

République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur Et de La recherche
scientifique

Université de Jijel
Faculté des sciences

MB15/04

Département de microbiologie et biochimie

Mémoire de Fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme des
études supérieures en biologie

Option : Microbiologie

63
03

Thème

Contribution à l'étude des infections
Nosocomiales à
Staphylococcus aureus et *Entérobactéries*

Les membres de jury :

Président : IDOUI Tayeb

Examineur : BOUDJARDA Djamel

Encadreur : SEGUENI Narimane



Réalisé par :

CHOUKI Amel

SADKI Mariama

SAMAR Mounira

Promotion 2004

Abréviations

BCPL : Bromocrésol pourpre lactosé.

BGT : Bouillon ~~glucosé~~ tamponné.

MEVAG : Milieu d'étude de la voie d'attaque du glucide.

TSI : Triple sugar iron agar.

ONPG : Orthonitrophényl β -galactopyranoside.

NCCLS: National committee for clinical laboratory standards.

CLIN: Comité de lutte contre les infections nosocomiales.

CCLIN : Coordination entre les comités de lutte contre les infections nosocomiales.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

SOMMAIRE

I- Introduction	2
❖ Partie théorique.	

CHAPITRE-I : LES INFECTIONS NOSOCOMIALES.

I-1- Définition.....	5
I-1-1-Délai d'acquisition.....	5
I-1-2-Identification du germe.....	5
I-2-Causes de l'infection nosocomiale.....	6
I-3-Transmission de l'infection nosocomiale.....	6
I-3-1-Origine du germe.....	6
I-3-2-Voies d'entrée.....	8
I-3-3-Vécteurs.....	9
I-3-4-Transmission de l'infection nosocomiale à l'hôpital.....	9
I-4-Principales infections acquises en milieu hospitalier.....	12
I-4-1-Infection urinaire.....	12
I-4-2-Infection respiratoire.....	12
I-4-3-Infection sanguine (bactériémie).....	12
I-4-4-Infection post- opératoire (les plaies chirurgicales).....	13
I-4-5-Infection diverse.....	13
I-5-Histopathologie de l'infection.....	14
I-5-1-Pouvoir infectieux.....	14
I-5-2-Etapes de l'infection.....	15
I-6-Epidémiologie.....	17
I-6-1-Endémie.....	17
I-6-2-Epidémie.....	17
I-6-3-Hyperendémie / endémo-épidémie.....	17

CHAPITRE-II : LES STAPHYLOCOQUES DORES.

II-1-Historique.....	19
II-2-Habitat.....	19
II-3-Characterés bactériologiques.....	19
II-3-1-Morphologie.....	19
II-3-2-Characterés cultureux.....	19
II-3-3-Characterés métaboliques et biochimiques.....	20
II-3-4-Structure et antigène.....	21
II-4-Substances excrétées par <i>Staphylococcus aureus</i>	23
II-4-1-Toxines.....	23
II-4-2-Enzymes.....	24
II-5-Pouvoir pathogène.....	25

II-5-1- Staphylococcies cutanées ,sous cutanées et muqueuses.....	25
II-5-2-Localisation viscérales de <i>s.aureus</i>	25
II-5-3-Sepsies graves.....	26
II-5-4-Toxi-infections alimentaires (TIA).....	26
II-5-5-Entérocolites aiguës.....	26
II-5-6-Syndrome du choc toxique (TSS).....	26
II-6-Résistance des <i>s.aureus</i> aux antibiotiques.....	28
II-6-1-Principaux antibiotiques actifs.....	28
II-6-2-Autres antibiotiques.....	30

CHAPITRE-III : PREVENTION DE L'INFECTION NOSOCOMIALE.

III-1-Pratique de soins.....	32
III-1-1-Isolement de patients.....	32
III-1-2-Prévention de la transmission manuportée.....	32
III-1-3-Visiteurs.....	33
III-2-Pratiques environnementales.....	33

❖ Partie expérimentale .

IV-Matériel et Méthodes.....	39
IV-1-Matériel.....	39
IV-1-1Milieux de culture.....	39
IV-1-2-Colorants	39
IV-1-3-Appareils.....	40
IV-1-4-Autres matériels.....	40
IV-2-Méthodes.....	40
IV-2-1-Prélevement.....	40
IV-2-2-Examen cyto bactériologique.....	41
IV-2-3-Culture.....	43
IV-2-4-Identification.....	44
IV-2-5-Antibiogramme.....	47
V-Résultats et commentaires.....	52
V-1-Examen cyto bactériologique.....	52
V-2-Identification.....	54
V-3-Antibiogramme.....	56
V-3-1-Résultats globaux.....	57
V-3-2-Résultats positifs.....	59
V-3-3-Résultats liées à la multi-résistance des bactéries.....	61
VI-Conclusion.....	83
VII-Bibliographie et Annexes.....	84

PARTIE
THEORIQUE

INTRODUCTION

Introduction :

L'hôpital conçu pour mieux soigner et guérir le malade, peut à tout moment devenir un danger pour celui qui vient y chercher un remède à ses maux.

C'est à l'hôpital que sont traitées les maladies infectieuses graves, à germes dangereux. C'est aussi à ce dernier qu'on observe une concentration et un brassage de population (malades, visiteurs, personnels hospitaliers) ; conditions favorables à la diffusion des infections.

En effet, les infections nosocomiales sont devenues le sujet de l'instant, malgré leurs existences depuis le moyen âge.

Aujourd'hui, les techniques médicales utilisées dans nos hôpitaux sont invasives, et la pression thérapeutique avec l'utilisation des antibiotiques à usage abusif a créé un développement insidieux, et constant de micro-organismes multi-résistants, dont le staphylocoque doré est en tête.

Ainsi, les infections nosocomiales sont un problème majeur de santé public, car elles sont la cause d'une morbidité et mortalité très importante.

L'OMS estime qu'en moyenne 190 millions de personnes sont hospitalisées chaque année dans le monde, et que 9 millions d'entre elles contractent une infection hospitalière à cette occasion. Environ un million de patients meurent chaque année de ces infections.

Dans notre étude, nous essayons de contribuer à l'étude des infections nosocomiales au niveau de la Wilaya de JIJEL dans ces deux hôpitaux : Mohamed Seddik BEN YAHIA à JIJEL et MADJDOUB Saïd à TAHER.

Chapitre I

Infection nosocomiale

I.1. Définition :

Le terme « nosocomial » provient du mot grec nosos ; « maladie » et komien ; « soigner ». Il s'agit donc de maladie infectieuse due à un germe pathogène infectieux, de nature bactérienne, fongique, parasitaire, virale ou prion ; contractée dans une structure de soins.

L'infection nosocomiale peut concerner soit le malade à la suite de soins ou d'investigations réalisées au cours d'une hospitalisation ou en ambulatoire, soit le personnel soignant « médecin, infirmier » du fait de leur activité, ou quiconque à des contacts avec l'hôpital « les gardes-malades, les visiteurs » [16,19].

I.1.1. Délai d'acquisition :

Le délai d'acquisition est un critère primordial dans la définition du caractère nosocomial.

Pour une personne hospitalisée, un délai minimum de 48 à 72 heures entre l'admission et les premiers symptômes est acceptable. Ce délai correspond à l'incubation minimale d'une infection aiguë, liée à une bactérie à croissance rapide, comme par exemple le staphylocoque.

Cependant, l'éloignement dans le temps n'exclut pas le caractère nosocomial. L'infection du site opératoire lorsqu'il y a eu implantation du matériel étranger (prothèse) se déclare dans l'année suivant l'intervention.

Concernant les infections qui étaient au cours d'incubation lorsque le malade est admis à l'hôpital ; elles sont aujourd'hui considérées dans l'épidémiologie comme nosocomiales, parce qu'elles constituent un foyer de germes pour d'autres patients ou le personnel.

Enfin, on considère comme infections nosocomiales toute infections contractées lors du séjour à l'hôpital et devenant symptomatique après la sortie du malade [10,16,19].

I.1.2. Identification du germe :

L'identification du germe responsable de l'infection, permet souvent de distinguer entre infection nosocomiale et infection communautaire.

Ce paramètre est analysé avec discernement, car il est statistiquement vrai que certains micro-organismes sont souvent qualifiés « d'hôpitalier », comme le staphylocoque et les entérobactéries (parce qu'ils sont multi-résistants aux antibiotiques).

L'identification du germe est nécessaire, mais incomplète, il faut la lier avec le délai d'acquisition et le geste invasif, pour une bonne caractérisation de l'infection nosocomiale [19].

I. 2. Causes de l'infection nosocomiale :

L'infection nosocomiale est due à plusieurs causes qui sont étroitement liées. Parmi eux on trouve :

- ❖ La méconnaissance des problèmes infectieux nosocomiaux.
- ❖ L'augmentation du nombre de patients immunodéprimés tel que :
 - Les patients sous corticothérapie continue ou discontinuée.
 - Les patients infectés par le VIH au stade Sida.
 - Les patients subissant une radiothérapie.
 - Les leucémiques et les patients avec lymphome ou greffe de Moelle.
- ❖ Augmentation des techniques spécialisées nécessitant une circulation fréquente du patient dans l'hôpital, et un nombre croissant de soignants autour de lui.
- ❖ Augmentation de l'usage des techniques diagnostiques, et thérapeutiques agressives (chirurgie lors d'emploi des corps étrangers comme les prothèses, les sondes ; traitement immunosuppresseurs lors d'une greffe ; chimiothérapie et radiothérapie).
- ❖ Manque d'hygiène et d'asepsie dans les hôpitaux.
- ❖ Le développement permanent de nouvelles résistances aux antibiotiques (résistance de *Staphylococcus aureus* à la méthycilline)[05, 10, 19].

I.3. Transmission de l'infection nosocomiale :

I.3.1. Origine du germe :

Les agents responsables d'infections nosocomiales peuvent être d'origine endogène ou exogène et même autogène.

❖ Endogène :

Le corps humain renferme un nombre considérable de germes, appelés la flore commensale. Ces germes se trouvent dans différents endroits du corps, sur la peau, dans le tube digestif, et le vagin et dans la sphère oropharyngée. Ils jouent un rôle très important dans la protection.

Les pathogènes endogènes sont amenés par le patient à l'hôpital ou acquis après son admission. Dans les deux cas, l'agent infectant peut causer une maladie nosocomiale ; l'infection peut être due au transport du germe vers une autre partie du corps, ou à un déséquilibre chez le patient ; qu'il soit dû à des modifications des défenses ou à un changement des conditions physico-chimiques au niveau d'une partie du corps [16].

❖ Exogène :

Il y a de nombreuses sources exogènes potentielles dans un hôpital. On distingue

▪ Source animée :

La source animée concerne le personnel de l'hôpital comme les infirmiers et les médecins ou d'autres patients et même les visiteurs.

L'homme est une origine à ne pas négliger (on parle d'anthropose), et la contamination se fait par le contact direct comme celui des mains sales, la tenue...etc [16].

▪ Source inanimée :

La source inanimée est très importante et englobe :

✓ La nourriture :

Elle renferme des micro-organismes (bactéries et leurs toxines) qui provoquent des toxi-infections alimentaires [16].

✓ L'équipement de thérapie :

De nombreux germes ont la propriété d'adhérence à des surfaces inertes comme le staphylocoque qui se trouve généralement sur les cathéters, canuls, valvules et prothèses ; ainsi que les appareils intraveineuses, respiratoires et les équipements d'hydrothérapie.

✓ L'eau :

Ce dernier renferme un grand nombre de germes, il peut être un réservoir ou un véhicule de ces germes qui peuvent être contractés par les patients. Beaucoup d'épidémiologies sont liées à la qualité de l'eau [9].

✓ Le sol :

Contient une flore riche et variée. Le sol constitue parfois la niche écologique du germe. Une plaie souillée de terre peut entraîner une infection, car le danger réside plutôt dans quelques germes peu nombreux, mais particulièrement dangereux.

Le rôle du sol comme origine des germes liés aux infections nosocomiales est négligeable [9].

✓ L'air :

Il sert plutôt de vecteur, car sa richesse en germe n'est pas élevée. Toute fois les gouttelettes en suspension sont une source de contamination importante dans les infections nosocomiales ; ainsi les systèmes de ventilation dans les hôpitaux sont à éviter ou à surveiller [9].

✓ Matériel :

Le matériel peut être à l'origine de plusieurs germes, on les trouve dans les endroits suivants :

- Mobilier (lit, linge, chaises roulantes, tables, brancard, chaises....).
- Sanitaire et accessoire (bocaux à urines, objets de toilette, , bassins....).
- Déchets de soins (pansements..) [5].

❖ Autogène :

Quand on ne peut pas déterminer, si le pathogène responsable de l'infection est endogène ou exogène ; on dit que l'infection nosocomiale est d'origine autogène.

I.3.2. Voies d'entrée :

Les voies d'entrée sont diverses, on trouve :

✓ La peau :

La peau est la voie d'entrée la plus souvent impliquée. Toute lésion de l'intégrité physique du corps, de son enveloppe cutanée est une porte ouverte à l'infection. Comme par exemple lors des injections intramusculaires ; les intraveineuses, les cathéters in situ, les examens invasifs (endoscopiques et autres) [9].

✓ La voie respiratoire :

Les voies respiratoires sont agressées en permanence par les micro- organismes (10.000 par jour). Les infections respiratoires constituent chez l'homme la voie la plus facile, la contamination s'effectue par inhalation de gouttelette riche en germe [8].

Il existe aussi :

✓ La voie urinaire :

La contamination est plus souvent ascendante et vient de l'extérieur. Le courant liquidien des urines constitue la principale protection. Les facteurs favorisant ce type d'infection sont de plusieurs ordres ; la mauvaise hygiène est la principale [9].

✓ **La voie sanguine :**

Elle est marginale, mais elle peut être importante lors de transfusion du sang ou des produits sanguins labiles, ou lorsque les seringues ne sont pas stériles.

✓ **La voie digestive :**

Les micro organismes peuvent être intégrés sous forme d'aliments lorsque les règles d'hygiène ne sont pas respectées [9].

I.3.3. Vecteurs :

Il existe plusieurs vecteurs :

- ◆ Le personnel soignant, manipulateur ou cuisinier.
- ◆ Manceuvres a visée diagnostique :exploration.
- ◆ Interventions chirurgicales lourdes et anesthésies prolongées.
- ◆ Transfusion de sang ou de produits sanguins labiles.
- ◆ Voies aériennes ou conduites de fluides [16].

I. 3.4. Transmission de l'infection à l'hôpital :

❖ **Hétéro-infection ou infection croisée :**

L'infection dans l'hôpital est liée à la diminution des défenses, à l'existence de protocole d'entrée (gestes, diagnostiques et thérapeutiques) et aux conditions locales particulières de l'écologie bactérienne.

La transmission d'un micro-organisme peut se faire d'un patient à l'autre, du patient au soignant ou du soignant au patient.

Les agents de la transmission croisée interhumaine sont :

- ✓ L'air, les gouttelettes de salive, la peau, les mains... (hétéro-infection directe).
- ✓ Par l'intermédiaire de matériel (local, mobilier, médical) donc il s'agit bien d'une hétéro-infection indirecte [5].

❖ **Auto-infection :**

Elle est importante, on distingue deux façons de transmission soit elle est directe ou bien indirecte.

- **Directe :** le malade s'infecte lui même, en particulier avec les mains sales, plaies, pansements.

- **Indirecte** : le malade contamine son environnement et se contamine auprès de cet environnement avec ses propres germes. A l'intermédiaire humain « personnel » ou du matériel (médical ou local) [5].

❖ **Xeno-infection** :

Elle provient des personnes étrangères du personnel hospitalier, il existe deux types de Xeno-infection :

- **Directe** : transmission par air, salive, peau, mains.
- **Indirecte** : à travers le matériel local et hôtelier [5].

❖ **Exo-infection** :

Elle se transmet par l'intermédiaire de linge, alimentation, air, eau...etc.

La transmission manuportée joue un rôle très important dans les infections nosocomiales. Elle est responsable de 30 à 40% des cas qui sont généralement dus à la flore transitoire de la main ou on trouve le *Staphylocoque aureus* en première position [6].

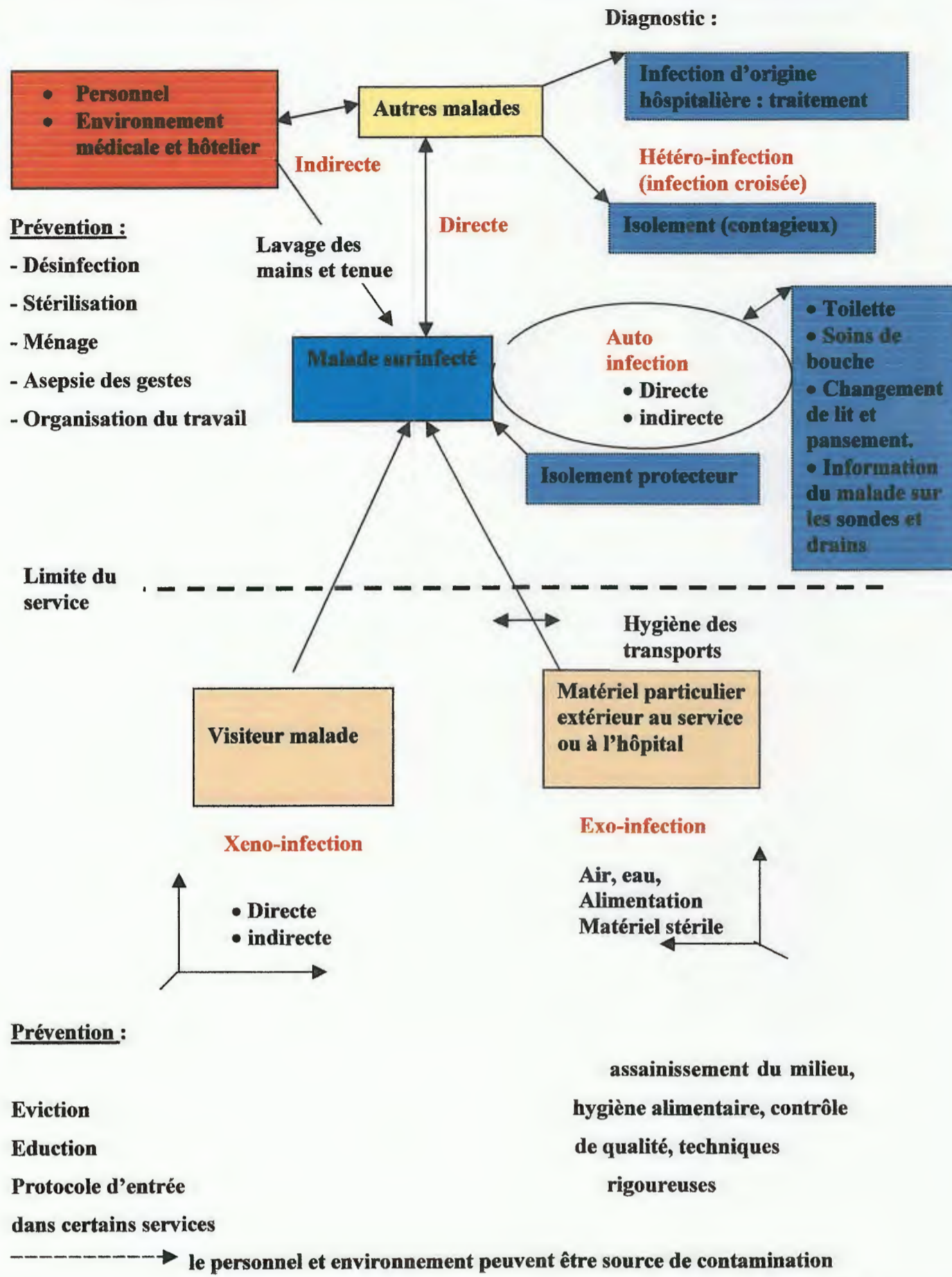


Schéma.1 : Mode de transmission et moyens de prévention contre l'infection nosocomiale [5] .

I. 4. Principales infections acquises en milieu hospitalier :

I.4.1. Infection urinaire :

Représente 39% des infections contractées pendant le séjour hospitalier. Il ne faut pas négliger ce site car ce dernier peut se compliquer de septicémies.

Parmi les malades sondés 10 à 30% développent une infection urinaire ; cette fréquence est variable suivant la qualité du sondage, elle est proportionnellement liée à sa durée, la bactérie la plus fréquente est *Escherichia coli* [19].

I.4.2. Infection respiratoire :

❖ Pneumopathie :

Une pneumopathie chez un patient implique qu'un micro-organisme pathogène atteigne le poumon profond (alvéoles) et s'y multiplie après avoir franchis les multiples systèmes de défenses physiques et immunologiques.

Le micro-organisme peut être de nature exogène ou endogène comme *S. aureus* (20-30% chez les malades ventilés).

30 à 50% des sujets touchés meurent de cette infection qui persiste en service de réanimation et qui occupe la deuxième place (18%). Dans les infections nosocomiales, ce phénomène est lié à l'utilisation d'appareils favorisant la respiration ou l'administration de médicament (ventilation artificielle) [19].

❖ Sinusite :

La sinusite nosocomiale est l'infection des sinus. Dans l'hôpital, chez une personne ventilée en réanimation, les micro-organismes isolés sont typiquement nosocomiaux. La morbidité est loin d'être négligeable. 23 à 67% de patients avec sinusite infectieuse vont présenter aussi une pneumopathie avec des microorganismes identiques dans 40 à 80% des cas. Cette complication fait suite d'intubation nosotracheales et aux sondes gastriques par voie nasale.

I. 4.3. infection sanguine (bactériémie) :

Une bactériémie est la présence transitoire de bactéries dans le sang. Elle rend compte d'environ 6% des infections nosocomiales ; dont 25 à 40% des cas peuvent entraîner la mort. La bactériémie apparaît sous forme primaire ou secondaire.

La bactériémie primaire résulte de l'introduction accidentelle de bactéries, directement dans le corps, par la voie d'injection intraveineuse, d'appareils respiratoires, des prothèses, des cathéters (5-14%), d'endoscopes, d'unité de dialyse...

Une bactériémie secondaire résulte de l'infection d'un site de l'organisme, telle que la voie urinaire, le système respiratoire ou des plaies chirurgicales.

Le microorganisme le plus souvent responsable est : *Staphylococcus aureus*.

I. 4.4. Infection post-opératoire (Les plaies chirurgicales) :

Parmi les infections chirurgicales, les infections de plaies chirurgicales occupent la troisième place (environ 17%). 5 à 12% de tous les patients opérés développent des infections post-opératoires [10].

Dans les opérations (chirurgie contaminée) impliquant le système gastro-intestinal, respiratoire ou urogénital, le taux d'infection est proche de 30%. Ces sites hébergent un grand nombre de microbes qui seront déplacés. Ces germes peuvent coloniser la plaie chirurgicale dont 20% des cas sont dus à *S. aureus* et 20% des autres cas sont liés aux entérobactéries.

L'infection des plaies chirurgicales peut être due à la flore cutanée de l'opéré, ou du personnel des salles d'opération, d'anesthésie ou de radiologie. De plus, beaucoup d'organes sont considérables comme réservoirs tel que le côlon et l'utérus. La contamination est favorisée par les interventions de longue durée ; la persistance de foyers de nécrose, d'hématomes et de corps étrangers, l'immunodéficience liée à l'âge, la neutropénie, diabète et l'insuffisance rénale.

I. 4.5. Infections diverses :

Beaucoup d'autres infections peuvent aussi apparaître :

- Les plaies non chirurgicales sont le lieu d'implantation d'infections nosocomiales par des agents analogues à ceux des plaies chirurgicales.
- Les brûlures qui sont des lésions tissulaires causées par la chaleur, substances chimiques, radiations ou électrocutions. La victime brûlée acquiert de l'environnement hospitalier le plus souvent *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*.
- Les nouveau-nés sont particulièrement sensibles aux infections cutanées et oculaires dues à *Staphylococcus aureus* [16].

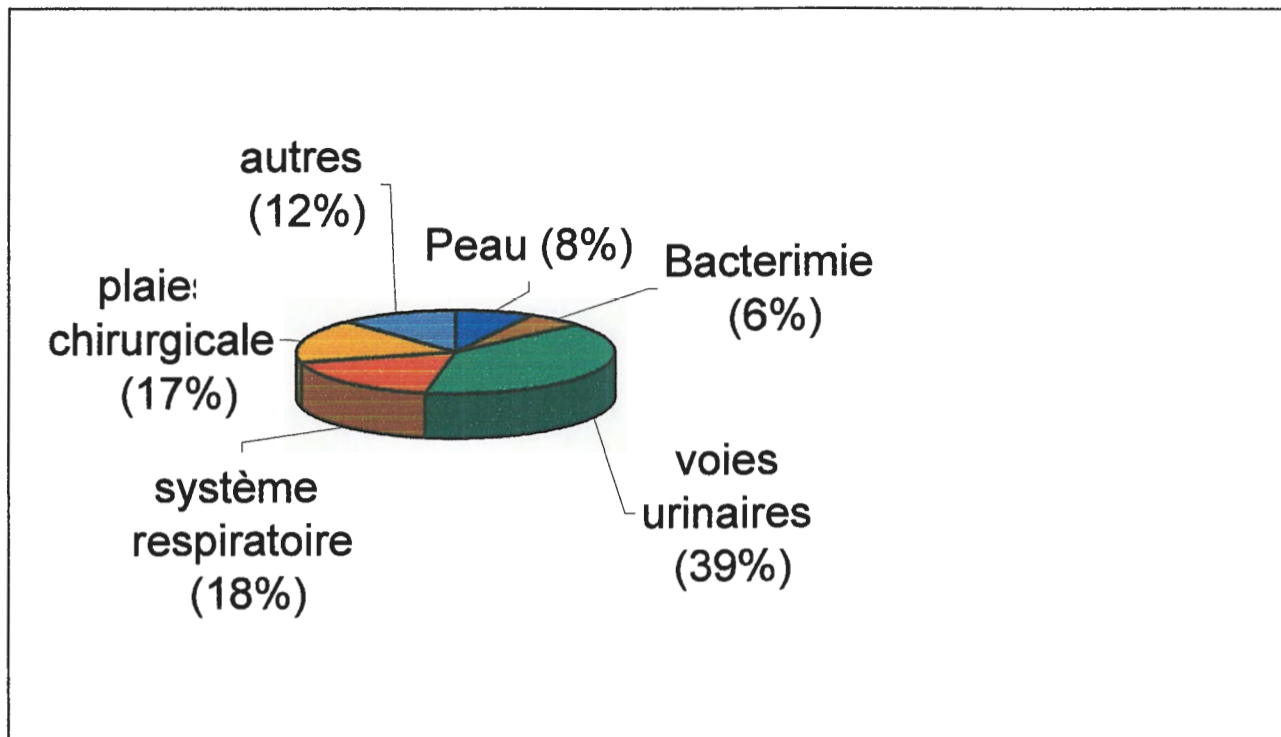


Schéma.2 : Infection nosocomiale : fréquence relative par organe atteint.[16] .

I. 5. Histopathologie de l'infection :

L'introduction d'un agent pathogène dans un tissu provoque très rapidement, un ensemble de réaction qui se succèdent dans le temps et qui tendent à restaurer son intégrité initiale.

I. 5.1 Pouvoir infectieux :

Le pouvoir infectieux est la propriété que peut posséder ou non une bactérie ; d'envahir les tissus de l'hôte.

Il provient d'un ensemble de caractères participants à l'envahissement de l'organisme et à la prolifération du germe : pouvoir de contamination, de multiplication et de pénétration, activités enzymatiques néfastes, utilisation des métabolites de l'hôte et libération des toxines.

Ainsi, la pathogénicité du germe implique l'altération de l'état de santé de l'hôte qui l'héberge et qui englobe des signes cliniques, cette notion n'est pas stable mais elle exprime la relation entre l'agent infectieux et l'hôte [4].

I. 5.2. Etapes de l'infection :

❖ Contamination :

Pour qu'il y ait infection, il faut d'abord qu'il y ait une contamination ; celle-ci englobe divers mécanismes (contamination directe par contact, ou indirecte par l'intermédiaire de l'environnement) [4].

❖ Pénétration ou entrée du pathogène :

Il existe plusieurs possibilités :

- Soit la pénétration est passive par une plaie sur la peau ou les muqueuses (la barrière physique est déjà interrompue).
- Soit la pénétration est active (le germe doit franchir lui-même la barrière) [14].

❖ Action :

L'action néfaste du micro-organisme infectieux est liée à sa croissance in vivo et aux conséquences de celle-ci ; il apparaît un foyer infectieux qui peut être localisé à la surface d'un épithélium ou plus ou moins à l'intérieur des tissus [16].

L'introduction de cet agent pathogène va provoquer un ensemble de réactions :

- ✓ Les réactions du premier stade qui sont des phénomènes vasculo-sanguins avec congestion, transsudation du sérum. Puis diapédèse des leucocytes attirés par le chimiotactisme vers l'agent pathogène. Ce dernier est vite opsonisé. Les germes sont ensuite fixés par adhérence grâce aux pseudopodes des polynucléaires ; puis ingérés dans la vacuole de phagocytose, soumis à la lyse enzymatique ; et le germe en générale est détruit [16]. Cette digestion bactérienne est souvent fatale pour les polynucléaires qui subissent une cytolyse et se transforment en pyocyte. L'ensemble des polynucléaires constitue un micro-abcès avec altération tissulaire du voisinage.
- ✓ Les réactions du deuxième stade ciblent le foyer de nécrose par l'activité ou la réaction cellulaire qui fait intervenir les monocytes sanguins et les histiocytes tissulaires. La macrophagie, fonction essentielle de ces cellules résorbe rapidement les débris cellulaires et tissulaires

La réparation cellulaire suivra la destruction de ce foyer. La succession de ces phénomènes rapides est complète lorsque la bactérie est d'une part sensible à l'action du système réactionnel, et d'une autre part ne s'est pas multipliée trop rapidement submergeant les capacités de défense de l'organisme [16].

Dans le cas contraire, où la virulence de la bactérie est élevée, elle va franchir les barrières ou les systèmes immunologiques qui se trouvent devant elle et passe ensuite dans la lymphe, et cause des adénopathie lorsqu'elle n'est pas détruite par les lymphocytes, et donc elle constitue un véritable danger, car elle peut passer dans la circulation sanguine et résister aux défenses de l'hôte qui se trouve à ce niveau, une fois non filtrée par le foie ou la rate. Il s'agit vraiment d'une septicémie qui peut se développer en méningite et provoquer la mort du patient [16].

On peut résumer les niveaux de défense contre une infection bactérienne due au Staphylocoque dans le tableau suivant :

Tableau.I: Classification d'infection bactérienne

Type	Exemple	Histopathologie	Mécanismes immunologiques				
			phagocytose	Réponse inflammatoire	spécifique		
Aiguë	Localisé-abcès Staphylococcique	Polynucléose (abcès)	+	+	Anti-corps		Immunité à médiation cellulaire
					Sérum	Local	
					+	±	±

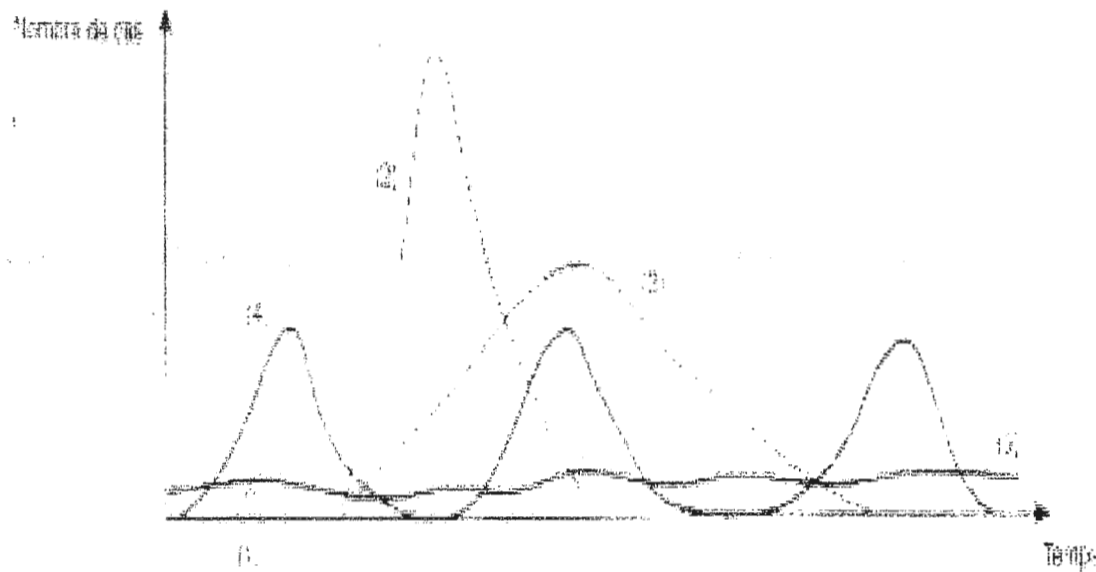
I.6. Epidémiologie :

L'épidémiologie est l'étude de la fréquence d'évolution des maladies infectieuses. De manière classique, on différencie deux situations extrêmes :

I.6.1. Endémie : correspond à l'existence d'un agent infectieux ou d'une maladie infectieuse, avec une incidence calculée dans une population donnée, et ça dans une période donnée stable dans le temps ou du moins sans variation brutale [19].

I. 6.2.Epidémie : se caractérise par l'augmentation inattendue et statistiquement significative par comparaison avec les taux endémiques antérieurs, de l'incidence d'une maladie infectieuse ou de l'isolement d'un micro-organisme dans une population donnée sur une période donnée [19].

II.6.3. Hyperendémie/ endémo-épidémie : désigne un taux élevé d'infections nosocomiales persistants dans le temps, comparativement aux taux endémiques enregistrés dans le service antérieurement, ou dans d'autres services [4].



- 1) Cas sporadique
- 2) et 3) Epidémies liées à la transmission de personne à personne
- 4) Phénomène cyclique
- 5) Endémie

Shéma.5: épidémiologie[4] .

Chapitre II

Staphylocoque doré

II. 1. Historique :

Les premières observations concernant la pathogénicité des staphylocoques remontent à 1878-1880. KOCH, PASTEUR et OGSTON ont décelé dans le pus de furoncles et d'ostéomyélite « des petites pointes sphériques réunies par couples de deux grains, rarement de quatre mais fréquemment associées en petits amas ».

Ils ont réussi à produire des abcès chez l'animal par inoculation des prélèvements de pus. Le regroupement en amas de ces germes évoquant des grappes de raisin « Staphylé » et l'aspect évoquant les grains « coccus » sont à l'origine de la dénomination « *Staphylococcus* » attribuée par OGSTON en 1882 [10].

En 1884, ROSENBACH a obtenu des cultures pures de ces bactéries, il a scindé le genre *Staphylococcus* en deux groupes selon que les colonies soient blanches ou dorées [2].

II.2. Habitat :

Il s'agit de germes très répandus dans la nature (air, eau, sol). Les staphylocoques en particulier *S. aureus* et *S. epidermidis* font partie de la flore normale de nombreux individus. Ce sont des commensaux habituels de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux à sang chaud [15, 18, 2,4].

Chez l'homme, les fosses nasales sont considérées comme le site le plus fréquemment colonisé par *S. aureus*. La fréquence du portage nasal est très variable. Il y a 3 types de sujets : les sujets non porteurs, les sujets porteurs intermittants et les sujets porteurs permanents.

En outre, *S. aureus* a été isolé de la gorge et de différentes zones cutanées chez l'homme comme la face, le cuir chevelu, le périnée et les aisselles. Cette bactérie peut aussi se trouver dans le vagin et le tube digestif (intestin).

II. 3. Caractères bactériologiques :

II. 3.1. Morphologie :

A partir d'un prélèvement pathologique, *S. aureus* se présente sous l'aspect de coque GRAM positif car il appartient à la famille des Micrococcaceae. Il est souvent disposé en amas irréguliers en grappe de raisin, en diplocoques, ou en chaînette de 3 à 5 coques, d'un diamètre d'environ 0,5 à 1,5µm [18,4].

Sur les cultures en milieu solide, il se dispose en grappe de raisin alors qu'en milieu liquide, il est souvent isolé en diplocoques.

Il est immobile, non sporulé et ne possède pas de capsule visible au microscope optique sauf de très rare cas. Certaines souches forment des colonies entourées d'une pseudo-capsule [13].

II.3.2. Caractères cultureux :

S. aureus est chimioorganotrophe de type respiratoire aéro-anaérobie facultatif, oxydase négative et catalase positive.

Il cultive facilement sur des milieux ordinaires dont sa croissance est plus rapide et abondante en 24 heures en condition aérobie qu'en condition anaérobie, en formant sur milieux solides des colonies lisses, luisantes et bombées[18].

Beaucoup de souches produisent des colonies pigmentées en jaune doré plus ou moins intenses d'où son appellation : staphylocoque « doré ».

En milieu liquide, il produit dans le bouillon un trouble homogène. Les staphylocoques dorés ne sont pas considérés comme germes exigeants comme tous les Micrococcaceae, *S. aureus* se multiplie en présence de concentrations élevées de chlorure de Sodium (5 à 10 g ou 10%). Il est capable de transformer de nombreux substrats, notamment les sucres, ce qui n'a guère d'intérêt pratique sauf en ce qui concerne le mannitol (un polyalcool) que *Staphylococcus aureus* peut fermenter contrairement à la plupart des staphylocoques coagulase négative (SCN).

II. 3.3 Caractères métaboliques et biochimiques :

❖ Caractères métaboliques :

• Action sur les glucides :

Le staphylocoque doré est actif sur les hydrates de carbone : le glucose est utilisé en aérobiose et anaérobiose ainsi que le lactose, le saccharose et le mannitol mais sans production de gaz [3].

• Action sur les protides :

La gélatine est liquéfiée et le lait est acidifié et coagulé [6].

• Action sur les lipides :

Certains lipides sont dégradés grâce à des enzymes spécifiques telles que des lipases, des lécithinases... [06].

• Pouvoir réducteur :

Le germe est capable de réduire le tellurite de Potassium et les nitrates en nitrites [06].

- **Activité enzymatique :**

S. aureus possède une catalase, mais pas d'oxydase [06].

- **Coagulase :**

S. aureus coagule le plasma humain transformant le fibrinogène soluble en fibrine insoluble [6].

- **Autres caractères :**

Le staphylocoque doré est : indole (-), uréase (+). Il possède aussi les caractères suivants : production d'ammoniaque à partir de l'arginine et présence d'hémolyse totale. De plus, la bactérie produit un pigment jaune [06].

❖ **Caractères biochimiques [15]:**

Les caractères biochimiques des *Staphylococcus aureus* sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau.II : Caractères biochimiques différentiels des staphylocoques.

Caractères Germes	Culture en anaérobiose	Catalase	ADH	Staph - coagulase libre	Dnase	Phosphatase	Fermentation du mannitol	Tréhalose	Oxydase	Novobiocine
<i>S.aueus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-	S
<i>S.epidermidis</i>	+	+	+	-	+	+	-	-	-	S
<i>S.saprophyticus</i>	+	+	+	-	-	-	+	+	-	S

+: Réaction positive.

R : résistant.

-: Réaction négative.

ADH : Arginine Dihydrolase.

S : sensible.

II.3.4. Structure et antigène :

Toutes les souches de *S.aureus* possèdent des antigènes utilisées dans des classifications. Ils sont près de 30 facteurs antigéniques caractérisants de chaque type ou de chaque espèce [10].

II. 6. Résistance des staphylocoques aux antibiotiques :

La résistance aux antibiotiques d'une espèce bactérienne n'est pas un phénomène stable dans le temps. L'évolution des résistances est extrêmement variable selon les antibiotiques ou les germes.

La résistance à la pénicilline de *S. aureus* est un cas intéressant, car l'évolution fut très rapide. En 1941, moins de 1% des souches isolées sont résistantes à cet antibiotique. Dès 1946, 14% des souches sont résistantes pour atteindre 38% en 1947 et actuellement 90%.

On distingue deux types de résistance : une résistance naturelle et une résistance acquise [08.09].

La résistance naturelle est une propriété intrinsèque, pré-existante chez le germe. Elle intervient lorsque la cible de l'antibiotique n'existe pas chez le germe. Les résistances naturelles peuvent être une propriété commune à l'ensemble de l'espèce voir d'un genre ou d'une famille comme pour les mycoplasmes. Par contre, cette résistance peut résulter d'une sélection qui a fait émerger les souches résistantes : c'est le deuxième cas qui correspond à l'évolution de la résistance des staphylocoques vis-à-vis de la pénicilline.

La résistance acquise n'affecte initialement qu'une souche. La modification de cette souche provient d'une série de mutations chromosomiques (dans 10% des cas), d'un échange de matériel génétique par des plasmides ou des transposons (90% des cas) [02.18].

II.6.1. Principaux antibiotiques actifs :

❖ *B-lactamines* :

De nombreux mécanismes de résistance contre ces antibiotiques entrent en jeu : modification de la pénétration cellulaire, hydrolyse enzymatique et modification de l'affinité vis-à-vis des molécules cibles [08].

• *Pénicilline* :

Elle a été le premier traitement antibiotique de staphylocoque à cause de sa toxicité sélective pour les bactéries et de sa bactéricidie. La pénicilline G ou V est utilisée si la souche ne produit pas de pénicillinase. La pénicilline M (les méticillines non détruites par la pénicillinase) a pour seule indication les infections à staphylocoques producteurs de pénicillinase.

Malheureusement, 10% à 30% des souches de staphylocoques sont résistantes par un mécanisme encore mal précis à ce groupe d'antibiotique [08].

- **Céphalosporines :**

Les céphalosporines sont des dérivées semi-synthétiques, obtenues par modification des chaînes latérales de l'acide 7-amine-céphalosposamique. Ces antibiotiques agissent par inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire. L'utilisation des céphalosporines de première génération est justifiée uniquement dans les infections sévères à staphylocoques [20].

- ❖ **Aminosides :**

Dans l'ensemble, ils ont une excellente activité bactéricide, et les résistances demeurent relativement rares. Cependant, leur activité chez le malade apparaît plus décevante.

Ainsi, le clinicien n'envisagera pas de traiter une Staphylococcie au moyen d'un aminoside seul. En revanche l'association d'un aminoside à une B-lactamine, est souvent utilisée dans le traitement des infections Staphylococciques graves les endocardites en particulier [13].

- ❖ **Synergistines (macrolides et apparentés) :**

Ce sont des antibiotiques bactéricides, à spectre limité ayant très peu de résistances, efficaces presque constamment contre les cocci à gram positif surtout contre le staphylocoque doré [20].

- ❖ **Macrolides :**

Ce sont des antibiotiques bactériostatiques. Leur pénétration est meilleure dans le tissu pulmonaire, bronchique, les amygdales, la prostate et les voies urogénitales. Ils sont actifs contre *S.aureus* [02].

- ❖ **Vancomycine :**

Elle représente l'alternative logique pour traiter une infection causée par un staphylocoque doré résistant aux pénicillines. Ce produit est régulièrement bactéricide contre ces germes et les résistances semblent rares [13].

- ❖ **Lincosamides. Lincomycine-clindamycine :**

Le spectre antibactérien des lincosamides est étroit. Ils sont réservés à certaines pathologies infectieuses médicales ou chirurgicales. Certaines souches de staphylocoques sont résistantes à l'érythromycine et il semble qu'une résistance croisée existe entre les lincosamides et les macrolides vrais.

Leur utilisation est réservée aux infections sévères staphylococciques[20].

II. 6.2. Autres antibiotiques :

- *Fluoroquinolones. (péfloxacine et l'afloxacine) :*

Ils ont une bonne activité antistaphylococcique, en particulier sur les souches meti-R [13].

- *Rifampicine :*

C'est un dérivé semi-synthétique de la rifamycine. La résistance des staphylocoques à la rifampicine est liée à la sélection de mutants très résistants. Leur résistance s'explique par des mutations touchant le gène codant la synthèse de la sous-unité B de l'ARN polymérase, les fréquences de mutation varient de 10^{-6} à 10^{-7} .

- *Fosfomycine :*

S. aureus est résistant à la fosfomycine par mutation liée à un système de transport (héxoses phosphates). Cette mutation une fois retrouvée nécessite une prescription de la fosfomycine en association avec un autre antibiotique [08].

- *Fucidine :*

L'acide fusidique est un antibiotique de structure stéroïdienne de la famille des fusidamines. Il est actif sur les staphylocoques producteurs de pénicillinases [08].

Chapitre III

Prévention

III. prévention de l'infection nosocomiale :

L'évolution des maladies infectieuses « nosocomiales » est un processus complexe impliquant de nombreux facteurs dans un ordre logique. Il faut identifier les composants du cycle infectieux qui sont en premier lieu responsables d'une épidémie particulière [16].

Les mesures de contrôle et de prévention doivent être dirigées contre la partie du cycle la plus susceptible d'être contrôlée, le maillon le plus faible de la chaîne [16].

La prévention se fait à trois niveaux :

- Le premier vise à réduire ou éliminer le foyer de l'infection.
- Le deuxième vise à interrompre le lien entre le foyer d'infection et les individus sensibles.
- Le troisième est de réduire le nombre d'individus sensibles et augmenter le taux général d'immunité du groupe [16].

C'est pour cette raison, qu'un programme de prévention a été élaboré et qui s'articule sur trois grands axes : Les pratiques de soins, les pratiques environnementales et l'information du personnel à ces pratiques [14].

III.1. pratique de soins :

III.1.1. Isolement des patients :

L'existence de patient porteur de souches multirésistantes justifie :

- L'isolement géographique, idéalement en chambre individuelle.
- Une organisation de soins avec idéalement une affectation spécifique d'une partie de l'équipe soignante à ces malades [19].

III.1.2. Prévention de la transmission manuportée :

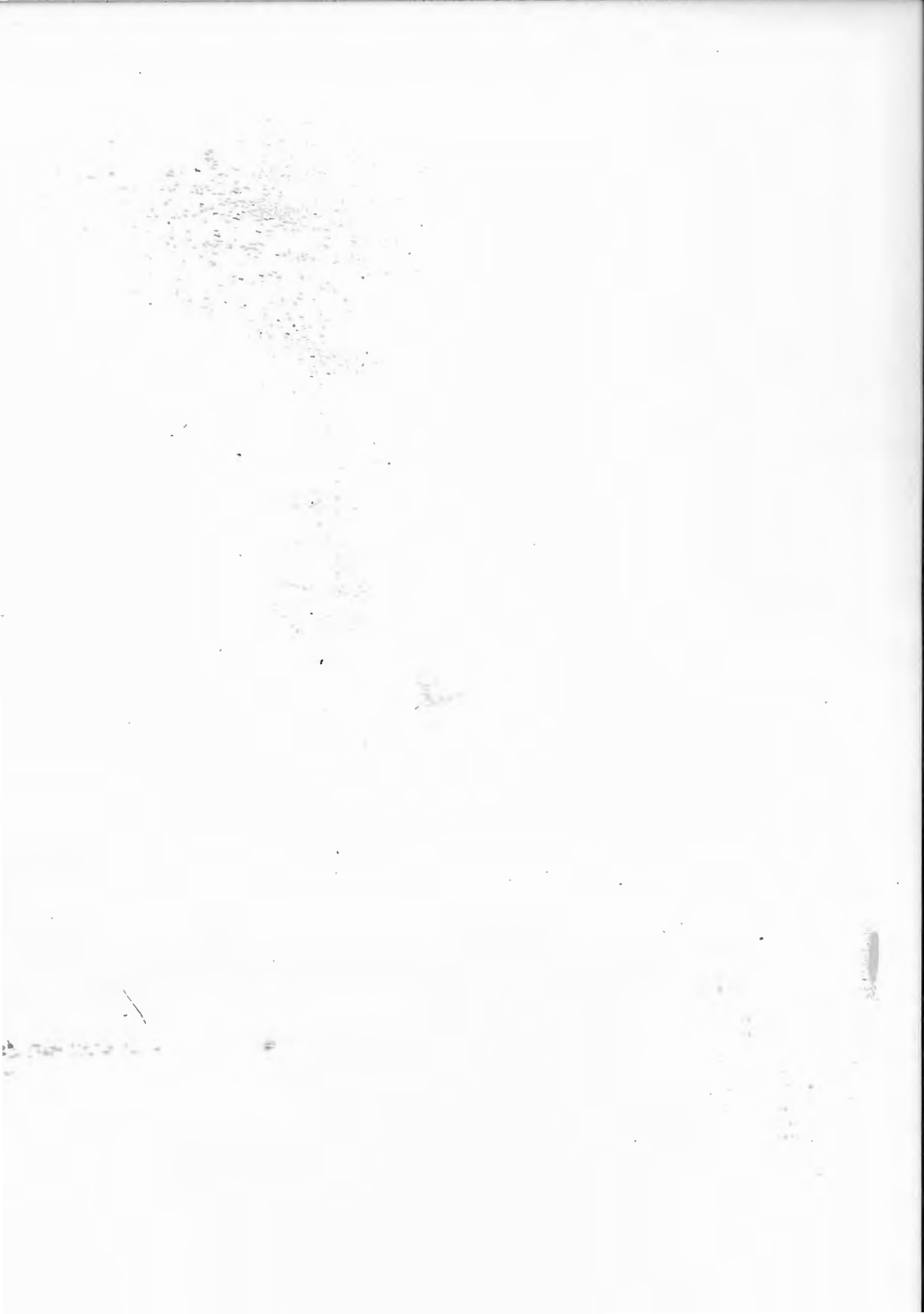
Les mains sales sont d'importants vecteurs de maladies et leur rôle dans la transmission des maladies nosocomiales est plus important que celui de l'air. La lutte contre la transmission manuportée est la première étape de lutte contre les infections nosocomiales.

Dans ce cas, le lavage des mains est obligatoire. Il s'effectue de deux façons :

- Un lavage simple avec de l'eau et un savon liquide ; l'action mécanique doit durer 30 secondes en minimum.
- Un lavage antiseptique s'effectue par l'eau avec un savon antiseptique liquide ; l'action mécanique et chimique dure 1 minute en minimum.

Le lavage des mains se fait dans les situations suivantes :

- Avant et après la prise de service.
- Avant et après tout les actes de la vie quotidienne (repas, toilette...).



- D'examiner et diffuser les informations concernant la fréquence des germes résistants [19].

La prévention des infections nosocomiales repose sur une vigilance quotidienne dans l'organisation des soins et le respect des bonnes pratiques en hygiène hospitalière. Une pratique facilitée par l'élaboration et la diffusion des recommandations et des protocoles écrit qui doivent être pris en charge par le CLIN de l'établissement hospitalier. Celui-ci doit assurer l'évaluation régulière par la pratique d'audit qui s'inscrit dans la démarche globale d'amélioration de la qualité de soin.

Le CLIN : « comité de lutte contre les infections nosocomiales ».

En France, la nécessité de coordonner et de développer les activités de lutte contre les infections nosocomiales a conduit à la mise en œuvre en 1988, du comité de lutte contre les infections nosocomiales.

En Algérie, ce n'est qu'en 1991 que ces derniers ont été créés au près de chaque établissement de santé. En 1998, celui de l'hôpital de JIJEL est installé.

Les membres du CLIN ont pour mission principale, la mise en œuvre des activités de surveillance des infections nosocomiales et à la détermination de la prévalence de ces dernières et des services à risque [14].

Il y a aussi l'audit clinique ou audit des pratiques de soins. Il est défini par :

L'ANDEM et L'OMS.

L'audit en hygiène hospitalière concerne les protocoles établis pour la prévention de la transmission croisée des micro-organismes pour l'hygiène du matériel, des surfaces et toute procédure concernant la prévention des infections nosocomiales [14].

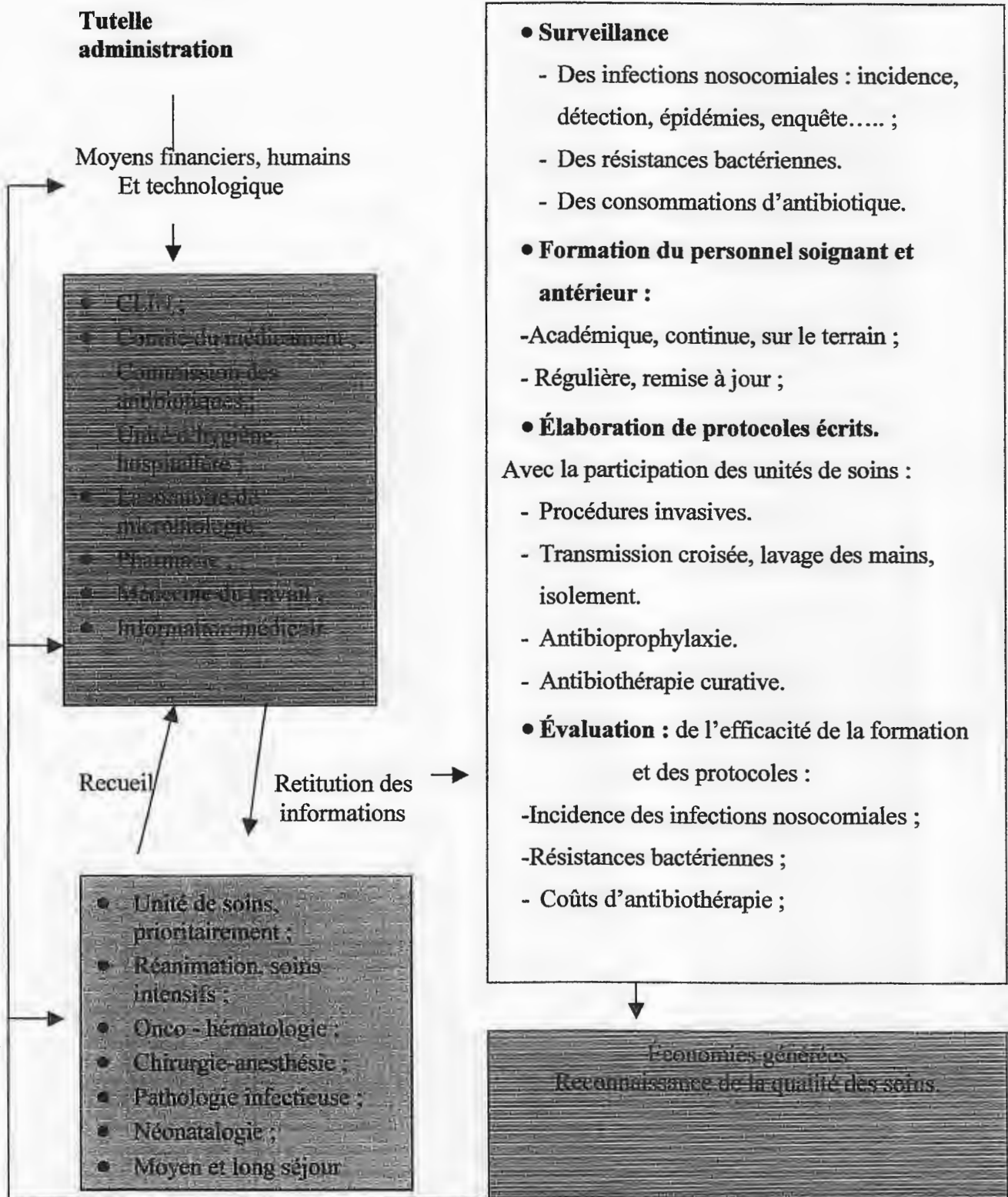


Schéma. 5: La lutte contre l'infection nosocomiale au sein d'un hôpital [19].

PARTIE

EXPERIMENTALE

MATERIEL
ET
METHODES

IV. Matériel et Méthodes :

Cadre, période et type d'étude :

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire d'hygiène du secteur sanitaire de Jijel et du laboratoire de bactériologie de l'hôpital de Taher.

Cette étude s'est intéressée aux analyses microbiologiques de différents prélèvements: pus, liquide pleural, liquide d'ascite, liquide céphalo-rachidien et prélèvements vaginaux , qui proviennent de malades hospitalisés dans la wilaya de Jijel. Notre but est de suivre la démarche diagnostic utilisée au niveau des deux laboratoires , et d'identifier les germes responsables d'infections nosocomiales les plus isolés dans la région de jijel.

IV.1.MATERIEL:

Notre travail repose sur l'étude bactériologique du germe : *Staphylococcus aureus*, ainsi que les entérobactéries.

IV.1.1. Milieux de culture:

❖ Les milieux utilisés pour l'étude de *S. aureus* sont :

- Milieu d'isolement : chapman.
- Milieu d'enrichissement : Bouillon cœur cerveau, Bouillon gélosé tamponné (BGT).
- Milieu d'identification : le mannitol - mobilité, milieu utilisé pour l'étude de la voie d'attaque des glucides (MEVAG).
- Pour le test de la coagulase le sérum de lapin lyophilisé est utilisé.

❖ Les milieux utilisés pour l'étude des entérobactéries sont:

- Milieu d'isolement : BCPL (gélose au bromocrésol pourpre lactosé).
- Milieux de galerie biochimique :
 - Milieu TSI.
 - Milieu citrate de simmons.
 - Milieu : mannitol- mobilité.
 - Milieu : urée- indole.
 - Milieu : Bouillon nitrate.
 - Disque ONPG.

IV.1.2.COLORANTS:

- Le bleu de méthylène.
- Le violet de gentiane.
- La fuschine.

IV.1.3. APPAREILS :

- Etuve bactériologique pour incubation à 37°C.
- Bain –marie.
- Microscope optique (x40 et x100).

IV.1.4. AUTRES MATERIELS :

- Eau physiologique, eau distillée.
- Huile de vaseline, huile de paraffine.
- Iugol, alcool.
- Bec Bunsen.
- Anse de platine.
- Pipettes pasteur, écouvillons.
- Portoirs de tube, pinces.
- Tubes à vis, boîtes de **Petri**.
- Lames et lamelles.
- Distributeur de disques d'antibiotiques

IV .2. METHODES

IV.2.1.Prélèvement :

Le but du prélèvement bactériologique est le diagnostic ; c'est la mise en évidence et l'identification d'un microorganisme responsable d'une infection.

Notre étude a porté sur les prélèvements suivants : pus, sérosités : liquide pleural, liquide d'ascite, liquide céphalo-rachidien et prélèvements vaginaux. Les prélèvements sont réalisés au début de l'apparition des signes cliniques, avant l'instauration du traitement antibiotique. Les signes cliniques ont orienté vers le site présumé de l'infection.

Tout prélèvement dans un site ou un organe considéré comme stérile ou non, a été pratiqué dans de strictes conditions d'asepsie pour éviter les souillures par un staphylocoque commensale ; Par exemple : le prélèvement à partir d'une plaie a été réalisé aux endroits où celle-ci est peut accessible à des contaminations.

❖ DIFFERENTS TYPES DE PRELEVEMENT :

▪ PUS :

Nous avons recueilli au niveau du laboratoire ,deux écouvillons pour un même prélèvement ,afin de permettre l'examen direct et la culture. Un écouvillon est destiné à l'examen bactériologique. Il est imbibé par du BGT⁽¹⁾, Puis incubé à 37°C pendant une heure

afin d'enrichir les germes qui se trouvent dedans, l'autre écouvillon est utilisé pour réaliser la culture.

Il existe une autre technique qui concerne la collecte du pus par une seringue, c'est dans le cas d'un abcès fermé.

▪ **Sang :**

Le sang est recueilli par ponction faite au niveau d'une veine superficielle généralement au pli du coude.

Le volume du flacon, de l'ordre de 100 ml permet l'ensemencement d'environ 10 ml de sang, il est incubé dans une étuve à 37°C pendant une durée minimale de 8 à 10 jours. La détection de la positivité est basée sur deux phénomènes :

- le trouble de la phase liquide du bouillon citrate .
- l'apparition des colonies sur la gélose (la phase solide).

Dans ce cas, on réalise des examens cytobactériologiques.

▪ **Ponctions :**

Ce sont des prélèvements d'un liquide dans une cavité du corps ,opérés au moyen d'une aiguille.

❖ **RENSEIGNEMENTS CLINIQUES :**

Notre travail a été réalisé sur des prélèvements provenant de malades hospitalisés. Tout prélèvement arrivé au laboratoire est accompagné d'une fiche de renseignement ; sur laquelle est notée :

- Le nom et le prénom du patient.
- Le service d'hospitalisation.
- La date et l'heure de la réalisation du prélèvement.

❖ **TRANSPORT :**

La qualité du diagnostic est inversement proportionnelle au temps avant la mise en culture. Concernant notre étude, le transport de prélèvements a été très rapide.

IV.2.2. Examen cytobactériologique:

Durant la période de notre étude, l'examen bactériologique des prélèvements effectués au niveau des deux laboratoires est réalisé comme suit :

❖ **Examen macroscopique :**

Il est basé sur la consistance, la couleur et l'aspect.

❖ **Examen microscopique :**

L'examen microscopique est fondamental, il permet d'orienter le diagnostic. Dans tous les cas, il permet d'envisager la suite des examens à effectuer.

▪ **Examen direct à l'état frais :**

Une goutte d'eau distillée est mise sur une lame, ensuite l'écouvillon est frotté en réalisant des mouvements rotatoires, une lamelle est ajoutée. L'observation est réalisée par microscope.

Cet examen permet d'observer la morphologie (en coque pour les staphylocoque et en bacille pour les entérobactéries), et la mobilité éventuelle des bactéries (Les staphylocoques sont immobiles) ainsi que les cellules d'accompagnement.

▪ **Examen direct à l'état fixe :**

A. Frottis :

Il est réalisé en étalant sur une lame une parcelle suspecte du prélèvement, en la faisant diluée dans une goutte d'eau distillée. Le frottis doit être mince, bien étalé et homogène.

B. Coloration :

La coloration des bactéries a pour but de rendre perceptible des détails pouvant nous échapper au cours de l'examen à l'état frais. La coloration des éléments cellulaires bactériens permet de mieux les différencier.

L'observation se fait au microscope optique (x 100, à l'immersion).

Parmi les colorations usuelles, nous avons utilisé :

- La coloration simple : au bleu de méthylène.
- La coloration différentielle : GRAM.

➤ **La coloration au bleu de Méthylène (noyaux):**

Après la préparation du frottis, celui-ci est traité par le bleu de méthylène pendant une minute, puis lavé à l'eau. Ensuite, séché par du papier joseph. Enfin l'observation microscopique va se faire à l'objectif (x 100) après addition d'huile de vaseline.

Cet examen a pour but la confirmation des résultats de l'examen à l'état frais concernant la nature des cellules et leur états, et aussi l'observation des formes et les dispositions des bactéries.

↪ La coloration de GRAM :

- La principale technique de coloration est celle de GRAM, mise au point par le médecin Danois GHISTIA GRAM, elle permet de classer la majorité des microorganismes suivant la composition de leur paroi cellulaire en deux groupes : les GRAM - et les GRAM +.
- La technique consiste a traité le frottis par le violet de gentiane (coloration primaire) pendant une minute, après un lavage à l'eau, on va le soumettre au lugol (Fixateur) pendant 30 secondes, ensuite à l'action d'un agent décolorant neutre (alcool à 90°c) pendant 30 secondes, on lave à l'eau et on recolore par la fuschine pendant 30 secondes.

Enfin on lave à l'eau et on le sèche avec du papier joseph, et ensuite on observe au microscope optique objectif (x 100) après l'ajout d'huile de vaseline.

IV.2.3.Culture :

- La culture a été réalisé par l'ensemencement du milieu Chapman pour les staphylocoques et le BCPL pour les entérobactéries.
- La technique qui à été utilisé est l'écouvillonnage : on frotte l'embout de l'écouvillon (qui a été déjà imbibé dans le BGT pendant 1 h à l'étuve à 37°c) sur toute la surface de la gélose en suivant la méthode d'épuisement en stries .

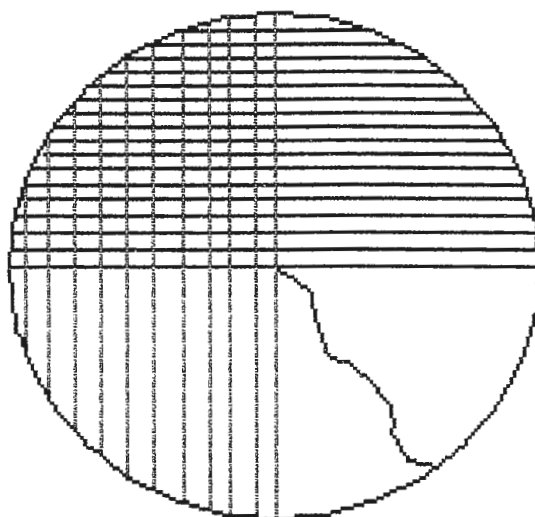


Schéma .6 : Ensemencement par méthode d'épuisement en stries .

- Il existe une autre méthode pour les liquides. On dépose une goutte sur la surface de la gélose àensemencer ; ensuite à l'aide d'une anse de platine ou d'une pipette pasteur, onensemence la surface de la gélose en suivant la méthode d'épuisement en stries.
- Les milieux Chapman et BCPLensemencés sont incubés à 37°C pendant 18 à 24 h.
- Après la culture, les colonies bien distinctes sont utilisées pour une galerie d'identification.

IV.2.4. Identification:

L'identification permet la mise en évidence des caractères biochimiques, cultureux et morphologiques .

❖ *Identification du genre staphylococcus : [2] .*

L'identification a été faite sur les niveaux suivants :

- **Observation de la poussée sur Chapman :**

L'observation macroscopique de la poussée sur Chapman révèle l'existence des colonies *S.aureus* bombées, convexes, brillantes de couleur jaune.

- **Réalisation d'un GRAM :**

Le GRAM réalisé à partir des colonies isolées sur le milieu Chapman nous renseigne sur le type de bactérie, sa forme et son mode de regroupement.

- **Etude de la capacité fermentaire à travers le milieu MEVAG :**

Le milieu MEVAG est un milieu semi-solide, il permet d'étudier la voie d'attaque du glucose et de distinguer si celle-ci est oxydative ou fermentaire.

L'ensemencement est fait par une piqûre centrale à l'aide d'une pipette pasteur sur deux tubes, l'un est cultivé en aérobiose et l'autre en anaérobiose (par l'addition d'huile de paraffine).

Les deux tubes sont mis pour incubation à 37°C pendant 24 h.

- **Etude des enzymes respiratoires:**

- **Recherche de la catalase:**

La catalase est une enzymes qui permet de dégrader l'eau oxygénée issue de la voie respiratoire oxydative directe, en eau et en oxygène libre qui se dégage sous forme gazeuse.

A l'aide d'une pipette pasteur, une colonie bien isolée sur milieu Chapman est raclée, ensuite, elle est dissociée dans une goutte d'eau oxygénée.

- Recherche de l'oxydase:

L'oxydase est la dernière enzyme intervenant dans la phosphorylation oxydative. Lorsqu'elle agit sur une solution aqueuse de chlorhydrate ou d'oxalate de N-diméthylparaphénylène diamine, elle provoque la formation d'un semi quinone rouge. Celle-ci est très instable à l'air, s'oxyde rapidement en donnant un composé noirâtre.

Sur un disque, une goutte d'eau distillée est déposée. Une colonie bactérienne est prélevée puis déposée à la surface à l'aide d'une pipette pasteur. L'absence de couleur indique l'absence de l'oxydase.

❖ **Identification de l'espèce *Staphylococcus aureus*: [2] .**

Plusieurs tests conduisent au diagnostic de l'espèce :

A. Pigmentation :

La couleur jaune brillante est caractéristique de *S. aureus*.

B. Fermentation du mannitol-mobilité :

Le mannitol est un produit dérivé du D-mannose sa dégradation est comparable à celle du glucose et conduit à la formation d'acides à chaîne très courtes.

Le mannitol mobilité permet d'étudier, outre la dégradation du mannitol, la mobilité des germes.

Après la préparation d'une suspension bactérienne en raclant une colonie ou deux et les diluants dans 10 ml d'eau distillée. Une piqûre centrale (de cette suspension) est réalisée dans deux tubes en aérobie et en anaérobie. Après incubation à 37°C pendant 24 h, le virage de la couleur rouge du milieu au jaune dans les deux tubes indique la fermentation du mannitol.

La mobilité est caractérisée par une diffusion autour de la strie d'ensemencement.

C. Recherche de la coagulase libre :

La coagulase libre est libérée hors du corps bactérien. Elle agit sur une globuline plasmatique voisine de la prothrombine. Elle coagule le plasma de l'homme aussi in vitro qu'in vivo.

0,5 ml de la suspension bactérienne sont mis en contact de 0,5 ml de plasma de lapin, puis, incubé à 37°C pendant 4 h . L'observation d'une coagulation est caractéristique de la coagulase liée. Le mélange est reincubé à 35°C pendant 24 heures afin de provoquer un choc thermique qui va pousser la bactérie à libérer sa coagulase.

Une coagulation, ainsi qu'une augmentation du volume est caractéristique d'une coagulase libre.

❖ **Identification des entérobactéries : [2] .**

L'identification des entérobactéries se fait grâce aux paramètres suivants :

A. Observation de la poussée sur le BCPL :

La poussée sur le BCPL révèle l'existence des colonies.

B. Réalisation d'un GRAM :

Pour connaître le type des bactéries, ses formes, et ses modes de regroupement , nous avons fait une coloration de GRAM.

C. Galerie biochimique :

Elle est réalisée par l'ensemencement des suspensions bactériennes sur les différents milieux tels que :

- **Milieu TSI (Triple Sugar Iron Agar) :** qui permet la mise en évidence de cinq caractères : Fermentation ou non du glucose, saccharose, lactose, production ou non d'H₂S et production ou non de gaz .

L'ensemencement a été fait en surface par des stries à l'aide d'une pipette pasteur *et en piqure centrale.*

- **Mannitol- mobilité :** permet d'étudier la fermentation du mannitol, ainsi que la mobilité. *L'ensemencement a été fait par piqure centrale et incubé à 37°C/24h*
- **Milieu citrate de simmons :** permet d'étudier la capacité des bactéries d'utiliser l'ion citrique comme unique source de carbone.

L'ensemencement a été fait à partir de la suspension bactérienne en surface par des stries, *puis incubé à 37°C pendant 24 h.*

- **Urée- indole :** permet de détecter si la bactérie possède ou non de l'urease, ainsi que la production ou non d'indole.

Quelques gouttes de la suspension bactérienne sont déposées dans le milieu urée indole, *puis incubé à 37°C / 24 h.*

- **Bouillon nitrate :** permet la recherche de la nitrate réductase, cette dernière réduit le nitrate en nitrite. *quelques gouttes de la suspension sont déposées puis incubé à 37°C / 24h*
- **Recherche de la B- galactosidase (réaction ONPG) :**

Cette recherche permet d'étudier la dégradation du lactose qui va se scinder par la B- galactosidase bactérienne en deux sucres simple : glucose et galactose.

L'ensemencement a été fait par l'introduction d'un disque imprégné du réactif : orthonitrophényl B- galactopyranoside (ONPG) dans un tube contenant la suspension bactérienne.

L'hydrolyse de l'ONPG en orthonitrophérol présente une coloration jaune très stable. *Ces milieux étaient incubés à 37°C pendant 24 h.*

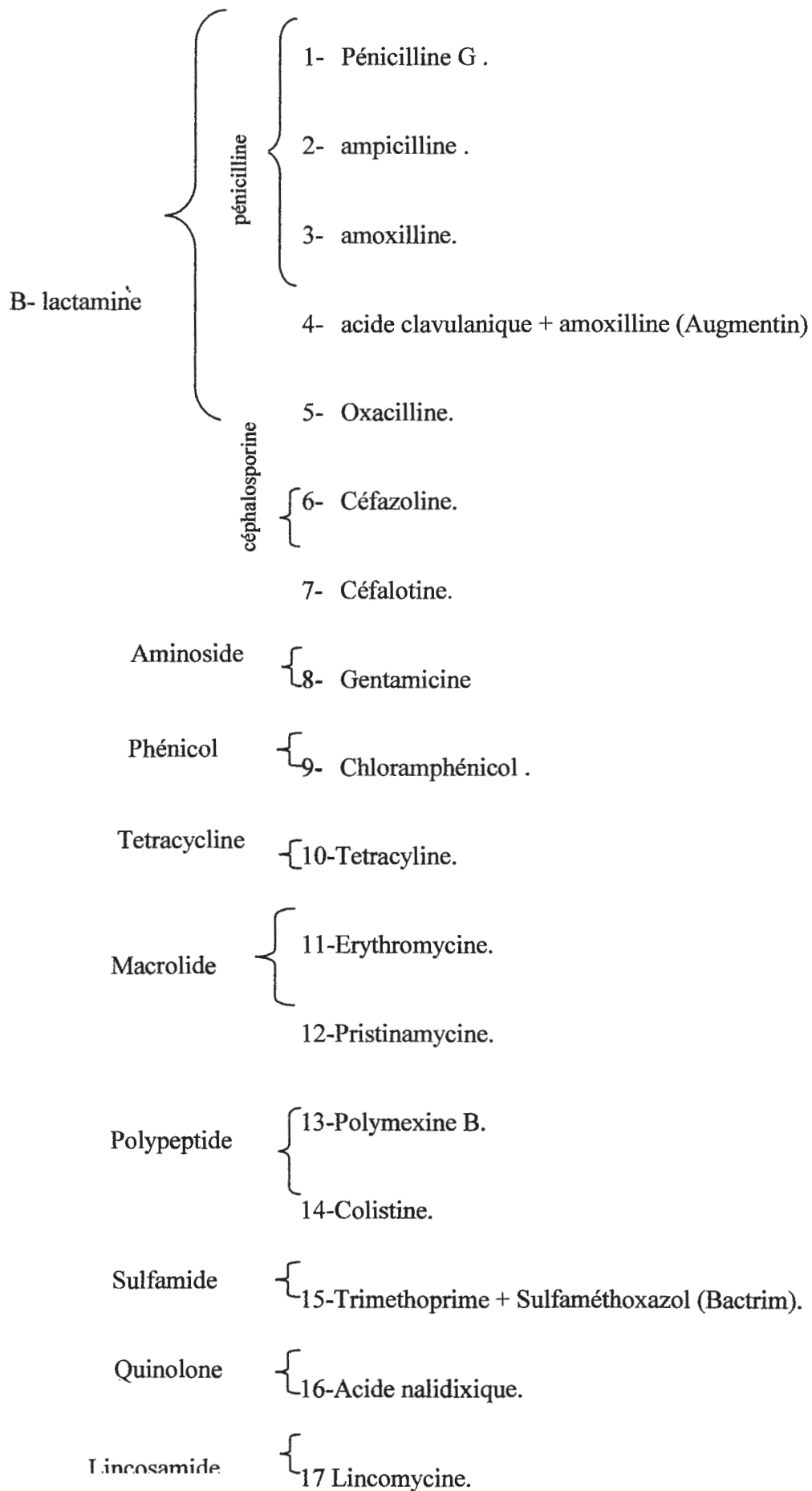
IV.2.5. Antibiogramme : [47] .

L'antibiogramme est un examen de laboratoire indispensable dans bien des cas. Il permet de définir les antibiotiques vis - à - vis des quels la souche bactérienne isolée est sensible ou résistante.

Il permet aussi de guider la prescription d'antibiotiques et la surveillance de la survenue et l'évolution des résistances acquises.

Il implique au préalable de pratiquer les prélèvements bactériologiques nécessaires de façon impérative avant le début d'une antibiothérapie.

L'antibiogramme standard pour tester le staphylocoque comprend les antibiotiques suivants :



Dans notre étude, la détermination de l'activité des antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion sur gélose.

❖ **METHODOLOGIE : [17] .**

Dans notre étude, nous avons utilisé la technique NCCLS .

Cette technique nécessite les conditions suivantes : gélose mueller - Hinton coulée en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm ; l'opacité de la suspension bactérienne doit être équivalente à 0,5 Mc Ferland ou une D.O de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm.

L'antibiogramme est effectué par les étapes suivants :

• **Préparation de l'inoculum :**

L'inoculum est préparé à partir d'une culture sur milieu d'isolement. Cette dernière doit être pure et jeune de 17 à 24 heures.

Quelques colonies sont raclées à l'aide d'une anse de platine, puis déposées dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9 %. Après une bonne homogénéisation de la suspension bactérienne, dont son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Ferland ou une D.O de 0,08 à 0,10 à 625 nm .

Remarque : L'inoculum peut être ajusté en ajoutant , soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

- L'ensemencement doit se faire dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum.

• **Ensemencement :**

L'ensemencement est réalisé par la méthode d'écouvillonnage.

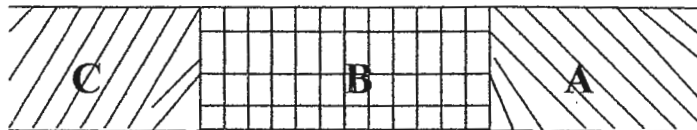
Un écouvillon stérile est trempé dans la suspension bactérienne, puis essoré en le pressant fermement sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum .L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface de la gélose (Mueller- Hint on) , par des gestes de haut en bas en stries serrées. L'opération est répétée deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui même et le passé sur la périphérie de la boîte.

• **Application des disques d'antibiotique :**

Cette Opération est faite grâce à un distributeur ou à l'aide d'une pince stérile immédiatement après écouvillonnage. Les 16 disques d'antibiotiques utilisés sont répartis en deux boîtes de Pétri.

- **Pré-incubation** : Les boîtes sont laissées pendant 30 minutes à température ambiante pour une meilleure diffusion de l'antibiotique .
- **Incubation** : Elle se fait dans l'étuve pendant 19 à 24 h à 37°C .
- **Lecture** : Le diamètre des zones d'inhibition est mesuré avec précision à l'aide d'un pied à coulisse métallique, à l'extérieur de la boîte fermée.
- **Interprétation** :
Les diamètres ainsi mesurés, sont comparés à des diagrammes de référence .
 - Lorsque le diamètre de la souche testée est plus grand que le diamètre critique, la souche est déclarée sensible.
 - Lorsque le diamètre de la souche testée est plus petit que le diamètre critique, la souche est déclarée résistante.
 - Lorsque le diamètre de la souche testée est égal au diamètre critique, la souche est déclarée intermédiaire.

Tableau de référence : (ANNEXE) .



C'est un diagramme comportant 3 zones ayant des diamètres bien définis ; préparés après des multiples travaux.

- 1- Une zone de sensibilité aux antibiotiques (c)
- 2- Une zone de résistance aux antibiotiques (A)
- 3- Une zone intermédiaire (B).

RESULTATS
ET
COMMENTAIRES

V-Résultats et commentaires:

V-1- Examen Cytobactériologique:

a-Staphylococcus aureus :

Les résultats des différents examens cytobactériologiques sont:

-L'examen macroscopique et microscopique :

Les colonies apparaissent sur le milieu Chapman de couleur jaune. Elle sont brillantes bombées, convexes à bord régulier de diamètre qui varie de 0,5 à 2 millimètre.

L'examen microscopique nous permis d'avoir des résultats plus détaillés.

Après observation microscopique (x40), les cellules ont un volume considérable. Elles sont disposées en petits amas, rondes et immobiles .

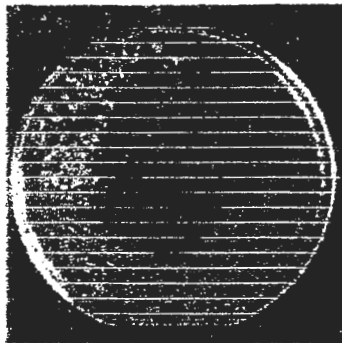


Photo. 01: Examen macroscopique de *S. aureus*.

Après coloration au bleu de méthylène, nous avons observé à l'aide du microscope (x 100) des cellules rondes avec un centre coloré (noyau).

Ces cellules sont des polynucléaires. Les bactéries de petites tailles sont colorées aussi au bleu. Elles sont regroupées en amas sous forme de grappe de raisin.



Photo.02 : *S.aureus* après coloration au bleu de méthylène.

La coloration de GRAM a révélé l'existence de nombreux amas bactériens sous forme de grappe de raisin, de couleur violette donc, il s'agit de bactéries GRAM (+)

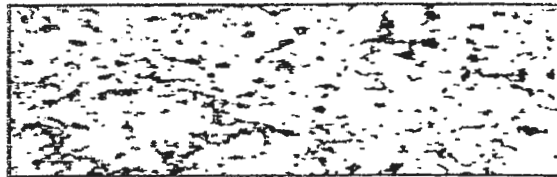


Photo.03 : *S.aureus* après coloration de GRAM.

b- Entérobactéries:

Les résultats des différents examens cyto bactériologiques sont:

-L'examen macroscopique et microscopique :

Les colonies sur le milieu BCPL sont de différentes formes et aspects : lisses, petites, larges, régulières parfois envahissantes qui forment un tapis uniforme.

L'examen microscopique nous permet d'avoir des résultats plus détaillés. Après observation microscopique, les bactéries apparaissent de différentes tailles selon le germe présent, mobiles ou immobiles avec des cellules plus grandes qui entourent ces derniers.

Après coloration au bleu de méthylène, nous avons observé au microscope optique (x 100) de grandes cellules. Leur centre est coloré au bleu (noyaux), il s'agit de polynucléaires.

Des bactéries très petites de forme bacillaire, regroupées en différentes formes (chaînette, isolé.....) sont aussi présentés.

La coloration de GRAM a révélé des bactéries bacillaires de couleur rose, regroupées en différentes formes donc, il s'agit des bactéries GRAM (-).

IV-2-Identification :

Pour une identification plus précise une galerie biochimique a été réalisée pour chaque germe isolé. Nous avons obtenus les résultats suivants:

- **Fermentation du milieu MEVAG :**

Les deux tubes de MEVAG déjàensemencés et incubés présentent une poussée bactérienne et un virage de couleur (rouge) vers le jaune. Il s'agit d'une acidification du milieu qui résulte de la fermentation du glucose par les deux voie ; oxydative et fermentaire. Ces bactéries sont aérobie- anaérobie facultatives.

- **Recherche de la catalase :**

Lors du contact de la colonie avec la goutte d'eau oxygénée, nous avons observé des bulles d'air. Ces dernières traduisent un dégagement gazeux.

- **Recherche de L'oxydase :**

Les disques d'oxydase non changés (couleur) indiquent que la bactérie isolée est

S. aureus.

- **Fermentation du mannitol-mobilité :**

Nous avons remarqué une poussée bactérienne tout au long de la piqûre centrale dans les deux tubes, ainsi qu'un virage de couleur (rouge) vers le jaune. Ce phénomène indique le changement du pH. Il s'agit de la fermentation du mannitol . Cette fermentation est caractérisée par la production d'acides . Nous avons remarqué aussi qu'il n'y a plus de diffusion autour de strie d'ensemencement , donc le germe est immobile .

- **La recherche de la coagulase libre :**

Après ré- incubation à 35 °c , nous avons obtenu un coagulum qui a doublé de volume, de couleur blanchâtre qui indique la présence d'une coagulase libre. Nos résultats nous permettent de confirmer notre identification .

Après incubation des différents milieux ensemencés à 37 °c pendant 24 H, nous avons obtenu les résultats suivants :

- Le milieu TSI indique la présence d'une fermentation de trois sucres (glucose, saccharose, et lactose)
- Le milieu mannitol-mobilité traduit la fermentation du mannitol ; et l'existence de la diffusion autour des stries d'ensemencement indique que les bactéries sont mobiles.
- Le milieu citrate de simmons indique que le citrate a été utilisé comme seule source de carbone par les bactéries.
- Le milieu urée- indole démontre l'existence d'uréase et la production d'indole.
- Après l'addition du réactif nitrate réductase I et nitrate réductase II, on constate une coloration rose indienne qui indique que les bactéries testées réduisent le nitrate.
- L'apparition de la couleur jaune dans le tube contenant la suspension bactérienne et le disque ONPG révèle la présence de la B- galactosidase.

Cette démarche nous a permis d'identifier les germes suivants:

E. coli, *Enterobacter sp*, *Klebsiella sp*, *Proteus sp*, *Yersinia sp*, *Acinitobacter sp*, *Pseudomonas sp* et des bacilles GRAM (-) ; pour ces derniers, leur galerie biochimique n'a été pas réalisé .

REMARQUE :

Sachant que l'*Acinitobacter sp* et *Pseudomonas sp* n'appartiennent pas à la famille des entérobactéries mais tant qu' ils existaient dans nos prélèvements ,nous les n'avons pas négligé.

-Les caractères biochimiques de ces germes sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau IV : Les caractères biochimiques des différents germes isolés.

Caractères Germe isolé	Gluc	Lact	SAC	Citr	Man	Mob	IND	Urée	ONPG	H ₂ S	NO ₂
<i>E.coli</i>	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+
<i>Enterobacter sp</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
<i>Klebsiella sp</i>	+	+	+	+	+	-	+/-	-	+	-	+
<i>Proteus sp</i>	+	-	+	+/-	-	+	+/-	+	-	+/-	-
<i>Yersinia sp</i>	+	+	+	-	+	+	+/-	+	+	-	+
<i>Acinitobacter sp</i>	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas sp</i>	+/-	-	-	-	+/-	+	-	-	+	+	-

Gluc : Clucose. **Lact** : Lactose. **SAC** : Saccharose . **Citr** : Citrate. **Man** : Mannitol.

Mob : Mobilité . **IND** : indole. **ONPG** :Orthonitrophényl B- galactopyranoside.

V. 3.Antibiogramme:

Notre travail s'étend sur une période de deux mois (Avril et Mai), au cours de laquelle, nous avons recueilli 203 prélèvements de différents services et natures.

Parmi ces prélèvements 51 sont positifs. Pour chaque prélèvement étudié, on a déterminé la nature du germe, ainsi que sa résistance vis-à-vis des antibiotiques habituellement testés.

IV.3.1. Résultats globaux :

▪ **Selon la région.**

Tous les prélèvements issus des deux hôpitaux sont regroupés dans le tableau (V).

Tableau.V : Résultats globaux selon la région.

Nature du prélèvement L'hôpital	Pus	Pv	L.C.R	L.p	L.a	Sang	TOTAL	Pourcentage
Mohamed Seddik BEN YAHIA à JIJEL.	33	21	11	7	2	49	123	60,59
MADJDOUB Said àTAHER.	19	21	29	9	2	0	80	39,40
TOTAL	52	42	40	16	4	49	203	100
Pourcentage	25,61	20,68	19,70	7,88	1,97	24,13	100	

Pv : prélèvement vaginal.

L.C.R : liquide céphalo-rachidien.

L.p : liquide pleural.

L.a : liquide d'ascite.

Nous remarquons que les prélèvements de l'hôpital de JIJEL sont beaucoup plus nombreux que ceux de TAHER, car ils représentent 60,59%.

- ✓ Parmi ces prélèvements, le pus se trouve en premier lieu avec un pourcentage de 25,61%, suivit du sang à 24,13% qui se trouve uniquement à JIJEL.
- ✓ Les prélèvements vaginaux et les liquides céphalo-rachidiens ont des taux moyens de 20,68% et 19,70% successivement.
- ✓ Les liquides pleuraux et d'ascites ont des proportions négligeables (7,88% et 1,97%).

Le schéma (7) reflète ces résultats :

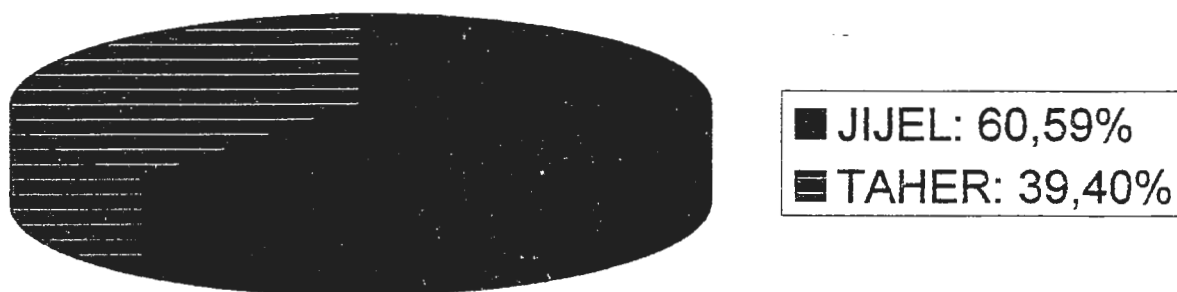


Schéma.7 : Répartition des prélèvements selon la région.

V.3.2. Résultats positifs:

▪ Selon la région :

Parmi les 203 prélèvements 51 cas sont positifs. Ils sont représentés dans le tableau VI.

Tableau.VI : Résultats positifs selon la région.

Nature du prélèvement L'hôpital	Pus	Pv	L.C.R	L.p	L.a	Sang	TOTAL	Pourcentage
Mohamed Seddik Ben Yahia. Jijel	17	2	0	0	0	4	23	45,09
Madjdoub Said Taher	16	10	0	1	1	0	28	54,90
TOTAL	33	12	0	1	1	4	51	100
Pourcentage	64,70	23,52	0	1,96	1,96	7,84	100	

Nous remarquons que plus de prélèvements sont isolés au niveau de l'hôpital du TAHER avec un pourcentage de 54,90%.

Nos résultats montrent que le pus est le prélèvement le plus étudié avec un pourcentage de 64,70% au niveau des deux laboratoires, suivi du prélèvement vaginal qui représente 23,52%. Les autres prélèvements ont des proportions négligeables qui varient de 7,84% pour le sang et 1,96% pour le liquide pleural et d'ascite.

Ces résultats sont probablement dûs au fait que les surinfections sont généralement liées à des bactéries productrices de pus. Ces bactéries souvent commensales deviennent pathogènes après avoir colonisées un site tel qu'une plaie opératoire.

La répartition des résultats positifs selon l'hôpital est représentée par le schéma suivant :

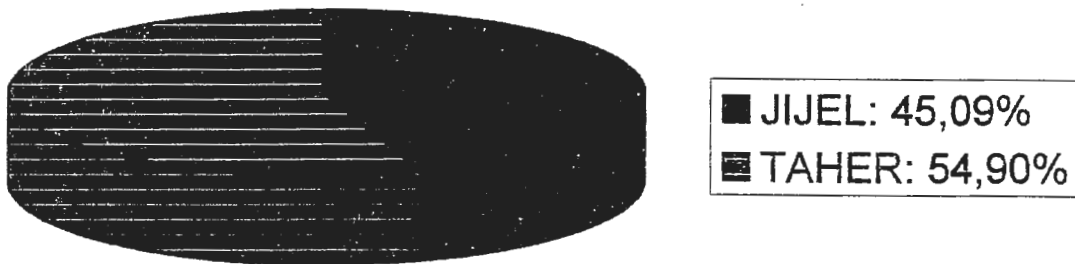


Schéma.8 : Résultats positifs selon la région.

V.3.3. Résultats liés à la multirésistance des bactéries:

- **Selon la région :**

Les résultats positifs liés aux germes multirésistants sont répartis selon la région et représentés dans le tableau suivant :

Tableau.VII : Résultats positifs liés aux germes multi-résistants.

Résultats L'hôpital	TOTAL	Pourcentage
Mohamed Seddik Ben Yahia JIJEL	19	43,18
Madjdoub Said TAHER	25	56,81
TOTAL	44	100

Nous constatons que le plus grand nombre de germes multirésistants se trouve au niveau de l'hôpital de TAHER avec un pourcentage de 56,81%.

Cette constatation est mieux présentée dans le schéma (9) :

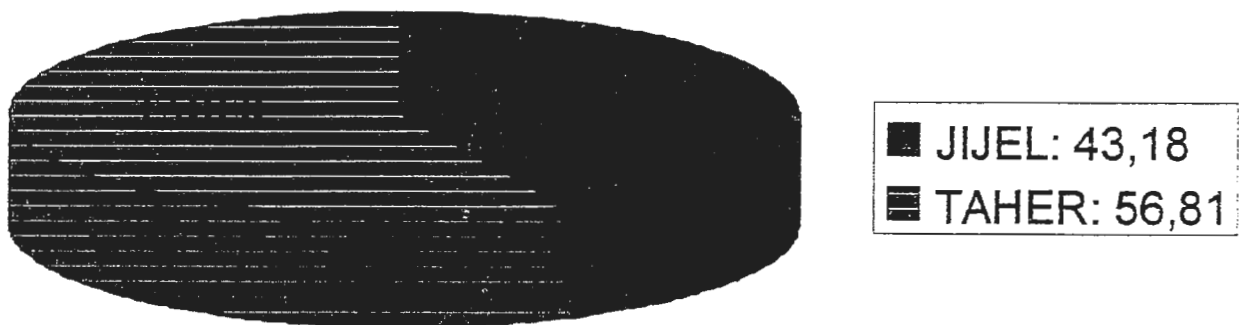


Schéma.9 : Répartition des résultats positifs liés aux germes multirésistants.

- Selon le sexe.

Les résultats selon le sexe sont représentés dans le tableau VIII.

Tableau.VIII : Résultats selon le sexe.

Sexe du patient	Nb de prélèvement	Nombre de prélèvement	Pourcentage
Homme		25	56,81
Femme		19	43,18
TOTAL		44	100

Nous remarquons que les germes multirésistants sont isolés chez les hommes avec des proportions plus élevés (56,81%) par rapport aux femmes (43,18%).

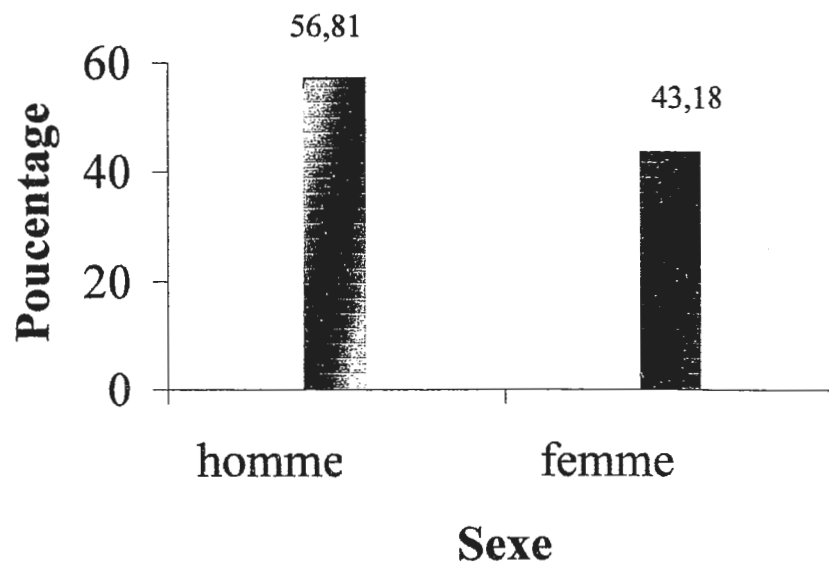


Schéma.10 : La représentation des résultats liés à la multirésistance des germes selon le sexe.

• Selon le mois :

Les résultats selon le mois sont représentés dans le tableau IX.

Tableau.IX : Résultats selon le mois.

Mois	Nombre de prélèvements	Pourcentage
Avril	21	47,72
Mai	23	52,27
TOTAL	44	100

Le taux de positivité est variable selon le mois nous constatons que ce taux est plus élevé pour le mois de Mai, ceci est probablement lié au fait que les saisons chaudes sont les plus en rapport avec l'extension des épidémies. En effet la chaleur et l'humidité favorisent le développement des bactéries (germe en générale), et donc le risque de contamination est plus élevée.

Ces résultats sont bien élucidés dans le schéma 11.

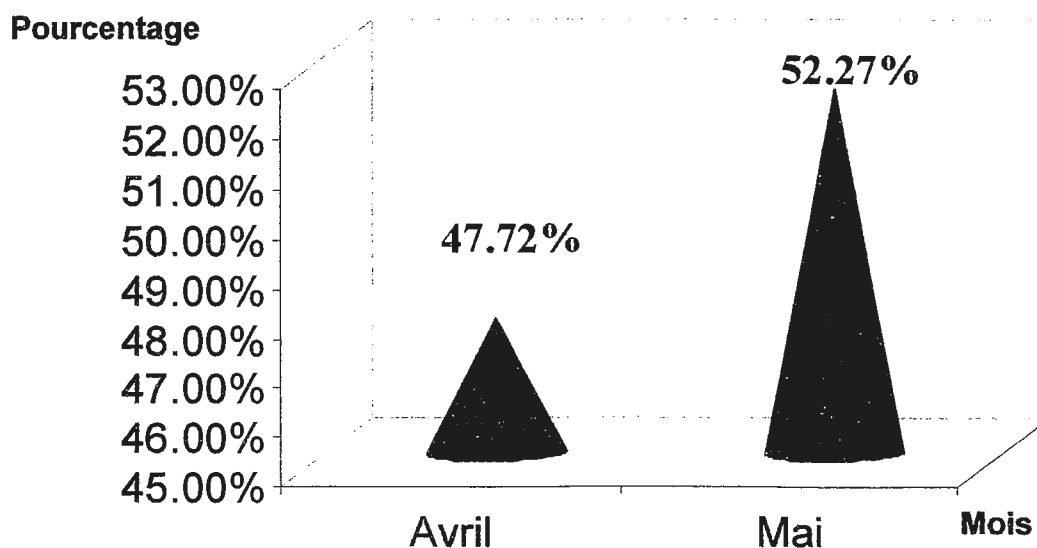


Schéma.11 : Résultats positifs liés aux germes multirésistants selon le mois.

- Selon la nature du prélèvement.

Les résultats selon la nature du prélèvement sont illustrés dans le tableau X :

Tableau.X : Résultats selon la nature du prélèvement.

Nature du prélèvement	Nombre de prélèvement	Pourcentage
Pus	29	65,90
Pv	9	20,45
L.C.R	0	0
L.P	1	2,27
L.a	1	2,27
Sang	4	9,09
TOTAL	44	100

Nous remarquons que la majorité des prélèvements étudiés sont du pus à 65,90%, suivi par les prélèvements vaginaux à une proportion de 20,45%, les autres prélèvements ont des taux négligeables.

Le schéma (12) reflète ces résultats :

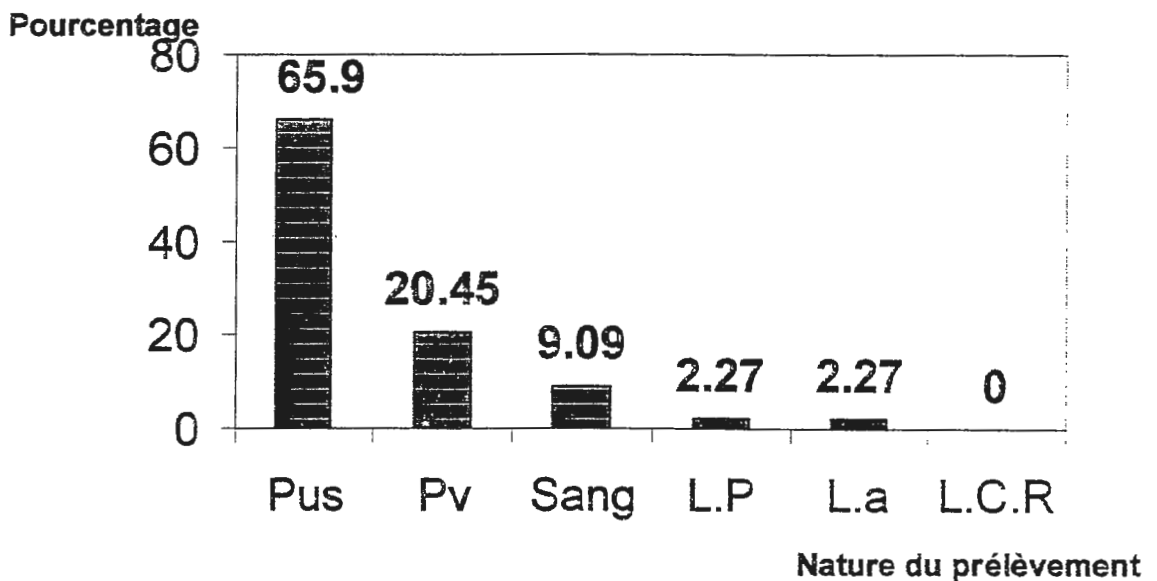


Schéma.12 : Résultats positifs des germes multirésistants selon la nature du prélèvement.

• Selon les germes isolés :

Le tableau XI représente la répartition des germes multi-résistants isolés.

Tableau XI: répartition des germes multi-résistants

Germes isolés	Nombre	Pourcentage %
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	23,40%
<i>Proteus sp</i>	12	25,53%
<i>E.coli</i>	10	21,27%
<i>Enterobacter sp</i>	4	8,51%
<i>Acinitobacter sp</i>	2	4,25%
<i>Klebsiella sp</i>	1	2,12%
<i>Pseudomonas sp</i>	2	4,25%
<i>Bacille G⁻</i>	4	8,51%
<i>Yersinia sp</i>	1	2,12%
TOTAL	47	100%

NB : 47 germes multirésistants sont isolés à partir de 44 prélèvements .

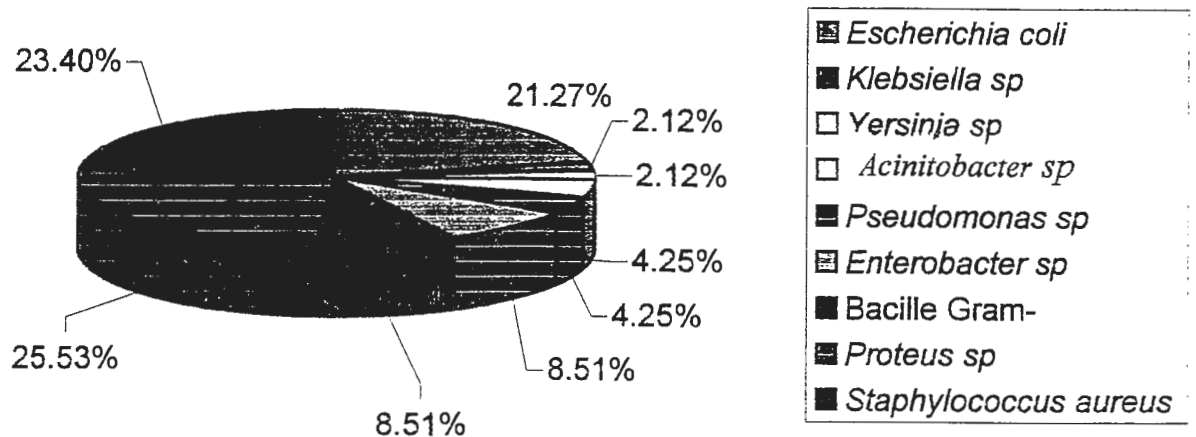


Schéma.13 : La répartition des germes multi -résistants isolés.

Nous remarquons que les trois germes les plus fréquemment rencontrés dans ces infections sont *Proteus sp*, *S.aureus* et *E.coli*.

a.Pour les services étudiés :

La répartition des germes selon les services étudiés est démontrée dans le tableau.XII.

Tableau.XII : Répartition des germes selon les services étudiés.

Service bactérie	Médecine interne	Pédiatre	Chirurgie	Ortho- Traumatologie	Réanimation	Pneumo- Phtisiologie	gynecologie	infectieux
<i>Staphylococcus aureus</i>	45,45%	-		36,36%	-	-	18,18%	-
<i>Proteus sp</i>	58,33%	-	8,33%	8,33%	-	16,66%	8,33%	-
<i>Escherichia coli</i>	40%	-	-	10%	-	20%	30%	-
<i>Enterobacter sp</i>	-	25%	-	-	25%	-	25%	25% 67
<i>Acinitobacter sp</i>	100%	-	-	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella sp</i>	-	-	-	100%	-	-	-	-
<i>Pseudomonas sp</i>	-	-	-	50%	-	50%	-	-
<i>Yersinia sp</i>	100%	-	-	-	-	-	-	-
Bacille Gram-	75%	25%	-	-	-	-	-	-

Nous remarquons que *S. aureus* est isolé uniquement à partir des services de médecine interne, ortho-traumatologie et la gynécologie avec le plus grand pourcentage pour le premier service. Concernant les autres services étudiés leurs taux est relativement faible.

Les autres bactéries se trouvent beaucoup plus au niveau de la médecine interne et se répartissent dans les autres services à des taux différents. Il faut signaler qu'il est normal de trouver le service de médecine interne, en première position 47,92 % car il s'agit de patients souvent diabétiques donc plus sensibles aux infections surtout à germes multi-résistants.

La répartition des 3 germes les plus fréquents : *Proteus sp*, *S. aureus* et *E. coli* selon le service est représentée dans les schémas 14 ,15,16 successivement :

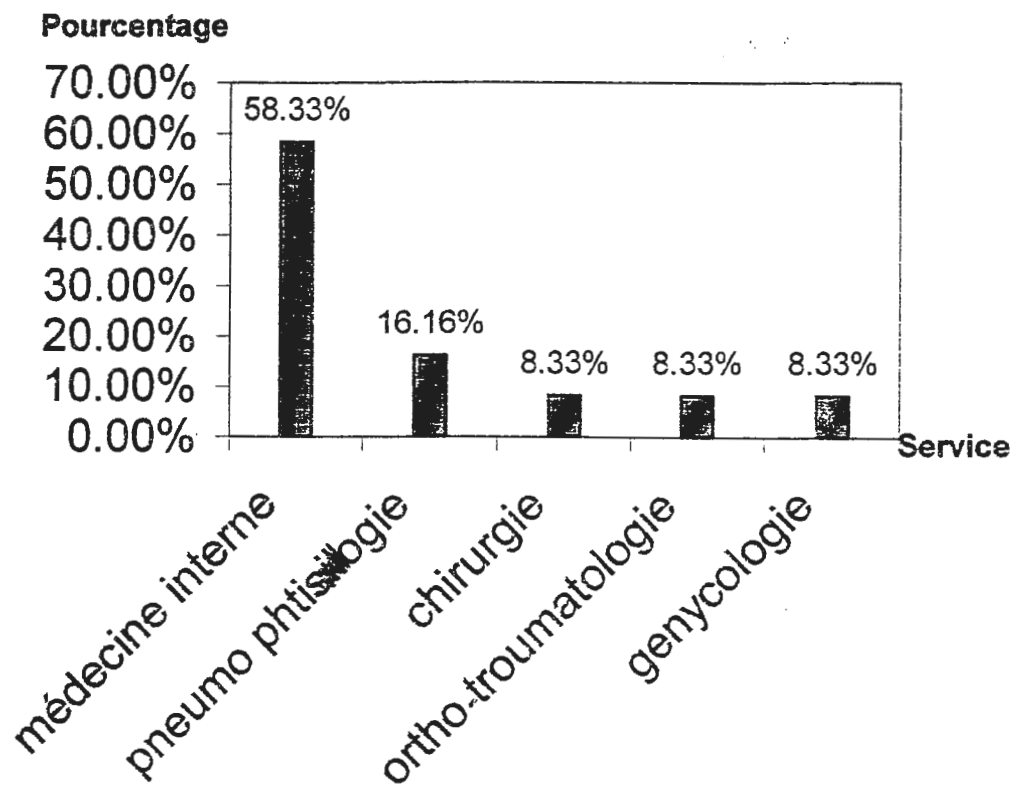


Schéma.14 : répartition de *Proteus sp* selon les services.

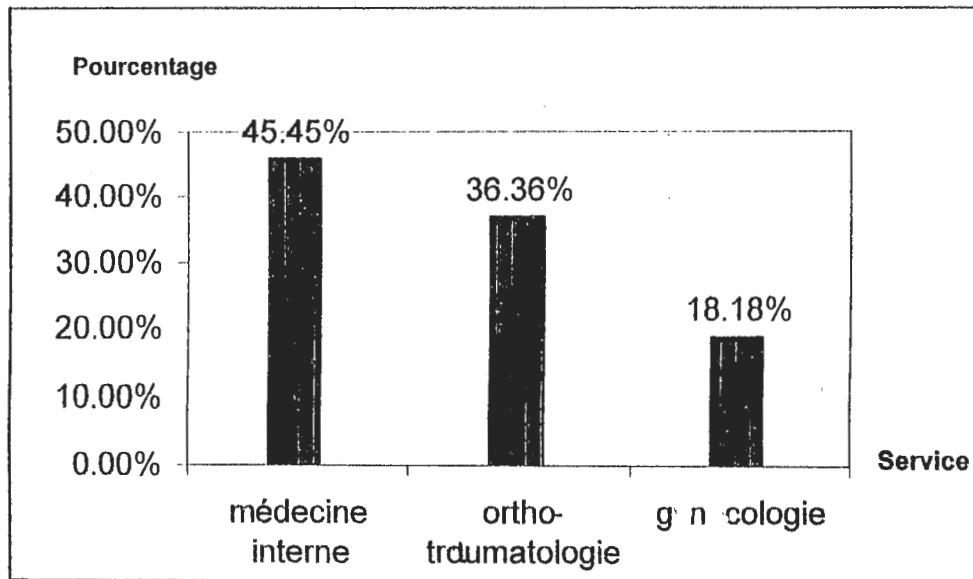


Schéma.13 : Répartition de *S.aureus* selon les services.

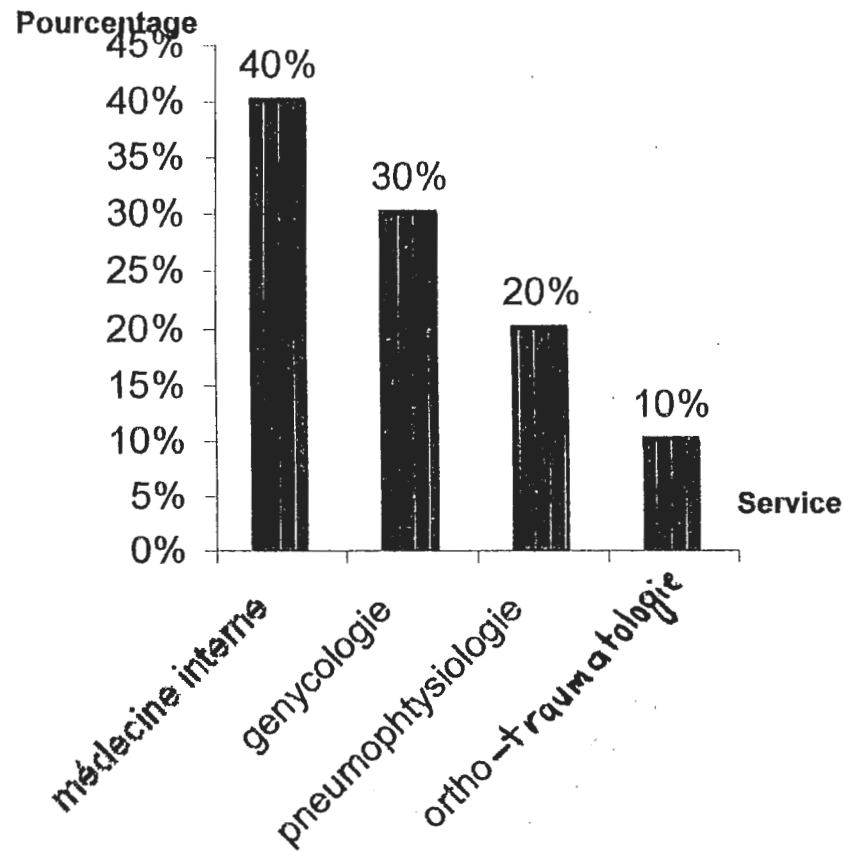


Schéma.16: Répartition de *E. coli* selon les services.

b. Pour les prélèvements étudiés :

Les bactéries isolées pour chaque type de prélèvement sont réparties dans le tableau XIII

Tableau XIII : Répartition des germes selon les prélèvements.

Bactéries en Nature pourcentage du prélèvement	<i>S.aureus</i>	<i>Proteus sp</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Enteroacter sp</i>	<i>Acinitobacter sp</i>	<i>Klebsiella sp</i>	<i>Pseudomonas sp</i>	<i>Bacille Gram⁻</i>	<i>Yersinia</i>	TOTAL
Pus	28,12%	28,12%	12,5%	6,25%	6,25%	3,12	6,25	6,25	3,12	100
Prélèvement vaginal	11,11	22,22	55,55	11,11	-	-	-	-	-	100
Liquide pleural	-	-	100	-	-	-	-	-	-	100
Liquide d'ascite	100	-	-	-	-	-	-	-	-	100
Sang	-	25	-	25	-	-	-	50	-	100

Nos résultats montrent que les différents prélèvements sont colonisés par différents germes : *Staphylococcus aureus* prédomine dans le pus avec un taux de 28,12% suivi de *Proteus sp*, et *Escherichia coli* avec une proportion de 12,5%. Ce phénomène s'explique par la facilité de colonisation des surfaces cutanées et qui provoquent par suite le pus comme une réaction primaire.

Les bactériémie liées à *S. aureus* sont introuvables. Notre étude montre que 50% des germes qui provoquent une septicémie sont des bacilles Gram⁻. Le germe trouvé dans le liquide d'ascite est un *S. aureus*.

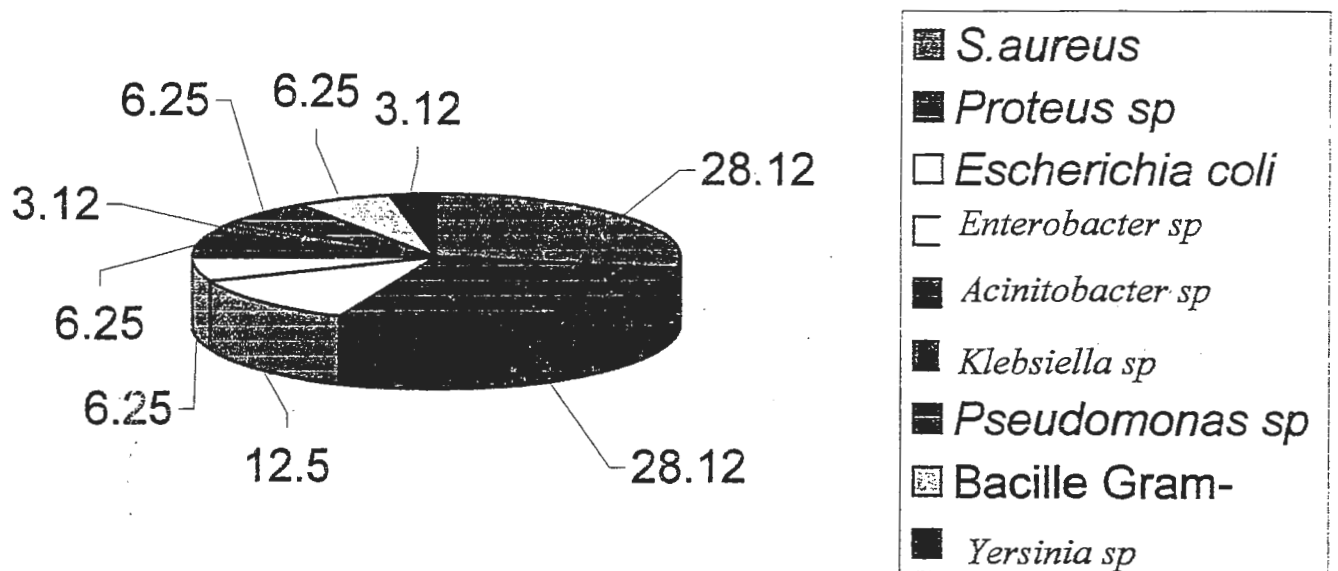


Schéma.17 : Répartition des germes dans le pus.

- **Selon la résistance aux antibiotiques.**

Nos résultats montrent que *S. aureus*, *Proteus sp* et *Escherichia coli* sont les plus isolés, avec les pourcentages les plus grand. Pour ces raisons, nous nous sommes intéressées à leur résistance vis-à-vis des différentes familles d'antibiotiques habituellement testés.

↳ ***Staphylococcu aureus* :**

La résistance au antibiotique de ce germe est représentée dans le tableau XIV et le schéma 18.

Tableau.XIV: Résistance de *S. aureus*.

Antibiotiques		Bactérie	<i>S. aureus</i>	Pourcentage
B-Lactamine		Pénicilline		
		Pénicilline	7	63,63
		Ampicilline	8	72,72
		Amoxicilline	6	54,54
		Augmentin	-	-
		Oxacilline		
		Céphalosporine		
		Céfazoline	2	18,18
		Cefalotine	2	18,18
Aminoside		Gentamicine	6	54,54
Phenicol		Chloramphénicol	1	9,09
Tetracycline		Tétracycline	3	27,27
Macrolide		Erythromycine	7	63,63
		pristinamycine	-	-
Polypeptide		Polymixine	4	36,36
		Colistine	7	63,63
Sulfamide		Bactrim	3	27,27
Quinolone		Acide nalidixique+ colistine	5	45,45
Lincosamide		lincomycine		

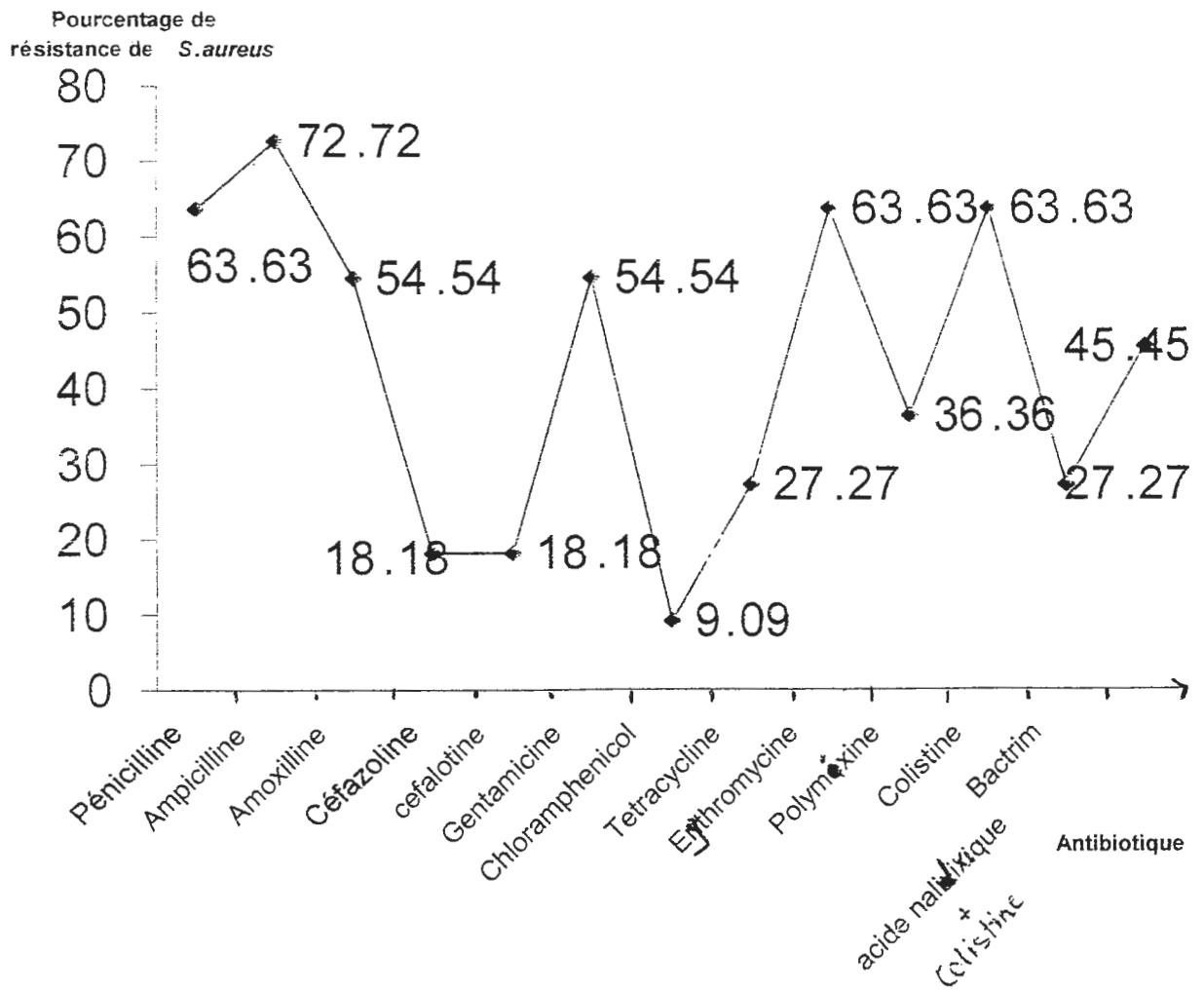


Schéma.18 : Résistance de *S.aureus* .

↳ *Proteus sp*:

La résistance de *Proteus sp* est représentée dans le tableau XV et le schéma 19

Tableau.XV: Résistance de *Proteus sp*.

Antibiotiques		Bactérie	<i>Proteus ps</i>	Pourcentage
B-Lactamine	Pénicilline			
		Pénicilline	7	58,33
		Ampicilline	8	66,66
		Amoxilline	8	55,66
		Augmentin	7	58,33
		Oxacilline		
	Céphalosporine			
		Céfazoline	10	83,33
		Céfalotine	3	25
Aminoside	Gentamicine		7	58,33
Phénicol	Chloramphénicol		11	91,66
Tetracycline	Tetracycline		2	16,66
Macrolide	Erythromycine		7	58,33
	Pristinamycine		5	41,66
Polypeptide	Polymixine		9	75
	Colistine		11	91,66
Sulfamide	Bactrim		7	58,33
Quinolone	Acide nalidixique+colistine		5	41,66
Lincosamide	Lincomycine			

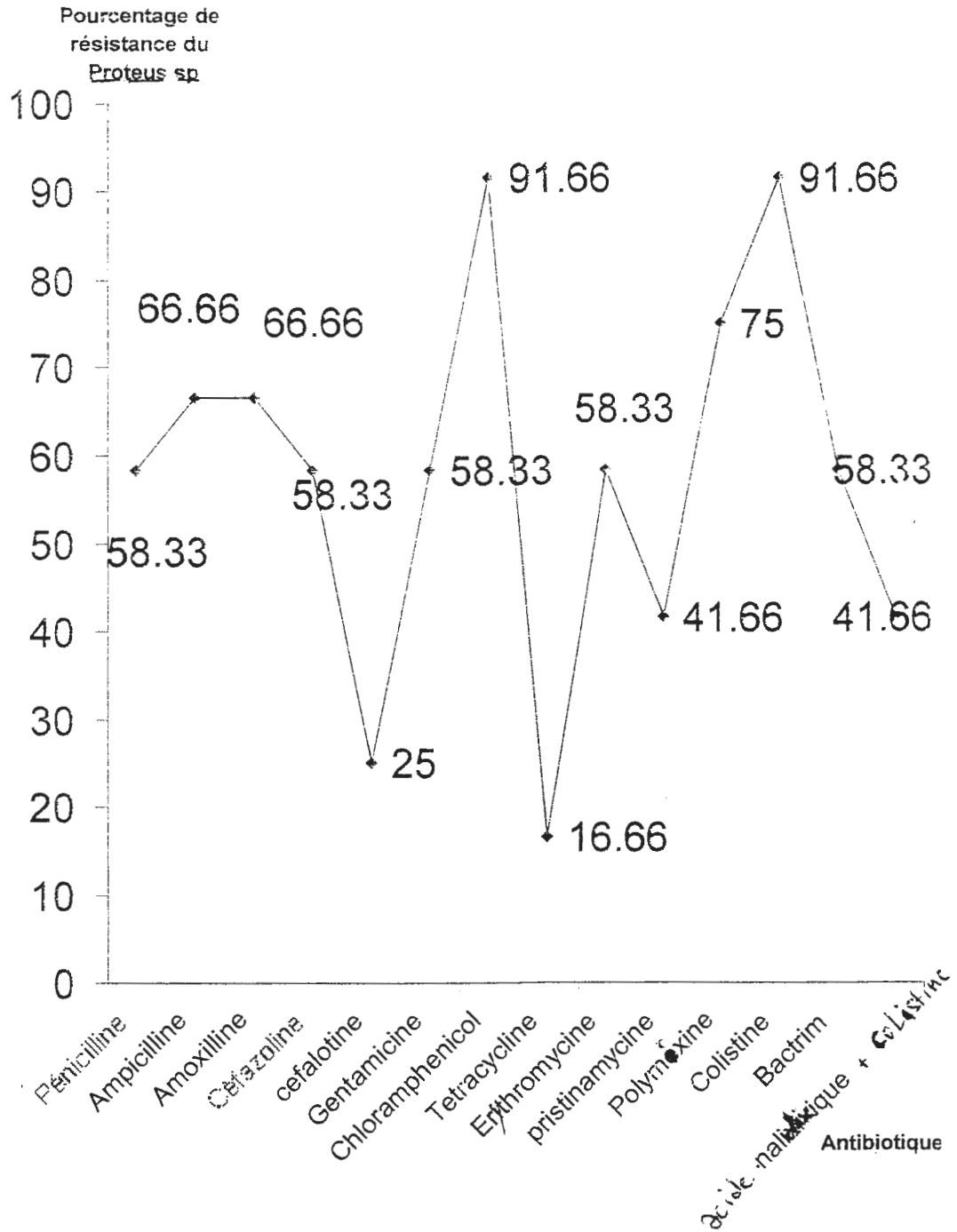


Schéma. 19 : Résistance du *Proteus sp*.

↳ *Escherichia coli* :

La résistance est représentée dans le tableau suivant:

Tableau XVI: Résistance d'*Escherichia coli* .

Antibiotiques		Bactérie	<i>E.coli</i>	Pourcentage
B-Lactamine	Pénicilline			
		Pénicilline	6	100
		Ampicilline	6	100
		Amoxilline	5	83,33
		Augmentin	5	83,33
		Oxacilline		
		Céphalosporine		
		Céfazoline	4	66,66
		Cefalotine	1	16,66
Aminoside	Gentamicine	-	-	
Phénicol	Chloramphénicol	4	66,66	
Tetracycline	Tetracycline	2	33,33	
Macrolide	Erythromycine	2	33,33	
	pristinamycine	3	50	
Polypeptide	Polymixine	4	66,66	
	Colistine	6	100	
Sulfamide	Bactrim	6	100	
Quinolone	Acide nalidixique+colistine	5	83,33	
Lincosamide	lincomycine			

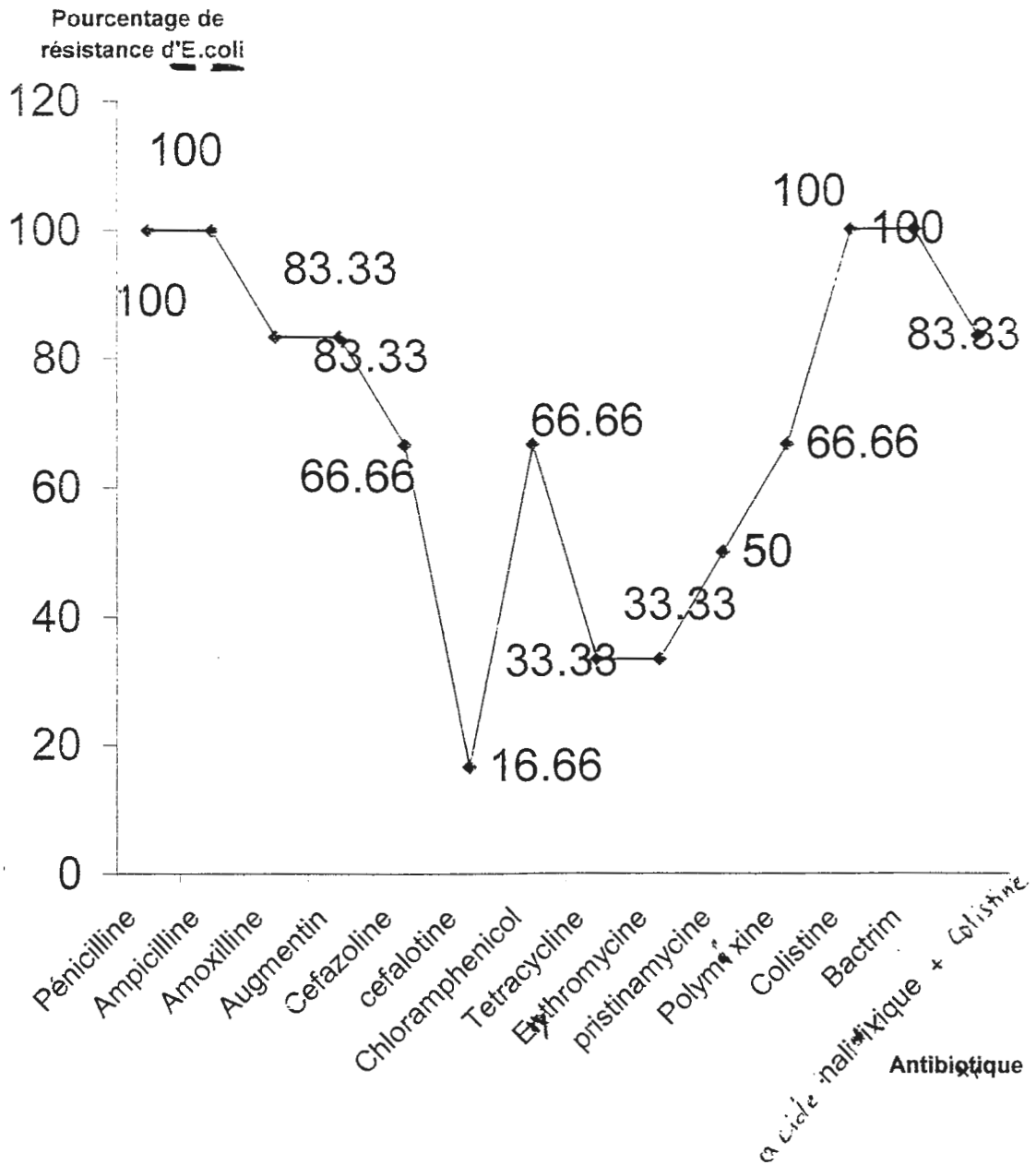


Schéma.20 : Résistance d'E.coli.

Commentaire:

Nous remarquons que la résistance varie en fonction de la famille d'antibiotique et de la souche étudiée

1. B-Lactamine :

Nous notons que la résistance aux antibiotiques de la famille des B-Lactamines, surtout les pénicillines est modérée avec un taux de 63,63%.

Les souches de *Staphylococcus aureus* isolées, ont une plus grande résistance à l'ampicilline 72,72%. Par contre ces souches sont sensibles à l'action de l'augmentin.

Proteus sp est résistant à 62,49% et *Escherichia coli* à 91,66% à cet antibiotique.

Les céphalosporines sont très efficaces sur *S.aureus*, mais elles le sont moins pour *Proteus sp* et *Escherichia coli* (taux de résistance est de 54,16% et 41,66% successivement).

2. Aminoside :

La gentamicine est active sur les souches d' *E. coli* isolées, mais le taux de résistance à cet antibiotique est de 58,33% et 54,54% pour *Proteus sp* et *S. aureus* .

3. Phénicol :

La majorité des souches de *S.aureus* sont sensibles au chloramphénicol (résistance de 9,09%). La quasi totalité des souches de *Proteus sp* et de *E. coli* sont résistantes à cet antibiotique.

4. Tetracycline :

La résistance varie de 33,33% pour *E. coli*, 27,27% pour le *S. aureus* et enfin 16,66% pour *Proteus sp*.

5. Macrolide :

S.aureus est sensible à l'action de la pristinamycine, mais il résiste à l'érythromycine avec un taux de 63,63%, 49,99% de *Proteus sp* résiste aux macrolides, ainsi que 44,66% *E. coli*.

6. Polypeptide :

49,99% des souches de *S. aureus* isolées, sont résistantes à l'action des polypeptides ainsi que 83,33% de *Proteus sp* et *E. coli*.

7. Sulfamide :

S. aureus résiste au Bactrim avec un taux de 27,27% et 58,33% pour le *Proteus sp* et 100% d'*E. coli*.

8. Quinolone :

Les *E.coli* isolées sont très résistantes (83,33%). La résistance des *S.aureus* et *Proteus sp* se rapproche avec des taux de 45,45% et 41,66% successivement.

Remarque :

Pour la famille des Linocosamide ainsi que l'oxacilline nous n'avons pas pu calculer le pourcentage de la résistance (pour les trois souches) parce que ces antibiotiques ne sont utilisés qu'au niveau du laboratoire de JJEL.

CONCLUSION

Conclusion :

Malgré les progrès de l'antibiothérapie, les infections hospitalières restent toujours redoutables, et causent de plus en plus de dégâts.

Notre travail s'intéresse aux infections nosocomiales, à *Staphylococcus aureus* au niveau de deux hôpitaux de la Wilaya de JIJEL.

Nos résultats montrent que les germes les plus isolés sont *Proteus sp*, avec un taux de 25,53%, suivit de *Staphylococcus aureus* à 23,40%, et enfin *Escherichia coli* avec 21,25%.

Ces infections touchent beaucoup plus les hommes que les femmes avec une proportion de 56,91%. Ces dernières ont augmenté au mois de Mai par rapport au mois d'Avril avec un pourcentage de 52,72%. Ce phénomène est dû probablement à la chaleur et l'humidité qui favorisent le développement des micro-organismes.

Notre étude montre que ces germes sont les plus isolés, mais au niveau du service de médecine interne avec un taux de 47,92%. En effet ce service comporte le plus grand nombre de malades immunodéprimés particulièrement les diabétiques.

L'ortho-traumatologie à 18,23% occupe la deuxième position. Les infections dans ce service sont causées par les interactions chirurgicales, lors de l'implantation du matériels étrangers comme les prothèses.

Enfin, un taux de 18,83% caractérise le service de gynécologie, les infections dans celui-ci sont principalement manuportées par les sages femmes au moment de l'accouchement.

L'importance des infections nosocomiales en terme de mortalité et de morbidité et aussi de surcoût, qu'il soit direct ou indirect, justifie les pré-occupations des pouvoirs publiques qui tendent à mieux structurer leur contrôle.

Dans ce domaine, comme pour la plupart des pathologies humaines, la prévention reste le moyen le plus efficace à mettre en œuvre.

C'est la raison pour laquelle les efforts de l'état se concrétisent pour une aide au développement du CCLIN dans les hôpitaux.

C'est la multi-résistance des germes hospitaliers qui est l'actuel grand défi de la stratégie national d'organisation de la lutte contre les infections dans tout notre tissus hospitalier.

L'hygiène hospitalière apparaît comme un devoir dans la finalité n'est autre que d'assurer à tous ceux qui fréquentent l'hôpital, l'amélioration, sinon la conservation de leur état de santé.

Bibliographie

1. ABRKANE A/ELHAMID, juin 2003- Infirmiers. Revue mensuelle de la société Algérienne « les paramédicaux » N°02.
2. AVRIL J.L., DABERNAT H., DENIS F., et MONTEIL H., 1992- Bactériologie clinique. Editions copyright (2^{ème} édition).
3. BROSSARD H., et MARIE C.G. Bactériologie (programme de 1^{er} F7).
4. CARBONNELLE B., DENIS F., MARMONIER A., PINON G., et VARGNES R., 1987. Bactériologie médicale (techniques usuelles) Editions . Simep SA, (2^{ème} tirage).
5. CHERAITIA MOUHAMED, Promotion 1996-1998. Prévention d'infection nosocomiale en milieu chirurgical (Post-opératoire) (Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme d'état).
6. DIDIER R. dictionnaire des maladies infectieuses.
7. DJELOUAT S., 1990. Le diagnostic biochimique bactérien. Edition Sciences et techniques. Constantine.
8. EBERLIN T., 1997. Les infections microbiennes. Editions Nathan, Paris.
9. EBERLIN T., 1997. Les infections microbiennes. Editions nathan, Paris. (Tome 2).
10. EYQUEM A., ALOUF T., et MONTAGNIER L., 1998. Traité de microbiologie clinique. Editions Italie.
11. Infirmier. Revue mensuelle de la société Algérienne. Les paramédicamaux N°2. Juin 2003.
12. KEZZAL KAMEL. 1993. Les antibiotiques. Editions office des publications universitaires.
13. LEON le Minor, et VERON MICHEL. Bactériologie médicale. 2^{ème} édition.

14. LOUNIS MOUHAMED, 2002-2003, Pratique du lavage des mains à l'hôpital de JIJEL. (Mémoire en vue de l'obtention du certificat d'étude spécialisée en hygiène d'épidémiologie hospitalière).
15. PILET CH., BOURDON J-L, TOMA B, MARCHAL N., et BALBASTRE C., 1979. Bactériologie médicale et vétérinaire (systématique bactérienne). Eur. Doin. (2^{ème} édition).
16. PRESCOTT., HARLEY., KLEIN., 1995. Microbiologie, De boeck wesmoel S.A, Bruxelles.
17. Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS, 2003, 3^{ème} édition.
18. SVTRAL, FEDERIGHI M., et JOUVE J.L, 1998. Manuel de bactériologie alimentaire Editions Polytechnica.
19. VEYSSIER P., DOMART Y., et LIEBBE A-M., 1996-1998. Infections nosocomiales. Edition MASSON, Paris. (2^{ème} édition).
20. YAHI, 1997. L'antibiotique spécifique adaptée. Editions BERTI.

Site Web

[http:// www.gov.mb.ca/health/public health/cdc/fs/mrsa.Fr.Pdf](http://www.gov.mb.ca/health/public_health/cdc/fs/mrsa.Fr.Pdf)

[http:// www.cyberSciences.com/cyber/3.0/N2660.asp](http://www.cyberSciences.com/cyber/3.0/N2660.asp)

[http:// www.infirmiers.com/étudiants/cours/pharmaco/antibiotique.php4](http://www.infirmiers.com/étudiants/cours/pharmaco/antibiotique.php4)

Annexe I

Fiche de renseignement :

- **Date :**.....
- **N° :**.....
- **Nature de prélèvement :**.....**Analyses demandées :**.....
- **Service :**.....
- **Nom :**.....
- **Prénom :**.....
- **Age :**.....
- **Chambre :**.....**Lit :**.....
- **Docteur :**.....

Annexe II

Les milieux de culture :

- ☞ Bouillon BGT.
- ☞ Milieu de chapman.
- ☞ Mueller-Hinton.
- ☞ Milieu Mannitol-mobilité.
- ☞ Milieu BCPL.
- ☞ Milieu citrate de simmons

1. Bouillon BGT :

Peptone.....	20g
Extrait de viande.....	2g
Chlorure de Sodium.....	2,5g
Phosphate monopotassique.....	0,7g
Phosphate disodique.....	8,3g
Glucose.....	4g
pH : 7,7.....	

2. Milieu de chapman :

- Composition en grammes par litre d'eau distillée :

Extrait de viande.....	1g
Chlorure de sodium.....	75g
Peptone.....	10g
Gélose.....	15g
Mannitol.....	10g
Rouge de phénol.....	0,025g

3. Milieu de citrate de simmons :

- Composition en grammes par litre d'eau distillée :

Sulfate de magnésium.....	0,2g
Citrate de Sodium.....	2g
Chlorure de sodium.....	5g
Phosphate d'ammonium.....	0,2g
Phosphate d'ammonium monosodique.....	0,8g
Bleu de bromothymol.....	0,08g
Agar.....	15g

4. Milieu de Mueller-Hinton :

- Composition en grammes par litre d'eau distillée :

Infusion de viande de bœuf déshydratée	300g
Hydrolysate de caséine	17,5g
Amidon de maïs	1,5g
Agar-agar	13g
Eau distillée	1000ml
pH final	7,2-7,4

5. Milieu mannitol-mobilité :

- Formule en grammes par litre d'eau distillée.

Peptone	5g
Nitrate de Potassium	3g
Mannitol	10g
Rouge de phénol à 1%	25mg
Agar	15g

6. Milieu BCPL :

- Composition en grammes par litres d'eau distillée :

Peptone	5g
Extrait de viande	3g
Lactose	10g
Pourpre en bromocrésol	25mg
Agar	15g
pH	7g

Annexe 03

Tableau de référence :

Famille	Antibiotiques	Charge Du disque	Signe	Résultats			Concentration Critique mg/l
				S \geq	I	R<	
B- Lactamine	pénicilline						
	1. pénicilline G	6 μ g	P	29	-	8	0,25-16
	2. Ampicilline	10 μ g	AM	17	-	11	4-16
	3. Amoxicilline	25 μ g	AMX	21	-	14	4-16
	4. Augmentin	20 μ g+10 μ g	AMC	21	-	14	4-16
	5. Oxacilline	5 μ g	OX	20	-	20	2
	Cephalosporine						
	1. Cefazoline	30 μ g	Cz	18	-	12	8-32
	2. Cefalotine	30 μ g	Cf	18	-	12	8-32
Aminoside	Gentamicine	15 μ g	GM	16	-	14	4-8
Phénicol	Chloramphénicol	30 μ g	C	23	-	19	8-16
Tetracycline	Tetracycline	30 μ I	TE	19	-	17	4-8
Macrolide	Erythromycine	15 μ I	E	22	-	16	1-4
	Pristinamycine	15 μ g	Pt	19	-	19	2
Polypeptide	Polymexine B	50 μ g	pB	15	-	15	2
	Colistine	50 μ g	cs	11	-	8	2

ANNEXES

Sulfamide	Bactrim	1,25 µg + 23,75 µg	Sxt	16	-	10	T : 2-8 Su : 38-152
Quinolones	Acide nalidixique	30 µg	Na	20	-	15	8-16
Linosamide	Lincosamyde	15 µg	L	22	-	16	2-8

ERRATAUME

Page	Ligne	Erreur	Correction
19	5	fréque mm ent associes.	fréque mm ent associés.
21	17	-des antigènes utiliseés . - <i>edidermidis</i> .	-des antigènes utilisés. - <i>epidermidis</i> .
26	7	mal soigné.	mal soignée.
27	4	mostoidites.	mastoïdites.
30	2	l'afloxacine.	l'ofloxacine.
32	20	une affection spécifique.	une affectation spécifique.
33	32	la formation des employés.	l'information des employés.
34	18	des résultats convaincant.	des résultats convaincants.
34	27	ainsi que une.	ainsi qu'une.
48	10	tétracyline.	tétracycline.
48	13	polymexine.	polymixine.
49	17	qui suivant.	qui suivent.
49	23	mueller-hintion.	mueller-hinton.
52	8	nous permis.	nous a permis
55	24	n'a été pas réalisé.	n'a pas été réalisé.
68	2	ortho 6 traumatologie .	ortho- traumatologie.
69	-	gynecologie.	genycologie.
70	-	ortho-traumatolose	ortho-traumatologie
73	5	<i>staphylococcu aureus</i> .	<i>Staphylococcus aureus</i> .

الملخص:

العدوى المكتسبة في المستشفى هي حديث الساعة، نظرا لأهميتها المعتبرة فيما يتعلق بنسبة الوفيات التي ترتفع كل عام. في دراستنا ، اهتمنا بمستشفى جيجل و الطاهير ، بحيث على مستوى كل منهما، قدرنا معدل هذه العدوى الخاص ب: *Staphylococcus aureus* 23.40% ، بالمشاركة مع البكتيريا *Proteus sp* و *Escherichia.coli* والتي تمثل المراتب الأولى المسؤولة عن هاته العدوى . إن عزل المرضى و الإحترام الدائم لقواعد النظافة تؤدي بطبيعتها إلى الحد من إنتشار هذه السلالات المصادفة في المستشفى و الحفاظ على مستواها الأنديمي.

The abstract:

Nosocomial infections are a subject of today for they are of a paramount importance regarding the mortality and morbidity rates which increase annually .

We have been interested in our study in two hospitals : the hospital of JIJEL and that of TAHER at which we have evaluated the frequency of nosocomial infection , especially those related to *Staphylococcus aureus*.

The results show that *S.aureus* account for 23.40% along with the *Proteus sp* and *Escherichia.coli* bacteria , which all together are ranking first among germs responsible for nosocomial infections .

Isolating patients and permanently respecting hygien measures naturally control the epidemiological spread of hospital-born germination and their persistence in the endemic case.

Résume :

Les infections nosocomiales, sont un sujet d'actualité, car ces dernières ont une importance considérable, en ce qui concerne le taux de mortalité et de morbidité qui s'élève chaque année.

Dans notre étude, nous nous sommes intéressés aux deux hôpitaux; JIJEL et TAHER. Au niveau desquels, nous avons évalué, la fréquence des infections nosocomiales, surtout celles liés à *Staphylococcus aureus*.

Nos résultats montrent que *S. aureus* à 23,40% partage avec la bactérie *Proteus sp* et *Escherichia coli* le triste privilège, d'être au premier rang des germes responsables d'infections nosocomiales.

L'isolement des patients et le respect permanent des mesures d'hygiène sont de nature à limiter la dissémination épidémiques des souches hospitalières et leur persistance à l'état endémique.

Mots - clés :

Infection nosocomiale- Staphylocoque doré – Antibiothérapie- Prévention.