



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature
et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques

MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Référence / 2023

Présenté et soutenu par :

Beggar chaima

Le : dimanche 25 juin 2023

Contribution à l'étude des germes nosocomiaux en milieu hospitalier « Hôpital DEBAKH Saïd – El-Mghaier »

Jury :

Mme. Benharzallah Naouel	MCA	Mohamed khider Biskra	Président
Mme. Ghiti Hassina	MCB	Mohamed khider Biskra	Rapporteur
Mme. Kenza MOHAMMEDI	MCB	Mohamed khider Biskra	Examineur

Année universitaire : 2022-2023

Remerciements

*Au terme de ce travail de mémoire de master, les mots sont difficiles à trouver pour exprimer nos remerciements. À «Allah», le tout puissant, qui nous a accordés le courage et la patience pour élaborer ce modeste travail. Un très grand merci à notre encadreur **Dr GHITI HASSINA** pour sa gentillesse, ses précieux conseils, sa bienveillance et son soutien tout au long de la réalisation de notre mémoire. Nous rendons un vibrant hommage aux membres du jury de ce mémoire qui ont accepté de juger ce travail.*

*Nous adressons nos remerciements à toutes les personnes ayant participé de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire. Responsable des services à l'hôpital **DEBAKH Saïd d'El-Mghaier**, qui a bien voulu autoriser ce travail. Nos respectueux remerciements aux personnels du laboratoire de Département de Sciences de la Nature et de la Vie de l'université de Biskra pour leur disponibilité et leur sympathie*

BEGGAR CHAIMA

Dédicace

Mon cher Papa Ayache

L'homme le plus exceptionnel au monde, mon héros, le meilleur papa qu'on puisse avoir, qui a été auprès de moi durant toute ma vie et mes années d'études, et qui a toujours veillé à ce que rien ne m'y soit refusé.

Ma chère maman Naima

Qui m'a donnée la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargnée aucun effort pour me rendre heureuse quoi que je fasse, je ne pourrais te rendre ce que tu as fait pour moi. Soyez fière de moi aujourd'hui et voyez à travers ce travail mon amour sincère

A mes chères sœurs: Amina, nour, houda pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral,

A mes chers frères, Bahi, Ahmed, Yusef pour leur appui et leur encouragement,

A toute ma famille et mes amis pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire.

BEGGAR CHAIMA

Table de matières

Liste des Tableaux.....	I
Liste des Figures	II
Liste des abréviations	III
Introduction.....	1

Partie Synthèse Bibliographique

Chapitre 01 Généralité sur les infections nosocomiales

I. les infections nosocomiales	3
I.1. Définition.....	3
I.2. Origine des agents infectieux.....	3
I.2.1. Origine endogène	3
I.2.2. Origine exogène	3
I.3. Prophylaxie de l'infection nosocomiale	4
I.3.1. La pneumonie nosocomiale	4
I.3.2. L'infection urinaire nosocomiale	4
I.3.3. L'infection du site opératoire.....	5
II. Les principaux types des infections nosocomiales	5
II.1. Infection urinaire nosocomiale	5
II.2. Pneumopathie nosocomiales	5
II.3. Bactériémie nosocomiale	6
II.4. Endocardite infectieuse	6
II.5. Autres infections nosocomiales	6
III. Contamination de l'environnement hospitalier	7
III.1. Environnement hospitalier	7
III.1.1. Définition de l'environnement hospitalier:	7
III.1.2. Contamination de l'environnement par les microorganismes	7
III.1.3. Hygiène de l'environnement hospitalier	7

Chapitre 02 Les germes responsables des infections nosocomiales

I. Les bactéries	8
I.1. Cocci à Gram positif	8
I.2. Bacilles à Gram négatif	9
II. Les virus	10
III. Parasites et champignons	10

Partie Expérimentale

Chapitre 03 Matériel et méthodes

1. Présentation De Lieu D'étude	11
2. Méthodes	11
2.1. Sites de prélèvement	11
2.2. Méthodes d'échantillonnage	12
2.3. Utilisation des milieux de culture	14
3. Isolement et identification	15

3.1. Identification des souches bactériennes	15
3.1.2. Identification microscopiques	17
4. Identification des champignons	19
4.1.Étude macroscopique	20
4.2.Étude microscopique	20
5. Dénombrement de colonies	20

Chapitre 04 Resultats Et Discussion

1. Analyse des prélèvements.....	21
3.1. Coloration de Gram	24
3.2. Coloration bleu de méthylène	25
4. Résultats des tests biochimiques	26
4.1. Tests biochimiques classique pour les CGP	26
4.2. Tests biochimiques classique pour les BGN	26
5. Résultats d'identification macroscopique et microscopique des champignons.....	28
6. Résultats de Dénombrement	30
6.1. Distribution des micro-organismes au niveau des surfaces	30
6.2. Distribution des micro-organismes au niveau des services	32
7. Répartition totales des différents germes isolés	34
8. Interprétation des résultats obtenus	34
9. Discussion générale	35
Conclusion	38
Liste des références	
Annexe	
Résumé	

Liste des Tableaux

Tableau 1. Réparation des prélèvements provenant des hôpitaux (DEBAKH Saïd d'El-Mghaier) et les sites de prélèvement.	13
Tableau 2. Analyse microbiologique des prélèvements isolés d'hôpital DEBAKH Saïd.	21
Tableau 3. Aspect de culture des bactéries trouvées sur les cinq milieux de cultures (gélose nutritive (GN), GN <i>staph</i> , Hektoen, VRBL).....	22
Tableau 4. Identification des souches.....	27
Tableau 5. Aspect de culture des champignons trouvés sur le milieu de culture sabouraud...28	
Tableau 6. Identification des champignons isolés.....	29
Tableau 7. Répartition de 8 germes responsables d'infection nosocomiale	34

Liste des Figures

Figure 1. Infections associées au dispositif et chroniques	6
Figure 2. Aspect morphologique des colonies du <i>S. aureus</i> en culture sur GN.....	8
Figure 3. Croissance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> sur gélose hectoen.....	10
Figure 4. Carte géographique et hôpital d'El-Mghaier.....	11
Figure 5. Quelques services hospitaliers. A: Médecine femmes, B: Maternité et maladies des femmes, C: Néonatalogie, D: chirurgie Homme)	12
Figure 6. Différents aspect des colonies sur les milieux des cultures	16
Figure 7. Coloration de Gram pour quelques bactéries.	17
Figure 8. Galerie API 20 après incubation.....	18
Figure 9. Observation microscopique A: des cocci à gram positif, B: bacilles Gram négatif isolées du service (Médecine femmes et Chirurgie Homme et Maternité et maladies des femmes à partir d'un lit et table).....	25
Figure 10. Observation microscopique des cocci à gram(+) et bacilles gram(-) isolées du service (Médecine femmes et Maternité et maladies des femmes à partir d'un lit et table.)	25
Figure 11. Résultat de test de catalase	26
Figure 12. Résultat d'identification biochimique galerie API 20 ^E pour la souche <i>Klebsiella pneumoniae</i>	26
Figure 13. Résultat d'identification biochimique galerie API 20 ^E pour la souche <i>Pantoea sp.</i>	27
Figure 14. Résultat d'identification biochimique galerie API 20 ^E pour la souche <i>Salmonella Sp.</i>	27
Figure 15. Répartition des microorganismes au niveau de lit.....	30
Figure 16. Répartition des microorganismes au niveau de table.....	31
Figure 17. Répartition des microorganismes au niveau de sol.....	31
Figure 18. Répartition des microorganismes au niveau de service Maternité et maladies des femmes.....	32
Figure 19. Répartition des microorganismes au niveau de service Néonatalogie.....	33
Figure 20. Répartition des microorganismes au niveau de service chirurgie Homme.....	33
Figure 21. Distribution des germes dans tous les services	34
Figure 22. Fréquence des germes	35

Liste des abréviations

API: Appareils et Procédés d'Identification

BGN: Bacilles à Gram Négative

CGP: Cocci à Gram Positif

CIT : Citrate de sodum

GLU: Glucose

GN: Gélose nutritive

H₂S: Sulfure d'hydrogène

FTAM: la flore mèsophile aérobie toale

IND: Indole

MAN: D-mannitol

O₂: Oxygène

SNV: Sciences de la Nature et de la Vie.

TDA: Tryptophane Désaminase.

URE: Uréase.

ISO : Infections du site opératoire .

IUN : Infections urinaires nosocomiales.

PN : Pneumopathies nosocomiales.

HEA: Hektoen Entérique Agar.

ORL: Oto-Rhino-Laryngologie.

pH: Potentiel Hydrogène.

VP: Voges Proskauer .

ZYM: Recherche d'activités enzymatiques.

α GAL: α -galactosidase.

β GAL: β -galactosidase.

β GUR: β -glucuronidase.

Introduction

Introduction

Les hôpitaux, tout en assurant la prévention et le traitement, sont aussi parfois à l'origine d'infections. Au cours des 20 dernières années, les infections nosocomiales ou associées aux soins sont devenues un problème majeur de santé publique dans le monde.

L'infection nosocomiale (IN) est l'un des événements indésirables les plus courants dans la prestation des soins de santé, touche à la fois les pays développés et les pays pauvres en ressources. Ces infections sont souvent causées par des micro-organismes multi résistants, causant des dommages aux patients, aux visiteurs et aux travailleurs de la santé, et imposant un fardeau considérable au système de santé, y compris une augmentation des coûts. (Organisation mondiale de la Santé 2022)

Une enquête épidémiologique de l'OMS dans 55 hôpitaux de 14 pays représentant les quatre régions de l'OMS a révélé qu'en moyenne 8,7 % des patients hospitalisés étaient touchés par des infections nosocomiales. À tout moment, plus de 1,4 million de personnes dans le monde souffrent de complications d'infections nosocomiales. (Organisation mondiale de la Santé. 2005)

La première mesure de prévention des infections nosocomiales c'est grâce à Ignace Semmelweis (1843) obstétricien hongrois, après avoir constaté le taux élevé des infections parfois mortelles, du post partum chez les parturientes, prévoir l'idée du lavage des mains à l'hypochlorite de sodium à l'entrée du service d'obstétrique cette mesure a permis la chute spectaculaire de 30% du taux d'infections en 3 mois. D'autres médecins ont mis au point des mesures de prévention telle que Lister (1867) avec l'antiseptique en spray au cours des interventions chirurgicales. Et Shummelbush (1894) a mis au point le pansement permettant d'absorber les sécrétions des plaies opératoires et de les protéger ainsi de tout risque de contamination. Quatorze ans plus tôt, en 1880, de grandes avancées ont été réalisées dans le domaine de la prévention des infections. Après Louis Pasteur a montré l'origine bactérienne de l'infection (maladie du charbon chez l'animal). (N. Ramdani Bouguessa et *al.*, 2016)

En Algérie, comme dans tous les autres pays du monde, ces maladies ont attiré tant d'attention. De nombreux facteurs sont à l'origine de la propagation du risque d'infection : les niveaux des établissements de santé dont : il manque une culture de prévention et de sensibilisation aux risques d'infections nosocomiales et le patient ignore totalement l'infection

dans la cour. Aussi, manque de coordination et mauvaise organisation du travail. (Boulahouat M et *al.*, 2020)

L'environnement hospitalier joue un rôle important dans la transmission des germes à l'origine des infections nosocomiales et comprend souvent l'eau, l'air et les surfaces, et affecte grandement l'aspect sanitaire. Les bactéries Gram-positives et Gram-négatives sont des colonies capables de propager l'infection aux personnes ou à l'équipement, ce qui en fait une cause d'infections nosocomiales, et ce sujet est important pour l'étude et l'analyse.

Le but principal de cette étude est d'accroître le contrôle sanitaire des hôpitaux et d'offrir des conditions de soins permettant de réduire la propagation des infections nosocomiales, qui est également une dimension de à développer hospitalière et la principale devise du ministère algérien de la Santé.

L'objectif de cette étude est :

- ✓ la mise en évidence et l'isolement des germes aux niveaux des divers services d'un environnement hospitalier à partir de différentes surfaces.
- ✓ L'identification des souches par examen microscopique et l'utilisation de la galerie API20E.

Le présent travail s'articule sur deux parties :

Partie bibliographique :

Nous l'avons consacré à un tour d'horizon des infections nosocomiales et des micro-organismes responsables de ces infections.

Partie pratique :

Comporte la méthodologie de pratique effectuée dans l'hôpital d'El-Meghaier englobant les parties suivantes :

- ✓ Echantillonnages dans 4 environnements hospitaliers.
- ✓ Isolements des germes et purification.
- ✓ Coloration de Gram et examen microscopique.
- ✓ Identifications en utilisant la Galerie API20E.
- ✓ Discussion des différents résultats obtenus.

Enfin, une conclusion générale qui achève ce travail.

Partie Synthèse

Bibliographique

Chapitre 01

Généralité sur les

infections nosocomiales

I. les infections nosocomiales

I.1. Définition

L'infections nosocomiales était définie comme une infection contractée dans un établissement de santé ; une infection qui n'était ni latente ni présente à l'admission. Lorsque le statut infectieux d'un patient à l'admission est inconnu, il est considéré comme nosocomial si l'infection se développe après 48 heures d'admission. Si l'infection était détectée moins de 48 heures après l'admission, elle était supposée être en période d'incubation à l'admission et donc non acquise dans l'établissement de santé. Cependant, il faut garder à l'esprit que ce délai de 48 heures est très artificiel et ne doit pas être appliqué sans contrepartie. En effet, il doit faire face à la période d'incubation des bactéries qui varie d'un microbe à l'autre. (Desenclos J.C et *al.*,2009)(Kaoutar.B et *al.*, 2004)

I.2. Origine des agents infectieux

I.2.1.Origine endogène

La plupart des micro-organismes qui infectent les sujets hospitalisés proviennent des patients eux-mêmes. Les porteurs de plaies purulentes ou d'infections latentes, ainsi que les porteurs sains, constituent un réservoir de bactéries pathogènes. La flore commensale (Principalement l'intestin et l'oropharynx) les patients recevant des antibiotiques sont une source de bactéries multi résistantes aux antibiotiques et susceptibles de provoquer des infections. En fait, l'intestin est le meilleur endroit pour transférer des plasmides de résistance car le microbiote intestinal est peuplé de nombreuses espèces réceptives à ces plasmides. (Jean et *al.*, 2007)

I.2.2. Origine exogène :

C'est moins important. Le rôle de l'air extérieur est négligeable, car il ne transporte pas des bactéries dangereuses ; cependant, il contient un grand nombre de spores de moisissures, dont certaines peuvent provoquer des infections fongiques (comme l'aspergillose respiratoire) avec une immunité affaiblie. Dans les hôpitaux, les bacilles à Gram négatif peuvent être transportés par la poussière et l'eau. Même lorsque les normes sanitaires sont respectées, l'eau contient souvent des bacilles à Gram négatif, notamment *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter* et *Legionella*. Ces bactéries trouvent une place à l'hôpital où elles peuvent se multiplier. (D. Osman, 2017)

I.3. Prophylaxie de l'infection nosocomiale :

La prévention est un ensemble de mesures visant à prévenir la maladie. En milieu hospitalier. Il est basé sur trois mots-clés. Désinfection, antiseptique, stérilisation. De plus, il existe des principes de base d'hygiène hospitalière. Dans tous les cas, il faut lutter contre les facteurs favorisant l'infection nosocomiale. (M. khiati .2004)

I.3.1.La pneumonie nosocomiale :

Il s'agit d'une urgence thérapeutique nécessitant d'initier une antibiothérapie probabiliste après le prélèvement sans attendre les résultats. Pour une antibiothérapie récente (moins de 15 jours) et une pneumonie précoce (moins de 5 jours d'hospitalisation) sans hospitalisation antérieure : monothérapie par bêta-lactamines (C3G ou Amoxicilline-AC. Clavulanique) contre la flore communautaire endogène. Pneumonie à un stade précoce ou pneumonie à un stade avancé ou hospitalisation antérieure à la suite d'une antibiothérapie récente : bithérapie avec bêta-lactamines plus amikacine ou ciprofloxacine en raison d'éventuels organismes multi résistants. (K. JERRADI.2021)

I.3.2.L'infection urinaire nosocomiale

Le diagnostic des infections urinaires nosocomiales (IUN) est difficile en gériatrie en raison de la présentation clinique atypique et de la prévalence élevée des bactériuries asymptomatiques. La présence d'une pyurie ne corréle pas avec la présence d'une bactériurie, et les bandelettes urinaires permettent principalement d'exclure une infection urinaire si elles sont normales. En présence de fièvre, seulement 10 % des cas peuvent être attribués à une infection urinaire en raison de la bactériurie. Selon une enquête européenne sur les infections urinaires nosocomiales, la majorité des établissements estimaient qu'une concentration supérieure à 10⁴ UFC/mL est cliniquement significative pour une infection urinaire, tandis que certains auteurs considèrent que 10³ UFC/mL suffisent en cas de cathéter. En raison de l'importance des résistances microbiennes dans cette population, un examen cyto bactériologique des urines est nécessaire avant de commencer un traitement chez un patient. Le traitement empirique initial doit utiliser une quinolone systémique, avec une durée de traitement de 10 jours pour les femmes et de 14 à 28 jours pour les hommes. Malgré la prévalence élevée des infections urinaires nosocomiales et des bactériuries asymptomatiques, de nombreuses questions demeurent en suspens concernant leur diagnostic et leur prise en charge. (B. de Wazieres ,2003)

I.3.3.L'infection du site opératoire

Il n'y a que peu d'études sur le traitement des plaies infectées. Selon les recommandations de la Société américaine des maladies infectieuses (Stevens DL et *al.*, 2005), le traitement de choix pour les plaies chirurgicales infectées sans signes de convulsions généralisées (fièvre <38,5°C, pas de tachycardie) et d'infection locale (érythème <5 cm) est l'ouverture et le drainage, suivi d'un soin topique avec un pansement humide en thérapie de seconde ligne. Il n'y a aucune preuve que l'antibiothérapie à ce stade soit bénéfique. Le drainage antiseptique de la collection avec des soins topiques et la modification chirurgicale avec réparation de bandage et nettoyage avec antibiothérapie avec prélèvement profond sont recommandés. L'antibiothérapie probabiliste est administrée après échantillonnage des symptômes communs en fonction du type d'intervention. (C. Di Benedetto et *al.*, 2013)

II. Les principaux types des infections nosocomiales

II.1. Infection urinaire nosocomiale :

Les infections urinaires nosocomiales (IUN) sont dominées par les infections survenant après sondage ou plus rarement après d'autres manœuvres instrumentales. Ces situations bouleversent les mécanismes physiologiques de défense, de telle sorte que des micro-organismes sans facteur de virulence spécifique pour l'arbre urinaire peuvent induire une infection. (F. Caron, 2003) La multiplication bactérienne au sein des voies urinaires peut être détectée par la recherche de leucocytes et de bactéries dans les urines. Les bactéries les plus courantes sont *Escherichia coli*, *Enterococcus spp*, autres entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et les *staphylocoques*. L'origine il peut être endogène, c'est-à-dire que le patient lui-même est plus de la moitié des cas. (P. Riegel, 2003)

II.2. Pneumopathie nosocomiales

La pneumonie nosocomiale (NP) est un problème de santé publique qui touche tous les services hospitaliers, en particulier la réanimation. Les infections nosocomiales sont préoccupantes par leur fréquence, leur impact possible sur le pronostic de l'infection initiale et leur coût (A. Shimiet et *al.*, 2015). Et Plusieurs études ont identifié les bactéries responsables. Quel que soit l'échantillon utilisé, *S. aureus* et les bactéries Gram-négatives étaient en tête. Plus de 60 % des NP étaient causées par des bacilles à Gram négatif et 48,5 % des cas étaient associés à des BGN, principalement à *Pseudomonas aeruginosa*. (Torres .A et *al.*, 1990)

II.3. Bactériémie nosocomiale :

La bactériémie ne représente qu'une fraction des infections nosocomiales (environ 5%), mais a un taux de létalité élevé de plus de 50% pour certains micro-organismes. Principalement dues aux bacilles à Gram négatif. (Ducel et *al.*, 2008)

II.4. Endocardite infectieuse :

L'endocardite infectieuse (EI) est une maladie rare avec une présentation polymorphe et des complications sévères. *Les staphylocoques* et *les streptocoques* étaient les organismes les plus couramment isolés. (A.Ghalem et *al.*, 2016)

II.5. Autres infections nosocomiales :

Il existe de nombreux autres types d'infection, par exemple:

Infections du site opératoire (ISO) Avec une proportion estimée à 14% elles représentent la troisième cause des infections nosocomiales. Infections sur cathéter Il s'agit de complications iatrogènes, survenant exclusivement en milieu hospitalier. (Ahmed.Z, 2013)

Autres infections Les (ORL), infection buccodentaires (carie ou stomatite) et des infections des plaies avec des complications cutanées. Toutes sont des infections causées par des micro-organismes. (Lebeaux et Ghigo, 2012).

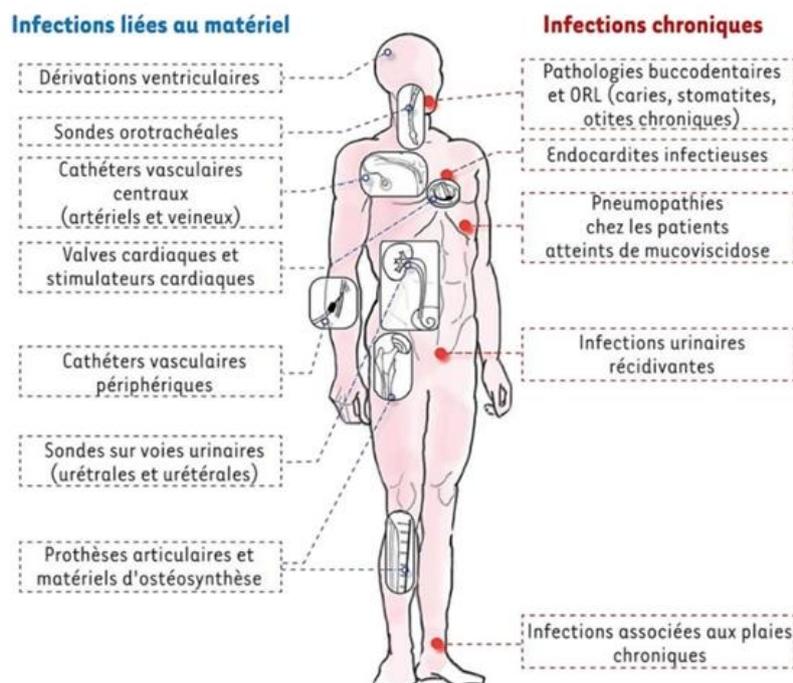


Figure 1. Infections associées au dispositif et chroniques (Lebeaux et Ghigo, 2012).

III. Contamination de l'environnement hospitalier

III.1. Environnement hospitalier

III.1.1. Définition de l'environnement hospitalier:

Les environnements hospitaliers sont liquides, solides ou gaz autour ou en contact avec les patients, les visiteurs ou le personnel en milieu hospitalier. Lorsque l'air (médicinal ou atmosphérique) est inclus dans cette définition, surfaces inertes (meubles, linge de maison, électroménagers, etc.), surfaces vivantes (mains humaines personnel), eau (réseaux, piscines, dialyse), solutés (injections, désinfectants, pommades, etc.) et de la nourriture. L'environnement hospitalier est largement contaminé par des microorganismes d'origine humaine ou environnementale. Cette contamination varie qualitativement et quantitativement dans le temps et d'un établissement à un autre. Au sein du même établissement, elle varie en fonction des services, des patients, des soins et des techniques pratiquées. (Barbut et Neyme. 2006)

III.1.2. Contamination de l'environnement par les microorganismes:

Le milieu hospitalier abrite un grand nombre de micro-organismes. Cette pollution est diffuse et peut représenter une véritable niche écologique. La gestion avec des procédures contraignantes, complexes et coûteuses n'est pas le plus important cela n'arrive souvent que partiellement et temporairement. Micro-organismes qui causent des infections Il y a un hôte humain (gastro-intestinal, respiratoire, flore cutanée, etc.) à l'hôpital OU environnement (surfaces, air, eau, matériaux). Infection nosocomiale les influences environnementales (extrinsèques) sont rares. Peut être associé à une contamination réservoirs à proximité du patient (matériel médical, surface), ou de réservoirs en milieu hospitalier général (eau, air). (C. Slekovec et *al.*, 2012)

III.1.3. Hygiène de l'environnement hospitalier:

L'hygiène environnementale est avant tout l'hygiène de l'environnement autour du patient. Ce l'environnement fait référence à tout ce qui contribue directement ou indirectement à la gestion malade pendant l'hospitalisation, de l'accueil au bureau de sortie. Cela concerne les unités d'hospitalisation, mais aussi les unités de technologie médicale (consultation, exploration fonctionnelle, bloc opératoire), équipements mis à disposition alimentation, traitement en ligne ou traitement des déchets, etc. c'est aussi hygiénique toutes les surfaces (sols, murs, tables, chariots, chaises, etc.). (Alain Raoult, 2004)

Chapitre 02

Les germes responsables des infections nosocomiales

I. Les bactéries :

Les surfaces dans les environnements hospitaliers peuvent être colonisées par des bactéries la multirésistance et la surveillance microbiologique doivent être réalisée sur ces surfaces prévention des infections nosocomiales (Méité *et al.*, 2010). Parmi ces bactéries nous avons :

I.1.Cocci à Gram positif :

Les Cocci à Gram positif (GPC) sont un groupe hétérogène d'organismes définis par aspect morphologique, faisant partie de la flore normale de toutes les surfaces cutanées. Les muqueuses, souvent détachées des infections telles que les abcès d'organes profonds, Septicémie obstétricale et gynécologique et infections intrabuccales.

I.1.1. *Staphylocoques* :

Le staphylocoque est une bactérie sphérique (coccus) aérobie-anaérobie à Gram positif, qui présente une forte résistance à l'environnement extérieur. (Couderc, 2015) *Staphylococcus aureus* (une bactérie cutanée qui colonise et repose sur la peau) nez du personnel hospitalier et des patients) peut provoquer diverses infections les poumons, les os, le cœur et le sang, et développent souvent une résistance aux antibiotiques. Les streptocoques bêta-hémolytiques sont également des agents pathogènes importants. (K. Kossi Victor, 2019)

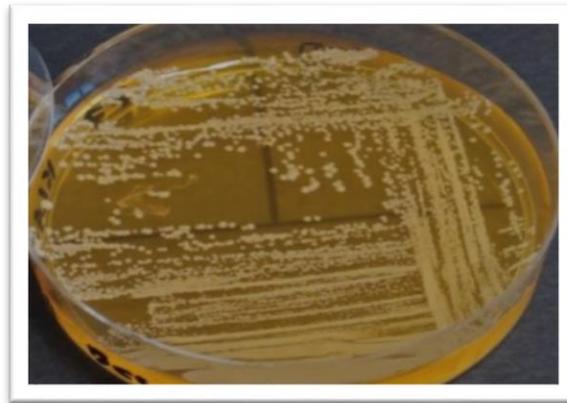


Figure 2. Aspect morphologique des colonies du *S. aureus* en culture sur GN.
(Benbouabdellah *et al.*, 2015)

I.1.2. *Streptocoques* :

Les streptocoques sont classés selon leurs groupes sérologiques et leurs caractéristiques Biochimiques, ce sont des Cocci à Gram positif. *Streptococcus pyogenes* groupe A, responsable une infection courante mais rare de la gorge ou de la peau qui cause la scarlatine

Infection invasive ou complications post-infectieuses. *Streptococcus agalactiae* groupe B est principalement responsable de l'infection néonatale. Ils peuvent être responsables de l'infection divers, en particulier l'endocardite, occupent une place très importante dans la pathologie de l'infection. (Nauciel et Vildé, 2007)

I.1.3. Entérocoques :

Le genre *Enterococcus* est constitué de cocci à Gram positif par paires ou regroupés par paires Chaîne courte. Il se distingue de *Streptococcus* par des caractéristiques génotypiques et avec sa capacité à cultiver dans des environnements difficiles. Les espèces les plus couramment isolées chez l'homme sont *E. faecalis*. C'est basé sur infection ou hémoculture. (Nauciel et Vildé, 2007)

I.2. Bacilles à Gram négatif :

Les bacilles à Gram négatif (BGN) sont un groupe hétérogène d'organismes définis comme leur aspect morphologique. Certains bacilles à Gram négatif l'environnement se comporte comme des bactéries opportunistes, généralement à l'origine infection nosocomiale.

I.2.1. Escherichia coli :

L'E. Coli si les défenses pathogènes sont affaiblies ou s'il acquit des facteurs de virulence spécifiques. C'est la bactérie la plus souvent impliquée dans l'infection des voies urinaires, l'infection néonatale. Les souches bactériennes qui provoquent une infection entérique par différents mécanismes entéropathogènes, entérotoxinogènes, entéro-invasifs, agglutinants intestinaux et *Escherichia coli* à adhérence diffuse. Diagnostic basé sur l'isolement bactéries au site de l'infection. (Nauciel et Vildé, 2007)

I.2.2. Autres micro-organismes :

Pseudomonas souvent isolé dans l'eau et les zones humides. Ils peuvent coloniser le tractus gastro-intestinal des patients hospitalisés.

– Plusieurs autres bactéries présentent des risques hospitaliers spécifiques (diverses bactéries *Legionella spp.* peut provoquer une pneumonie (sporadique ou endémique).

Infection par inhalation d'aérosols contenant de l'eau contaminée (climatiseurs, douches, aérosols, etc.)

– Anaérobies à Gram positif (*clostridium*) provoquent la gangrène (Coella et al., 1993).

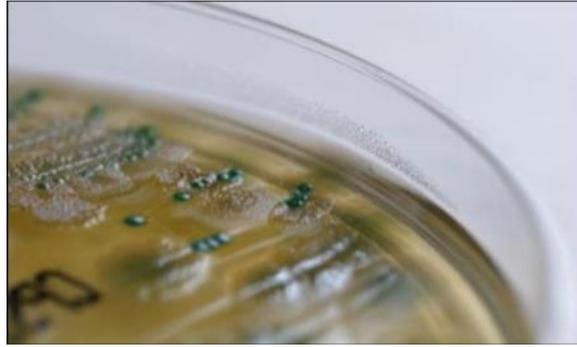


Figure 3. Croissance de *Pseudomonas aeruginosa* sur gélose hectoen. (Kim et al., 2019).

II. Les virus :

Les virus en cause sont identiques à ceux qui sont responsables des infections virales communautaires (infection respiratoire ou digestive, hépatites virales, herpésvirusoses,.. etc) ces virus, plus ou moins répandus dans la population générale, sont régulièrement introduits dans l'hôpital par les patients, les visiteurs ou le personnel soignant, qu'ils soient symptomatiques ou asymptomatiques. (Pozzetto, 2001)

Une infection virale est dite nosocomiale si elle est acquise à l'hôpital par un patient qui n'était pas en incubation, ni infecté à l'admission. Cette définition est très large. En effet, une réactivation virale chez un immunodéprimé, bien que d'origine endogène, sera considérée comme nosocomiale si elle survient lors d'une prise en charge médicale. (Traoré et al., 2009)

III. Parasites et champignons :

Certains parasites (comme *Giardia lamblia*) infectent facilement les adultes et les enfants. De nombreux champignons et autres parasites sont des pathogènes opportunistes, provoquant des infections avec un traitement antibiotique prolongé et une immunosuppression sévère (*Candida albicans*, *Aspergillus spp.*, *Cryptococcus neoformans*, *Cryptosporidium*). Ils sont l'une des principales causes d'infections systémiques chez les patients immunodéprimés. Contamination de l'environnement par des bactéries en suspension dans l'air telles que *Aspergillus*. Présent dans les poussières et le sol est également préoccupante, en particulier lors de la construction d'hôpitaux. *Sarcoptes scabiei* (agent de la gale) est un ectoparasite qui provoque régulièrement des flambées épidémiques dans les établissements de santé. (Ducel et al., 2002).

Partie

Expérimentale

Chapitre 03

Matériel et méthodes

1. Présentation De Lieu D'étude :

Les prélèvements ont été réalisés à partir de divers sites d'environnement Hospitalier (médecine femmes, Maternité et maladies des femmes, Néonatalogie, Chirurgie Homme) de l'hôpital (EPH) DEBAKH Saïd d'El-Mghaier.

El-Meghaier est une ville algérienne à la région d'Oued Righ et nouvelle wilaya selon le décret présidentielle no15-140 du 27 mai 2015, elle est divisée en 8 communes (El-Meghaier, Oum Thiour, Stil, Sidi Khelil, Tindela, Djamaa, Merara, Sidi Omran). El-Meghaier est délimitée au nord par la wilaya de Biskra, à l'est par la wilaya d'El Oued, à l'ouest par la wilaya d'Ouled Djellal et au sud par la wilaya de Touggourt et d'Ourgla. (Figure 04)

Les différentes manipulations microbiologiques sont réalisées dans le laboratoire de microbiologie département de SNV à l'université de Biskra.

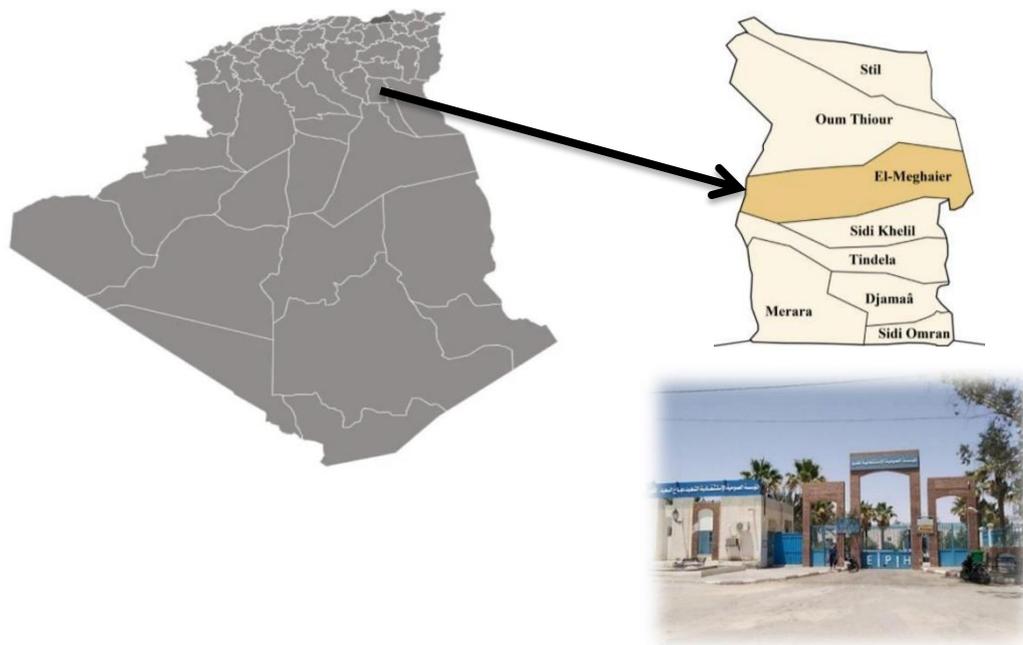


Figure 4. Carte géographique et hôpital d'El-Mghaier.

2. Méthodes :

2.1. Sites de prélèvement :

L'EPH DEBAKH Saïd d'El-Mghaier, se compose généralement de deux parties administratives et le centre médical fournit des services médicaux gratuits.

Des échantillons ont été prélevés des 4 services hospitaliers à raison de 6 échantillons pour chacun, c'est-à-dire 24 échantillons à partir des sites sèche (lit, table, sol). Ils ont été réalisés au niveau des services : Médecine femmes, Maternité et maladies des femmes, Néonatalogie, Chirurgie Homme) (Figure 05).



Figure 5. Quelques services hospitaliers. A: Médecine femmes, B: Maternité et maladies des femmes, C: Néonatalogie, D: chirurgie Homme)

2.2. Méthodes d'échantillonnage:

Équipements de microbiologiques standards sont utilisés pour l'échantillonnage, Isolement, sélection et identification et conservation des souches (annexe 1.)

Des échantillons ont été prélevés à différents endroits de l'environnement hospitalier : surface sèches (lit, table, sol). (Tableau01).

Nous avons utilisé la méthode d'écouvillonnage qui consiste à frotter sur la surface sèche à analyser, les écouvillons doivent être remplis d'eau physiologique stérile au laboratoire et placés dans support. Nous avons visité le service hospitalier d'où effectuer les échantillons.

Nous avons procédé comme suit :

Ouvrir l'écouvillon et retirer progressivement, en appliquant une légère pression sur l'écouvillon le coton est imbibé d'eau physiologique.

Déplace l'écouvillon verticalement et horizontalement vers la surface à l'emplacement choisi la couleur du coton est passée du blanc au jaune sale.

On remet l'écouvillon dans le tube en une position modérée et on le ferme.

L'échantillon ainsi prélevé est rapidement transporté dans un sac isotherme Congelé à l'intérieur au contact de l'écouvillon, en laboratoire en microbiologie, elles sont conservées à 4°C.

Tableau 1. Répartition des prélèvements provenant des hôpitaux (DEBAKH Saïd d'El-Mghaier) et les sites de prélèvement.

Service	Nombre des prélèvements Total	Le nombre prélèvement répétés	Type de surface
Médecine femmes	6	2	Lit
		2	Table
		2	Sol
Maternité et maladies des femmes	6	2	Lit
		2	Table
		2	Sol
Néonatalogie	6	2	Lit
		2	Table
		2	Sol
Chirurgie Homme	6	2	Lit
		2	Table
		2	Sol

2.3. Utilisation des milieux de culture :

Les milieux (liquides et solides) favorisent la croissance des microorganismes en apportant les éléments indispensables à leur bon développement. Ils sont utilisés dans plusieurs domaines notamment l'environnement et médical. Il existe de nombreux types dans lesquels ils diffèrent en compositions et en propriétés tels que milieu de culture empirique, sélectif, enrichi et différentiel. Dans cette étude, ont été choisis les milieux de culture appropriés suivants (annexe 2).

2.3.1. Milieux de culture solide :

Les milieux solides suscitent un vif intérêt en microbiologie. Lorsqu'une technique d'inoculation appropriée est utilisée, ils permettent le développement de colonies microbiennes distinctes les unes des autres. Ces colonies sont normalement issues de la multiplication d'un unique micro-organisme (clone), et à partir desquelles des cultures pures peuvent être obtenues.

A. Gélose nutritive :

La gélose nutritive ordinaire (GN) est un milieu de séparation solide non sélectif. Exister Gélose nutritive, de nombreuses colonies différentes ont été observées. Il permet de séparer les micro-organismes d'un mélange peuvent donc être étudiés individuellement.

B. Milieux GN pour les staphylococcus :

Il s'agit d'un milieu de culture sélectif, différentiel et semi-synthétique pour les bactéries du genre *Staphylococcus* (bactéries halophiles) cultivées dans un environnement hyper-salé en présence de chlorure de sodium et de rouge de phénol. (Connie R.M et *al.*,2019)

Dans notre travail, nous avons réalisé une expérience similaire à celle-ci en créant un milieu de culture analogue, appelé *GNstaph*, qui a donné des résultats précis.

C. Milieux VRBL :

Milieu VRBL (gélose lactosée biliée au vert brillant et au rouge neutre), c'est un milieu de culture sélectif .Il est utilisé pour rechercher des bactéries qui font partie de la famille des *Enterobacteriaceae*, sont de petits bacilles Gram négatifs, capables de se développer dans l'intestin, donc en présence de bile et de fermenter le lactose avec production d'acides. (Alain Branger et *al.*,2009)

D. Milieux Hektoen :

Un milieu de culture permettant l'isolement de nombreuses bactéries à Gram négatif est utilisé pour favoriser leur croissance. L'identification des entérobactéries pathogènes repose

sur l'absence d'utilisation des glucides (salicine, saccharose et lactose) présents dans le milieu. Deux indicateurs sont présents dans ce milieu : le bleu de bromothymol, qui sert d'indicateur de pH, et la fuschine acide, qui se colore en présence d'aldéhydes. (Connie R.M, et *al.*, 2019) Si la souche bactérienne utilise un ou plusieurs des glucides présents, une teinte saumonée est observée.

E. Milieux Sabouraud :

Milieu classique pour la culture, l'isolement et l'identification des levures et des moisissures saprophytes ou pathogènes dans des prélèvements. En utilisant des boîtes de Pétri, il est possible d'isoler facilement les colonies, mais cela n'est pas adapté pour des périodes d'incubation de plus de 7 jours (en raison du dessèchement du milieu). En utilisant des tubes, ce milieu est adapté aux incubations prolongées (pour les champignons filamenteux, *Cryptococcus* et les mycoses exotiques).

Le milieu de Sabouraud chromogène ou fluorogène facilite l'identification des levures. Les milieux de repiquage (pour les champignons filamenteux) favorisent la formation de structures reproductives permettant l'identification. (A. MARIJON et *al.*, 2020)

3. Isolement et identification:

Ensemencement par écouvillon des cinq types de milieux de culture utilisés : la gélose nutritive (GN) et la gélose VRBL, Hektoen, GN*staph*, et la gélose Sabouraud. Les boîtes ont été ensuite incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures jusqu'à l'apparition des colonies.

3.1. Identification des souches bactériennes :

Pour déterminer la souche bactérienne, nous passons plusieurs contrôles modifications du milieu de culture et observation au microscope l'optique, et les conséquences de leur interaction avec un ensemble de réactifs. Nous classons ces examens sont en :

3.1.1. Identification macroscopique :

L'observation macroscopique est la première étape de l'identification des souches en lisant les résultats dans différents milieux après 24 heures, on prend informations préliminaires sur la forme, la bordure, la couleur, la hauteur, la taille de la colonie Caractérisation des souches de bactéries. (Figure 06)

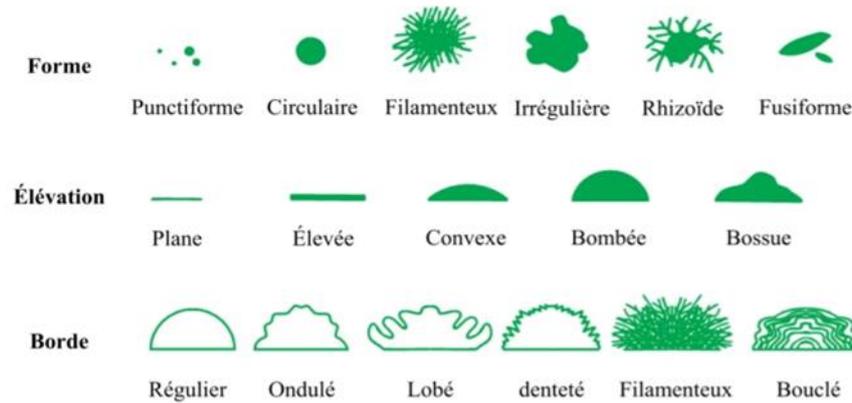


Figure 6. Différents aspect des colonies sur les milieux des cultures (Willey et al. 2008).

3.1.1.1. Examen macroscopique clé pour les CGP :

Il existe de nombreux milieux différents disponibles pour identifier les isolats de *Staphylococcus* à travers plusieurs propriétés macroscopiques.

A. GNstaph:

Nous avons choisi (milieu GNstaph) (3%NaCl) puisque la plupart des autres bactéries ne peuvent pas survivre à ce niveau de salinité (Leboffe et Pierce, 2011).

3.1.1.2. Examen macroscopiques clés pour les BGN :

Il existe des milieux (VRBL et Hektoen) pour les bactéries Gram-négatives qui contiennent des inhibiteurs pour empêcher la croissance des bactéries Gram-positives, qui ont les caractéristiques permettant de les distinguer.

A. Lactose sur VRBL :

La présence simultanée de cristal violet et de sels biliaires assure l'inhibition des bactéries à Gram positif. La fermentation du lactose se traduit par une acidification, révélée par le virage au rouge de l'indicateur pH (rouge neutre), et par la précipitation d'acides biliaires autour des colonies.

B. Lactose sur Hektoen :

Hektoen Enteric Agar (HEA) est vert avec indicateur de fermentation du lactose, colonies jaune saumon comme *E. coli* et des colonies vert à bleuâtre avec oxydase positive chez *Pseudomonase aeruginosa* par exemple (Bailey et Scott's, 2014).

3.1.2. Identification microscopiques :

3.1.2.1. Coloration de Gram :

Cette technique permet de distinguer les bactéries Gram-positives des bactéries Gram-négatives et est considérée comme l'une des principales méthodes de classification des bactéries (Brown et Smith, 2015) (Figure 07). Les étapes de la coloration de Gram sont en annexe 03.

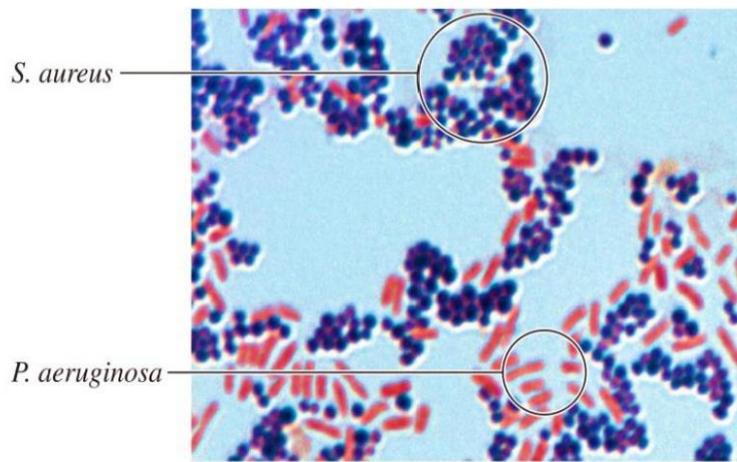


Figure 7. Coloration de Gram pour quelques bactéries (Brown et Smith, 2015).

En 1996, Canto et al. furent les premiers à utiliser le bleu de méthylène comme marqueur de la métaplasie intestinale érophagienne repérable par l'endoscopiste.

- **Coloration au bleu de méthylène:**

La coloration au bleu de méthylène, tu as besoin de : solution de bleu de méthylène, frottis correctement fixé. (Annexe 04)

3.1.3. Identification biochimiques :

Les bactéries se distinguent les unes des autres par leurs propriétés biochimiques, ce qui facilite le diagnostic et l'identification microbiologique. Cela se fait à travers un ensemble de tests qui révèlent différentes caractéristiques des bactéries, telles que leurs enzymes, leurs substrats, leurs composants de surface et leurs sécrétions, entre autres. La réalisation de ces tests varie en fonction des exigences et de la méthode de travail.

3.1.3.1. Tests biochimiques classiques :

Les tests biochimiques classiques sont réalisés en utilisant des tubes à essai préparés, contenant un milieu approprié pour la détection, ou bien en effectuant les tests directement sur une lame ou en présence de disques révélateurs, selon le protocole suivant :

A. Test catalase :

La catalase est une oxydoréductase enzymatique qui catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en dioxygène et en eau. Cette enzyme utilise le cofacteur hème et le cofacteur manganèse. (Leboffe et Pierce, 2011).



Déposer une goutte de H₂O₂ sur une lame stérile, puis la mettre en contact avec une colonie bactérienne isolée, prélevée directement à l'aide d'une pipette pasteur ou d'une boucle en platine.

- ✓ Si l'observation révèle la formation de bulles d'air, cela indique que les bactéries possèdent une enzyme catalase.
- ✓ En l'absence d'observation, la bactérie ne possède pas d'enzyme catalase.

Le but de ce test est de distinguer les bactéries Gram positives. Les bactéries du genre *Staphylococcus* présentent une catalase positive, tandis que les bactéries des genres *Enterococcus* et *Streptococcus* possèdent une catalase négative.

B. Galerie API 20 E :

La galerie API 20 E est un système standardisé utilisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae*, qui incluent un grand nombre d'agents pathogènes bien connus tels que *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Shigella* et d'autres bactéries bacilles à Gram négatif. La galerie API 20 E se compose de 20 tests biochimiques miniaturisés, où les résultats positifs et négatifs sont interprétés en observant les changements de couleur des tubes, ce qui indique la présence ou l'absence d'une réaction. (Brown et Smith, 2015)



Figure 8. Galerie API 20 après incubation.

➤ Préparation de la galerie :

La technique de manipulation et de remplissage des galeries API 20 selon leur type requiert un environnement stérile autour du bec de benzène. Comme suit (Brown et Smith, 2015) :

- ✓ Préparation préalablement, préparez l'inoculum ou l'étalon de McFarland 0,5 à l'aide d'une boucle en platine stérile. Prélevez une seule colonie bien isolée de la boîte et émulsionnez-la complètement dans un tube contenant 5 ml de milieu de suspension ou de solution saline stérile au NaCl à 0,85 %. Mélangez en utilisant un vortex.
- ✓ Tout d'abord, il convient de remplir le support de la galerie avec quelques gouttes d'eau afin de créer une atmosphère humide, puis de placer le couvercle par-dessus.
- ✓ Ensuite, à l'aide d'une anse de platine stérile déposer une suspension bactérienne dans chacun des tubules de la galerie. Et Pour éviter la formation des bulles d'air au fond des tubes, Poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule, et en Inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant.
- ✓ Et remplissez les tubules des caractères encadrés CIT, VP et GEL... etc. avec la suspension bactérienne jusqu'à ce que la cupule forme un ménisque convexe.
- ✓ De plus, créer un micro environnement anaérobie on remplir les cupules des caractères soulignés ADH, LDC, ODC, H₂S, URE ... etc. par l'huile de paraffine. (annexe 05)

Refermer la boîte d'incubation et la placer dans l'étuve à 35 – 37° C pendant 18 à 24 heures. Après incubation, on ajoute une goutte de chacun des réactifs. Les tests sont divisés en trois groupes, chacun avec une valeur de 1, 2 ou 4 Par ordre. En ajoutant la valeur correspondante dans chaque groupe réponse positive ou négative, on obtient un profil numérique à 7 chiffres, en recueillir des résultats positifs pour chaque triple. (Leboffe et Pierce, 2011).(annexe 06)

4. Identification des champignons :

Après quelques jours d'incubation des champignons sur le milieu Sabouraud, on tombe sur de nombreuses espèces, Certains d'entre eux ont été identifiés à l'œil nu, et d'autres ont dû faire une étude microscopique pour le savoir quel type. (www.britannica.com)

4.1.Étude macroscopique :

L'identification macroscopique est un acte essentiel. L'aspect de mycélium

On doit noter : La taille de la colonie la forme: Allure de contours: lisse, dentelés, irréguliers, centre: parfois surélevé, parfois en creux, relief: surface bombée, plate, l'aspect de la surface: lisse, rugueux..., l'opacité: opaque, translucide, transparente, la consistance: crémeuse, sèche ou muqueuse et la couleur ou pigment. La couleur du mycélium : blanc, jaune, rouille, chamois ± clair, gris verdâtre, beige, violet, cireuse, ocre, jaune, rosée...

4.2.Étude microscopique :

L'examen microscopique d'une colonie fongique est réalisé après avoir étalé un échantillon entre une lame, du ruban adhésif et une coloration en bleu de méthylène. En général, un examen à l'objectif 40 est suffisant pour mettre en évidence la plupart des éléments importants (Chabasse, 2002). L'observation microscopique permet de détecter la présence du thalle, la présence ou l'absence de septums, la nature de la reproduction ainsi que les caractéristiques des fructifications et des spores.

5. Dénombrement de colonies :

Toutes les colonies présentes sur le milieu gélosé sont dénombrées en utilisant un compteur des colonies. La technique des comptages de surface permet de déterminer le nombre d'unités formant une colonie (UFC). Selon cette méthode, chaque colonie qui se forme à la surface du milieu gélosé provient soit d'une bactérie soit d'un agrégat de bactéries. Cette approche ne prend en compte que les microorganismes viables capables de se développer dans les conditions de croissance utilisées.

Chapitre 04

Résultats et discussion

Dans ce chapitre, nous présentons tous les résultats de cette recherche et l'identification et dénombrement des germes isolés dans un milieu hospitalier (DEBAKH Saïd d'El-Mghaier).

1. Analyse des prélèvements:

Après une période d'incubation à 37°C pendant 24h à 48h en cinq milieux de culture : Gélose nutritive (GN), GN*staph*, la Gélose VRBL, Hektoen, et la gélose Sabouraud, les résultats sont résumés dans le tableau 2.

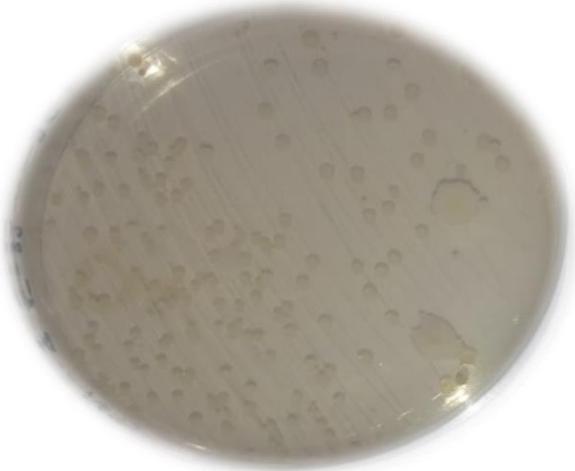
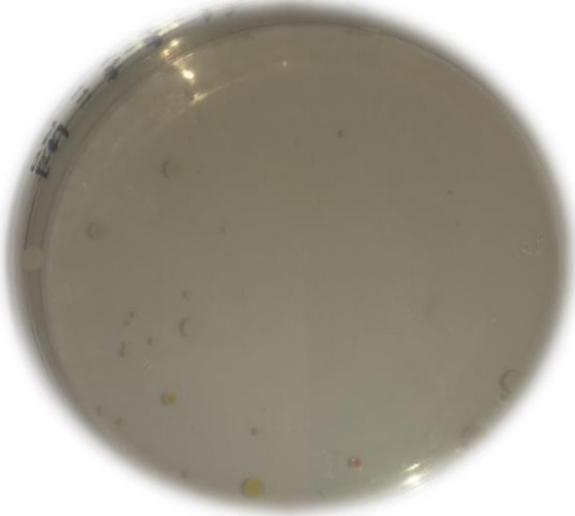
Tableau 2. Analyse microbiologique des prélèvements isolés d'hôpital DEBAKH Saïd.

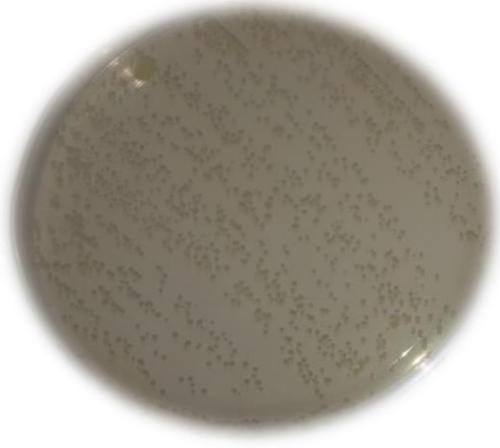
Service	Nombre des prélèvements	Type de surface	Résultats après 24h à 48h à 37°C
Médecine femmes	06	Lit	+
		Table	+
		Sol	+
Maternité et maladies des femmes	06	Lit	+
		Table	+
		Sol	+
Néonatalogie	06	Lit	+
		Table	+
		Sol	+
Chirurgie Homme	06	Lit	+
		Table	+
		Sol	+

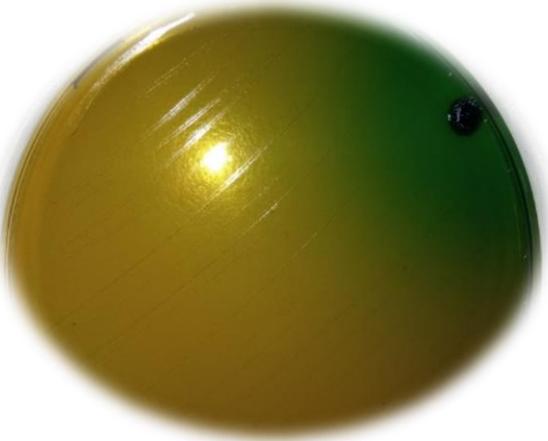
2. Résultats d'identifications macroscopiques des souches bactériennes :

L'examen macroscopique des colonies sur les milieux après ensemencement et incubation a révélé la présence de plusieurs types de colonies, ce qui a nécessité la caractérisation et l'identification des isolats. Les résultats sont résumés au tableau 3.

Tableau 3. Aspect de culture des bactéries trouvées sur les cinq milieux de cultures (gélose nutritive (GN), GN*staph*, Hektoen, VRBL).

Milieu de culture	Les aspects macroscopiques des colonies	Les caractères macroscopiques des colonies
gélose nutritive (GN)		Colonies blanchâtres, de taille grande muqueuse ronde à contour régulier.
		Colonies jaunâtre rondes à contour régulier.

<i>GNstaph</i>		Petites halo blanc colonies réguliers d'un aspect lisse
		Grandes halo jaune et orange colonies réguliers d'un aspect lisse.
Hektoen		Petites colonies rondes vertes à bord régulier et bombées avec un aspect lisse.

		<p>Grandes colonies rondes vertes à centre noir à bord régulier et bombées avec un aspect lisse.</p>
VRBL		<p>Des colonies moyennes rose rondes à bord régulières d'un aspect lisse</p>

3. Résultats d'identifications microscopiques des souches bactériennes :

Les résultats examen microscopique de différents types de colonies cultivées sur 4 milieux différents (GN, GNstaph, Hektoen, VRBL).

3.1. Coloration de Gram

L'observation microscopique à l'aide d'un objectif x100 révèle la présence de microorganismes bactériens distincts. La coloration de Gram des quatre souches parmi les souches isolées sur GN, GNstaph ont une forme de cocci à gram positif (+). Et trois souches isolées sur Hektoen et VRBL ont une forme bâtonnet (des bacilles) a un Gram négatif (-) (figure 9).

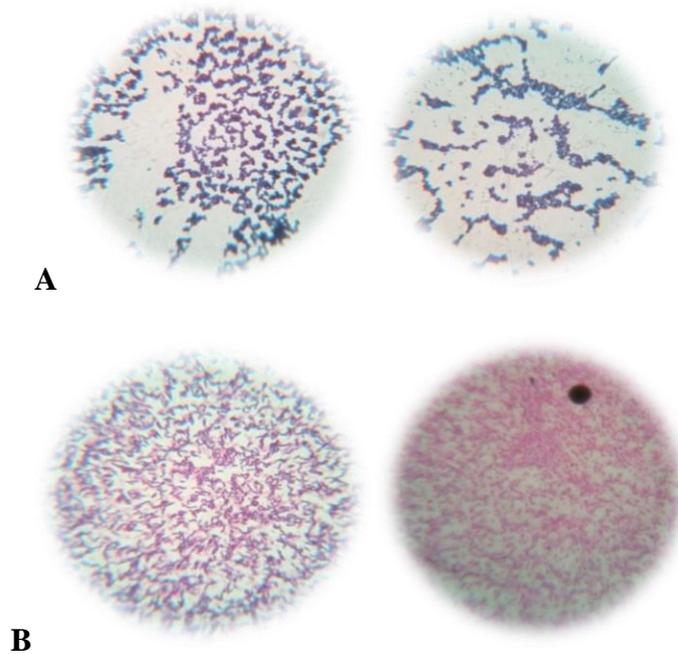


Figure 9. Observation microscopique **A:** des cocci à gram positif, **B:** bacilles Gram négatif isolées du service (Médecine femmes et Chirurgie Homme et Maternité et maladies des femmes à partir d'un lit et table).

Les résultats obtenus montrent la domination des cocci à Gram positif par rapport aux bacilles Gram négatif dans l'environnement étudié.

3.2. Coloration bleu de méthylène:

La coloration de bleu de méthylène des quatre souches parmi les souches isolées sur GN et GN*staph* ont une forme de cocci à gram positif (+), Et trois souches isolées sur Hektoen et VRBL ont une forme bâtonnet (des bacilles) a un Gram négatif (-) (figure 10).

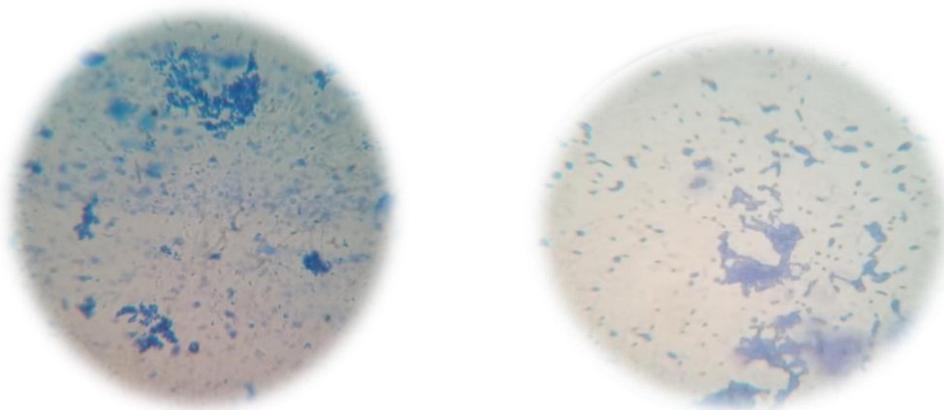


Figure 10. Observation microscopique des cocci à gram(+) et bacilles gram(-) isolées du service (Médecine femmes et Maternité et maladies des femmes à partir d'un lit et table.)

Les résultats obtenus montrent la domination des cocci à Gram positif par rapport aux bacilles gram négatif dans l'environnement étudié.

4. Résultats des tests biochimiques

4.1. Tests biochimiques classique pour les CGP

4.1.1. Décomposition du peroxyde d'hydrogène:

Les isolats ont montré (les souches sur GN, GNstaph, Hektoen et VRBL) une réaction positive avec le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), donc ils possèdent l'enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (Figure11).

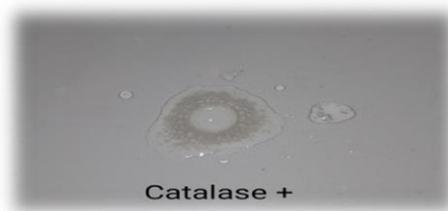


Figure 11. Résultat de test de catalase

4.2. Tests biochimiques classique pour les BGN

4.2.1. Etude biochimique (galerie API 20E):

Un manque des types galeries API, on a opté de suivre le travail d'essai d'identification par l'utilisation de galerie API20E seulement, les différentes résultats sont mentionnées dans le (figure 12,13,14).



Figure 12. Résultat d'identification biochimique galerie API 20^E pour la souche *Klebsiella pneumoniae*



Figure 13. Résultat d'identification biochimique galerie API 20^E pour la souche *Pantoea sp.*



Figure 14. Résultat d'identification biochimique galerie API 20^E pour la souche *Salmonella Sp.*

- **Résultat d'identification:**

Après avoir effectué les analyses susmentionnées, plusieurs souches bactériennes seront classées dans (tableau 04) et d'autres ont été identifiées par les caractères macroscopique et microscopique.

Tableau 4. Identification des souches

Souche	Espèce
GNstaph	<i>Staphylococcus</i>
Hektoen 1	<i>Pantoea sp</i>
Hektoen 2	<i>Salmonella sp</i>
VRBL	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

Parmi les espèces trouvées à partir des milieux de prélèvement : 3 espèces appartiennent à la famille des Entérobactéries qui sont (*Klebsiella pneumoniae*, *Pantoea sp*, *Salmonella sp.*).

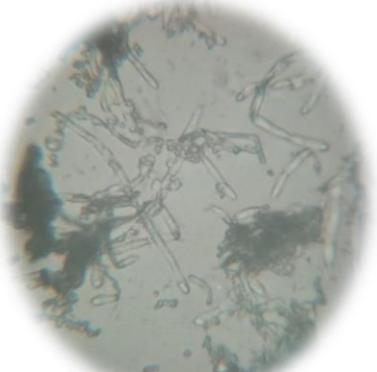
Les *Enterobacteriaceae* regroupent 130 espèces actuellement répertoriées. Les espèces les plus couramment isolées en bactériologie clinique appartiennent aux genres *Citrobacter*,

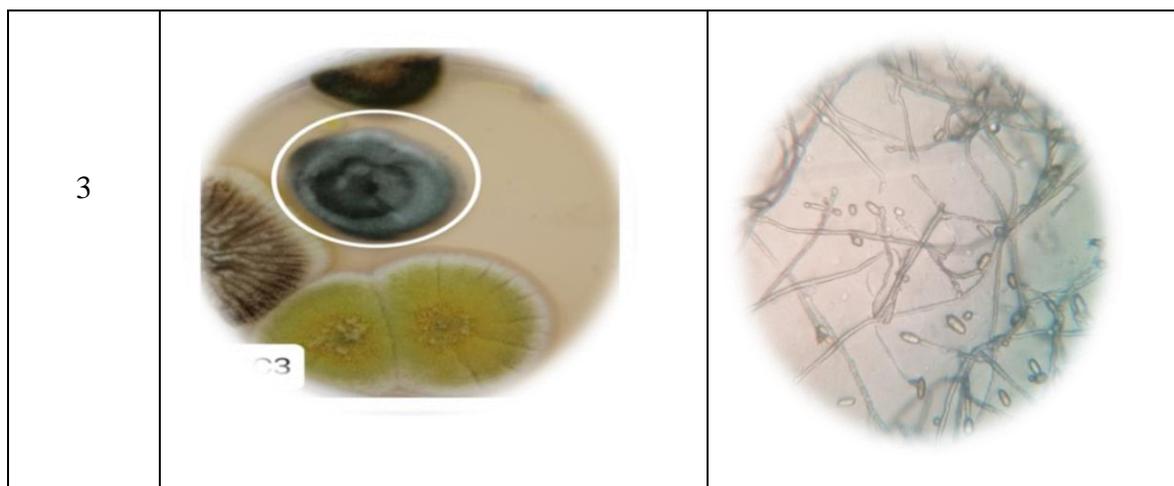
Enterobacter, *Proteus*, *Escherichia coli*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia* (Khayar Y. 2011).

5. Résultats d'identification macroscopique et microscopique des champignons

Etude microscopique des champignons se fait à partir de critères macroscopiques de forme, texture, couleur. Les résultats apparaissent dans tableau05.

Tableau 5. Aspect de culture des champignons trouvés sur le milieu de culture sabouraud.

Souche	Aspect macroscopique	Aspect microscopique
1		
2		



- **Résultat d'identification:**

Les champignons, sont des organismes distincts des plantes et des animaux, formant un règne distinct (Eumycota) dans le règne du vivant. Ils émergent en tant qu'agents pathogènes majeurs dont la fréquence augmente continuellement ces dernières années. Deux genres sont fréquemment rencontrés, à savoir les *Aspergillus*, d'origine exogène puisque des millions de spores ou de conidies sont constamment transportées par l'air, et les *Candida*, dont les sources peuvent être digestives ou provenant de solutions contaminées telles que les collyres ou les liquides alimentaires, etc. (Maryem L. 2016). Les résultats sont présentés dans le (tableau06).

Tableau 6. Identification des champignons isolés.

	<i>Aspergillus niger</i> (1)	<i>Penicillium sp</i> (2)	<i>Alternaria sp</i> (3)
Délai de la culture	48 à 72 h à 37°C	48 à 72 h à 37°C	48 à 72 h à 37°C
Aspect macroscopique	Aspect de colonie Blanc puis jaune puis granuleux et noirâtre	les colonies en couleur gris-bleu à gris-vert; et sont denses, poudreuses	les colonies sont noires, duveteuses et d'une texture épaisse.
Aspect microscopique	Conidiophores bruns, lisses. - vésicules	Aspect cellulules de mycélium cloisonné	<i>Alternaria</i> sous forme de longs

	<p>sphériques. -Les phialides s'insèrent dans les vésicules via la métula qui entoure les vésicules. - Conidies sphériques, brunes, épineuses. - Têtes d'Aspergillus diplicate radiale, noire.</p>	<p>et transparent à conidiophores lisses ou granuleux, simples ou ramifiés terminés en par un pénicille</p>	<p>mycéliums (hyphes). Au milieu des filaments, on distingue les structures reproductrices brunes du champignon : les conidies sont parfois ovales</p>
--	--	---	--

6. Résultats de Dénombrement :

6.1. Distribution des micro-organismes au niveau des surfaces :

- Au niveau de lit:**

Les pourcentages des souches sont présents dans la figure (15). Nous avons remarqué que les FTAM occupe 47% des souches isolés, suivies par *les staphylocoques* 30%. Alors que *klebsiella pneumoniae* occupent 1%. Les champignons présents 22%.

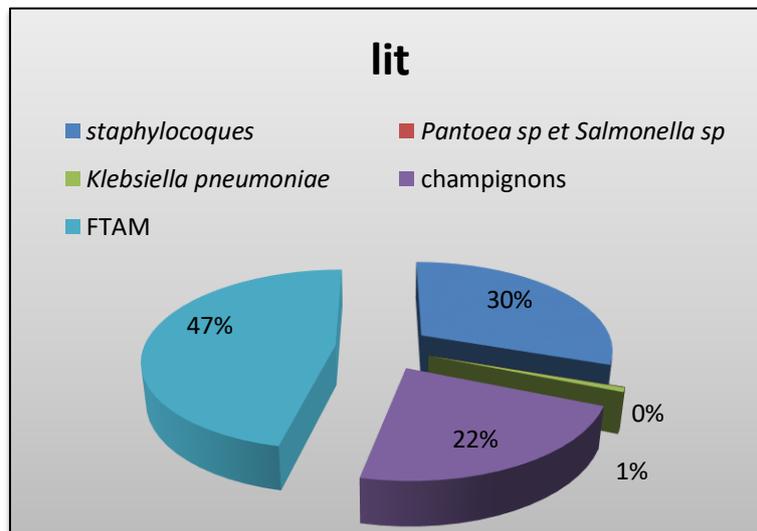


Figure 15. Répartition des microorganismes au niveau de lit.

- Au niveau de table:**

Les pourcentages des souches isolés sur table sont présents dans la figure (16). Nous avons remarqué que *les staphylocoques* occupe 52% des souches isolés suivies par les FTAM

25%. Alors que *pantoea sp* et *salmonella sp* occupent 10%, alors qu'elle était *klebsiella pneumoniae* 3%, Les champignons 10%.

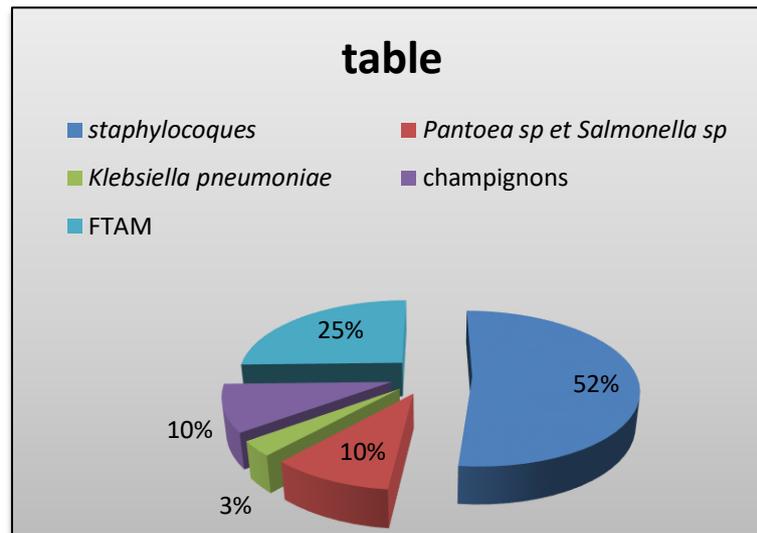


Figure 16. Répartition des microorganismes au niveau de table.

- **Au niveau de sol:**

Les pourcentages des souches isolés sur sol sont présents dans la figure (17). Nous avons remarqué que *les staphylocoques* occupe 54% des souches isolés suivies par les FTAM 24%. Alors que *pantoea sp* et *salmonella sp* occupent 15%, alors qu'elle était *klebsiella pneumoniae* 1%, Les champignons 6%.

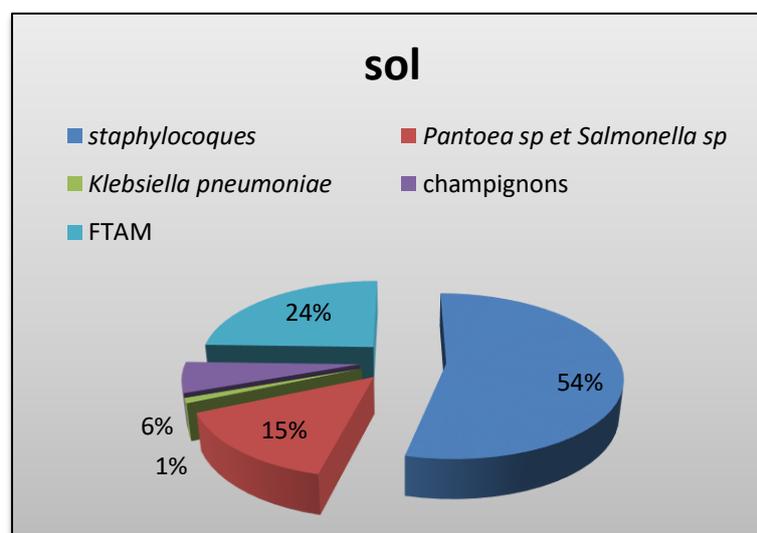


Figure 17. Répartition des microorganismes au niveau de sol.

6.2. Distribution des micro-organismes au niveau des services:

- **Service de médecine femme:**

Staphylococcus occupe la première place 48%, avec la présence d'un *pantoea sp* 35% au niveau du sol et table et l'absence de *salmonella sp*, *Klebsiella pneumoniae* et FTAM 6%, et la présence de champignons 5% au niveau de table et lit et sol respectivement.

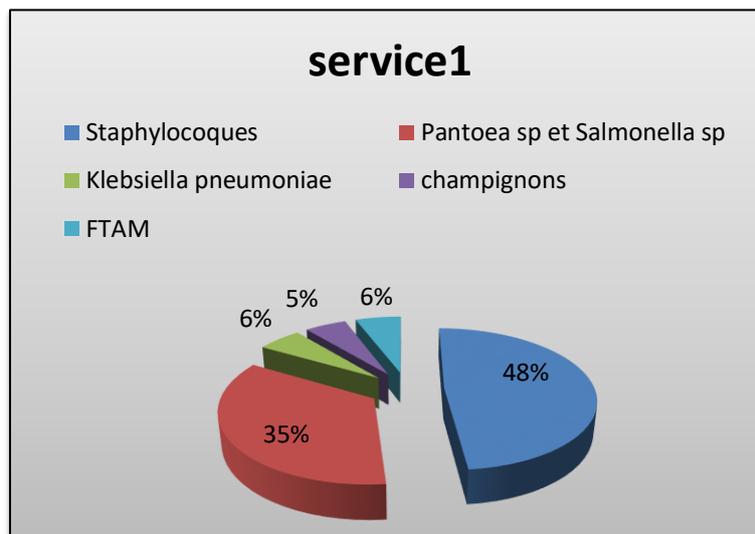


Figure18. Répartition des microorganismes au niveau de service de médecine femme.

- **Service Maternité et maladies des femmes:**

Les pourcentages des souches isolés sont présents dans la figure (19). Nous avons remarqué que *Staphylocoques* occupe 63% au niveau de sol et table et le lit d'un patient, avec la présence des FTAM 32%, suivie par les champignons (*Aspergillus niger*) 5%.

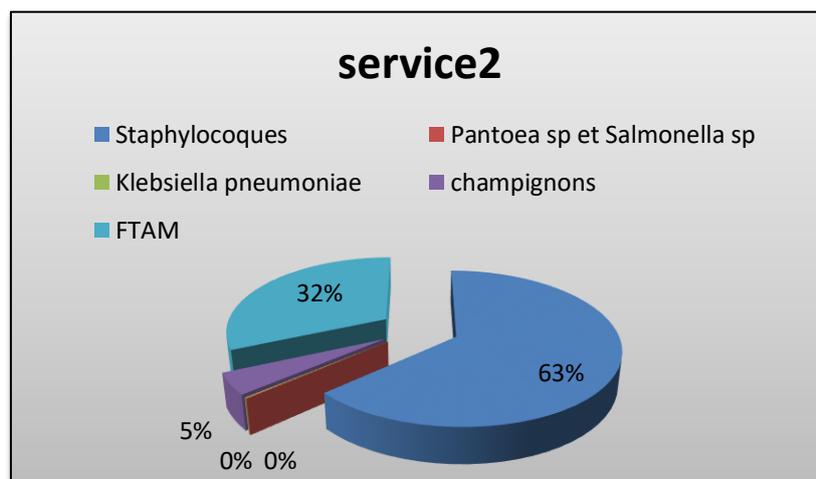


Figure 18. Répartition des microorganismes au niveau de service Maternité et maladies des femmes.

- **Service Néonatalogie:**

Les pourcentages des souches sont présents dans la figure (20). Nous avons remarqué que les FTAM occupent 49% des souches isolées, suivies par *Staphylocoques* 31% présentes au niveau de sol, lit et table. Alors que les champignons occupent 20%, représentés par *Penicillium sp* et *Aspergillus niger*.

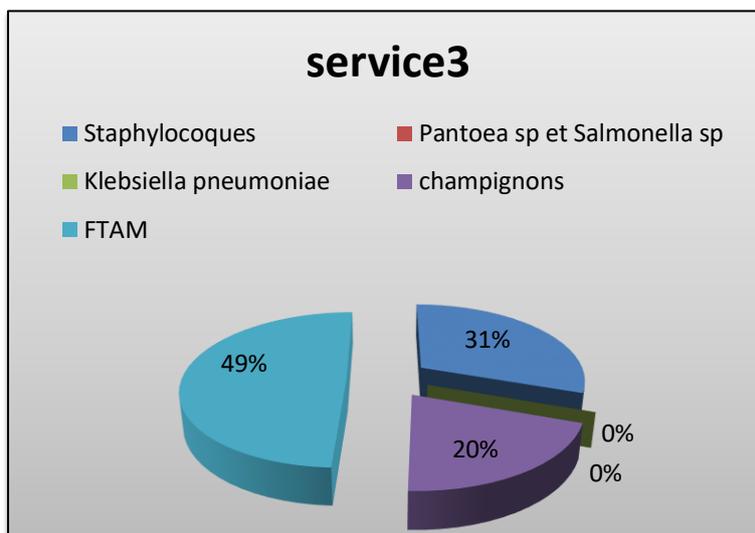


Figure 19. Répartition des microorganismes au niveau de service Néonatalogie.

- **Service chirurgie Homme:**

Les pourcentages des souches isolées sont présents dans la figure (21). Nous avons remarqué que *Staphylocoques* occupent 42% des souches isolées suivies par FTAM 36%, alors que *Pantoea sp* occupent 4%, suivent *Klebsiella pneumoniae* 1%. Les champignons 17% présentent *Penicillium sp*, *Alternaria sp*, *Aspergillus niger*.

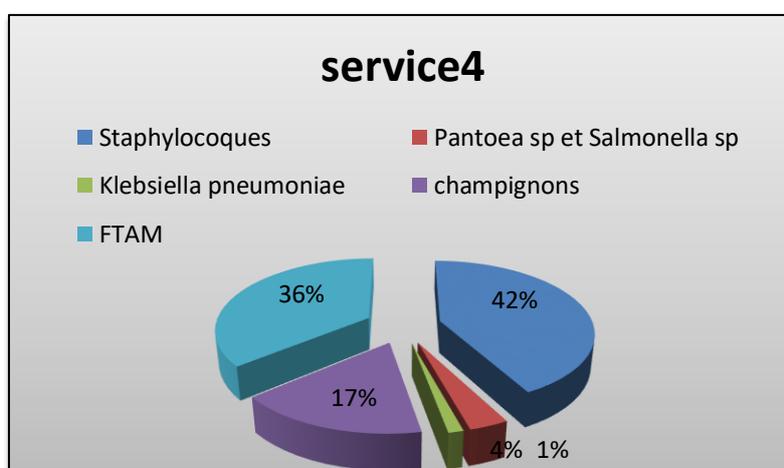


Figure 20. Répartition des microorganismes au niveau de service chirurgie Homme.

7. Répartition totales des différents germes isolés:

Distribution des souches isolés sont présents dans la figure (22). Nous avons remarqué que les *staphylocoques* sont majoritaires au niveau des services étudiés de l'hôpital, suivi par les FTAM, alors que *pantoea sp* et *salmonella sp* étaient moins, suivi par champignons et enfin germe *klebsiella pneumoniae*.

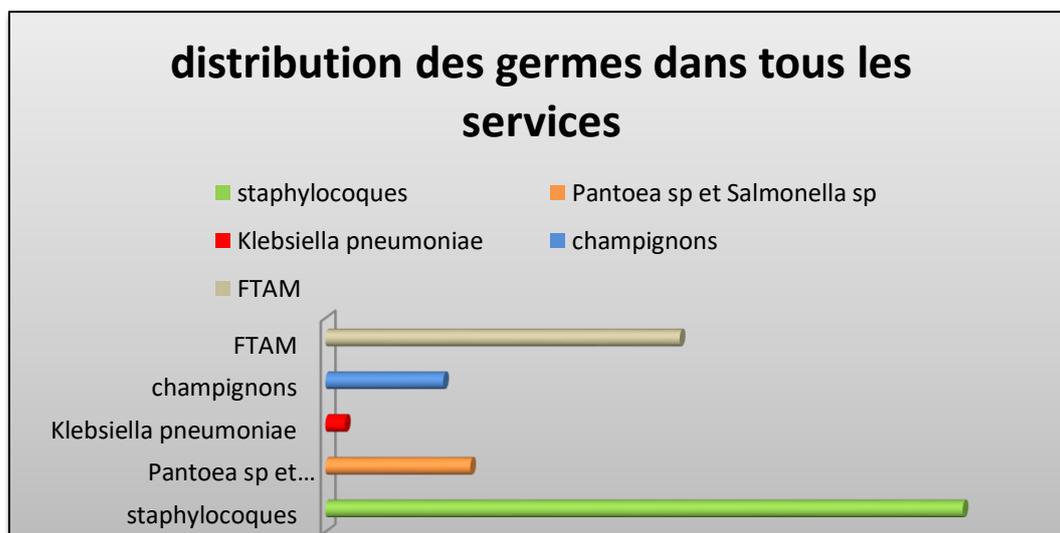


Figure 21. Distribution des germes dans tous les services

8. Interprétation des résultats obtenus:

Au moyen de toutes les analyses que nous avons effectuées, huit germes responsables des infections nosocomiales ont été identifiés. (tableau07)

Tableau 7. Répartition de 8 germes responsables d'infection nosocomiale

Les garmes	Effectif	Fréquence
<i>Staphylocoques</i>	22	35 %
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5	8 %
<i>Pantoea sp</i>	4	6 %
<i>Salmonella sp</i>	1	2 %
<i>Aspergillus niger</i>	11	17 %
<i>Penicillium sp</i>	3	5 %

<i>Alternaria sp</i>	1	2 %
autre	16	25 %

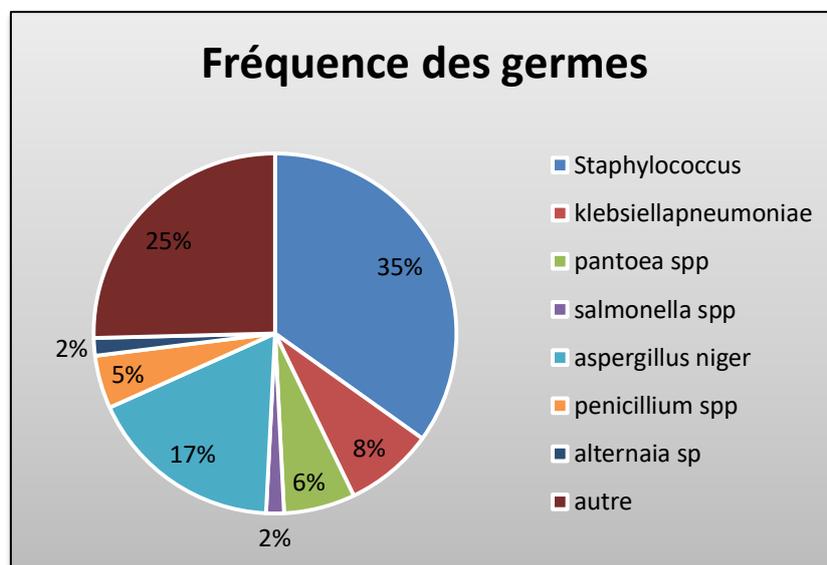


Figure 22. Fréquence des germes

Parmi les 64 souches isolées, après l'identification biochimique, on obtient 8 souches différentes isolées à partir des services de l'hôpital de DEBAKH Saïd -El Mghaier-, repartis comme suite (Figure 23).

Staphylococcus occupe la première place avec (35%), au deuxième place c'est autre germe (25%), à la troisième place *Aspergillus niger*, avec une fréquence de (17%), ensuite on a les *Klebsiella pneumoniae* avec un pourcentage de (8%), après les *Pantoea sp* (6%), et les champignons de genre *Penicillium sp* un pourcentage de (5%), puis les souches *Salmonella sp* et *Alternaria sp* un pourcentage de (2%).

9. Discussion générale:

Selon l'étude de INCISO 2011 CCLIN Paris Nord, les principales infections nosocomiales sont nombreuses dans les services hospitaliers les microorganismes les plus fréquents sont les *Staphylococcus aureus*. En chirurgie, le *Staphylococcus* a été isolé dans plus de la moitié des cas, principalement à partir de la flore cutanée, *Staphylococcus aureus* (40%), staphylocoques à coagulase négative (10-30 %) (Minchella, A., et al. 2008). Il est important de distinguer *S. aureus* du SCN. *Staphylococcus aureus* a un potentiel pathogène très élevé et est le principal responsable des infections communautaires et hospitalières. En

revanche, le SCN est souvent une bactérie opportuniste principalement responsable d'infections nosocomiales. (Nauciel et Vildé. 2005).

L'Habitat préférentiel des staphylocoques c'est la peau, rhinopharynx et le vagin chez l'entre humain on les trouve aussi dans les poussières, et les aliments. Dans notre travail, nous n'avons trouvé que les staphylocoques représentent 35% de la totalité des germes isolés des services hospitaliers étudiés, comme en raison de l'indisponibilité de test coagulase, nous ne pouvions pas déterminer si la souche *Staphylococcus* est coagulase positif ou non.

Diversité les types de bactéries qui les composent que les effets sur la santé population. Gravité de l'infection sont à leur charge (septicémie, infection nosocomiale, méningite...), refléter les difficultés des soins infirmiers liés à leur identification et à leur résistance Attitudes envers les antibiotiques. Étude a montré l'implication des entérobactéries dans les infections bucco-dentaires (cellulites et parodontites apicales). *Pantoea sp*, qui sont de plus en plus impliquées dans les cas de méningites chez les prématurés et les cas d'entérites chez les nourrissons, ont également été identifiés dans les infections buccales, ce qui souligne l'importance de la cavité buccale en tant que réservoir de bactéries potentiellement pathogènes. Ces bactéries sont principalement représentées par *Pantoea* (72,7%). Des études similaires ont également rapporté l'implication de *Pantoea* dans les infections bucco-dentaires. (WENDPOULOMDÉ A.D et al.,2016)

Dans l'étude, l'examen microbiologique a révélé que les germes responsables de l'infection nosocomiale chez les patients infectés sont la *salmonelle typhoïde* (1,7%) (D. Kasongo Kakupa et al.,2016) Dans notre travail, nous avons également constaté que la *salmonella* occupe 2%.

Les résultats présents montrent prédominance des entérobactéries avec 165 cas (57%) par rapport aux cocci gram positif avec 84 cas (28%) et les bacilles à Gram négatif non fermentaires avec 42 cas (15%),et la *Klebsiella pneumoniae* (15%)(B.Hadjer,et al.,2018) .Dans notre travail *Klebsiella pneumoniae* occupent 8%.

Les infections nosocomiales causées par *Aspergillus niger* sont relativement rares, mais elles peuvent survenir chez les patients immunodéprimés, tels que ceux atteints de cancer, de transplantations d'organe, de maladies pulmonaires sous-jacentes ou de traitements immuno-suppresseurs prolongés. Les facteurs de risque comprennent également l'utilisation de dispositifs invasifs, tels que les cathéters intravasculaires et les tubes de ventilation. (Pini G,

et *al.*,2015). Dans notre travail, nous avons remarqué qu'il est largement répandu par (17%), par rapport aux autres champignons *Penicillium* sp (5%), *Alternaria* sp (2%).

Conclusion

Conclusion

Dans notre étude, nous avons évalué la contamination du milieu hospitalier en réalisant 24 prélèvements au niveau des différents sites dans quatre services distincts (Médecine femme, Maternité et maladies femmes, Néonatalogie, Chirurgie Homme) à l'hôpital DEBAKH Saïd d'El-Mghaier.

A la lumière des résultats obtenus, on peut conclure que les Cocci à Gram positifs majoritairement *Staphylocoques* (35%) Les staphylocoques sont des bactéries relativement courantes qui vivent naturellement sur la peau et dans le nez de certaines personnes. Lorsque les staphylocoques pénètrent dans la peau par des coupures ou des plaies. L'infection peut également se produire lorsque des bactéries pénètrent dans le corps par un cathéter ou des voies respiratoires. Cela peut entraîner des infections nosocomiales. et a été la bactérie la plus fréquemment isolée dans notre étude, nous n'avons pas confirmé la souche en raison du manque de test de coagulase et de galerie API 20 *Staph*, elle a été la plus souvent isolée seule ou en association avec d'autres bactéries responsables d'infections nosocomiales. Comme *Klebsiella pneumoniae*, *pantoea sp*, *salmonella sp*,

La gestion de l'hygiène hospitalière doit jouer un rôle maximal dans cette dynamique, notamment en mettant en place des comités de contrôle des infections nosocomiales et en veillant au bon usage des antiseptiques appropriés.

Cette multi-résistance des bactéries hospitalières doit constituer aujourd'hui un enjeu majeur pour notre environnement hospitalier.

Le risque zéro n'existe pas en médecine. Pour cette raison, les infections nosocomiales ne peuvent pas toujours être évitées. D'une part, en respectant scrupuleusement certaines règles d'hygiène, il est tout à fait possible de limiter la fréquence et la gravité de la maladie.

Dans ce travail, nous présenterons quelques recommandations

Le respect strict des règles d'hygiène qui s'articule autour de trois niveaux:

- ✓ L'hygiène des mains du personnel.
- ✓ L'asepsie durant les soins.
- ✓ La sécurité de l'environnement.

Établir des programmes de prévention et de surveillance des infections nosocomiales.
Création d'un comité de lutte contre les infections nosocomiales à l'hôpital d'El-Mghaier.

Équiper les laboratoires hospitaliers du matériel nécessaire pour identifier les bactéries responsables des infections nosocomiales tout en évitant les pénuries de réactifs pour les patients et le personnel.

Enfin, de notre point de vue, notre étude montre que l'environnement hospitalier dans la région d'el maghaier est fréquemment contaminé par les Cocci à Gram positifs et bacilles Gram négative. Il est intéressant de Confirmer des résultats obtenus par une étude plus approfondie englobant tous les services hospitalier et à partir des galeries API et identification sérologique et moléculaire des germes.

Liste des références

Liste des références

A

A.Ghalem, H.Laachach, A.Fliti, A. Elyandouzi, A.Elkasimi, N.Ismaili, N.El Ouafi. (2016). Double anévrisme Sylvio-mésentérique révélant une endocardite infectieuse. Pan African Medical Journal ,25:103

Ahmed Zine El Abidine Haddadi. (2013).Construction d'un score prédictif du risque Nosocomial pour des patients de réanimation. P34-37.

Alain Raoult, (2004) .Hygiène et soins infirmier, pp : 57-98-188-200, 205.

Alain Branger, Marie-Madeleine Richer, Sébastien Roustel. (2009), Alimentation, processus technologiques et contrôles : applications pratique et dirigées, France, P121. ISBN : 9782844447203, 2844447201.

A. MARIJON, C. BUFFAZ, E. HODILLE, Y. JOURDY, C. LOUVRIER (2020).Parasitologie et Mycologie médicale PRATIQUE.2^e édition, France, P175.ISBN : 9782807320901, 2807320902

Achkour Z. (2012).Emergence de la résistance aux carbapénemes chez les bacilles à Gram Négatif. Thèse de Doctorat en pharmacie. Université Mohammed V- Soussi, Rabat, p. Infectieuses -006-N-IO, 1996, p8

B

Boulahouat M, Aliziane Md O. (2020). Le Coût Économique et Social des Infections Nosocomiales en Algérie, Vol:11/N:01 :428-429

B. de Wazieres, (2003).Nosocomial urinary tract infections: Who, when, and how to treat in geriatric institutions?, Médecin et maladies infectieuses, V33.p 469–473.

Barbut.F., Parzybut.B.,Boelle.P., Y.Neyme ., D.Farid ., R.Kosmann., M.J .,& Luquel.L .(2006). Pressure sores in a université hospital. Presse Medicale (Paris, France: 1983), 35(5pt 1) ,769-778.

Benbouabdellah Sarah, Ziane Dalila,(2014-2015),« Prévalence de souches de Staphylococcus aureus dans le lait cru et les produits laitiers artisanaux », Université Mouloud MAMMERI de Tizi-Ouzou, p58.

Bailey, Scott's (2014). *Diagnostic Microbiology*. China: Elsevier, 13th ed. ISBN: 978-0-323-08330-0.

Brown A, Smith H (2015) .*Benson's microbiological applications: laboratory manual in General microbiology*. New York: McGraw-Hill, short version, 13th edition. ISBN: 978-0-07-340241-3.

Baerwolf, S., Geffers, C., Behnke, M. (2002). Correlation between transmissions and the nosocomial infection rate in five different intensive care units in a German university hospital. *SHEA*, 216.

B.Hadjer, B.Rayen, Z.Amani. (2018). Profil bactériologique et épidémiologique des bactéries responsables des infections du site opératoire à l'HMRUC. Mémoire Master. Science Biologique. Université des Frères Mentouri Constantine.P45.

C

C. Di Benedetto, A.Bruno, E. Bernasconi, (2013).Infection du site chirurgical : Facteurs de risque, prévention, Diagnostic et traitement, *Revue Médicale Suisse*. 1832-9

Caron.F, (2003). Physiopathologie des infections urinaires nosocomiales. *Médecine et maladies infectieuses*, 33 (9): 438-446.

Couderc C. (2015) .Impact des antibiotiques sur l'histoire naturelle des colonisations nasale par staphylococcus aureus. Thèse de doctorat de l'université pierre et marie curie.p140

Coello, R., Glenister, H., Fereres, J., Bartlett, C., Leigh, D., Sedgwick, J., & Cooke, E. M. (1993). The cost of infection in surgical patients: a case-control study. *Journal of Hospital Infection*, 25(4), 239-250.

Chabasse, D. (2002). Les moisissures d'intérêt médical. Cahier N°25 de formation de biologie médicale, Bioforma.France. pp. 25-27.

Connie R.M, Donald C.L (2019) *Textbook of diagnostic microbiology*. Elsevier Saunders, 6Th ed. ISBN: 978-0-323-48218-9.

D

Desenclos .J, C. RAISIN, (2009).A national programme for early warning, investigation and surveillance of healthcare-associated infection in France. *Euro sur veillance : bulletin European sur les maladies transmissibles, European communicable disease bulletin*.14(46):429-33.

Ducel.G, Fabry.J, Nicolle.L, Girard.R, Perraud. M, Prüss.A, Savey.A, Tikhomirov.E, Thuriaux. M, Vanhems. P, (2008).Prévention des infections nosocomiales guide pratique. 2ème éd Suisse : Organisation mondiale de la santé.

Ducel G, Fabry J, Nicolle L.(2002).Prévention des infections nosocomiales : Guide pratique [Internet]. 2e éd. 71 p. Disponible sur : www.who.int.

Danny K. K, Prosper K. M, Baudouin .B, Michèle D.W. (2016). Etude de la prévalence des infections nosocomiales et des facteurs associant dans les deux hopitaux universitaires de Lubumbashi, République Démocratique du Congo: cas des Cliniques Universitaires de Lubumbashi et l'Hôpital Janson Sendwe. Pan African Medical Journal. 24:275 doi:10.11604/pamj.2016.24.275.7626

J

Jean.F, Guy. L, Michèle.T, (2007). Microbiologie générale et appliquée. PARIS, ISBN 2-206-03328-3. P 126-127

K

Kaoutar B, Joly C, L'Hériteau F, Barbut F, Robert J, Denis M, et al. (2004), Nosocomial infections and hospital mortality: a multicentre epidemiological study. Journal of hospital infection.58 (4):268-75.

Khiati .M, (2004). Guide des maladies infectieuses et parasitaires. Editions office des publications Universitaires. Alger, Pages 23, 30.

Khadija JERRADI. (2021). Les infections nosocomiales au service de réanimation Expérience de l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech, THESE DOCTORAT EN MEDECINE. Université CADI AYYAD, N° 184.P68.

K.Kossi Victor, (2019).Evaluation de la connaissance et de l'application des mesures de prevention des infections nosocomiales dans le service de maladies infectieuses du C.H.U. de POINT– G. Thèse de pharmacie. Université des sciences, des techniques et des technologies de Bamako (USTTB), p13.

Kim EJ, Nieberg P, Huse H, Wong-Beringer A. Carbapenem,(2019),« resistant Pseudomonas aeruginosa pneumonia: risk factors for acquisition and impact on outcomes» , San Francisco, California .

Khayar Y. (2011). Comportement des entérobactéries isolées des urines vis-à-vis de l'amoxicilline –acide clavulanique, l'imipenème et l'ertapénème. Thèse de doctorat. Université Mohammed V De Rabat. P : 10.

L

Lebeaux D, Ghigo J.M, (2012), Infections associées aux biofilms Quelles perspectives Thérapeutiques issues de la recherche fondamentale. Médecine/sciences, 28(8-9): 727-39.

Leboffe M.J, Pierce B.E (2011) Photographic Atlas for the Microbiology Laboratory. United States of America: Morton, 4Th ed. P63-64.

M

Méité S, Boni-Cissé C, Monemo P, Mlan Tanoa Ap, Faye-Ketté H, Dosso H , (2010). Surveillance microbiologique des surfaces au niveau d'un établissement hospitalier de niveau Tertiaire : CHU de Yopougon, Abidjan, Côte Ivoire. J. sci. Pharm. Biol, 11(1) : 73-81.

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

Minchella, A., Alonso, S., Cazaban, M., Lemoine, M. C., & Sotto, A. (2008). Surveillance des infections du site opératoire en chirurgie digestive. Médecine et maladies infectieuses, 38(9), 489-494.

N

N. Ramdani Bouguessa, M. Seghier, R. Belouni, A. Benslimani, (2016). Manuel de Microbiologie à l'usage des étudiants en 3eme année de Médecine, ISBN 978.9961.0.1262.8, Alegria. P 175-176.

Nauciel C, Vildé J.L. (2007). Bactériologie médical. Elsevier Masson SAS, 2ème éd. ISBN: 978-2-294-08994-7.

Nauciel C et Vildé J.L. (2005). Bactériologie médicale. 2ème édition. Elsevier Masson, paris, p. 122, 132, 140.

O

Organization WH.(2005). Recommandations OMS pour l'hygiène des mains au cours des soins (version avancée) : synthèse : des mains propres sont des mains sûres. Genève : Organisation mondiale de la santé.

P

P. Riegel, (2003), Aspects bactériologiques des infections urinaires nosocomiales, Médecin et maladies infectieuses, Vol33, 255–265.

Pozzeto B, (Ed). (2001). Infections nosocomiales virales et a agent transmissibles non conventionnels .John Libbey Eurotext.

Pini G, Faggi E, Donnini D, et al. (2015). Invasive infections due to Aspergillus species in patients with chronic obstructive pulmonary disease: report of three cases and review of the literature. Mycopathologia. 179(5-6):455-460. Doi: 10.1007/s11046-015-9867-7

S

Stevens DL, Bisno AL, Chambers HF, et al. (2005). Practice Guidelines for the diagnosis and management of skin and Soft-tissue infections. Clin Inf Dis ; 41:1373-406.

Shimi, S. Touzani, N.Elbakouri, B. Bechri, A.Derkaoui, M.Khatouf. (2015), Les pneumopathies nosocomiales en réanimation de CHU Hassan II de Fès, Pan African Medical Journal.22 :28.

SekhriArafa N. (2011). (Fréquence et marqueurs épidémiologiques de klebsiellapneumoniae dans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Benbadis de Constantine. Thèse deDoctorat en sciences. Université Mentouri de Constantine, Algérie, p.5-70.

T

Torres A, Aznar R, Gattel JJM. (1990). Incidence risk and prognosis factors of nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients. Am Rev Respir Dis ; 142(3) :523–8.

Traoré O, Aumeran C, Henquell C. (2009). Particularités épidémiologiques et prévention des infections nosocomiales virales Antibiotiques. 11(1) : 29-36.

W

Wiley J.M, Sherwood L.M, Woolverton C.J (2008) Prescott, Harley, and Klein's Microbiology. New York: McGraw-Hill, 7Th ed. ISBN: 0-07-299291-3.

WENDPOULOMDÉ A. D. KABORÉ, A.K, SYLVIE. B, ALFRED S. T, NICOLAS. B, LASSANA. S. (2016) susceptibilité antimicrobienne des souches cliniques d'entérobactéries isolées d'infections Bucco-Dentaires A ouagadougou, Burkina Faso. Rev. IV. Odonto-Stomatol., vol. 18, n° 2, pp. 42-50

Annexes

Annexe

Annexe 01: Quelques matériels pour une étude microbiologique.



1.Anse de platine **2.**Ecouvillon stérile **3.**Boit de pétrie **4.**Tube à essai **5.**Pipette Pasteur **6.**Bec benzène **7.**Microscope optique **8.**Etuve **9.**Bain marré **10.**Eau distillé **11.**Vortex **12.**Porteuse **13.**Autoclave **14.** Coloration de Gram (Violet de Gentien, Lugol, Alcool, Fuschine) **15.**Gallerie API 20 **16.**Huile à immersion **17.**Milieux de culture. **18.** Compteur des colonies.

Annexe 02: Compositions des milieux de culture dans un litre d'eau distillé.

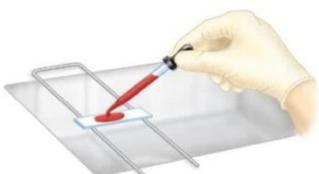
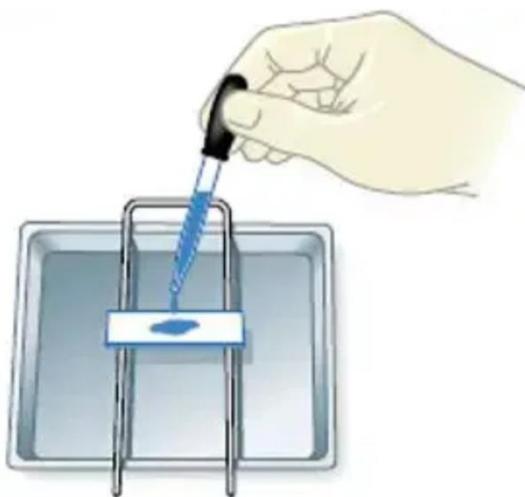
Composition gélo nutritive	
Constituant	Quantité
Tryptone	5,0g
Extrait de viande	1,0g
Extrait de levure	2,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Agar agar	15,0 g
pH final à 25°C : pH 6,8± 7	

Composition gélose VRBL	
Constituant	Quantité
peptone	7,00g
Chlorure de sodium	5g
Extrait de levure	3g
Rouge neutre	0.03g
Sels biliaires	1.5g
Cristal violet	0,002g
Lactose	10g
Gélose	15,00g

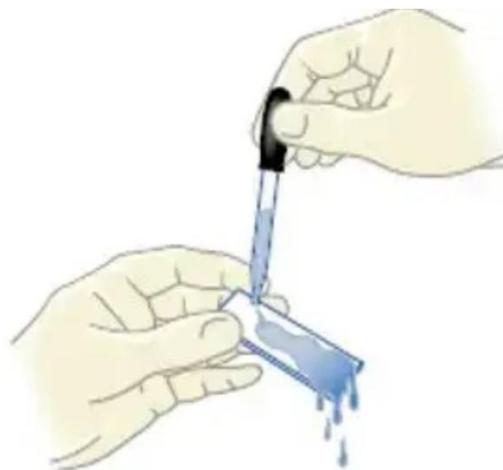
Composition gélose Hektoen			
Constituant	Quantité	Constituant	Quantité
Protéose peptone	12g	Extrait de levure	3g
Chlorure de sodium	5g	Sels biliaires	9g
Citrate de fer ammoniacal	1,5g	Salicine	2g
Lactose	12g	Saccharose	12g
Fuchsine acide	0,1g	Bleu de bromothymol	0,065g
<u>Gélose</u>	14g	pH final	7,5 ± 0,2

Composition gélose Sabouraud			
Constituant	Quantité	Constituant	Quantité
Digestion peptique de tissus animaux	5.0g	Digestion pancréatique de caséine	5.0g
Dextrose	40.0 g/L	Gélose	15.0g

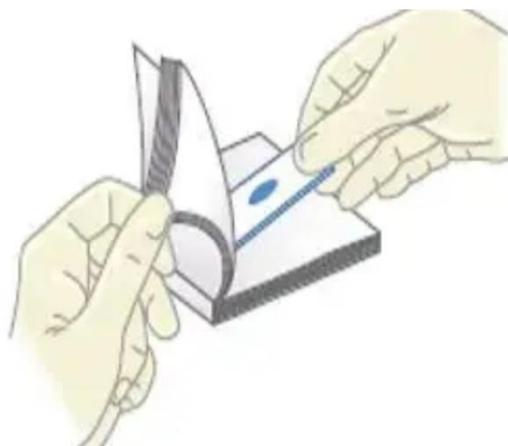
Composition GNstaph	
Constituant	Quantité
Tryptone	5,0g
Extrait de viande	1,0g
Extrait de levure	2,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Agar agar	15,0 g
NaCl	6,0 g
pH final à 25 °C: 7.4± 0.2	

Annexe 03: Etapes de coloration de Gram**(1) Violet de Gentien 30 secondes****(2) Lavage par l'eau distillée****(3) Lugol 1 minute****(4) Lavage par l'eau distillée****(5) Décoloration par l'alcool 15 secondes****(6) Lavage par l'eau distillée****(7) Fuschine 1 minute****(8) Lavage par l'eau distillée****(9) Séchez****Annexe 04: Etapes de la coloration au bleu de méthylène**

1. Couler une solution de bleu robinet de méthylène sur un frottis



2. Après 1-3min rincer à l'eau de



3. Sécher entre deux feuilles de papier buvard puis observée à l'immersion.

Annexe 05: Liste des tests qui nécessitent des réactifs en galerie API 20.

Tests	Réactifs de révélation
NIT	NIT 1 et NIT 2
NO3	
TRP	Kovacs (JAMES)
IND	
VP	VP 1 et VP 2
PAL	
LAP	
PYRA	ZYM A et ZYM B
αGAL	
βGAL	
βGUR	
TDA	TDA

HIB

NIN

Annexe 06: Tableau de lecture des résultats de galerie API 20 E.

Test	Substrat	Caractère recherché	Résultats	
			Négatifs	Positifs
ONPG	Orthonitrophényl galactoside	β -galactosidase	Incolore	Jaune
ADH	L-arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orangé
LDC	L-lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orangé
ODC	L-ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
CIT	Citrate de sodium	Utilisation du citrate Vert	Vert pâle/jaune	Bleu-vert/vert
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S	Incolore/grisâtre	Dépôt noir/fin liseré
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/orangé
TDA	L-tryptophane	Tryptophane désaminase	Jaune	TDA / immédiat Marron foncé
IND	L-tryptophane	Production d'indole	Jaune	James / 2 minutes Anneau rouge
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	Incolore	VP 1 + VP 2 / 10 minutes Rosé-rouge
GEL	Gélatine de Kohn	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion
GLU	D-glucose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MAN	D-mannitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SOR	D-sorbitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
RHA	L-rhamnose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SAC	D-saccharose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MEL	D-melibiose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
ARA	L-arabinose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune

Annexe 07: Résultats de la galerie API20E.

Les souches / Les Tests	<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Pantoea sp</i>	<i>Salmonella Sp</i>
ONPG	–	–	–
ADH	–	–	–

LDC	-	-	-
ODC	-	-	-
CIT	-	-	-
H2S	-	-	-
URE	+	-	-
TDA	+	-	+
IND	-	-	-
VP	+	+	+
GEL	-	+	-
GLU	+	+	+
MAN	+	+	+
INO	+	+	+
SOR	+	-	+
RHA	+	+	+
SAC	-	-	-
MEL	+	-	+
AMY	-	-	-
ARA	-	+	-

ملخص :

المستشفيات، على الرغم من أحكامها الوقائية والعلاجية، هي في بعض الأحيان سبب الانتقال الدائم لأنواع مختلفة من العدوى. على مدى السنوات 20 الماضية، أصبحت عدوى المستشفيات مشكلة رئيسية تؤثر على الصحة العامة في جميع أنحاء العالم. الهدف من عملنا هو عزل وتحديد مجموعة من السلالات البكتيرية من العينات المصنوعة على مستوى الأقسام المختلفة (طب المرأة، وأمراض الأمومة والمرأة، وطب الأطفال حديثي الولادة، وجراحة الذكور) في مستشفى دباخ سعيد المغير من أجل معرفة مساهمة الجراثيم المسؤولة عن العدوى المعوية. في نهاية هذه الدراسة، تم تحديد سلالات 8 من التحليلات المجهرية و معرض API20 يُظهر هذا التعريف هيمنة المكورات العنقودية (35%) والبكتيريا المعوية، والتي تمثل بشكل أساسي الأنواع التالي: *Klebsiella pneumoniae*(8%), *Pantoea sp*(6%), *Salmonella sp*(2%)

الكلمات المفتاحية: عدوى المستشفيات , المكورات العنقودية

Résumé:

Les hôpitaux, en dépit de leurs dispositions en matière de prévention et de traitement, ils sont parfois la cause d'une transmission permanente de divers types d'infections. Au cours des vingt dernières années, l'infection nosocomiale est devenue un problème important qui affecte la santé publique dans le monde. L'objectif de notre travail est d'isoler et d'identifier une collection de souches bactériennes à partir de prélèvements fait au niveau des différents services (Médecine femmes, Maternité et maladies des femmes, Néonatalogie, Chirurgie Homme) à l'hôpital DEBAKH Saïd d'El-Mghaier afin de Contribution les germes responsables de l'infection nosocomiale. Au terme de cette étude, 8 souches ont été identifiées à partir des analyses microscopiques et la galerie API 20 E, Cette identification montre la dominance des *staphylocoques* (35%) et *entérobactéries*, représentant principalement par les types suivants : *Klebsiella pneumoniae* (8%), *Pantoea sp* (6%), *Salmonella sp* (2%), parmi les germes incriminés dans les infections nosocomiales en plus des bactéries on retrouve aussi les champignons.

Mots clés: infection nosocomial, staphylocoques.

Abstract:

Hospitals, despite their preventive and treatment provisions, are sometimes the cause of permanent transmission of various types of infections. Over the past 20 years, nosocomial infection has become a major problem affecting public health worldwide. The objective of our work is to isolate and identify a collection of bacterial strains from samples made at the level of the various departments (Women's Medicine, Maternity and Women's Diseases, Neonatology, Surgery of Men) at the DEBAKH Saïd hospital in El-Mghaier to determine and frequency the germs responsible for nosocomial infection. At the end of this study, 8 strains were identified from microscopic analyses and gallery API 20 E, This identification shows the dominance of staphylocoques (35%) and enterobacteria, representing mainly by the following types: *Klebsiella pneumoniae*(8%), *Pantoea sp* (6%), *Salmonella sp*(2%), among the germs implicated in nosocomial infections in addition to bacteria are also fungi.

Keyword: nosocomial infection, staphylocoques.