traffic: is your theatre a tearoom? Abstract. *J Bone Joint Surg Br.* 92-B Supp I 205.
- Ribes J.A., Vanover-Sams C.L. et Baker D.J., 2000.** Zygomycetes in human disease. *Clin Microbiol Rev* ; 13 :236-301.
- Richard C., 2005.** Génomique fonctionnelle *in vivo* de l'oxydation PA 3498 chez *Pseudomonas aeruginosa*. Maitrise en microbiologie-immunologie.
- Richard C. et Keredjian M., 1995.** Méthodes de laboratoire pour identification des bacilles à Gram négatif aérobies stricts : *Pseudomonas, Alcaligenas, Flavobacterium, Acinobacter, Brucella, Bordetella*. Inst Pasteur, 2^e édition. 2 : 22-26.
- Richet H., 2003.** Paris en charge d'une épidémie à *Pseudomonas aeruginosa*. *Annal Françaises d'Anesthésie et Réanimation.* 2 : 544-547.
- Roberts J.A., 1997.** - Infections of the genito-urinary tract. *In Surgical Infectious Diseases* , 3^{ème} édition (1995) by R. J. Howard, R.L. Simmons - Ed. Appleton and Lange, Norwalk, Connecticut. Fauchere J.-L. - Bactériofiches - Techniques en bactériologie clinique ; Ellipses – Paris.
- Rosenow C., Ryan P., Weiser J.N., Johnson S., Fontan P. et Ortqvist A., 1997.** Contribution of novel choline-binding proteins to adherence, colonization and immunogenicity of *Streptococcus pneumoniae*. *Mol Microbiol.* 25(5):819- 29.
- Rosenthal R., Weber W.P., Marti W.R., Misteli H. et Reck S., 2010.** Surveillance of surgical site infections by surgeons: based under reporting or useful epidemiological data? *J Hosp Infect* 75: 178-182.
- Rossau R., van Landschoot A., Gillis M. et De Ley J., 1991.** Taxonomy of Moraxellaceae fam. nov., a New Bacterial Family To Accommodate the Genera *Moraxella, Acinetobacter*, and *Psychrobacter* and Related Organisms. *Int J Syst Bacteriol*;41:310-319.
- Roué R., 2002.** Semmelweis adsp n° 38.

Rubin M.A. et Samore M.H., 2002. Antimicrobial Use and Resistance. *Curr Infect Dis Rep*; 4: 491-7.

Russo T. A., et Johnson J.R., 2008. Diseases Caused by Gram-Negative Enteric Bacilli. In A. S. Fauci, & A. Fauci (Eds.), *Harrison's principles of internal medicine* (17^{ème} édition). New York: McGraw-Hill Medical Pub.

S

Sambrook J., Fritschi E.F. et Maniatis T., 1989. Molecular cloning: a laboratory manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.

Sandoval C., Walter S.D. et McGeer A., 2004. Nursing home residents and *Enterobacteriaceae* resistant to third-generation cephalosporins. *Emerg Infect Dis*; 10:1050-1055.

Saumyaa null., Pujanauski L., Colino J., Flora M., Torres R.M. et Tuomanen E., 2016. Pneumococcal Surface Protein A Plays a Major Role in *Streptococcus pneumoniae*-Induced Immunosuppression. *J Immunol Baltim Md* 1950.

Schleifer K.H. et Kilpper-Balz R., 1984. "Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the genus *Enterococcus* nom. rev. as *Enterococcus faecalis* comb. nov. and *Enterococcus faecium* comb. nov.". *Int. J. Sys. Bacteriol.* 34: 31–34.

Schwartz R.H., Wientzen R.L., Jr, Pedreira F., Feroli E.J., Mella G.W. et Guandolo V.L., 1981. Penicillin V for group A *Streptococcal pharyngotonsillitis*. A randomized trial of seven vs ten days' therapy. *JAMA*;246:1790-1795.

Schwarz P., Lortholary O., Dromer F. et Dannaoui E., 2007. Carbon assimilation profiles as a tool for identification of zygomycetes. *J Clin Microbiol*; 45 : 1433-9.

Segonds C., Marty N., Agueda L. et Chabanon G., 1995. *Pseudomonas cepacia* : La percée d'un opportuniste. *Revue française des laboratoires.* 247 :87-93.

Semmelweis I., 1861. The etiology, concept and prophylaxis of childbed fever: Pest, Wien und Leipzig: C.A. Hartleben's Verlag-Expedition.

Seror R., Ravaud P., Bowman S.J., Baron G. et Tzioufas A., 2010. EULAR Sjogren's syndrome disease activity index: development of a consensus systemic disease activity index for primary Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis* 69: 1103-1109.

Shapiro A.L., Vi Tuela E. et Maizel J.V., 1967. Molecular weight estimation of polypeptide chains by electrophoresis in SDS polyacrylamide gels. *Biochem Biophys Res Commun* 28: 815–822.

Sievert D.M., Ricks P. et Edwards J.R., 2013. Antimicrobial-resistant pathogens associated with health care associated infections: Summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2009-2010. *Infect Control Hosp Epidemiol* ;34:1-14.

Smati M., Clermont O., Le Gal O., Jauréguy F., 2013. Real-time PCR for quantitative analysis of human commensal *Escherichia coli* populations reveals a high frequency of subdominant phylogroups. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(16):5005–5012.

Société Française de Microbiologie (SFM), 2015. Le Rémic. 5^{ème} édition.

Société Française de Microbiologie (SFM), 2004. Référentiel en microbiologie médicale (bactériologie et mycologie). 2^{ème} édition ©2M2: 198 p.

Spreet D., 2002. Infections au complexe *Burkholderia cepacia* chez les patients atteints de fibrose kystique --- Questions les plus souvent posées. Canadian Cystic Fibrosis Foundation.

Stahlhut S.G, Struve C, Krogfelt K.A. et Reisner A., 2012. Biofilm formation of *Klebsiella pneumoniae* on urethral catheters requires either type 1 or type 3 fimbriae. *FEMS Immunol Med Microbiol* 65 (2012) 350–359.

Stevens D.L., Bisno A.L. et Chambers H.F., 2005. Practice guidelines for the diagnosis and management of skin and soft-tissue infections. *Clin Inf Dis*; 41:1373-406.

Strachan T. et Read A., 2004. GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE HUMAINE 4 e ÉDITION.

Stucki K. et Nendaz M., 2014. Service de médecine interne générale ; Département de médecine interne, réhabilitation et gériatrie ; Pr Stephan Harbarth Service des maladies infectieuses Département des spécialités de médecine ; HUG, 1211 Genève 14. *Revue Med Suisse* ; 10 : 1918-23.

SUD-EST et RAISIN., 2003. Surveillance des Infections du Site opératoire en France en 1999 et 2000 : résultats. In VS, Paris, 39 pages. Disponible sur [\[http://www.invs.sante.fr/raisin/\]](http://www.invs.sante.fr/raisin/), consulté le 05/05/2020.

Sutton D.A., Timm W.D., Morgan-Jones G. et Rinaldi M.G., 1999. Human phaeohyphomycotic osteomyelitis caused by the coelomycete *Phomopsis saccardo* 1905: criteria for identification, case history, and therapy. *J Clin Microbiol.* 37[3], 807-811.

T

Tan T.Y., Yong S. et Xing W., 2006. Clinical significance of *coagulase negative staphylococci* recovered from non sterile sites. *Journal of clinical microbiology.* Vol: 44(9): 3413-3414.

Tartari E. et Mamo J., 2011. Pre-educational intervention survey of healthcare practitioners compliance with infection prevention measures in cardiothoracic surgery: low compliance but internationally comparable surgical site infection rate. *J. Hosp. Infect.* 77, 348–351.

Taylor G., McKenzie M., Kirkland T. et Wiens R., 1990. Effect of surgeon's diagnosis on surgical wound infection rates. *Am J Infect Control* 18: 295-299.

Tchalla A.A.M., 2006. Les complications postopératoires précoces dans le service de chirurgie générale de l'Hôpital Gabriel Touré. Thèse. Méd. N°6 Bamako: 116 p.

Teixeira L.M., Carvalho, Maria da Gloria Siqueira et Facklam R.R., 2007. *Entérocoques.* In P. R. Murray (Ed.), *Manual of Clinical Microbiology* (9^{ème} édition, p. 430-442). Washington D.C.: ASM.

Tenaillon O., Skurnik D., Picard B. et Denamur E., 2002. Généralités sur l'analyse de risque. *Nature Reviews Microbiology*, 8(3):2007–217.

Thomas P.A., 2003. Current perspectives on ophthalmic mycoses. *Clin. Microbiol. Rev.* 16[4], 730-797.

Tille P., 2017. *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology* (14^{ème} édition). Mosby.

Tjade O.H. et Gabor I., 1980. Evaluation of airborne operating room bacteria with a Biap slit sampler. *J. Hyg. Lond.* 84, 37–40

Tokars J.I., Richards C., Andrus M., Klevens M., Curtis A. et Horan T., 2004. The changing face of surveillance for health care-associated infections. *Clin Infect Dis*; 39:1347—52.

Traore M.M., 2008. Les infections nosocomiales dans le service de chirurgie pédiatrique du CHU Gabriel Touré. Thèse, Bamako; n 529.

Troillet N., Petignat C., Eisenring M.C. et Francioli P., 2001. Risk adjustment in surgical site infection surveillance : Is the NNIS risk index sufficient ? 41st Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Chicago.

U

Ulrike M., Pierre N., Maren D., Pané-Farré J., Debarbouille M., Magdalena M., van der K.P., Cyprien G., Dérozier S., Aurelia H., Jarmer H., Leduc A., Michalik M., Ewoud R., Schaffer M., Schmidt F., Bessières P., Noirot P., Hecker M., Msadek T., Völker U. et Jan Maarten V.D., 2016. *Staphylococcus aureus* transcriptome architecture: from laboratory to infection-mimicking conditions, *PLoS Genet.* 1;12(4):e1005962.

V

Vachon F., 1983. Antibio prophylaxie, et risque infectieux en chirurgie. *J. Chir (Paris)* ; 123 (3) : 197-203.

Vendepitte J., Engbaek K., Piot P. et Heuck C., 1994. Bactériologie Clinique: Techniques de base pour le laboratoire. OMS – Genève: 121 p.

Vergis E.N., Hayden M.K. et Chow J.W., 2001. Determinants of vancomycin resistance and mortality rates in enterococcal bacteremia. A prospective multicenter study. *Ann Intern Med*; 135 : 484-92.

Verweij P.E et Brandt M.E., 2007. *Aspergillus, Fusarium* and other opportunistic moniliaceous fungi. In P. R. Murray (Ed.). Washington D.C.: ASM Press. 9^{ème} édition., p. 1802-1838.

Veysier P., Domart Y. et Liebbe A.M., 1998. Infections nosocomiales, Abrégés. Masson. p. 83-90.

Vimonts A., 2007. Optimisation de la recherche des *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines (STEC). (Thèse de Doctorat) Université CLAUDE BERNARD-LYON, France.

Vincent R., 2006. Description et caractérisation de la diversité microbienne durant l'élaboration du vin : interactions et équilibres– relation avec la qualité du vin .Thèse de Docteur de l'institut national polytechnique .Toulouse, p.109-114.

Vuong C. et Otto M., 2002. *Staphylococcus epidermidis* infections. *Microbes and Infection.* 4 (4): 481-489.

W

Wan G.H., Chung F.F. et Tang C.S., 2011. Long-term surveillance of air quality in medical center operating rooms. *Am. J. Infect. Control* 39, 302–308.

Wertheim H.F., Vos M.C. et Ott A., 2004. Risk and outcome of nosocomial *Staphylococcus aureus* bacteraemia in nasal carriers versus non-carriers. *Lancet*,364: 703–5.

Westermeier R. et Naven T., 2004. Electrophoresis in the practice A Guide to Methods and Applications of DNA and Protein Separations 4^{ème} éd. Wiley-VCH, Germany.

Willey J.M., Sherwood L.M. et Woolverton C.J., 2008. Harley and Klein's Microbiology. 7th ed. McGraw-Hill Higher Education, USA.

Wilson J., Ramboer I. et Suetens C., 2007. Hospitals in Europe Link for Infection Control through Surveillance (HELICS). Inter-country comparison of rates of surgical site infection--opportunities and limitations. *J Hosp Infect* 65: 165-170.

Wong E., 2004. Surgical site infections. *In*: Mayhall C, editor. Hospital epidemiology and infection control. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. p. 287-310.

Y

Yétérian E., 2010. Base moléculaire de la maturation et de la sécrétion pyoverdine chez *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse de doctorat. Université de Strasbourg.

Yinnon A.M., 2012. Improving implementation of infection control guidelines to reduce nosocomial infection rates: pioneering the report card. *J. Hosp. Infect.* 81, 169–176.

Yokoe D.S., 2004. Enhanced Identification of Postoperative Infections among Inpatients. *Emerg Infect Dis* 10: 1924-1930.

Z

Zaidi T.S., Priebe G.P. et Pier G.B., 2006. A live-attenuated *Pseudomonas aeruginosa* vaccine elicits outer membrane protein-specific active and passive protection against corneal infection. *Infection and Immunity*, 74(2), 975-983. doi : 10.1128/IAI.74.2.975-983.2006.

Les annexes

OBJET/ : Instruction technique pour la gestion des déchets hospitaliers

L'étendue de la couverture sanitaire fait que des quantités importantes de déchets chimiques, toxiques, biologiques et anatomiques sont générées quotidiennement par les établissements hospitaliers et malheureusement éliminés dans des conditions ne garantissant pas les normes d'hygiène publique.

Il est grand temps de mettre un terme à cette situation souvent préjudiciable à la santé de la population et à la sécurité de l'environnement et ce, par une collecte rationnelle de déchets et leur incinération dans les établissements dotés d'incinérateurs et / ou stockage (produits toxiques) dans des conditions garantissant leur innocuité.

Aussi, la présente circulaire a pour objet de donner quelques recommandations, pour le stockage, le ramassage et l'élimination de ces déchets afin de protéger le personnel, et l'environnement des risques dus à ces déchets.

Les déchets hospitaliers peuvent être classés en cinq (5) catégories :

- Les déchets ménagers
- Les déchets encombrants
- Les déchets piquants, coupants
- Les déchets contaminés ou septiques
- Les déchets toxiques et dangereux.
- Les déchets ménagers : Ce sont les restes de repas, déchets de cuisine. Ceux-ci doivent être collectés, mis dans des sacs en plastique et évacués en décharge publique.
- Les déchets encombrants : ce sont tous les objets encombrants réformés. Les évacuer rapidement de l'hôpital. - Les déchets piquants ou coupants : ce sont les aiguilles, les bistouris...; Ceux-ci doivent être collectés dans des récipients remplis partiellement de javel 12°.
- Les déchets contaminés ou septiques : ce sont les pièces anatomiques prélevées au bloc opératoire, les pansements souillés, les sacs à urines, les sondes, les circulaires de dialyses...; déchets de malades infectés, les milieux de laboratoire. Ces déchets doivent être incinérés ou au moins autoclavés.
- Les déchets toxiques ou dangereux : Les médicaments périmés : doivent être renvoyés à la pharmacie de l'hôpital qui se chargera de leur élimination.

- Les déchets radioactifs : doivent être pris en charge selon le circuit réglementaire spécial. Je ne saurais trop insister sur l'importance à accorder à l'application rigoureuse des prescriptions de la présente instruction.

**Instruction ministérielle N° 19 du /11/2002 relative à la prévention des hépatites virale,
du VIH et des accidents d'exposition au sang en pratique dentaire**

Destinataires :

Mesdames et messieurs les directeurs de la santé et de la population

Messieurs les directeurs généraux des C.H.U.

Messieurs les directeurs des E.H.S.

Mesdames et messieurs les directeurs des secteurs sanitaires.

A l'instar de toutes les spécialités chirurgicales, la chirurgie-dentaire présente un risque élevé face aux infections professionnelles transmises par le sang.

Or, il est notoire que dans l'exercice quotidien dans un cabinet dentaire les mesures d'hygiène et d'asepsie ne sont pas rigoureuses que dans un bloc opératoire.

Aussi, il convient de souligner que la protection contre les infections au cabinet dentaire, dont les hépatites et l'infection à VIH, passe par le respect des précautions universelles tout en rappelant que ces précautions s'imposent au chirurgien-dentiste et à son assistant.

Elle vise à actualiser les connaissances et les recommandations de prévention de la transmission des agents infectieux véhiculés par le sang et rappelé aux établissements de santé l'importance de la mise en œuvre d'une stratégie de prévention efficace pour maîtriser les risques de transmission virale dans les unités de soins dentaires.

Cette stratégie qui doit s'intégrer dans une démarche d'amélioration des conditions de travail, doit tenir compte de l'impact des mesures préconisées sur la sécurité des praticiens, et repose sur :

La vaccination des chirurgiens-dentistes et auxiliaires dentaires contre l'hépatite B.

La nécessité de la maîtrise le risque de transmission de l'ensemble des agents infectieux par des précautions générales d'hygiène.

L'utilisation rationnelle d'un matériel adapté.

La mise en place d'un dispositif de prise en charge des accidents d'exposition au sang (A.E.S)

L'interprétation des données de la surveillance des A.E.S L'information et la formation du personnel L'évaluation des actions entreprises.

Les mesures jointes en annexe doivent être mises en place par les gestionnaires des établissements, les chefs de service et les chirurgiens-dentistes du secteur public et privé

**Score ASA mis au point en 1941 par la société américaine d'anesthésie
(Bouchari, 2020).**

ASA 1	Pas d'atteinte autre que celle justifiant l'intervention
ASA 2	Atteinte modérée et sans retentissement d'une grande fonction
ASA 3	Atteinte sévère et avec retentissement d'une grande fonction
ASA 4	Atteinte d'une grande fonction avec risque vital
ASA 5	Patient moribond

**Durées d'intervention, distribution de la base nationale 1999F2004,
protocole ISO Raisin 2006 pages 39-40/40 (Bouchari, 2020)**

Code d'intervention	75^{ème} percentile (en mn)	Valeur seuil (en heure) pour le score NNIS
ABDO	120	2
ABLA	35	1
AEND	120	2
AMPU	47	1
APER	130	2
APPE	50	1
ARDI	60	1
ATHO	146	2
BILI	280	5
CARF	260	4
CARO	270	5
CATA	60	1
CCCF	195	3
CERV	60	1
CESA	59	1
CESS	59	1
CHOL	100	2
CHOC	100	2
COLC	185	3
COLO	185	3
CRAN	180	3
DLCR	75	1
EXPU	146	2
GAST	160	3
GFVA	90	2
GFVB	45	1
GREL	130	2
GVIA	210	4
GVIT	253	4
HERN	69	1
HERC	69	1
HYSA	140	2
HYSV	115	2
LYMP	90	2
MUSC	45	1
NEPH	175	3
NERF	35	1
OGEM	40	1
OPHT	35	1
ORLD	60	1
OSDI	65	1
OSYN	75	1
POLY	210	4
PROC	45	1
PROS	125	2
PROT	98	2
PTGE (prothèse de genou)	120	2
PTGC id	120	2
PTHA (prothèse de hanche)	105	2
PTHC id	105	2
PTTH id	120	2
RATE	150	3
RTUC	60	1
SCUT	40	1
SEIN	95	2
STOM	45	1
THYR	120	2
TRAN	491	8
TSAO	115	2
TUMC	180	3
TUMO	95	2
UROL	60	1
VALV	270	5
VERT	90	2
VESS	60	1
VPEC	65	1
VPER	65	1

Caractères biochimiques des entérobactéries les plus fréquemment rencontrées (Decoster, 2000)

	<i>Escherichia</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>klebsiella</i>	<i>Serratia</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Shigella</i>	<i>Proteus</i>	<i>Providencia</i>	<i>Yersinia</i>
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
ONPG	+	+	+	+	+	-	+/-	-	-	-
Indole	+	-	-	+/-	-	-	+/-	+/-	+	+/-
VP (Acétoïne)	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+*
Citrate	-	+	+	+	+	+/-	-	+/-	+	-
Mobilité	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+*
Uréase	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+
TDA	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
H₂S	-	+/-	-	-	-	+	-	+/-	-	-

Remarque :* à 20 °C seulement

Tableau de lecture de la galerie API Staph (bioMérieux, 1994)

Tests	Composants Actifs	Réaction d'enzyme	Résultats	
			Négatif	Positif
0	Aucun	Témoin négatif	Rouge	
Glu Fru Mne Mal Lac Tre Man XLT Mel	D-glucose D-fructose D-mannose Maltose Lactose D-tréhalose D-mannitol Xylitol D-melibiose	Acidification à partir du carbohydre.	Rouge	Jaune
Nit	Nitrate de potassium	Réduction des nitrates en nitrites	Nit ₁ + Nit ₂ pendant 10 min	
			Incolore ou Rose pâle	Rouge
Pal	B naphthyle Acide phosphate	Phosphate alcaline	ZymA+ZymB pendant 10min	
			Jaune	Violet
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétone methylocarbinol	VP ₁ + VP ₂ pendant 10 min	
			Incolore	Violet ou Rose
RAF Xyl Sac MDG NAG	Raffinose Xylose Saccharose α -méthyle de glucide N-acétyle glucosamine	Acidification à partir du carbone hydrate	Rouge	Jaune
<u>ADH</u> <u>URE</u>	Arginine Urease	Arginine dihydrolase Urease	Jaune ou Jaune Orange	Rouge ou Violet

Tableau de lecture de la galerie API 20NE (bioMérieux, 1994)

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup)	REACTION/ENZIMES	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
NO ₃	Potassium nitrate	0.136	Réduction des nitrates en nitrites	NIT1+ NIT2/5min	
			Réduction des nitrates en azote	Incolore	rose-rouge
				Zn/5min	
				Rose	incolore
TRP	L-tryptophane	0.2	Formation d'indole (Tryptophane)	JAMES/immédiat	
				Incolore Vert pale/jaune	Rose
<u>GLU</u>	D-glucose	1.92	Fermentation (GLUcose)	Bleu à vert	Jaune
<u>ADH</u>	L-arginine	1.92	Arginine DiHydrolase	Jaune	orange/rose/ rouge
<u>URE</u>	Urée	0.76	URE ase	Jaune	orange/rose/ rouge
ESC	Esculine	0.56	Hydrolyse (β-glucosidase) (ESculine)	Jaune	Gris/marron noir
	Citrate de fer	0.072			
GEL	Gétadine (origine bovine)	0.6	Hydrolyse (protéase) (GELatine)	Pas de diffusion depigment	Diffusion du pigment noir
PNPG	4-nitrophényl-βD-galactopyranoside	0.22	β-galactosidase (para-NitroPhény-βD-Galactopyranosidase)	Incolore	Jaune
<u>GLU</u>	D-glucose	1.56	Assimilation (Glucose)	Transparance	Trouble
<u>ARA</u>	L-arabinose	1.4	Assimilation (ARAbinose)	Transparance	Trouble
<u>MNE</u>	D-mannose	1.4	Assimilation (ManNosE)	Transparance	Trouble
<u>MAN</u>	D-mannitol	1.36	Assimilation (MANnitol)	Transparance	Trouble
<u>NAG</u>	N-acéty- glucosamine	1.28	Assimilation (N-acéty- glucosamine)	Transparance	Trouble
<u>MAL</u>	D-maltose	1.4	Assimilation (MALtose)	Transparance	Trouble
<u>GNT</u>	Potassium-gluconate	1.84	Assimilation (potassium GlucoNate)	Transparance	Trouble
<u>CAP</u>	Acide caprique	0.78	Assimilation (acide CAPrique)	Transparance	Trouble
<u>ADI</u>	Acide adipique	1.12	Assimilation (acide ADIrique)	Transparance	Trouble
<u>MLT</u>	Acide malique	1.56	Assimilation (MALate)	Transparance	Trouble
<u>CIT</u>	Trisodium citrate	2.28	Assimilation (Trisodium CITrate)	Transparance	Trouble
<u>PAC</u>	Acide phénylacétique	0.8	Assimilation (acide phénylacétique)	Transparance	Trouble

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

Filière : Ecologie & Environnement

Spécialité : Ecologie Microbienne

Les infections du site opératoire

Résumé

Les infections du site opératoire (ISO) sont des infections nosocomiales (IN) survenant suite à une intervention chirurgicale. Les principaux facteurs de risque impliqués sont l'environnement pré-per- et postopératoires du malade ainsi que de l'équipe soignante, les défenses immunitaires de l'hôte et surtout le niveau de propreté de l'acte chirurgical. Afin de diminuer l'incidence de cette pathologie, il est nécessaire d'en améliorer la détection et la surveillance pour optimiser les mesures et le protocole d'hygiène au bloc opératoire ou salle d'hospitalisation et d'adapter les traitements prophylactiques au niveau du risque correspondant. Tout ceci nécessite une prise en charge pluridisciplinaire, une information éclairée des patients sur ce risque, et une implication consciente de l'ensemble des acteurs de soins. Ce mémoire se focalise sur la classification, la pathogénicité, les facteurs de risque, la prévention, le traitement ainsi que les microorganismes responsables des ISO. Dans toutes les interventions chirurgicales confondues, *Staphylococcus aureus* est la bactérie la plus souvent isolée lors d'ISO (40 %), suivie par les staphylocoques à coagulase négative tel que *S. epidermidis* (10 à 30 %), *Escherichia coli* (8-13 %), les entérocoques (8-12 %), *Pseudomonas aeruginosa* (7-8 %), *Enterobacter* spp. (3-7 %), divers streptocoques (4-5 %), *Bacteroides fragilis*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae* (2-4 %) chacun. La fréquence relative de ces différentes bactéries dépend du type de chirurgie. Chez les patients immunosupprimés, on peut voir, au-delà des bactéries classiques, des infections à germes atypiques (mycobactéries, *Nocardia* spp.) ou à champignons (*Candida*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Fusarium*, *Cryptococcus*). Les techniques d'analyses du contenu phénotypique et génomique sont des méthodes nécessaires pour l'identification, la comparaison et le suivi de l'évolution des souches pathogènes, et qui se révèle indispensable à meilleure caractérisation épidémiologique des souches hospitalières pour déterminer l'origine clonale ou non d'une souche. Le chapitre trois de ce présent mémoire traite toutes ces techniques employées.

Mot clés : Infection du site opératoire, Bloc opératoire, Intervention chirurgicale, *Staphylococcus aureus*, Identification.

Membre du jury :

Présidente du jury : Mme Oulmi L. (Maître de Conférences- UFM Constantine 1).

Rapporteuse : Mme Gaci M. (Maître assistante- UFM Constantine 1).

Examinatrice : Mme Arabet D. (Maître de Conférences- UFM Constantine 1).

Présentée par : Touil Boutheina / Zater Fatima Zohra

Année universitaire : 2019 -2020