

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

N° Réf



Université Abdelhafid Boussouf Mila
Institut des Sciences et de la Technologie
Département des sciences de la nature et de la vie

Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de Master

En domaine : Science de la nature et de la vie
Filière: Sciences Biologiques Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème

BACTERIOLOGIE DES INFECTIONS NOSOCOMIALES POST-OPERATOIRES

Présenté par : ZERIZER Kenza
CHERIFI Meryem

Jury :

Présidente : M ^{me} BOUDJEHM Ibtissem	MCB	Université de Mila
Examinatrice : M ^{me} BOUKAZOULA Fatima	MCB	Université de Mila
Promoteur: M ^r MERZOUG Seyf Eddine	MCB	Université de Mila

Année universitaire 2020 / 2021



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سُبْحَانَكَ لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا مَا عَلَّمْتَنَا
إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ

سورة البقرة: الآية 31



Remerciement

Nous avons l'honneur et le plaisir d'exprimer nos profonds remerciements à ALLAH qui nous a orientés durant notre travail vers le bon chemin.

On tient beaucoup à présenter nos remerciements à :

*Notre Présidente de jury M^{me} BOUDJEHM Ibtissem
Maitre de conférence en biologie de l'université de Mila*

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous avez fait en acceptant la présidence de notre jury de thèse. Nous vous remercions pour le temps que vous y avez consacré malgré tous vos engagements.

Votre sérieux, votre compétence et votre sens du devoir nous ont énormément marqués. Puissent des générations et des générations avoir la chance de profiter de votre savoir qui n'a d'égal que votre sagesse et votre bonté.

Veillez trouver ici l'expression de notre respectueuse considération et notre profonde admiration pour toutes vos qualités scientifiques et humaines. Ce travail est pour nous l'occasion de vous témoigner notre profonde gratitude.

*A Notre examinatrice M^{me} BOUKAZOULA Fatima
Maitre de conférence en biologie de l'université de Mila*

Vous nous faites un grand honneur en acceptant d'examiner notre travail et de siéger dans notre jury. Cet honneur nous touche infiniment et nous tenons à vous exprimer notre profonde reconnaissance.

Vous représentez pour nous l'exemple de l'enseignant aux grandes qualités humaines et professionnelles.

Votre compétence et votre dévouement sont pour nous un exemple à suivre dans l'exercice de la profession.

Veillez croire, chère Maître, à l'expression de notre sincère reconnaissance et notre grand respect

*A Notre Promoteur Mr. MERZOUG Seyf- Eddine
Maitre de conférence en biologie de l'universitaire de Mila*

Il nous est impossible de dire en quelques mots ce que nous vous devons. Nous vous remercions pour le grand honneur que vous nous avez fait en acceptant de nous confier la responsabilité de ce travail.

Votre éloquence dans l'enseignement, votre sens aigu du travail bien accompli, et toutes vos qualités humaines nous ont profondément marqués, et seront toujours pour nous un modèle et un exemple lors de l'exercice de notre profession.

Vous nous avez toujours réservé le meilleur accueil malgré vos obligations professionnelles. Vos remarques toujours précises, associées à votre sagesse ont été importantes pour nous. Nous avons pour vous cher maître, l'estime et l'admiration qu'imposent votre compétence, votre sérieux, votre dynamisme et votre gentillesse.

*Nous espérons avoir été à la hauteur de votre confiance et de vos attentes.
Veuillez trouver ici nos remerciements les plus sincères.*

*A ma chère SIHAM BOUSSAID
Ingénieure de laboratoire, Chargée de paillasse de Microbiologie*

*Sans toi ce travail n'a jamais vu la lumière du jour
Tu as contribué au succès de ce travail, je tiens à te témoigner toute ma reconnaissance et mes sincères remerciements pour ta présence, ton aide, ton soutien, tes conseils et tes réponses à toutes mes questions, tu m'as appris beaucoup de choses dans le domaine de la microbiologie clinique je suis vraiment reconnaissante
La réalisation de ce mémoire été possible uniquement grâce à toi.*

Aux enseignants du département de Biologie de l'universitaire AbdElhafid Boussouf Mila, qui ont assuré notre formation durant ces deux dernières années.

Nous vifs remerciments toute l'équipe du service de la chirurgie générale de l'hôpital Sept frère Maghlaoui Mila pour le bon accueil et la coopération avec nous.

A la fin, un remerciement à toute personne qui nous a reconnus.

Dédicaces

A ceux qui me sont chers

A ceux qui ont toujours cru en moi

A ceux qui m'ont toujours encouragé

Je dédie ce mémoire à...

A ALLAH

Le tout Puissant, le très Haut, le très Grand

L'Omniscient, l'Omnipotent et le très Miséricordieux

*qui m'a donné la volonté et le courage, ainsi que l'audace pour dépasser
toutes les difficultés pour l'achèvement de ce travail.*

Je vous dois ce que je suis devenu.

Louanges et remerciements.

Au Prophète Mohamed

Paix et bénédictions de Dieu sur lui,

Allah le Très Haut s'exprime en ces termes, à notre Modèle, notre

Professeur et notre Fierté

A ma très chère mère

BITAT Zahia.

Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.

Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ces enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études.

Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour.

Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon très cher père

ZERIZER Abdelhamid

Tu es pour moi l'homme idéal, l'exemple que j'admire, pour toutes les peines et les sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

Ce travail ne saurait exprimer mon amour filial, mon respect et ma profonde reconnaissance.

Aucune expression, ni aucune dédicace ne pourrait exprimer ce que tu représentes dans ma vie, mais j'espère que tu trouveras ici dans ce modeste travail le fruit de tant de sacrifices.

Que Dieu te protège et t'accorde santé, longue vie et bonheur.

Kenza

A mes chers frères et sœurs

Salim, Zakaria, Yassine, Samiha, Hind, Salah-Eddine, Nadjiba et

Mounir

Vous possédez dans ma vie une place originale, de l'amour et de l'affection, vous êtes mon bonheur, ma joie, mon soutien et ma sécurité.

Je suis très heureuse de pouvoir vous présenter par ce travail le témoignage de mon profond amour et les liens de fraternité qui nous unissent.

Je vous souhaite à vous et à tous mes nièces et neveux une vie pleine de bonheur, de joie et de réussite, Qu'ALLAH vous protège.

A la famille

Recevez ce travail en signe de mon attachement indéfectible et de l'amour que je vous porte.

A mes amis

Imene, Siham et Meryem

En témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble.

Votre soutien inconditionnel et votre encouragement ont été d'une grande aide.

Kenza

Dédicaces

Grace à DIEU tout puissant qui mon échasse le chemin du savoir :

*Je dédie se simple travail aux être les plus chers pour moi et qui m'ont
poussé à réaliser mes rêves :*

*A mon père ABD ESSELAM que j'aime le plus au monde, il est pour moi
l'exemple d'une vie de droiture de passion, je le remercie pour son
affection, son amour, son soutien, son encouragement et surtout sa
confiance.*

*A ma mère AKILA qui reste pour moi l'exemple même du courage, de
sacrifices, sa tendresse a illumine mon chemin vers le succès.*

Je veux les remercier de tout mon cœur que Dieu les garde pour moi

A mes adorables sœurs : Oumayma, Naila, Marwa, Chaima

A mes petits (ahbabi) : Walae Eddine, Amir, Mirine.

A toute ma famille

A mes chers amies : Kenza, Selma, Farah, Siham.

A mes chers cousins :

*Dr. Cherifi Mohamed : médecin chef du service de la médecine légale à
l'hôpital Sept frère Maghlaoui Mila.*

*Dr. Merikhi oussama : médecin spécialiste en chirurgie orthopédique et
médecin chef du complexe chirurgical à l'hôpital Sept frères Maghlaoui
Mila.*

*Je les remercie de m'avoir aidé, leurs conseils et leurs encouragements. A
tous ce que j'aime.*

Meryem

Table des matières

Remerciement	
Table des matières...	i
Liste des tableaux	vii
Liste des figures	ix
Liste des abréviations	xi
Résumé	xii
Introduction	01

Chapitre 1 : Rappel nosologique

1. Définition de l'infection nosocomiale	02
2. Principales infections nosocomiales	02
3. Infection nosocomiale post-opératoire	03
4. Types d'infections nosocomiales post-opératoires	03
4.1. Infection superficielle de l'incision	04
4.2. Infection profonde	04
4.3. Infection d'organe	04
5. Classification des interventions chirurgicales	05
5.1. Classification selon le site de l'intervention	05
5.2. Classification selon le risque de contamination	07
6. Modalités de survenue des infections du site opératoire	08
6.1. Avant l'intervention	08
6.2. Pendant l'intervention	08
6.3. Après l'intervention	08
7. Voies de contamination du site opératoire	09
7.1. Contamination préopératoire	09
7.2. Contamination peropératoire	09
7.3. Contamination postopératoire	10
8. Mécanisme de l'infection / réaction inflammatoire et formation de pus	10

Chapitre 2 : Epidémiologie

1. Germes en cause	11
2. Fréquences des germes	11
3. Origine des germes	11
3.1. Origine endogène	11
3.2. Origine exogène	11
4. Voies de transmission des germes	14
4.1. Voie endogène	14
4.2. Voies exogène	14
5. Facteurs de risque	15
5.1. Facteurs de risque liés à la procédure chirurgicale	15
5.1.1. Durée d'hospitalisation préopératoire	15
5.1.2. Durée de l'intervention	16
5.1.3. Technique chirurgicale	16
5.1.4. Type de chirurgie	16
5.2. Facteurs de risque liés au patient	16
5.3. Facteurs de risque liés au personnel médical et paramédical	16
5.4. Facteurs de risque liés à l'environnement	17
6. Fréquences des infections du site opératoires	17
7. Conséquences des IN post-opératoires	17
8. Hygiène hospitalière	18
8.1. Hygiène personnelle	18
8.2. Hygiène des Locaux	19
8.3. Hygiène de l'Environnement	20
9. Prévention des infections du site opératoire et recommandations	20
9.1. Surveillance	20
9.2. Prévention	21

Chapitre 3 : Bactériologie des infections du site opératoire

1. Cocci Gram positif	22
1.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	22
1.1.1. Habitat	22

1.1.2.	Caractères morphologiques	22
1.1.3.	Caractères cultureux	22
1.1.4.	Caractères biochimiques et enzymatiques	22
1.1.5.	Pouvoir pathogène	23
1.1.6.	Traitement et résistance aux antibiotiques	23
1.2.	<i>Streptococcus sp</i>	23
1.2.1.	Habitat	23
1.2.2.	Caractères morphologiques	23
1.2.3.	Caractères cultureux	24
1.2.4.	Caractères biochimiques et enzymatiques	24
1.2.5.	Pouvoir pathogène	24
1.2.6.	Traitement et résistance aux antibiotiques	25
2.	Bacilles à Gram négatif	25
2.1.	<i>Escherichia coli</i>	25
2.1.1.	Habitat	25
2.1.2.	Caractères morphologiques	25
2.1.3.	Caractères cultureux	25
2.1.4.	Caractères biochimiques et enzymatiques	25
2.1.5.	Pouvoir pathogène	26
2.1.6.	Traitement et résistance aux antibiotiques	26
2.2.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	26
2.2.1.	Habitat	26
2.2.2.	Caractères morphologiques	26
2.2.3.	Caractères cultureux	27
2.2.4.	Caractères biochimiques et enzymatiques	27
2.2.5.	Pouvoir pathogène	27
2.2.6.	Traitement et résistance aux antibiotiques	28
2.3.	<i>Acinetobacter sp</i>	28
2.3.1.	Habitat	28
2.3.2.	Caractères morphologiques	28
2.3.3.	Caractères cultureux	29
2.3.4.	Caractères biochimiques et enzymatiques	29
2.3.5.	Pouvoir pathogène	29

2.3.6.	Traitement et résistance aux antibiotiques	29
2.4.	<i>Klebsiella</i>	30
2.4.1.	Habitat	30
2.4.2.	Caractères morphologiques	30
2.4.3.	Caractères cultureux	30
2.4.4.	Caractères biochimiques et enzymatiques	30
2.4.5.	Pouvoir pathogène	31
2.4.6.	Traitement et résistance aux antibiotiques	31
2.5.	<i>Enterobacter</i>	32
2.5.1.	Habitat	32
2.5.2.	Caractères morphologiques	32
2.5.3.	Caractères cultureux	32
2.5.4.	Caractères biochimiques et enzymatiques	32
2.5.5.	Pouvoir pathogène	32
2.5.6.	Traitement et résistance aux antibiotiques	33
2.6.	<i>Serratia</i>	33
2.6.1.	Habitat	33
2.6.2.	Caractères morphologiques	33
2.6.3.	Caractères cultureux	34
2.6.4.	Caractères biochimiques et enzymatiques	34
2.6.5.	Pouvoir pathogène	34
2.6.6.	Traitement et résistance aux antibiotiques	34
2.7.	<i>Proteus</i>	34
2.7.1.	Habitat	35
2.7.2.	Caractères morphologiques	35
2.7.3.	Caractères cultureux	35
2.7.4.	Caractères biochimiques et enzymatiques	36
2.7.5.	Pouvoir pathogène	36
2.7.6.	Traitement et résistance aux antibiotiques	36

Chapitre 4 : Matériel et méthodes

1.	Cadre d'étude	37
2.	Limites et contraintes de l'étude	37

3. Patients et sites de prélèvement.....	38
4. Nature du Prélèvement	38
5. Matériel et Méthodes de prélèvement	39
5.1. Matériel	39
5.1.1. Matériel biologique	39
5.1.2. Appareillage, petit matériel	39
5.1.3. Produits et milieux de culture	40
5.2. Méthodes de prélèvement.....	40
6. Transport et stockage	41
7. Protocole générale d'analyse	41
8. Culture	43
8.1. Enrichissement	43
8.2. Isolement	44
8.2.1. Milieux non sélectifs	44
8.2.2. Milieux sélectifs	45
9. Identification bactérienne	47
9.1. Examen macroscopique	47
9.2. Examen microscopique	47
9.3. Identification biochimique après culture	49
9.3.1. Identification par les Galeries biochimiques miniaturisées API 20 E	49
9.3.2. Identification par les Galeries biochimiques miniaturisées API 10S	53
9.3.3. Tests complémentaires de l'identification biochimique	53
10. Détermination de la résistance aux antibiotiques	56
10.1. Principe	56
10.2. Technique	57

Chapitre 5 : Résultats et discussions

1. Fréquence des infections nosocomiales post-opératoires	60
2. Résultats de l'identification des germes	61
2.1. Résultats de l'examen macroscopique des germes	61
2.1.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	61
2.1.2. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	61

2.1.3. <i>Escherichia coli</i>	62
2.1.4. <i>Pseudomonas</i>	62
2.1.5. <i>Proteus mirabilis</i>	63
2.1.6. <i>Enterococcus sp</i>	63
2.2. Résultats de l'Examen microscopique des germes	64
2.3. Résultats de l'identification biochimique des germes	66
2.3.1. Résultats de l'identification des staphylocoques	66
2.3.2. Résultats de l'identification des bacilles à Gram –	67
3. Résultats globaux des espèces identifiées	70
4. Antibiogramme	70
4.1. Résultats de l'antibiogramme des <i>Staphylococcus aureus</i>	70
4.2. Résultats des antibiogrammes d' <i>Escherichia coli</i>	71
4.3. Résultats des antibiogrammes de <i>Pseudomonas</i>	72
4.4. Résultats des antibiogrammes de <i>Proteus mirabilis</i>	72
4.5. Résultats de l'antibiogramme d' <i>Enterococcus sp.</i>	73
5. Analyses statistiques et discussion	74
5.1. Répartition des infections du site opératoire selon la tranche d'âge	74
5.2. Répartition des infections du site opératoire selon le sexe	74
5.3. Répartition des résultats selon la nature du germe	75
5.4. Profil de résistance des souches isolées vis-à-vis des antibiotiques testés	76
5.4.1. Profil de résistance de <i>Staphylococcus aureus</i>	76
5.4.2. Profil de résistance d' <i>Escherichia coli</i>	77
5.4.3. Profil de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	78
Discussion.....	79
Conclusion	82
Bibliographie et webographie	
Annexes	

Liste des tableaux

N°	Titre	P
Tableau 1	Classification des interventions chirurgicales selon le risque de contamination.	7
Tableau 2	Relation entre le mode de contamination et les espèces bactériennes habituellement rencontrées au cours des infections postopératoires.	9
Tableau 3	Répartition des micro-organismes responsables des ISO en différents types de chirurgie - ISO Raisin 2018.	13
Tableau 4	Caractères morphologiques de <i>Staphylococcus aureus</i> .	22
Tableau 5	Caractères cultureux de <i>Staphylococcus aureus</i> .	22
Tableau 6	Caractères morphologiques de <i>Streptococcus</i> .	23
Tableau 7	Caractères cultureux de <i>Streptococcus</i> .	24
Tableau 8	Caractères morphologiques d' <i>Escherichia coli</i> .	25
Tableau 9	Caractères cultureux d' <i>Escherichia coli</i> .	25
Tableau 10	Caractères morphologiques de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	26
Tableau 11	Caractères cultureux de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ..	27
Tableau 12	Caractères morphologiques d' <i>Acinetobacter</i> .	28
Tableau 13	Caractères cultureux de d' <i>Acinetobacter</i> .	28
Tableau 14	Caractères morphologiques de <i>Klebsiella</i> .	30
Tableau 15	Caractères cultureux de <i>Klebsiella</i> .	30
Tableau 16	Caractères morphologiques d' <i>Enterobacter</i> .	32
Tableau 17	Caractères cultureux d' <i>Enterobacter</i> .	32
Tableau 18	Caractères morphologiques de <i>Serratia</i> .	33
Tableau 19	Caractères cultureux de <i>Serratia</i> .	33
Tableau 20	Caractères morphologiques de <i>Proteus</i> .	34
Tableau 21	Caractères cultureux de <i>Proteus</i> .	35
Tableau 22	Renseignement cliniques des patients.	38
Tableau 23	Résultats de coloration de Gram des colonies isolées.	64
Tableau 24	Résultats de l'identification des staphylocoques.	66
Tableau 25	Résultats de l'identification des bacilles à Gram –	67
Tableau 26	Résultats globaux des espèces identifiés.	70

Tableau 27	Résultats de l'antibiogramme de <i>S.aureus</i> .	70
Tableau 28	Résultat de l'antibiogramme d' <i>Escherichia coli</i> .	71
Tableau 29	Résultats des antibiogrammes de <i>Pseudomonas</i> .	72
Tableau 30	Résultats des antibiogrammes de <i>Proteus mirabilis</i> .	72
Tableau 31	Résultats de l'antibiogramme d' <i>Enterococcus sp.</i>	73
Tableau 32	Répartition des infections du site opératoire selon la tranche d'âge.	Annexe05
Tableau 33	Répartition des infections du site opératoire selon le sexe.	Annexe05
Tableau 34	Répartition des résultats selon la nature du germe.	Annexe05

Liste des figures

N°	Titre	P
Figure 1	Fréquences relatives des sites d'infections nosocomiales.	2
Figure 2	Classification anatomique des infections du site opératoire.	5
Figure 3	Les principales étapes d'une inflammation.	10
Figure 4	Flore normale du corps humain.	13
Figure 5	Mode de transmission endogène.	14
Figure 6	Mode de transmission exogène.	15
Figure 7	Plaie chirurgicale purulente.	39
Figure 8	Ecouvillonnage d'une plaie.	40
Figure 9	Schéma général du protocole d'analyse de pus.	42
Figure 10	Inoculation du prélèvement.	43
Figure 11	Enrichissement.	43
Figure 12	Ensemencement par la méthode des quatre quadrants.	45
Figure 13	Principe et protocole de la coloration de Gram.	48
Figure 14	Système API 20 E : En haut résultat positifs de tous les tests biochimiques, En bas galerie API 20 E juste après remplissage.	50
Figure 15	Lecture et identification par la méthode de sept chiffres.	51
Figure 16	Feuille Excel de lecture de la galerie API.	52
Figure 17	Système API 10S.	53
Figure 18	Test catalase : à gauche dégagement de bulle de gaz catalase +, à droite catalase négative.	54
Figure 19	Test oxydase.	55
Figure 20	Test coagulase.	56
Figure 21	Méthode d'ensemencement pour antibiogramme.	57
Figure 22	Mesure du diamètre de sensibilité.	59
Figure 23	Fréquence des infections nosocomiales postopératoires.	60
Figure 24	Colonies de <i>S. aureus</i> , à gauche sur Chapman à droite sur gélose au sang.	61
Figure 25	Colonies de <i>S. epidermidis</i> , à gauche sur Chapman, à droite sur gélose au sang.	61
Figure 26	Colonies d' <i>E.coli</i> , à gauche sur Hektoen, à droite sur gélose au sang.	62
Figure 27	Colonies de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , à gauche sur Hektoen, à droite sur gélose	62

	au sang.	
Figure 28	Colonies de <i>Proteus mirabilis</i> , à gauche sur Hektoen à droite sur gélose au sang.	63
Figure 29	<i>Enterococcus sp</i> , à gauche sur GN, à droite sur gélose au sang.	63
Figure 30	Cocci Gram+ en grappe de raisin (<i>Staphylococcus aureus</i>).	65
Figure 31	Cocci Gram + en amas (<i>Staphylococcus epidermidis</i>).	65
Figure 32	Coccobacilles Gram – (<i>E.coli</i>).	65
Figure 33	Petites bacilles Gram – (<i>Proteus mirabilis</i>).	65
Figure 34	Test Catalase positif, à gauche <i>S. aureus</i> , à droite <i>S.epidermidis</i> .	66
Figure 35	Test Catalase Négatif, <i>Enterococcus sp</i> .	66
Figure 36	Test Coagulase, à gauche positif, à droite négatif.	67
Figure 37	Test Oxydase, à gauche négatif, à droite positif.	67
Figure 38	API 20E. <i>E. coli</i> .	69
Figure 39	API 20E. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	69
Figure 40	API 20E. <i>Pseudomonas fluorencens</i> .	69
Figure 41	API 20E. <i>Proteus mirabilis</i> .	69
Figure 42	API 10S. <i>Proteus mirabilis</i> .	69
Figure 43	API 10S. <i>E. coli</i> .	69
Figure 44	Antibiogramme de <i>S. aureus</i> du prélèvement N°4.	71
Figure 45	Antibiogramme d' <i>E. coli</i> du prélèvement N°1.	71
Figure 46	Antibiogramme de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> du prélèvement N°3.	72
Figure 47	Antibiogramme de <i>Proteus mirabilis</i> .	73
Figure 48	Antibiogramme d' <i>Enterococcus sp</i> .	73
Figure 49	Répartition globale des échantillons selon la tranche d'âge.	74
Figure 50	Répartition globale des échantillons selon le sexe.	74
Figure 51	Répartition globale des résultats selon la nature du germe.	75
Figure 52	Taux de résistance des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> isolées vis-à-vis des antibiotiques testés.	76
Figure 53	Taux de résistance des souches de <i>Escherichia coli</i> isolées vis-à-vis des antibiotiques testés.	77
Figure 54	Taux de résistance des souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isolées vis-à-vis des antibiotiques testés.	78

Liste des abréviations

% : Pourcent

°C : Degré Celsius

µm : Micromètre

AAF : Aéro anaérobi facultative

ADH : Arginine-dihydrolase

AmpC : Adénosine monophosphate cyclique

ASA: American Society of Anesthesiology

ATB : Antibiotique

CDC: Center for disease control

CHU : Centre hospitalo-universitaire

CLED: Cystine Lactose Electrolyte Deficient

CO₂ : Dioxyde de carbone

DM : Dispositif médical

DNase : Désoxyribonucléase

EMB : Eosin Methylène Blue

Fig : Figure

GN : Gélose nutritive

H₂O₂ : Peroxyde d'oxygène

H₂S : Hydrogène sulfuré

IN : Infection nosocomiale

ISO: Infection du site opératoire

LDC : Lysine décarboxylase

MC : Mac Conkey

Mm : Milimètre

NaCl : Chlorure de sodium

ODC : Ornithine-décarboxylase

OMS: Organisation mondiale de la santé

ONPG: Ortho-Nitrophényl-B- Galactoside

ORL: Oto-rhino-laryngée

PFLA : Pneumopathie franche lobaire

PH: Potentiel Hydrogène

PIM : Protéase isolation medium

SNC : Staphylocoques à coagulase négative

SP: Espèce

T°: Température

TDA : Tryptophane désaminase

VP : Voges-Priskauer

Résumé

L'infection post-opératoire est la deuxième plus fréquente de l'infection nosocomiale qui survient après une intervention chirurgicale, elle constitue une complication grave et redoutée par les chirurgiens car ruinant la réussite de l'acte chirurgical.

L'objectif de notre travail constitue l'isolement, l'identification et la détermination de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries responsables des infections nosocomiales post-opératoires, au sein de service de la chirurgie générale à l'hôpital des Sept frères Maghlaoui - Mila. Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de biologie du département de SNV de l'université de Mila.

Nous avons menés une étude durant la période du 1^{er} Avril 2021 au 20 juillet 2021 pour mieux cerner le profil bactériologique des suppurations, Au total 15 prélèvements de différents types de chirurgie ont été effectués, dont 11 femmes et 4 hommes, l'âge moyen de nos patients était supérieur à 60 ans.

Dans notre étude la fréquence des infections du site opératoire était de 12% ce qui était basse par rapport aux séries africaines.

Sur le plan bactériologique, par ordre de fréquence, nous avons identifié sept germes : *Staphylococcus aureus* 26%, *Staphylococcus epidermidis* 26%, *Escherichia coli* 18%, *Pseudomonas aeruginosa* 13%, *Proteus mirabilis* 9%, *Pseudomonas fluorescens* 4% et *Enterococcus sp* 4%.

Sur le plan de la sensibilité aux antibiotiques, les bactéries isolées se sont révélées très sensibles à de nombreux antibiotiques, mais présentent aussi des résistances importantes à d'autres types d'antibiotique qui ont un large spectre de consommation et prédomine dans le milieu hospitalier.

La surveillance épidémiologique des infections en service de chirurgie et l'application des mesures d'hygiène sont des priorités à inclure dans tout programme de contrôle et de prévention des infections nosocomiales. Cette condition est une démarche globale qui s'inscrit dans la qualité des soins.

Mots clés : Infections postopératoires, Bactéries, Identification, Sensibilité, Chirurgie, Résistance aux antibiotiques, Hygiène hospitalière.

المخلص

تعد عدوى ما بعد الجراحة ثاني أكثر أنواع عدوى المستشفيات شيوعاً التي تحدث بعد الجراحة، وهي من المضاعفات الخطيرة ويخشى الجراحون من خلالها تدمير نجاح العملية الجراحية.

الهدف من عملنا هو عزل وتحديد النوع وتحديد الحساسية للمضادات الحيوية للبكتيريا المسؤولة عن التهابات المستشفيات بعد العملية الجراحية ، ضمن خدمة الجراحة العامة في مستشفى الاخوة مغلاوي-ميلة. تم تنفيذ هذا العمل على مستوى معمل الأحياء التابع لقسم SNV بجامعة ميلة.

أجرينا دراسة خلال الفترة من 1 أبريل 2021 إلى 20 يوليو 2021 لتحديد المظهر البكتريولوجي للقيحات بشكل أفضل. تم أخذ ما مجموعه 15 عينة من أنواع مختلفة من الجراحة ، بما في ذلك 11 امرأة و 4 رجال ، وكان متوسط عمر مرضانا أكثر من 60 عامًا.

في دراستنا، كان معدل الإصابة بالعدوى في الموقع الجراحي 12٪ ، وهو معدل منخفض مقارنة بالسلسلة الأفرقية.

من الناحية البكتريولوجية ، بالترتيب التكراري ، حددنا سبع جراثيم: المكورات العنقودية الذهبية 26٪ ، المكورات العنقودية البشرية 26٪ ، الإشريكية القولونية 18٪ ، الزائفة الزنجارية 13٪ ، المتقلبة الرائحة 9٪ ، الزائفة الفلورية 4٪ والمكورات المعوية 4٪.

من حيث الحساسية للمضادات الحيوية ، تم العثور على البكتيريا المعزولة شديدة التأثر بالعديد من المضادات الحيوية ، ولكنها أظهرت أيضاً مقاومة كبيرة لأنواع أخرى من المضادات الحيوية التي لها مجال واسع من الاستخدام وتهيمن في المستشفى.

يعد المراقبة الوبائية للعدوى في قسم الجراحة وتطبيق تدابير النظافة من الأولويات التي يجب تضمينها في أي برنامج للسيطرة والوقاية من عدوى المستشفيات. هذه الحالة هي نهج عالمي يمثل جزءاً من جودة الرعاية.

الكلمات المفتاحية: عدوى ما بعد الجراحة ، بكتيريا ، تحديد النوع ، حساسية ، جراحة ، مقاومة المضادات الحيوية ، نظافة المستشفى.

Abstract

The postoperative infection is the second most common nosocomial infection that occurs after surgery, it is a serious complication and feared by surgeons because ruining the success of the surgical act.

The objective of our work is the isolation, identification and determination of the sensitization to antibiotics of bacteria responsible for postoperative nosocomial infections, within the service of general surgery at the hospital of Seven Brothers Maghlaoui - Mila. This work was carried out at the level of the biology laboratory of the department of SNV of the university of Mila.

We conducted a study during the period from April 1, 2021 to July 20, 2021 to better identify the bacteriological profile of suppurations. A total of 15 samples from different types of surgery were taken, including 11 women and 4 men, the average age of our patients was over 60 years.

In our study, the frequency of surgical site infections was 12%, which was low compared to African series.

Bacteriologically, in order of frequency, we identified seven germs: *Staphylococcus aureus* 26%, *Staphylococcus epidermidis* 26%, *Escherichia coli* 18%, *Pseudomonas aeruginosa* 13%, *Proteus mirabilis* 9%, *Pseudomonas fluorescens* 4% and *Enterococcus* sp 4%.

In terms of antibiotic susceptibility, the bacteria isolated were found to be highly susceptible to many antibiotics, but also showed significant resistance to other types of antibiotics that have a wide spectrum of use and predominate in the hospital setting.

Epidemiological surveillance of infections in the surgical department and the application of hygiene measures are priorities to be included in any program for the control and prevention of nosocomial infections. This condition is a global approach that is part of the quality of care

Key words: Postoperative infections, Bacteria, Identification, Sensitivity, Surgery, Antibiotic resistance, Hospital hygiene.

Introduction

L'hôpital qui est normalement considéré comme un lieu de savoir, d'enseignement médical et d'hygiène, peut devenir dans certaines circonstances, une source d'infection, ceci soit par l'utilisation de méthodes invasives, soit dans le cas de plusieurs hôpitaux, par défaut d'hygiène, d'organisation, de conscience professionnelle ou par manque de moyens **(14)**.

Une infection est dite nosocomiale si elle apparaît au cours ou à la suite d'une hospitalisation dans un délai d'au moins 48 heures et si elle était absente à l'admission à l'hôpital. Ces infections contractées en milieux hospitaliers sont au premier plan des événements indésirables liés aux soins. Elles constituent aujourd'hui une préoccupation constante dans la pratique hospitalière tant dans les pays en développement que dans les pays développés **(Bernet et al., 2005)**.

Les infections hospitalières sont la 4^{ème} cause de mortalité aux USA. Elles causent autant de morts que le SIDA, le cancer du sein et les accidents de la route réunis **(CDC, 1990)**.

De façon générale, pour les infections post-opératoires, sont considérées comme nosocomiales, elles surviennent dans les 30 jours qui suivent l'acte chirurgical ou dans l'année s'il y a eu mise en place d'un implant ou d'une prothèse dans l'année qui suit l'intervention aggravant la situation antérieure par leur morbidité et même leur mortalité **(13)**.

Les infections post-opératoire représentent 10 % des infections nosocomiales et se traduisent par un surcoût important souvent supporté par les patients eux-mêmes puisqu'il existe peu de systèmes de prise en charge des soins en Afrique **(Ndayisaba, 1992)**.

En Algérie, les hôpitaux ont toujours été et reste de plus en plus structure à haut risque d'infection. Un patient hospitalisé dans une chambre contaminée est colonisé ou infecté en quelques jours.

Parmi les hôpitaux algériens nous avons choisi l'hôpital de sept frères Maghlaoui Mila pour réaliser une étude sur la bactériologie des infections nosocomiales post-opératoires, cet hôpital a été inauguré en 17/11/1994 par le ministre de santé et de la population et considérée comme un établissement public hospitalier.

La chirurgie tient une place centrale dans les structures de soins au Mila.

L'environnement post opératoire à haut risque pour le patient. Il apparait comme le principal lieu d'effets indésirables à l'hôpital **(15)**.

Les micro-organismes (bactérie, virus, champignon, parasite) en cause dans les infections nosocomiales sont souvent plus résistants aux agents antimicrobiens que ceux que l'on retrouve dans les infections extrahospitalières, ils sont facilement transmissibles d'un malade à un autre. La majorité des infections hospitalières recensées est d'origine bactérienne **(Margoud, 2004)**.

C'est dans ce cadre que s'inscrit cette étude réalisée au laboratoire pédagogique de l'université Abd-El-Hafid Boussouf- Mila, sur la bactériologie des suppurations postopératoires, qui vise à isoler et identifier les bactéries responsables d'infections nosocomiales postopératoires dans le service de la chirurgie (femmes et hommes) de Sept Frères Maghlaoui à Mila , à déterminer la fréquence de chaque types de bactérie ainsi que sa résistance aux antibiotiques acquise en milieu hospitalier (nosocomial) et donc ces résultats ont pour but de prévenir les risques éventuels des infections post opératoires et de lutter contre les facteurs favorisant la survenue de ces infections.

Nous avons structuré ce travail en 5 chapitres principaux :

- Le premier chapitre présente un rappel nosologique.
- Le deuxième chapitre traite l'épidémiologie.
- Le troisième chapitre traite la Bactériologie des infections post-opératoire.
- Le quatrième chapitre porte le matériel et les méthodes utilisées pour la réalisation de ce travail.
- Le cinquième chapitre présente les résultats obtenus et la discussion.

CHAPITRE 1

RAPPEL NOSOLOGIQUE



1. Définition de l'infection nosocomiale

L'infection nosocomiale est une maladie infectieuse (bactérienne, fongique, parasitaire, virale, prions) cliniquement ou microbiologiquement identifiable (**Dechoux, 2007**).

Selon l'OMS une infection nosocomiale est une infection acquise à l'hôpital par un patient admis pour une raison autre que cette infection. Infection survenant chez un patient à l'hôpital ou dans un autre établissement de santé et chez qui cette infection n'était ni présente, ni en incubation au moment de l'admission à l'hôpital (**4**).

- En pratique une infection survenant 48 à 72 heures après l'admission si délai d'incubation compatible (**May, 2013**).
- 30 jours après l'admission en cas d'infection du site opératoire (ISO)
- 1 an après l'intervention en cas de matériel prothétique (**Taes, 2018**).

2. Principales infections nosocomiales

Les sites d'infections nosocomiales les plus courants sont représentés dans la **Fig.1**

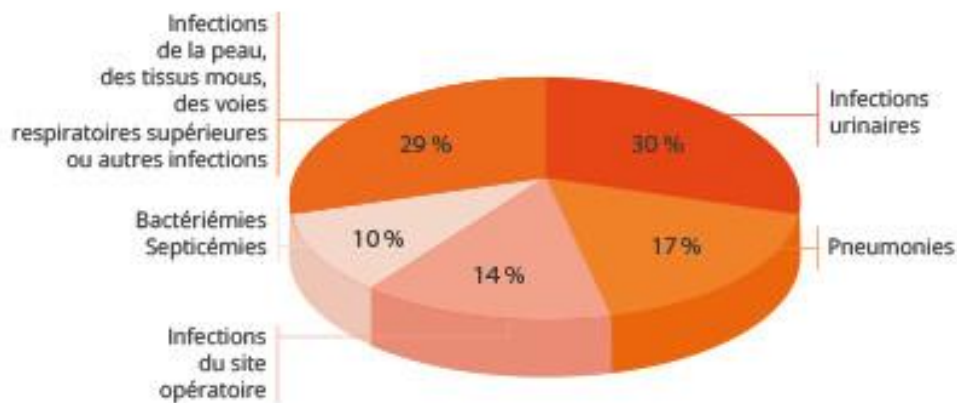


Figure 1. Fréquences relatives des sites d'infections nosocomiales (**8**)

La fréquence et l'étiologie des IN est très variable, selon la région étudiée aussi bien que selon le type de service hospitalier et de patients concernés. Quelques catégories d'infections se distinguent néanmoins des autres (**Thibault, 2011**) :

- **Infections urinaires** : Celles contractées lors d'un sondage urinaire à demeure sont les plus fréquentes.

- **Infections du site opératoire** : Infections de la plaie opératoire plutôt superficielle et les infections profondes touchant les organes. Les chirurgies visant à la mise en place d'une prothèse ou bien pour une transplantation peuvent causer des IN d'apparitions.
- **Pneumopathies** : Celles-ci sont en majorité associées à la mise en place d'une ventilation mécanique.
- **Septicémies** : Ici encore, l'utilisation de DM est associée à la plupart des cas de septicémies nosocomiales, que ce soient les dispositifs intra-vasculaires ou les cathéters centraux ou périphériques.

Parmi les autres IN moins fréquentes et/ou de moindre gravité, on retrouve les infections de la peau et des tissus mous, les gastro-entérites (qui touchent surtout les enfants), les infections de la sphère oto-rhino-laryngée (ORL) comme les sinusites ou les conjonctivites, ou encore les infections post-partum de la sphère génitale (**Thibault, 2011**).

3. Infection nosocomiale post-opératoire

Elle se définit par l'écoulement purulent autour de la plaie ou du site d'insertion du drain, ou cellulite extensive à partir de la plaie. Les infections de la plaie opératoire (au-dessus ou au-dessous de l'aponévrose) et les infections profondes des organes ou des espaces sont identifiées séparément. L'infection est en général acquise pendant l'intervention elle-même, avec une origine soit exogène (air, matériel médical, chirurgiens et autres soignants), soit endogène (flore cutanée ou flore présente sur le site opératoire ou, dans de rares cas, sang utilise en préopératoire) (**Tayeb et al., 2011**).

Cette infection est survenue dans les 30 jours suivant l'intervention. Si il y a mise en place d'un implant ou d'une prothèse, le délai est d'une année après l'intervention (**Epelboin et Macey, 2009**).

Les micro-organismes infectieux sont divers, et dépendent du type et de la localisation de l'intervention et des anti-infectieux reçus par le patient (**Tayeb et al., 2011**).

4. Types d'infections nosocomiales post-opératoires

Depuis 1992, le *Center for Disease Control* (CDC) américain propose les définitions de trois catégories d'ISO énoncées ci-dessous (**Fig.2**), (**Résultats de l'enquête de prévalence nationale 2001**).

4.1. Infection superficielle de l'incision

Infection survenant dans les 30 jours suivant l'intervention, et affectant la peau (ou les muqueuses), les tissus sous-cutanés ou les tissus situés au-dessus de l'aponévrose de revêtement, diagnostiquée par (**Horan et al., 1992 ; Dripps et al., 1997**) :

- Ecoulement purulent ou puriforme de l'incision ou du drain
- Micro-organisme isolé par culture du liquide produit par une plaie fermée ou d'un prélèvement tissulaire
- Ouverture par le chirurgien en présence de l'un des signes suivants: douleur ou sensibilité à la palpation, tuméfaction localisée, rougeur, chaleur (sauf si la culture du prélèvement de plaie est négatif)
- Diagnostic d'infection établi par le chirurgien ou le médecin

4.2. Infection profonde de l'incision

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

- Ecoulement purulent ou puriforme provenant d'un drain sous-aponévrotique
- Présence d'un des signes suivants: déhiscence spontanée de l'incision, de la cicatrice ou de la paroi ouverture par le chirurgien en cas de fièvre supérieure à 38°C, douleur localisée, sensibilité à la palpation (sauf si la culture du prélèvement de la plaie est négative)
- Abscessus ou autres signes d'infection observés lors d'une réintervention chirurgicale ou d'un examen histopathologique.
- Diagnostic d'infection établi par le chirurgien ou le médecin.

4.3. Infection de l'organe ou du site ou de l'espace (séreuse,...)

Infection survenant dans les 30 jours suivant l'intervention ou dans l'année, s'il y a eu mise en place d'un implant ou d'une prothèse, impliquant les organes ou espaces (autres que l'incision), ouverts ou manipulés durant l'intervention, diagnostiquée par (**Guertarni, 2014**):

- Présence de pus franc ou liquide puriforme provenant d'un drain placé dans l'organe ou le site ou l'espace.

- Micro-organisme isolé par culture d'un prélèvement de l'organe ou du site ou de l'espace.
- Signes évidents d'infection impliquant l'organe ou le site ou l'espace, observés lors d'une réintervention chirurgicale ou d'un examen histopathologique
- Diagnostic d'infection établi par le chirurgien ou le médecin

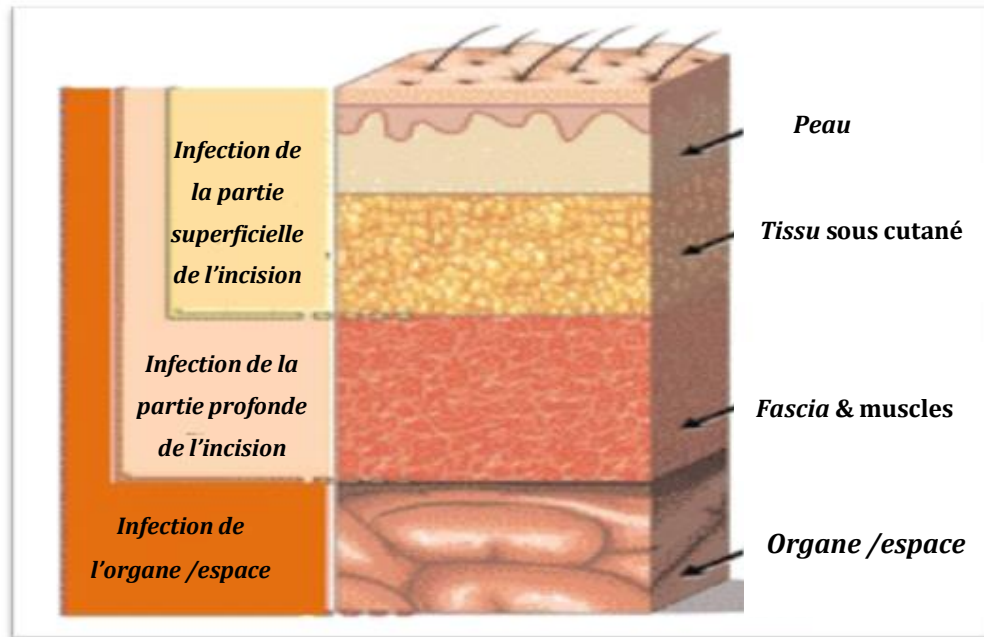


Figure 2. Classification anatomique des infections du site opératoire (5)

5. Classification des interventions chirurgicales

5.1. Classification selon le site d'intervention

5.1.1. Chirurgie orthopédique

Il s'agit d'une chirurgie propre (classe I) ou d'une chirurgie sale (classe IV) en cas de fracture ouverte.

La gravité des ISO après chirurgie prothétique programmée justifie des précautions draconiennes, qui font parfois parler de chirurgie « hyper propre ». Les complications infectieuses y sont rares (<1%) mais les conséquences fonctionnelles peuvent être dramatiques (Pylli, 2018).

5.1.2. Chirurgie digestive

C'est en chirurgie digestive que les interventions sont les plus variées :

Chirurgie propre (splénectomie, cure de hernie inguinale), propre-contaminée (chirurgie gastrique, cholécystectomie réglée, chirurgie colique sur un colon bien préparé), contaminée (appendicectomie pour appendicite non compliquée) ou sale (péritonite).

La chirurgie sous coelioscopie réduit le risque d'ISO d'environ 50% (Pylli, 2018).

5.1.3. Chirurgie cardiaque

Il s'agit d'une chirurgie propre. Les complications sont la médiastinite et beaucoup plus rarement l'endocardite. La médiastinite est une ISO de l'espace médiastinal. Sa mortalité a considérablement diminué (environ 10%) grâce au diagnostic précoce et au traitement chirurgical en un temps avec débridement, puis fermeture sur drains de Redon (Pylli, 2018).

5.1.4. Chirurgie vasculaire

La fréquence des ISO dépend du type et du siège de l'intervention. Il s'agit le plus souvent d'une chirurgie propre mais parfois réalisée sur une peau mal vascularisée ou lésée, le risque est plus élevé en cas d'incision au niveau du triangle de Scarpa. La gravité est majeure en cas d'infection sur prothèse (Pylli, 2018).

5.1.5. Chirurgie urologique

Il s'agit d'une chirurgie propre contaminée, souvent réalisée par les voies naturelles. L'ISO est alors définie par la survenue d'une bactériurie en post-opératoire. Cette bactériurie peut être acquise au cours de l'intervention mais aussi durant la période postopératoire (Pylli, 2018).

5.1.6. Neurochirurgie

Les chirurgies sont propres (craniotomie) ou propre-contaminées (abord des sinus de la face). Il s'agit d'infection locales (infection de la cicatrice, abcès, empyème) ou locorégionales (méningites) (Pylli, 2018).

5.1.7. Gynécologie-obstétrique

Il s'agit le plus souvent d'une chirurgie propre ou propre contaminée. La chirurgie sous coelioscopie, largement utilisée réduit le risque d'ISO, l'ISO après césarienne est rare (<2%) (Pylli, 2018).

5.1.8. Ophtalmologie

Les actes de chirurgie de l'œil sont de plus en plus nombreux, en raison du vieillissement de la population (chirurgie de la cataracte). Les ISO y sont très rares mais les conséquences sévères (enophtalmie) (Pylli, 2018).

5.2. Classification selon le risque de contamination

La classification d'Altemeier, 1964, Elle permet de répartir les interventions chirurgicales selon le risque de contamination et d'infection postopératoire.

Tableau 1 : Classes de contaminations des interventions chirurgicales (6).

Type de chirurgie	Classification d'Altemeier
<p>Propre Classe I 1- 2% sans ATB <1% avec ATB</p>	<ul style="list-style-type: none"> – Chirurgie non motivée par une infection, avec fermeture en fin d'intervention – Pas d'infection rencontrée durant l'intervention – Aucune erreur d'asepsie n'a été commise – Le système respiratoire, digestif, génitourinaire et l'oropharynx ne sont pas ouverts, l'exemple type est la chirurgie orthopédique programmée
<p>Propre – contaminée Classe II 5-10 % sans ATB 2-5% avec ATB</p>	<ul style="list-style-type: none"> – Opération non motivée par une infection mais nécessitant l'ouverture d'organe creux – L'appareil digestif, urogénital, respiratoire, est ouvert sans évidence d'infection – Contamination du champ opératoire par le contenu viscéral – Erreurs minimales d'asepsie – Exemple la chirurgie biliaire, gynécologique ou oropharyngée programmée non septique
<p>Contaminée Classe III 10-20% sans ATB 5-10% avec ATB</p>	<ul style="list-style-type: none"> – Opération portant sur des tissus contaminés mais non encore infectés – Plaies traumatiques de moins de 6 heures – Contamination macroscopique par le contenu intestinal en cours d'intervention – Opération sur les voies biliaires ou urinaires en présence de bile ou d'urine infectée – Erreur importante d'asepsie

<p style="text-align: center;">Sale</p> <p style="text-align: center;">Classe IV</p> <p>>20% sans ATB</p> <p>10-20% avec ATB</p>	<ul style="list-style-type: none"> – Toute opération portant sur un foyer infectieux – Plaies de plus de 6 heures ou avec tissus nécrotique ou avec corps étrangers – Viscères perforés – Pus rencontré durant l'intervention
---	---

6. Modalités de survenue des infections du site opératoire

La connaissance des différents modes de contamination est essentielle pour d'une part envisager des mesures spécifiques de prophylaxie, et d'autre part vérifier le respect des procédures établies pour prévenir ces infections.

La contamination peut avoir lieu (**Lidwell et al., 1983**) :

6.1. Avant l'intervention

Au niveau osseux, articulaire ou des parties molles, comme c'est le cas à la suite d'une fracture ouverte, sur les lieux de l'accident, lors du passage et de l'emballage, ou lors du premier passage à l'hôpital;

6.2. Pendant l'intervention

Par inoculation directe au niveau du site opératoire, de bactéries issues de l'air environnant, d'un des membres de l'équipe chirurgicale, ou du revêtement cutané du malade ;

6.3. Après l'intervention

Par contiguïté à travers la plaie dont les berges ne sont pas encore cicatrisées, ou par l'intermédiaire des drains aspiratifs, lorsque la plaie n'a pu être fermée, la contamination peut se faire par voie aérienne, l'eau de lavage, ou les fautes d'asepsie à l'occasion de la réfection du pansement. La contamination post opératoire peut également être hématogène à l'occasion d'une bactériémie, symptomatique ou non.

Une situation à part est représentée par la réactivation d'une infection ostéoarticulaire ancienne, considérée guérie, à la faveur d'une réintervention chirurgicale en particulier en cas de mise en place de matériel d'ostéosynthèse ou prothétique.

Il existe une relation possible entre le mode de contamination et les espèces bactériennes habituellement rencontrée (Tableau 2).

Tableau 2 : Relation entre le mode de contamination et les espèces bactériennes habituellement rencontrées au cours des infections postopératoires (Sidibe, 2014).

Mode de contamination	Germe en cause
Préopératoire	<i>Staphylococcus sp</i> , méti S ¹ ou méti R ² , Streptocoque, <i>Propionibacterium acnes</i> , <i>Clostridium sp</i> , <i>Aeromonas</i>
Per opératoire	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> et autres staphylocoques à coagulase négative méti S ou méti R <i>Propionibacterium acne</i> , Peptostreptocoque et autres anaérobies
Post-opératoire précoce par Contigüité	Staphylocoques, Entérobactéries, <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Post-opératoire tardif Par voie hématogène, à point de départ : – Dentaire – Cutané (plaie, cathéter, morsure ou griffure...) – Digestif ou urinaire – Autre	Streptocoques non groupables Staphylocoques, <i>Pasteurella</i> Entérobactéries (salmonelle...), entérocoque, Bacteroides, <i>Listeria</i> , <i>Yersinia</i> <i>Haemophilus</i> , pneumocoque...
Réactivation	<i>Staphylococcus aureus</i> , Tuberculose

7. Voies de contamination du site opératoire

On décrit trois voies de contamination :

7.1. Contamination pré-opératoire

Il s'agit des fractures ouvertes qui s'exposent à un risque de contamination par des bactéries du revêtement cutané (streptocoques, staphylocoques) telluriques (*Clostridium sp*), ou plus rarement hydriques (*Aeromonas*). Cependant, les infections après fracture ouverte semblent être liées à des bactéries nosocomiales (Sidibe, 2014).

7.2. Contamination per-opératoire (endogène et exogène)

La contamination se fait le plus souvent pendant l'acte chirurgical, par insuffisance d'asepsie. Elle est généralement liée à une mauvaise préparation cutanée du patient. Elle est manu portée, souvent à travers le matériel chirurgical (Bernet *et al.*, 2005).

¹ Staphylocoque sensible à la méticilline

² Staphylocoque résistant à la méticilline

Le germe est directement inoculé dans le site opératoire et il s'en suivra une fixation au niveau des tissus. Le foyer infectieux primitif pourra ensuite se propager par contiguïté et par bactériémie (Bernet *et al.*, 2005).

7.3. Contamination post-opératoire

La contamination peut aussi avoir lieu en postopératoire, par suite d'une erreur technique (désunion anastomotique colique entraînant une péritonite), par des soins postopératoires de mauvaise qualité (pansements, drain) ou par des souillures du pansement par le malade et par les soignants (Bernet *et al.*, 2005).

8. Mécanisme de l'infection /réaction inflammatoire et formation de pus

Les principales étapes d'une infection inflammatoire sont les suivantes (Fig.3) (Cowan, 2012):

- (1) : Vasoconstriction pour une courte durée, puis libération de médiateurs chimiques ;
- (2) : Vasodilatation et augmentation du flux sanguin, une perméabilité vasculaire accrue, fuite de plasma des vaisseaux sanguins vers les tissus (formation d'exsudats) ;
- (3) : Formation d'œdème: infiltration du site par des neutrophiles et accumulation de pus ;
- (4) : Réparation, soit par la résolution complète et le retour du tissu à son état normal, soit par la formation d'un tissu cicatriciel.

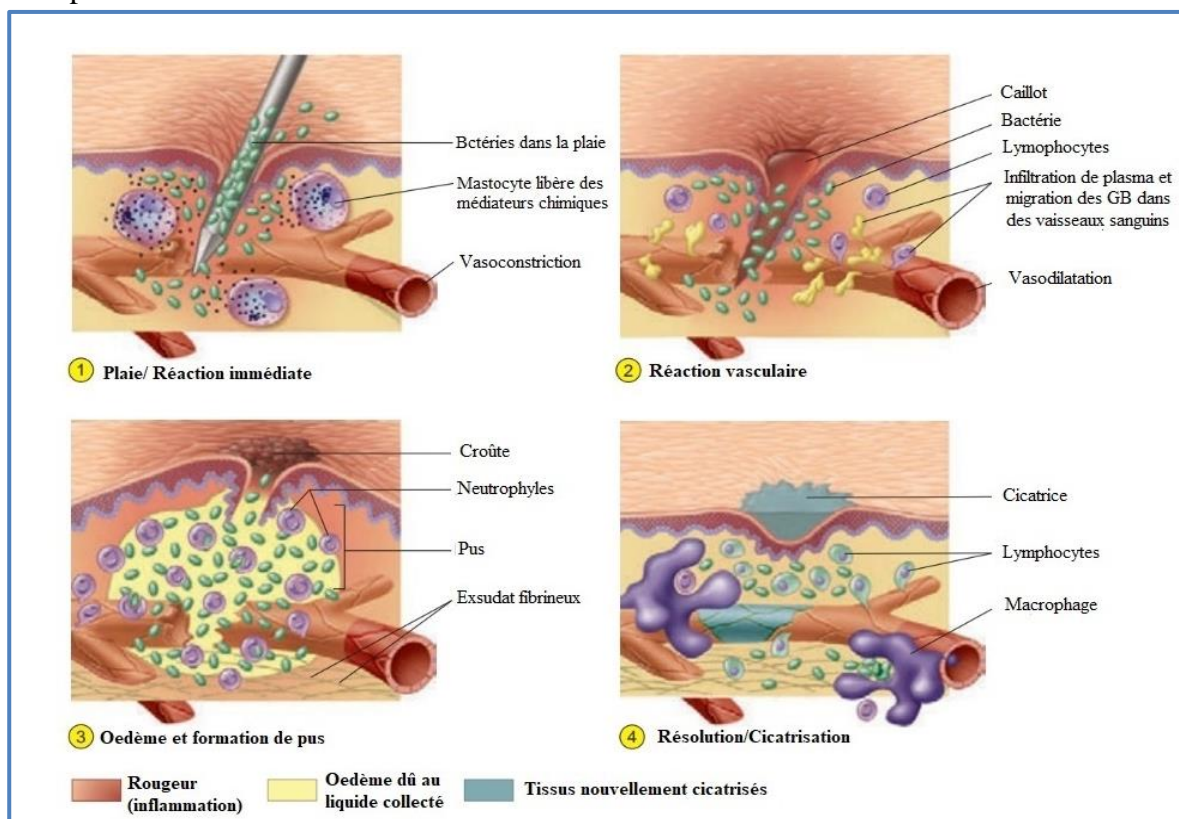


Figure 3. Les principales étapes d'une inflammation (Cowan, 2012)

CHAPITRE 2

EPIDEMIOLOGIE



1. Germes en cause

Ils sont différents selon que la chirurgie est réalisée en site stérile (chirurgie « propre », « propre-contaminée », « contaminée » ou « sale ») (Pilly, 2008).

En chirurgie propre, les Staphylocoques sont retrouvés dans plus de la moitié des cas *Staphylococcus aureus* (40%), staphylocoques à coagulase négative (10 à 30%) et proviennent de la flore cutanée (Pilly, 2008).

En chirurgie non propre, les microorganismes provenant des flores digestives sont les plus fréquents : *Escherichia coli*, entérocoques, autres entérobactéries, parfois *Pseudomonas aeruginosa*, et sont souvent associés (infection polymicrobienne) (Pilly, 2008).

2. Fréquence des germes

L'ensemble de bactéries responsables des infections du site opératoire se répartissent en fonction du type de la chirurgie de la manière représentée dans le tableau 3.

3. Origine des germes

3.1. Origine endogène

Les infections endogènes sont causées par des opportunistes de la microflore normale du patient (Fig.4) (Black, 2012).

La flore des patients présente au niveau ou à contiguïté du site opéré est à l'origine de la majorité des ISO. Le *S. aureus* et le staphylocoque coagulase négative, premier et second micro-organismes les plus fréquemment rencontrés, sont des résidents de la peau et des muqueuses, et sont à haut risque de contaminer le site opératoire durant la manipulation (Birgand, 2014).

3.2. Origine exogène

Les principales sources de cette flore sont donc :

- **L'équipe chirurgicale**
 - les mains et les ongles de l'équipe chirurgicale portent des micro-organismes qui peuvent contaminer le site chirurgical par inoculation directe durant la procédure chirurgicale (Dineen, 1975 ; Mastro *et al.*, 1990).

Tableau 3 : Répartition des micro-organismes responsables des ISO en différents types de chirurgie - ISO Raisin 2018

	Chirurgie Orthopédique %	Chirurgie Digestive %	Chirurgie Gynécologie %	Chirurgie Urologique %	Chirurgie Neurologique %	Chirurgie Coronaire %
Cocci Gram +	74,0	35,1	60,8	35,9	60	50
<i>Staphylococcus aureus</i>	37,4	6,2	32,1	7,1	40	14,1
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	9,9	2,2	4,8	6,4	2,9	18,8
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	/	/	/	/	2,9	1,6
Autre espèce de Staph. Coag -	6,4	/	5,3	/	/	6,3
Streptocoques non groupables	5,2	4,3	/	/	/	/
<i>Enterococcus faecium</i>	/	6,5	/	/	/	1,6
<i>Enterococcus faecalis</i>	4,1	9,5	7,7	18,6	8,6	6,3
<i>Streptococcus agalactiae</i> (B)	1,8	/	3,3	/	/	/
Streptocoques autres	1,5	/	/	/	/	1,6
Autres cocci Gram +	7,7	6,4	7,7	3,8	4,9	/
Cocci Gram -	/	/	1,9	0,6	/	1,6
<i>Moraxella</i>	/	/	/	/	/	1,6
Entérobactérie	14,7	48,3	26,8	55,8	31,4	28,2
<i>Escherichia coli</i>	4,5	29,20	11,5	30,8	22,9	10,9
<i>Enterobacter cloacae</i>	3,1	3,4	/	4,5	2,9	4,7
<i>Proteus mirabilis</i>	2,1	1,5	5,7	1,9	2,9	6,3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1,5	3,7	2,9	3,8	2,9	1,6
<i>Klebsiella oxytoca</i>	/	2,5	/	3,2	/	1,6
<i>Morganella</i>	/	1,5	/	/	/	/
<i>Serratia</i>	/	/	/	2,6	/	3,1
<i>Citrobacter freundii</i>	/	/	/	1,9	/	/
<i>Citrobacter koseri</i>	/	/	/	1,9	/	/
<i>Enterobacter aerogenes</i>	/	/	/	/	/	/
Autres entérobactéries	1,9	6,5	6,7	5,1	/	/
Anaérobie stricte	5,2	9,2	6,7	1,9	/	3,1
<i>Propionibacterium</i>	4,2	/	/	/	/	3,1
<i>Bacteroides fragilis</i>	/	4,9	2,4	/	/	/
<i>Bacteroides</i> autres	/	1,5	/	/	/	/
Autres anaérobies	0,5	2,8	4,3	/	/	/
Bacilles Gram - non entéro.	3,9	4,6	2,9	5,8	8,6	12,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3,1	3,7	/	5,1	5,7	7,8
<i>Citrobacter kosei</i>	/	/	/	/	/	4,7
<i>Acinetobacter baumannii</i>	/	/	/	0,7	2,9	/
Autres bacilles Gram - non entéro.	0,5	0,9	2,9	/	/	/
Bacilles Gram +	2,3	/	1	/	/	3,1
Corynébactéries	1,5	/	/	/	/	1,6
Autres bacilles Gram +	0,8	/	1	/	/	1,6

Source : Surveillance des infections du site opératoire dans les établissements de santé français, résultats 2018.

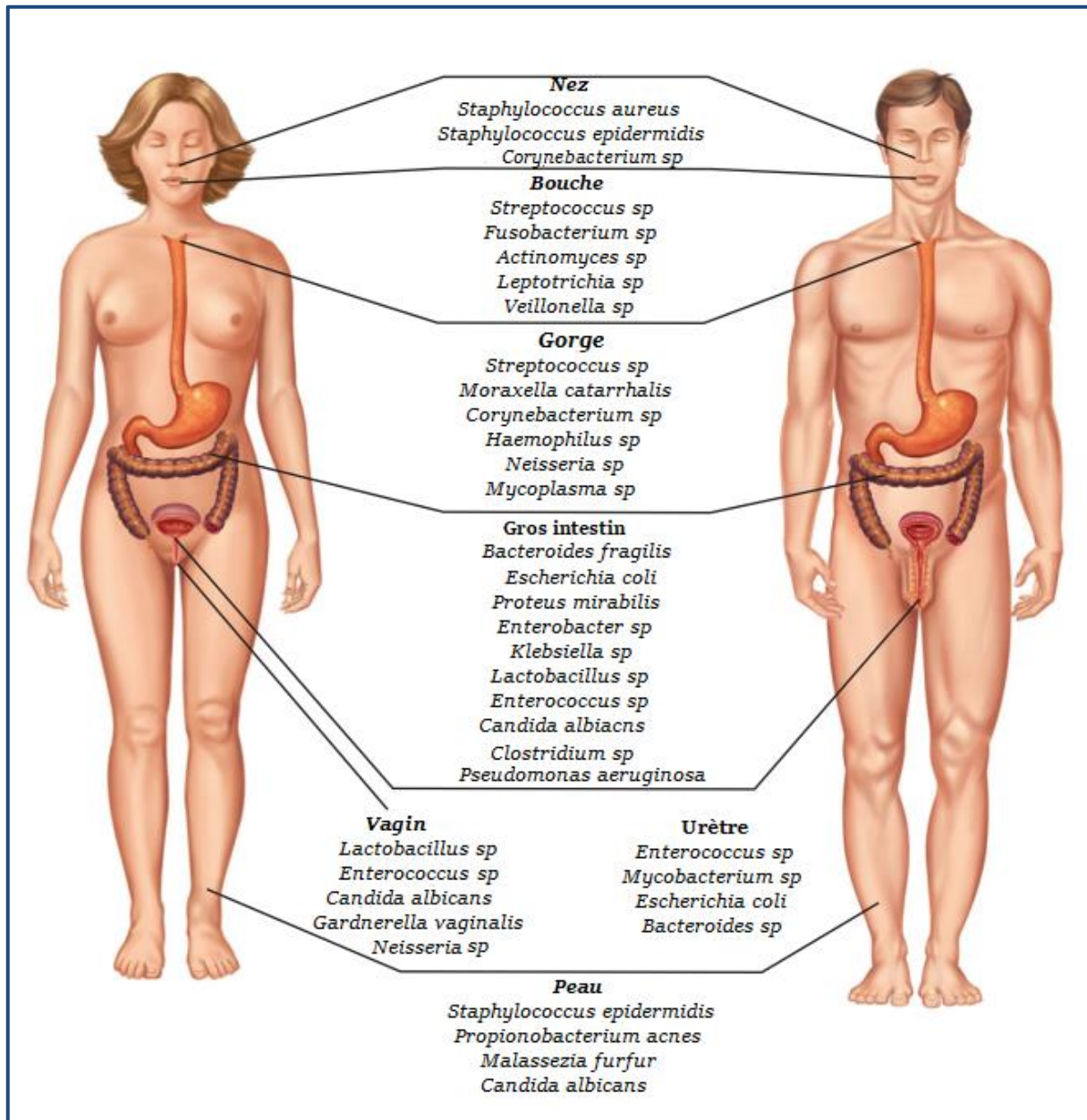


Figure 4. Flore normale du corps humain (Chamberlain, 2009)

- Les cheveux du personnel (aussi bien que ceux du patient lui-même),
- le nez, l'oropharynx peuvent porter des bactéries pathogènes (Creanor, Barton et Marchbank, 2012)
- **Le matériel chirurgical :** Problème de stérilisation, de contamination... (Astagneau et al., 2001).
- **L'air :** Traitement de l'air, concentration des micro-organismes en suspension proportionnelle à l'activité et au nombre de personnes en salle (Giamarellou et Antoniadou, 1996).

4. Les voies de transmission des germes

Les voies de transmission des germes ne sont pas parfaitement connues. Elles peuvent être aériennes, manuportées ou de contiguïté à partir de la flore endogène (**Black, 2012**).

La voie aérienne semble moins fréquente depuis que les blocs opératoires disposent de systèmes de traitement de l'air (filtration, flux laminaire). La flore des personnels de l'équipe chirurgicale est rarement cause. La contamination par du matériel contaminé, déjà très rares, est maintenant exceptionnelle avec renforcement récent des règles de stérilisation et de désinfection des matériels et utilisation de matériel stérile à usage unique (**Black, 2012**).

4.1. Voie endogène

- **Auto-infection** : le malade s'infecte avec ses propres germes à cause d'un acte invasif (porte d'entrée) et /ou en raison d'une fragilité (innée, rupture des barrières physiologiques).

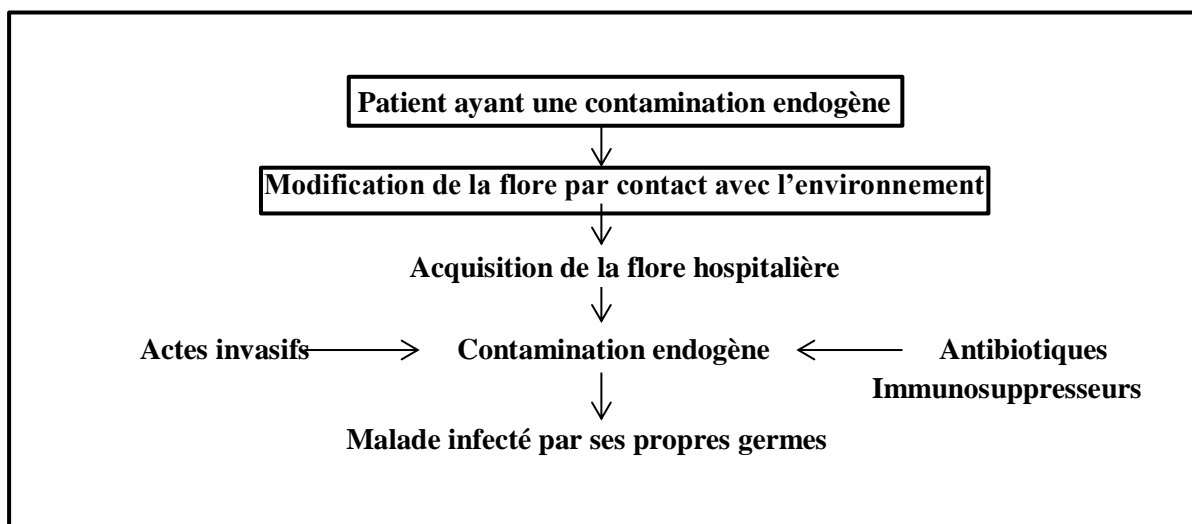


Figure 5. Mode de transmission endogène (**Idrissi, 2019**)

4.2. Voie exogène

- **L'hétéro-infection** : Lorsqu'un agent infectieux est transmis d'un malade à l'autre par les mains ou les instruments.
- **La xéno-infection** : Elle sévit sous forme endémique ou épidémique dans la population extrahospitalière. Les agents infectieux sont importés à l'hôpital par le malade, le personnel soignant et les visiteurs.
- **L'exo-infection** : Elle est liée à des avaries techniques (stérilisation inefficace, filtre à air non stérile, eau polluée) (**Bighoumdan, 2020**).

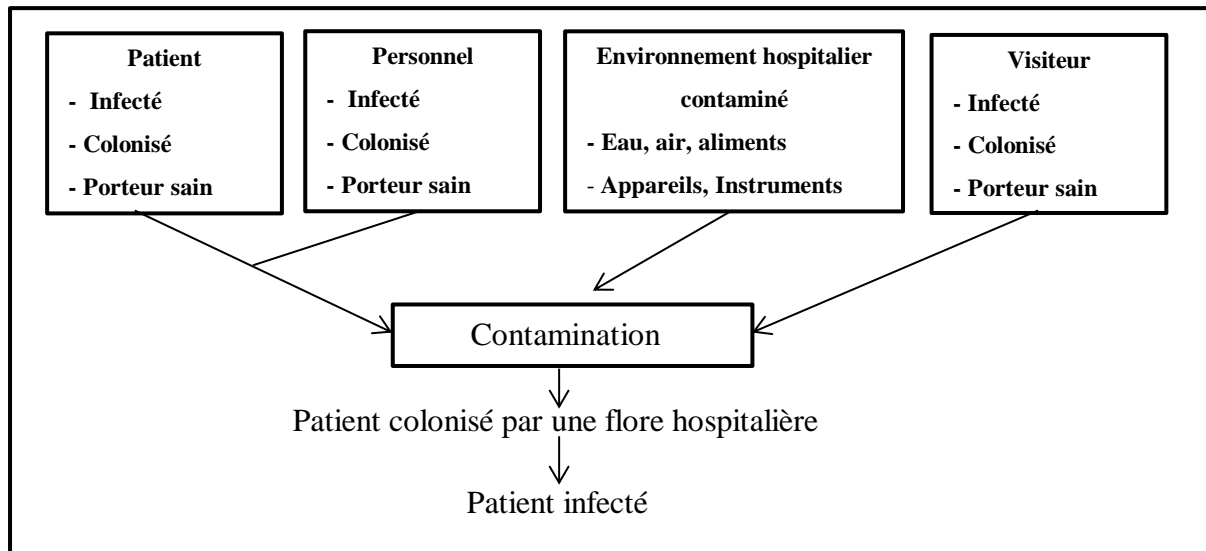


Figure 6. Mode de transmission exogène (Idrissi, 2019)

5. Facteurs de risque

5.1. Facteurs de risque liés à la procédure chirurgicale

5.1.1. Durée d'hospitalisation préopératoire

C'est un facteur de risque démontré par plusieurs études. L'une d'elles montre un taux d'ISO de (Veyssier, Domart et Lebbe, 1998) :

- 6% pour un séjour préopératoire d'une journée,
- 15% lorsque le séjour préopératoire dépasse 21 jours.

Ceci est probablement en rapport avec plusieurs facteurs :

- Colonisation rapide du patient avec une flore hospitalière,
- Procédures invasives acquisition éventuelle d'autres infections nosocomiales,
- Traitement antibiotique,
- Immunosuppresseurs,
- Pathologie sévère justifiant par elle-même une hospitalisation préopératoire plus prolongée.

Il est clairement établi depuis 1971 que le rasage est un facteur de risque d'ISO. Dans une étude, le taux d'ISO est de :

- 0,6% en l'absence du rasage,
- 0,6% en utilisant une crème épilatoire,
- 3,1% lorsque le rasage est effectué immédiatement avant l'intervention,
- 7,1% lorsque il est effectué 24 heures précédant l'intervention
- Plus de 20% lorsque le délai est supérieur à 24 heures

5.1.2. Durée de l'intervention

Lorsqu'elle est supérieure à 2heures, triple le risque relatif d'ISO, toutefois, la durée d'une intervention dépend évidemment du type même de procédure et de sa complexité.

5.1.3. Technique chirurgicale

La dextérité et l'expérience du chirurgien, jouent un rôle fondamental dans la survenue d'une ISO, de plusieurs façons : absence de fautes d'asepsie, de lésions viscérales accidentelles, hémostase correcte, manipulation douce des tissus et organes, exérèse soigneuse de tout tissu dévitalisé, durée d'intervention réduite (Veyssier, *et al.*, 1998).

Le rôle des drainages postopératoires dans la survenue d'ISO est controversé. Certaines études retrouvent un risque accru d'ISO en cas de drainages (Veyssier *et al.*, 1998).

5.1.4. Type de chirurgie

Quatre types de chirurgie selon la classification d'Altemier : Chirurgie propre, chirurgie propre-contaminée, chirurgie contaminée et chirurgie sale-infectée (Latabi, 2013).

5.2. Facteurs de risque liés au patient (Veyssier *et al.*, 1998)

- L'Age, l'expérience de comorbidités, le diabète, l'obésité, la dénutrition, l'hypalbuminémie, une maladie néoplasique ou une immunodépression;
- Le tabagisme actif est un facteur de risque retrouvé en chirurgie cardiaque ;
- L'existence d'un foyer infectieux à distance contemporain de l'intervention multiple par 3 le risque d'ISO.
- Pathologie préexistantes représentées dans le score ASA¹ (*ASA Physical status classification system*, 2014).

5.3. Facteurs de risque liés au personnel médical et paramédical

Les effectifs inadéquats par rapport à la charge de travail ; l'inadéquation architecturale ; le manque de matériel ; La mauvaise observance des procédures ; les interruptions de soins itératives favorisent le manu portage ; les infections croisées des patients ; le portage chronique du personnel (Latabi, 2013).

¹ Score ASA (American Society of Anesthesiology) : utilisé en médecine pour exprimer l'état de santé préopératoire d'un patient.

5.4. Facteurs de risque liés à l'environnement

L'environnement hospitalier est un milieu favorisant les infections du site opératoire par la présence de germes multi résistants. Le risque infectieux est d'autant plus élevé que la durée pré opératoire est longue. Le manque d'hygiène, l'absence, d'isolement des salles opératoires et d'un circuit d'aération influence le risque d'infection du site opératoire (**Choukri, 2019**).

6. Fréquences des infections du site opératoires

Les différentes enquêtes de prévalence des IN, réalisées dans plusieurs établissements hospitaliers montre l'importance des ISO. En effet au CHU de Blida, celles-ci occupent le 1^{er} rang et représentent près de la moitié des IN. Au CHU de Bab El Oued, elles sont plus fréquentes avec 35,4% de l'ensemble des IN. Au CHU de Tizi Ouzou, l'enquête de prévalence menée en 2003 a permis de situer les ISO au 4^{ème} rang par contre, elles se retrouvent au 1^{er} rang dans l'enquête de prévalence de 2010. Au CHU de Tlemcen, les ISO viennent en 2^{ème} position (39%) et Oran en 2007 prennent la 3^{ème} position (14%) (**Guetarni, 2014**).

7. Conséquences des IN post-opératoires

Les ISO ont des conséquences qui varient considérablement selon les structures touchées. Si certaines d'entre elles n'engendrent pour le patient qu'un inconfort passager, d'autres sont dévastatrices causant des infections aiguës disséminées (**Choukri, 2019**).

D'autres dommages liés aux ISO sont chroniques et invalidants, en particulier lorsque l'infection touche des structures osseuses ou du matériel prothétique (**Choukri, 2019**).

Un taux de mortalité de 5.8% parmi les opérés qui avaient développé une ISO dans les 30 jours suivant l'intervention (versus 1.3% chez les autres patients) a été décrit en France.

Les couts peuvent être répartis en trois groupes (**Choukri, 2019**) :

- Les couts hospitaliers représentent l'ensemble des couts directement imputable à l'infection additionnés aux couts indirects hospitaliers qui agrègent tous les frais généraux proportionnels à la durée d'hospitalisation.
- Les couts extrahospitaliers concernent les dépenses liées à la consommation médicale à domicile, et à l'augmentation des frais liés à la réadaptation éventuelle du malade.

- Les couts sociaux sont constitués par un ensemble assez hétérogène difficile à évaluer comme les pertes de salaires, les pertes de production, l'invalidité voire le décès.

8. Hygiène hospitalière

L'hygiène hospitalière est l'affaire de tous ; elle concerne le personnel médical, paramédical, administratif, les malades et les visiteurs. Son but est de minimiser les risques infectieux. Sa mise en application nécessite des moyens appropriés. Une information permanente doit rappeler son intérêt à l'ensemble de l'équipe hospitalière (**Khiati, 2011**).

8.1. Hygiène personnelle

8.1.1. Présentation

L'infirmière doit se débarrasser chez elle ou dans les vestiaires de tout ce qui peut être un véhicule de germes : bagues, montre, chaînes, ongles souvent courts et sans vernis, Pilosité axillaire et pubienne rasées et propres, cheveux propres et ramassés (**Khiati, 2011**).

8.1.2. Le lavage des mains

Avant tout soin, tout geste de nursing, toute technique, il faut se laver les mains. " Le but est de les décontaminer. L'opération s'effectue en trois temps :

- **Lavage au savon** et à l'eau stérile (ou eau potable): il permet d'éliminer la majorité des germes présents en particulier ceux amenés par des contacts septiques.
 - brosser les ongles (avant soin), passer les mains à l'alcool (60° ou plus) ;
- **Pour se laver correctement**, il ne faut pas toucher le robinet des mains après savonnage. L'idéal serait de disposer d'une commande actionnée par le coude ou mieux par le pied ;
- **De même pour l'essuyage**, il ne faut utiliser que des serviettes jetables (distributeur de papier) ou une source d'air chaud actionnée par le pied ou munie d'un système électronique. L'utilisation de gants jetables est moins économique (**Brucker, 1998**).

8.1.3. Tenue vestimentaire

La tenue comprend :

- **Coiffe:** Elle doit couvrir tous les cheveux.
- **Masque:** de préférence à usage unique, il doit couvrir la bouche et le nez. A utiliser obligatoirement, chaque fois, que le risque infectieux paraît manifeste.

- **Blouse:** de laquelle rien ne doit dépasser (col, manches..). Le Pyjama est préférable
- **Chaussures:** Elles doivent être utilisées uniquement à l'hôpital donc laissées au vestiaire à la sortie. Elles ne doivent pas être bruyantes. Le port de bottes est indispensable dans les services ou unités à hauts risques.

Ces vêtements hospitaliers sont changés régulièrement ou chaque fois qu'ils se salissent (tâches...). Pour les services à hauts risques, des vêtements jetables (soit le, masque, bottes) sont préférables (**Brucker, 1998**).

8.2. Hygiène des Locaux

8.2.1. Linge

Des règles strictes doivent être observées en ce qui concerne la manipulation du linge. Le linge propre doit être mis dans des sacs de plastique fermés. Au niveau de la lingerie, chaque arrivage doit être aussitôt placé sur les étagères par catégories, (draps, blouses...).

Le linge sale doit être placé immédiatement dans un sac en plastique, puis fermé hermétiquement. Le chariot de ramassage des sacs de linge sale ne doit pas pénétrer dans la chambre du malade. Au niveau du lieu de stockage, le sac rempli ne doit jamais rester plus de 24 heures. Les chariots, les couloirs et les monte charges doivent être nettoyés et désinfectés après chaque usage (**Khiati, 2011**).

8.2.2. Alimentation des malades

Les récipients des repas doivent être couverts. Ils seront, de même que les chariots, nettoyés après chaque utilisation. Pour les services à hauts risques infectieux, le service se fera dans la chambre du malade. Les assiettes, verres et convertis seront laissés sur place après lavage. A la sortie du malade, ils seront désinfectés. La récupération des restes se fera dans des sacs, lesquels seront hermétiquement fermés et envoyés au service de désinfection pour être incinérés (**Khiati, 2011**).

8.2.3. Propreté des locaux

L'hygiène des locaux est basée sur le nettoyage et la désinfection. En effet, le balayage classique n'élimine qu'un tiers des poussières alors qu'un balayage humide (utilise un tissu humide imprégné d'un fixateur) en élimine 90% des poussières. Ce dernier doit être pratiqué une fois par jour.

La personne chargée du nettoyage des sols doit porter des gants de ménage. L'ensemble du matériel ainsi que la blouse portée au moment du travail doivent être désinfectés.

A ce travail quotidien, il faut ajouter le dépoussiérage des surfaces horizontales (étagères, meubles...) à l'aide d'un chiffon imbibé de détergent bactéricide. Les lavabos et les bidets sont nettoyés et désinfectés quotidiennement, de même pour la cuvette de W.C., La désinfection doit se faire immédiatement après chaque utilisation.

8.3. Hygiène de l'Environnement

L'emplacement de l'hôpital doit se situer loin des centres urbains (bruit, pollution, promiscuité..). La construction horizontale (services dispersés) répond mieux aux impératifs de sante: calme, isolement facile, espaces verts (**Khiati, 2011**).

Au sein des services, plus de salles communes mais de petites chambres pour un, deux ou trois malades au maximum comprenant un sanitaire et une antichambre. Dans les services à hauts risques (prématurés, chirurgie..) la chambre est individuelle. Dans chacune de ces chambres, il doit exister deux blouses au niveau de l'antichambre l'une pour le médecin, l'autre pour l'infirmière. Ces blouses sont laissées à leur place chaque fois que l'infirmière ou le médecin sort (**Khiati, 2011**).

Les services contagieux avec box individuels doivent être conçus de façon à lutter contre l'infection (**Khiati, 2011**).

9. Prévention des infections du site opératoire

9.1. Surveillance

La surveillance des IN est le fondement d'un programme de prévention, elle consiste en un processus dynamique de collection, organisation, analyse, et rapports des données et/ou des événements spécifiques à une population définie. C'est une activité essentielle, et purement descriptive pour aboutir aux objectifs suivants :

- Mesure le niveau des risques infectieux dans un établissement de soins.
- Suivre les tendances évolutives de certaines infections nosocomiales (sites ou micro-organismes particuliers).
- Identifier les facteurs de risques de survenue de ces infections selon les structures de soins et les procédures.
- Définir la politique de prévention.

- Evaluer l'efficacité de cette politique de prévention
- Sensibiliser l'ensemble des professionnels hospitaliers aux risques infectieux et les informer sur la fréquence et les caractéristiques de ces infections dans leur établissement (**Kelaiaia et Zoufoul, 2014**).

9.2. Prévention

On a estimé que 7.5% des opérations se compliquaient d'une infection de plaies, mais ce chiffre ne peut guère être appliqué à une situation individuelle, car il existe des variations considérables. Ce qui détermine le risque de ces infections est extrêmement complexe et, les attitudes de préventions sont multiples (**Pechère et al., 1991**).

Voici quelques mesures qui ont fait leurs preuves au cours d'études contrôlées (**Pechère et al., 1991, Epelboin et Macey, 2009**)

➤ Pré-opératoires

- Raccourcir autant que possible l'hospitalisation préopératoire ;
- Recherche et éradication de foyers infectieux ;
- Recherche de portage de bactéries multirésistantes et adaptation de l'antibioprophylaxie en fonction ;
- Préparation cutané du patient selon protocole précis, Eviter de raser le malade juste avant l'opération, dépilation (rasoir électrique ou dépilation chimique si possible).

➤ Per-opératoires

- Matériel chirurgicale stérile, lavage des mains chirurgical, habillage stérile de l'équipe ;
- Poursuite de la préparation cutanée du patient avec de la chlorhexidine alcoolique ou de la polyvinylpyrrolidone iodée ;
- Antibioprophylaxie : monothérapie adaptée aux germes potentiellement responsables d'ISO, à débiter juste avant l'incision et à poursuivre 48h maximum.

➤ Post-opératoires

- Gestion des déchets au bloc ;
- Pansements et drainages réalisés avec des mesures d'asepsie stricte par personnel correctement formé ;
- Surveillance de la survenue d'ISO.

CHAPITRE 3

BACTERIOLOGIE DES INFECTIONS NOSOCOMIALES POST-OPERATOIRES



1. Cocci Gram positif

1.1. *Staphylococcus aureus*

1.1.1. Habitat

S. aureus est membre de la famille des *Micrococcaceae* (Mainous et Pomeroy, 2001) elle est très répandus dans la nature et fait partie de la flore normale de nombreux individus. Elle peut être trouvés particulièrement dans les fosses nasales antérieures, la peau et surtout les zones chaudes et humides (creux axillaire, périnée) et aussi de selles (Avril *et al.*, 1992).

1.1.2. Caractères morphologiques

Tableau 4 : Caractères morphologiques de *S. aureus* (Wilson, 2008 ; Freeman, 2006)

Aspect	Capsule ou spore	Mobilité	Gram
Cocci 1µm, groupés en amas irrégulier (grappe de raisin).	Non capsulées Asporulées	Immobile	Positif

1.1.3. Caractères cultureux

Tableau 5 : Caractères cultureux de *S. aureus* (Kayser *et al.*, 2005 ; Kar, 2008)

Type respiratoire	Gélose permettant la pousse	Aspect colonie
AAF	Gélose au sang, Chapman	Colonies jaunes dorées, zones hémolytiques autour des colonies

1.1.4. Caractères biochimiques et enzymatiques

- Catalase-positif, oxydase-négative (la plupart des espèces) ;
- Fermentent un certain nombre de sucres en donnant de l'acide lactique ;
- Croissance dans une température de 10-45°C, T° optimale est de 30-37°C ;
- Croissance dans un pH de 4,0 à 9,0, pH optimale est de 7,0-7,5 ;
- Halotolérant : toutes les espèces se développent à 10% NaCl, d'autres à 15% ;
- Croissance à de faibles activités de l'eau (environ 0,85) ;
- Production d'une variété d'enzymes hydrolytiques : protéases, lipases, kératinases et nucléases, de nombreuses espèces hydrolysent l'urée (Wilson, 2008).

1.1.5. Pouvoir pathogène

Les SNC sont d'importants pathogènes opportunistes et sont responsables de la plupart des infections liées aux dispositifs médicaux. Ils peuvent également provoquer des endocardites infectieuses et des infections des voies urinaires (**Wilson, 2008**).

Infections locales purulentes : furoncles, escarboucles, impétigo bulleux, infections des plaies blessures, sinusites, otites moyennes, mastites puerpérales, ostites, pneumonie post-grippale, septicémie (**Kayser et al., 2005**).

S.aureus produit des toxines (les hemolysines alpha et bêta, la leucocidine, l'exfoliatine et les enterotoxines), et des enzymes (coagulases, fibrinolysine, hyaluronidase, nucléase).

1.1.6. Traitement et résistance aux antibiotiques

Le traitement des infections par les bêta-lactamines rencontre des problèmes avec la sécrétion des bêta-lactamases par les staphylocoques. En effet aujourd'hui près de 90% des souches de staphylocoques isolées en milieu hospitalier et extra-hospitalier résistent à la pénicilline G. Ces bêta lactamases inactivent les pénicillines V, l'ampicilline, la carbénicilline et leurs dérivés les uréidopénicillines .Elles ont peu d'affinité pour la méthicilline, l'oxacilline, cloxacilline et les céphalosporines (**Kientega, 2012**).

1.2. *Streptococcus sp*

1.2.1. Habitat

Les streptocoques sont ubiquitaires, présents essentiellement chez l'homme (généralement pharynx, mais aussi se trouvent sur la peau) (**Nauciel et Vildé, 2007**).

1.2.2. Caractères morphologiques

Tableau 6: Caractères morphologique de streptocoque (**Mainous et Pomeroy, 2001 ; Grosjean et al., 2017**).

Aspect	Capsule ou spore	Mobilité	Gram
Cocci sphériques ou ovoïdes, diplocoques ou en chaînette	Capsulée, Asporulée	Immobile	Positif

1.2.3. Caractères cultureux

Tableau 7: Caractères cultureux de streptocoque (Grosjean *et al.*, 2017; Wilson, 2008, Brachman et Abrutyn, 2009)

Type respiratoire	Gélose permettant la pousse	Aspect colonie
Aérobie AAF Culture favorisée par CO ₂	Bouillon cœur-cervelle Gélose nutritive Gélose au sang, à l'acide nalidixique	<i>S. pneumoniae</i> : colonies α- hémolytiques (zone verdâtre), parfois muqueuse <i>S. pyogenes</i> : colonies β- hémolytique (zone claire)

1.2.4. Caractères enzymatiques, biochimiques et antigéniques

- Certaines espèces sont acidophiles et peuvent survivre à des pH aussi bas que 4,1 ;
- Catalase-négative ;
- Croissance sur une plage de température de 20 à 42°C, croissance optimale à environ 37°C ;
- Fermentation des hydrates de carbone pour produire principalement du lactate

Les streptocoques possèdent des antigènes capsulaires, des antigènes liés à la paroi et des antigènes cytoplasmiques. Ils permettent l'identification précise des streptocoques et leur classification dans les groupes de Lance Field en 18 sérogroupes notés de A à H et K à T (Kientega, 2012; Wilson, 2008).

1.2.5. Pouvoir pathogène

➤ *Streptococcus pneumoniae*

La virulence du pneumocoque est liée à la composition et à la taille de la capsule, les composants de sa paroi et sa possession de pneumolysine (Mainous, Pomeroy, 2001).

Elle peut être à l'origine de plusieurs maladies : Pneumopathie franche lobaire aigue (PFLA), pleurésie secondaire, infection ORL, méningite primitive ou secondaire, péritonite (sans perforation digestive), arthrite et urétrite (Grosjean *et al.*, 2017)

➤ *Streptococcus pyogenes*

Infection cutanée : Superficielle à type d'impétigo, érysipèle, dermo-épidermite d'évolution rapide, surinfection de plaies, dermo-hypodermite infectieuse, fasciite nécrosante.

Comme elle peut aussi être responsable de : Angine érythémateuse ou érythémato-pultacée, scarlatine, sinusite et otite suppurée, endométrite dans les suites de couches, bactériémie ou choc septique, choc toxique streptococcique (souche productrice de toxine) et des Complications post-streptococciques (Grosjean *et al.*, 2017).

1.2.6. Résistance aux antibiotiques

Les streptocoques sont sensibles aux pénicillines et aux macrolides. Ils sont résistants aux polymyxines et généralement aux quinolones. Il existe une résistance naturelle aux aminosides, mais ils ont souvent une synergie d'action avec les pénicillines.

2. Bacilles à Gram négatif

2.1. *Escherichia coli*

2.1.1. Habitat

C'est l'espèce dominante de la flore aérobie du tube digestif de l'homme et des animaux). *E. coli* est habituellement une bactérie commensale. Elle peut devenir pathogène si les défenses de l'hôte se trouvent affaiblies ou si elle acquiert des facteurs de virulence particuliers (Kientega, 2012).

2.1.2. Caractères morphologiques

Tableau 8: Caractères morphologiques d'*E.coli* (Lydyard *et al.*, 2010)

Aspect	Capsule ou spore	Mobilité	Gram
Bacille 0.6-1 µm de large et 2-3 µm de long	Asporulée	le plus souvent mobile, flagelles péritriches	Négatif

2.1.3. Caractères cultureux

Tableau 9: Caractères cultureux d'*E.coli* (Kientega, 2012; Ashutosh Kar, 2008)

Type respiratoire	Gélose permettant la pousse	Aspect colonie
Aérobie	Gélose EMB Héktoen	Colonies rondes, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre.

2.1.4. Caractères enzymatiques, biochimiques et antigéniques (Avril *et al*, 1992, Hogg, 2005 ; 16)

- ONPG (+) (exceptions), mannitol (+), Rouge méthyl (+), Uréase (-), H₂S (-), Gaz(+)
- Capable de fermenter le lactose et de produire de l'indole
- Possède des antigènes O (somatiques), des antigènes K (capsulaires) et des antigènes H (flagellaires) (Kayser, 2005).

2.1.5. Pouvoir pathogène

E.coli est l'espèce la plus fréquemment isolée dans le laboratoire de bactériologie, soit 39.4% (Kientega, 2012), elle est impliquée dans de nombreuses infections à point de départ digestif ou urinaire : suppurations localisées ou septicémies. Il peut s'agir d'infections communautaires ou nosocomiales (Nauciel et Vildé, 2007).

2.1.6. Traitement et résistance aux antibiotiques

Les souches de *E .coli* sont généralement sensibles aux antibiotiques actifs sur les bacilles à Gram négatif : amino-pénicillines, céphalosporines, quinolones, aminosides, triméthopime-sulfaméthaxazole (Kientega, 2012), uréidopénicillines (Kayser, 2005), Néanmoins cette sensibilité doit toujours être vérifiée par antibiogramme.

2.2. *Pseudomonas aeruginosa*

2.2.1. Habitat

Bactérie ubiquitaire. Capable de survivre dans l'environnement (eaux, surface, air, aliments), particulièrement en milieu humide. En milieu hospitalier peut être rencontré dans l'environnement proche du malade.

Peut faire partie de la flore transitoire de l'homme : flore digestive, cutanée, pharyngée ; il est montré que le portage augmente avec la durée d'hospitalisation.

2.2.2. Caractères morphologiques

Tableau 10: Caractères morphologiques de *Pseudomonas aeruginosa*

Aspect	Capsule ou spore	Mobilité	Gram
Bacille fins : 1 à 3µm de long ; 0.5 à 1 µm de large	Parfois capsulée, non sporulée	Mobile Plutôt en ligne droite	Négatif

2.2.3. Caractères cultureux

Tableau 11: Caractères cultureux

Type respiratoire	Gélose permettant la pousse	Aspect colonie
Aérobie	Gélose nutritive, BCP, au sang, gélose cétrimide. Pas d'exigence particulière	Colonies larges 2-3mm, bord irrégulier, surface plus ou moins rugueuse, plates sur le bord bombées au centre, aspect irisé métallique. Colonie small lisses bombées à bord régulier. Pigment vert brillant diffusible; pyoverdine (jaune vert fluorescent) et pyocyanine (bleu spécifique de cette espèce) Odeur de type seringa

Certaines souches présentent des caractères différents :

- Colonies non pigmentées ou colorées en brun ou en rouge (par production de pyomélanine ou pyorubine).
- Colonies M « muqueuses », bombées, rencontrées chez les souches produisant du slime. (Isolée dans certaines pathologie chroniques : mucoviscidose, dilatation des bronches).
- Colonies naines plus difficiles à cultiver.

2.2.4. Caractères enzymatiques, biochimiques et antigéniques

- Utilise le glucose comme source d'énergie par un métabolisme oxydatif plutôt que fermentatif.
- Oxydase positive (**Greenwood *et al.*, 2012**).
- Plusieurs sérotypes en fonction des acides gras O du lipopolysaccharide

2.2.5. Pouvoir pathogène

P.aeruginosa est un pathogène opportuniste, les infections pourront avoir une origine endogène ou exogène.

- **Infection nosocomiale** : pneumopathie chez les malades sous respirateur, infection os-téoarticulaire sur matériel, infection urinaires chez les malades sondés, infection cutanée secondaire à des brûlures, septicémie.
- **Infection communautaire** : broncho-pneumopathie, otite externe, enophtalmie après traumatisme, infection cutanée dans les ulcères.

2.2.6. Traitement et résistance aux antibiotiques

La plupart des isolats de *P.aeruginosa* sont intrinsèquement résistants aux agents antimicrobiens couramment utilisés. Les souches multirésistantes aux médicaments sont de plus en plus courantes. Les aminoglycosides (gentamicine, amikacine et tobramycine) et les composés B-lactamines (pipéracilline ticarcilline, ceftazidime et carbapénèmes) sont souvent utilisés, seuls ou en combinaison.

Les fluoroquinolones telles que la ciprofloxacine présentent une bonne activité contre *P. aeruginosa* mais une résistance peut se développer.

La monothérapie avec des agents B-lactamines à large spectre tels que le ceftazidime et l'imipénème est possible mais la résistance se produit rapidement.

Les polymyxines, bien que néphrotoxiques, montrent une bonne activité contre *Ps. aeruginosa* et la résistance est inhabituelle (**Greenwood *et al.*, 2012**).

2.3. *Acinetobacter sp*

2.3.1. Habitat

Acinetobacter se trouve principalement dans le sol et l'eau, isolée parfois dans le lait et les produits laitiers et dans quelques aliments. Cette bactérie a la capacité de coloniser de nombreux matériels : respirateurs, lavabos, savons et antiseptiques.

Ils sont également isolés commensaux de la peau, de la gorge et de diverses sécrétions de personnes en bonne santé (**Gillespie et Hawkey, 2006**).

2.3.2. Caractère morphologiques

Tableau 12: Caractère morphologiques (**Wilson, 2008**)

Aspect	Capsule ou spore	Mobilité	Gram
Coccobacilles en paires ou en petits groupes	Souvent encapsulés	Immobilés	Négatif

2.3.3. Caractères cultureux

Tableau 13: Caractères cultureux (Gillespie et Hawkey, 2006)

Type respiratoire	Gélose permettant la pousse	Aspect colonie
Aérobies strictes	Mac Conkey, CLED <i>Acinetobacter</i> gélose	Colonies de 1 à 2 mm de diamètre, lisses souvent muqueuses, blanc-jaunâtre et d'aspect butyreux

2.3.4. Caractères enzymatiques et biochimiques (Wilson, 2008)

- Catalase-positif, oxydase négative ;
- Croissance dans une plage de températures de 20 à 42°C et leur température optimale est de 33-35°C ;
- Certaines espèces sont halotolérantes capables de se développer à NaCl 6 %.
- Elles ne peuvent pas métaboliser le glucose
- Les acides organiques (par exemple, l'acétate, le lactate et le pyruvate), acides aminés et alcools semblent être leurs principales sources de carbone et d'énergie.
- Ils peuvent se développer sur des ions ammonium comme seule source d'azote.

2.3.5. Pouvoir pathogène

A. baumannii est un pathogène nosocomial important, résistant aux antibiotiques, mais est rarement détecté sur la peau des individus non hospitalisés (Wilson, 2008).

La présence d'une capsule polysaccharidique rend la surface cellulaire de cette bactérie plus hydrophile. Sa capsule avec ces pilis lui confèrent aussi la capacité de s'adhérer aux cellules épithéliales de l'homme humaines (Gillespie et Hawkey, 2006).

Elle possède des lipases (*butyrate-estérase*, *caprylate-estérase* et *leucine arylamidase*) qui peuvent endommager les lipides tissulaires (Gillespie et Hawkey, 2006).

2.3.6. Traitement et résistance aux antibiotiques

Le traitement est souvent difficile en raison de la multi résistance du germe. Le ceftazidime et surtout l'imipénème ont une activité notable. L'activité des aminosides est variable. Les quinolones, l'association triméthoprimesul faméthoxazole et la rifampicine peuvent être parfois efficaces. L'*Acinetobacter* est sensible aux polymyxines (Kientega, 2012).

2.4. *Klebsiella*

Les *Klebsiella* sont des *Enterobacteriaceae*, ce genre est composé de plusieurs espèces pathogènes pour l'homme : *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella rhinoscleromatis* et *Klebsiella ozenae*. Elles sont les espèces les plus rencontrées (Kientega, 2012).

2.4.1. Habitat

Elles sont fréquemment isolées des eaux, du sol et des végétaux. Elles sont présentes dans la flore fécale de l'homme et sont souvent commensales de la peau, des muqueuses et des voies respiratoires. Les malades s'infectent soit avec leurs propres souches, soit des souches responsables de petites épidémies hospitalières. Ces souches sont alors manuportées de malade à malade (Kientega, 2012).

2.4.2. Caractères morphologiques

Tableau 14: Caractères morphologiques de *Klebsiella* (Brisse, Grimont *et al.*, 2006).

Aspect	Capsule ou spore	Mobilité	Gram
Bacilles : 1 à 2µm de long	Généralement encapsulées	Immobilés	Négatif

2.4.3. Caractères cultureux

Tableau 15: Caractères cultureux de *Klebsiella* (Avril *et al.*, 1992, Greenwood *et al.*, 2012)

Type respiratoire	Gélose permettant la pousse	Aspect colonie
Anaérobies facultatives	Héktoen	Blanc grisâtre, rondes, de 3 à 4 mm de diamètre, bombées, muqueuses et ayant une tendance à la confluence.

2.4.4. Caractères enzymatiques et biochimiques

- Fermentant de nombreux glucides
- Elles ne possèdent ni ODC, ni ADH, ni TDA, ni lipase et ne produisent pas d'H₂S, uréase (+/-), ornithine decarboxylase (+/-), Indol (+/-)
- *K. pneumoniae* est VP (+), ONPG (+), LDC (+) et attaque le glucose en produisant beaucoup de gaz, *K. oxytoca* se distingue par la production d'indole (Avril *et al.*, 1992, Hart, Shears, 1999).

2.4.5. Pouvoir pathogène

K. pneumoniae, de loin la plus souvent rencontrée, et *K. oxytoca* sont isolées principalement de broncho-pneumopathies aiguës ou subaiguës, mais aussi d'infections urinaires, hépato-biliaires ou de pus divers (Avril *et al.*, 1992).

K. pneumoniae est un agent important des infections nosocomiales. La présence de dispositifs invasifs, la contamination de l'équipement de soutien respiratoire, l'utilisation de cathéters urinaires et l'utilisation d'antibiotiques augmentent considérablement la probabilité d'infections nosocomiales (Parija, 2012).

En raison du terrain débilité sur lequel elles se développent, les septicémies à *Klebsiella* ont un pronostic très sévère (Avril *et al.*, 1992).

2.4.6. Résistance aux antibiotiques

La majorité des souches héberge des plasmides R qui les rendent résistantes à de nombreux antibiotiques (Avril *et al.*, 1992).

Les isolats cliniques de *Klebsiella* produisent caractéristiquement une B-lactamase qui les rend résistants à l'ampicilline et à l'amoxicilline, mais les combinaisons de ces deux antibiotiques avec des inhibiteurs de B-lactamase tels que l'acide clavulanique sont habituellement efficaces (Greenwood *et al.*, 2012).

Un large éventail de bêta-lactamines, d'aminoglycosides, de quinolones et d'autres antibiotiques sont utiles pour le traitement des infections à *Klebsiella*. Les céphalosporines sont largement utilisées en monothérapie et en combinaison avec des aminoglycosides (Parija, 2012).

Les *klebsiella* sont normalement sensibles aux dérivés B-lactamase stables tels que le céfuroxime et le céfotaxime, et aux fluoroquinolones. La résistance au chloramphénicol et aux tétracyclines varie d'une souche à l'autre.

Les souches multirésistantes des espèces de *Klebsiella* causent parfois de graves problèmes d'infection hospitalière (Greenwood *et al.*, 2012).

2.5. *Enterobacter*

Le genre *Enterobacter* est composé de plusieurs espèces : *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Hafnia alvei*, *Enterobacter pantoea*, *Enterobacter gergoviae*, *Enterobacter sakazakii*. Elles sont voisines des klebsiella dont elles se distinguent par leur mobilité.

2.5.1. Habitat

Ce sont des commensaux du tube digestif de l'homme et des animaux. On les trouve dans les eaux, sur le sol, sur la peau et les muqueuses.

Ce sont tous des pathogènes opportunistes avec notion marquée d'hospitalisme infectieux. *Enterobacter agglomerans* étant une bactérie du milieu extérieur, la source de contamination des malades devra être recherchée dans l'environnement (Kientega, 2012).

2.5.2. Caractères morphologiques

Tableau 16: Caractères morphologiques d'*Enterobacter* (Greenwood *et al.*, 2012)

Aspect	Capsule ou spore	Mobilité	Gram
Bacille	Asporulée	Mobile	Négatif

2.5.3. Caractères cultureux

Tableau 17: Caractères cultureux (Greenwood *et al.*, 2012, Parija, 2012)

Type respiratoire	Gélose permettant la pousse	Aspect colonie
AAF	Gélose au sang de mouton Mac Conkey	Grandes colonies, grises et sèches ou mucoïdes. Colonies roses

2.5.4. Caractères biochimiques et enzymatiques

- VP (+), ODC(+), parfois ADH(+), uréase(-), TDA(-), DNase(-), indole(-) et H₂S(-)
- Rouge méthyle (+/-), citrate (+), gaz issue de la fermentation de glucose (+), ornithine décarboxylase (+) (Avril *et al.*, 1992, Hart, Shears, 1999).

2.5.5. Pouvoir pathogène

Ces bactéries pathogènes opportunistes sont responsables d'infections nosocomiales fréquentes et graves, telles que les infections urinaires, infections des voies respiratoires

inférieures, infections de la peau et des tissus mous, une bactériémie, une endocardite, des infections intraabdominales, une arthrite septique, une ostéomyélite (Parija, 2012), des septicémies, méningites, infections néonatales et de suppurations diverses chirurgicales et non chirurgicales (Avril *et al.*, 1992)

Elles causent rarement des maladies chez des personnes en bonne santé. Les patients qui restent à l'hôpital, traités avec des agents antimicrobiens et ceux avec des conditions sous-jacentes graves, avec des dispositifs étrangers, et avec immunosuppression sont également à haut risque d'avoir des infections à *Enterobacter* (Parija, 2012).

2.5.6. Traitement et résistance aux antibiotiques

Les souches d'*Enterobacter* produisent une B-lactamase chromosomique avec une activité céphalosporinase et sont presque toujours très résistantes aux pénicillines et à de nombreuses céphalosporines. Beaucoup sont également résistants aux tétracyclines, au chloramphénicol et à la streptomycine, bien que la plupart soient sensibles à d'autres aminoglycosides, y compris la gentamicine. La plupart des souches sont sensibles aux fluoroquinolones, au co-trimoxazole, carbapénèmes et aux polymyxines (Greenwood *et al.*, 2012).

2.6. *Serratia*

Le genre *Serratia* comporte plusieurs espèces dont le plus fréquent est *Serratia marcescens*. Ce sont des *Enterobacteriaceae*, (Kientega, 2012).

2.6.1. Habitat

Ce sont toutes des bactéries du milieu extérieur. Elles se comportent comme des pathogènes opportunistes avec un double tropisme : arbre respiratoire et urinaire. *Serratia marcescens* est l'espèce la plus fréquente au sein de ce genre : 90% des isolements humains, suivi par *Serratia liquefaciens* 2-9%, puis *Serratia rubidea* 0.2-3.5%.

2.6.2. Caractères morphologiques

Tableau 18: Caractères morphologiques de *Serratia* (Gillespie et Hawkey, 2006)

Aspect	Capsule ou spore	Mobilité	Gram
Bacille	Encapsulées	Mobile	Négatif

2.6.3. Caractères cultureux

Tableau 19: Caractères cultureux de *Serratia* (Kayser, 2005)

Type respiratoire	Gélose permettant la pousse	Aspect colonie
Aérobie	Hektoen	Colonies pigmentées en rouge

2.6.4. Caractères enzymatiques et biochimiques

Serratia est capable de fermenter le lactose et possède les caractéristiques suivantes : Uréase (+), gélatinase (+), arginine décarboxylase (-), VP(+), ONPG(+), indole (-), lysine décarboxylase (+), inositol (+), H₂S (-), méthyle rouge (+/-), ornithine décarboxylase (+/-) (Gillespie et Hawkey, 2006)

2.6.5. Pouvoir pathogène

Serratia marcescens est la seule espèce pathogène causant une infection humaine. À l'hôpital, *Serratia* colonise généralement les voies respiratoires et urinaires des patients adultes. La bactérie est responsable de presque 2% des infections nosocomiales des voies urinaires, les voies respiratoires inférieures, plaies chirurgicales, sang, la peau et les tissus mous de ces patients. *S. marcescens* a été associé à des éclosions de méningite, d'infections de plaies et d'arthrite dans les services pédiatriques et dans les unités de soins intensifs. La bactérie provoque également une endocardite et l'ostéomyélite aux patients ayant leurs médicaments par voie intraveineuse (Parija, 2012).

2.6.6. Traitement et résistance aux antibiotiques

Les *Serratia* sont les espèces bactériennes les plus résistantes aux antibiotiques. Elles ont une résistance naturelle à la céphalotine, à la colistine et aux tétracyclines. Certaines souches sont résistantes aux céphalosporines de 3ème génération. Des souches pratiquement «résistantes à tout» peuvent se rencontrer posant des problèmes thérapeutiques difficiles

2.7. *Proteus*

Font partie de la famille des *Enterbacteriaceae*, le genre *Proteus* est composé de plusieurs espèces : *P.vulgaris* et *P.mirabilis*, *P.myxofaciens*, *P.penneri*, *P.inconstans*, *P.rettgeri*.

2.7.1. Habitat

Ils sont présents dans le colon humain ainsi que dans le sol et l'eau (Levinson, 2014). Ce sont toutes des bactéries pathogènes opportunistes.

2.7.2. Caractères morphologiques

Tableau 20: Caractères morphologique de *Proteus* (Gillespie et Hawkey, 2006)

Aspect	Capsule ou spore	Mobilité	Gram
Bacilles très polymorphes (bacilles courtes, bacilles longues)	Encapsulées non sporulées	Certaines souches sont mobiles (longs flagelles)	Négatif

2.7.1. Caractères cultureux

Tableau 21 : Caractères cultureux de *Proteus* (Gillespie et Hawkey, 2006, Levinson, 2014)

Type respiratoire	Gélose permettant la pousse	Aspect colonie
Aérobie	Gélose au sang Mac Conkey PIM (protéase isolation medium)	Effet essaimage frappant sur gélose (expansion des anneaux sous forme de vague)

2.7.2. Caractères biochimiques e enzymatiques

- Production de l'enzyme phénylalanine désaminase
- Production d'H₂S par certaines espèces (Levinson, 2014)
- Production des enzymes uréase et lipase
- Rouge Méthyle (+), VP(-), oxydase (-) (Hogg, 2005)
- Fourmillement (swarming) (Gillespie et Hawkey, 2006)

2.7.3. Pouvoir pathogène

La production de l'enzyme uréase est un dispositif important de la pathogénicité de ce germe. L'uréase hydrolyse l'urée dans l'urine pour former de l'ammoniac, ce qui augmente le pH, produisant une urine alcaline. Cela favorise la formation de calculs appelés « struvite » (Levinson, 2014).

P. mirabilis a été signalé comme causant un certain nombre d'autres infections : bactériémie, infection des voies urinaires, infections nosocomiales de blessure, méningite chez les nouveau-nés, abcès cérébral, et l'infections de l'oreille moyenne.

2.7.4. Traitement et résistance aux antibiotiques

Les B-Lactamine sont largement utilisés pour traiter les infections causées par des bactéries de la famille des *Enterobacteriaceae*. Dans le cas de *P. mirabilis* et contrairement aux autres espèces, elle est généralement très sensible aux antibiotiques, elle ne semble pas produire de céphalosporinase chromosomique ou d'AmpC de type pénicillinase.

De nombreux cas d'infection causés par *P. mirabilis* peuvent souvent être traités avec de l'ampicilline ou des céphalosporines plus anciennes telles que la cefradine ou la céfalexine.

La résistance à l'imipénem est très rare chez les *Proteus*, à l'exception des isolats occasionnels de *P. mirabilis*.

La plupart des isolats de *Proteus* sont sensibles aux aminoglycosides, à condition qu'aucune des enzymes inactivant l'aminoglycoside médiée par les plasmides ne soit présente.

CHAPITRE 4

MATERIEL ET METHODES



1. Cadre d'étude

Ce travail a été effectué au laboratoire pédagogique de l'université Abd-El-Hafid Boussouf- Mila, les 15 échantillons analysés ont été prélevés à partir de plaies chirurgicales de patients opérés et hospitalisés au niveau du service de chirurgie générale de l'hôpital Sept Frères Maghlaoui – Mila

Ces prélèvements sont accompagnés d'une fiche qui comporte les renseignements suivants : numéro de prélèvement, âge, sexe, nature et site de prélèvement.

2. Limites et contraintes de l'étude

Au vu de la situation sanitaire actuelle relative à l'épidémie de coronavirus (COVID-19), et les mesures de protection ordonnées par les autorités, l'accès aux hôpitaux et laboratoires d'analyses microbiologiques était trop limité voir complètement interdit, ainsi les services de chirurgie était suspendus pendant plus de deux mois, et pour ces raisons nous avons rencontré d'énormes difficultés lors de la collecte des échantillons, ce qui a influencé directement sur le bon déroulement de notre étude.

Les limites de notre étude se situent au niveau de la représentativité de l'échantillon par rapport à la population générale. Le cadre de l'étude ne permet pas une généralisation de nos résultats à toute la population de la ville de Mila, encore moins à celle de l'Algérie.

Certains matériels et réactifs utilisés pour les analyses des pus n'étaient pas disponibles ou étaient fréquemment en rupture (milieux de culture, disques d'antibiotique, réactifs d'identification).

Cela explique le fait que certaines identifications bactériennes sont incomplètes ou remplacées par d'autres protocoles.

3. Patients et sites de prélèvement

Tableau 22 : Renseignements cliniques des patients

N° de prélèvement	Sexe	Age	Nature du prélèvement	Site de prélèvement
N°01	Femme	68 ans	Pus	Plaie d'une intervention chirurgicale de l'intestin grêle
N°02	Femme	48 ans	Pus	Plaie chirurgicale d'une ablation de la vésicule biliaire
N°03	Femme	69 ans	Pus	Plaie chirurgicale d'une implantation de prothèse totale de hanche
N°04	Homme	61 ans	Pus	/
N°05	Homme	45 ans	Pus	/
N°06	Femme	79 ans	Pus	Plaie chirurgicale au niveau du Sein
N°07	Femme	73 ans	Pus	Plaie chirurgicale au niveau du Sein
N°08	Femme	25 ans	Pus	Plaie chirurgicale d'une césarienne
N°09	Femme	59 ans	Pus	Plaie d'une intervention chirurgicale d'une hernie ombilicale
N°10	Femme	09 ans	Pus	Plaie d'une intervention chirurgicale réparatrice de déchirure musculaire au niveau de la cuisse
N°11	Homme	48 ans	Pus	Plaie chirurgicale d'une amputation de la jambe (diabétique)
N°12	Femme	54 ans	Pus	Plaie chirurgicale d'une amputation de deux orteils (diabétique)
N°13	Femme	65 ans	Pus	Plaie d'une intervention chirurgicale de la vésicule biliaire
N°14	Femme	65 ans	Pus	Plaie chirurgicale d'une amputation du gros orteil
N°15	Homme	29 ans	Pus	Plaie chirurgicale d'une implantation de prothèse

4. Nature du prélèvement

Les prélèvements de « pus » englobent toutes les suppurations qu'elles soient superficielles ou profondes. À côté de ces suppurations primitives. On distingue aussi les suppurations secondaires post-chirurgicales ou post-traumatiques (**François et al., 2007**).

La nature du prélèvement pour le diagnostic direct des suppurations bactériennes dépend du siège de l'infection. Le prélèvement doit être réalisé avec du matériel stérile à usage unique, selon les règles d'hygiène et d'asepsie appropriées, avant toute antibiothérapie (**Bassole, 2011**).

Les localisations purulentes sont variées et la nature des agents infectieux impliqués sera aussi très diverse, on distingue trois classes (**François et al., 2007**) :

- **Classe I** : les prélèvements proviennent de la localisation normalement stériles (cerveau, adénopathie, bile, os, etc.) ;
- **Classe II et III** : les prélèvements peuvent être effectués soit au niveau de zones profondes communiquant avec des flores commensales qui peuvent contaminer le prélèvement, ce sont les prélèvements de classe II ; soit dans la zone superficielles et seront donc contaminés directement par la flore commensale, surtout s'ils sont effectués par écouvillonnage ce sont les prélèvements de classe III.



Figure 7. Plaie chirurgicale purulente (12).

5. Matériel et Méthodes de prélèvement

5.1. Matériel

5.1.1. Matériel biologique

- Echantillons de pus.
- Plasma de sang

5.1.2. Appareillage, petit matériel

- Microscope optique.
- Etuve réglée à 37°C.
- Spectrophotomètre.
- Ecouvillons (écouvillons stérile livrés sous tube plastique avec étiquette de marquage et tige en bois).
- Disques d'antibiotiques.
- Disques d'oxydase.

5.1.3. Produits et milieux de culture

- Eau physiologique
- Eau oxygénée
- Galerie API 20 E
- Galerie API 10 S
- Bouillon nutritif
- Gélose nutritive
- Gélose au sang cuit (chocolat)
- Gélose Chapman
- Gélose Hektoen
- Gélose Mueller Hinton

5.2. Méthode de prélèvement

Les échantillons doivent être collectés par un officier médical ou une infirmière expérimentée. Lors du prélèvement sur des plaies, il faut prendre soin d'éviter de contaminer l'échantillon avec les organismes commensaux de la peau.

Généralement les prélèvements de pus sont aspirés et recueillis à l'aide d'une seringue et transférés dans un tube stérile étanche. Mais lorsque le pus ne s'écoule pas, il faut procéder à un écouvillonnage pour prélever l'échantillon sur le site infecté (**Cheesbrough, 2006**).

Lors des prélèvements de nos échantillons un nettoyage de la plaie avec un désinfectant cutané a été fait à l'aide d'un écouvillon imbibé de solution antiseptique, la technique consiste à faire passer l'écouvillon sur la surface de la plaie.

Un deuxième écouvillon a été utilisé pour le prélèvement par écouvillonnage en insérant la tige de coton dans la plaie et la faire badigeonner de pus avec des mouvements de rotation et ensuite la remettre dans son tube et le fermer hermétiquement.

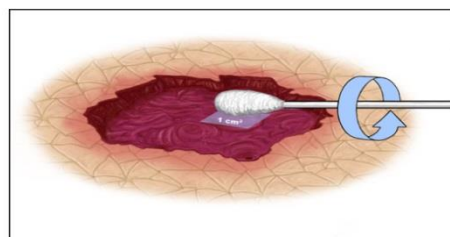


Figure 8. Ecouvillonnage d'une plaie (**Anonyme**).

6. Transport et stockage

Les prélèvements ont été acheminés jusqu'au laboratoire en sac hermétique et dans un délai inférieur à 2h à température ambiante. Chaque prélèvement est accompagné d'une fiche de renseignement.

7. Protocole générale d'analyse

❖ Enrichissement et mise en culture

Elle se fait sur milieux aérobies, parfois sur milieux spéciaux. Si la culture est positive, on procède à l'identification du ou des germes puis on réalise un antibiogramme (**Choukri, 2019**).

Chaque prélèvement est enrichi puis cultivé sur trois milieux de culture : Gélose au sang cuit (chocolat), Chapman et Héктоen et ensuite incubé à 37°C pendant 24 à 48h.

❖ Coloration de Gram

Elle met en évidence les germes, leur morphologie et leur affinité tinctoriale (**Choukri, 2019**).

Pour chaque culture positive une coloration de Gram a été réalisée pour but de démontrer le Gram, la forme, le regroupement et la taille des germes, ce qui sert à les identifier.

❖ Tests d'identifications

Les cultures positives sont ensuite identifiées avec des tests spécifiques adaptés à chaque type de germe : catalase, coagulase, oxydase et galerie Api 20 E.

❖ Antibiogramme

Après identification des germes recherchés un antibiogramme est nécessaire pour les souches pathogènes.

Le schéma suivant montre les étapes du protocole général d'analyse de nos prélèvements (**Fig.9**).

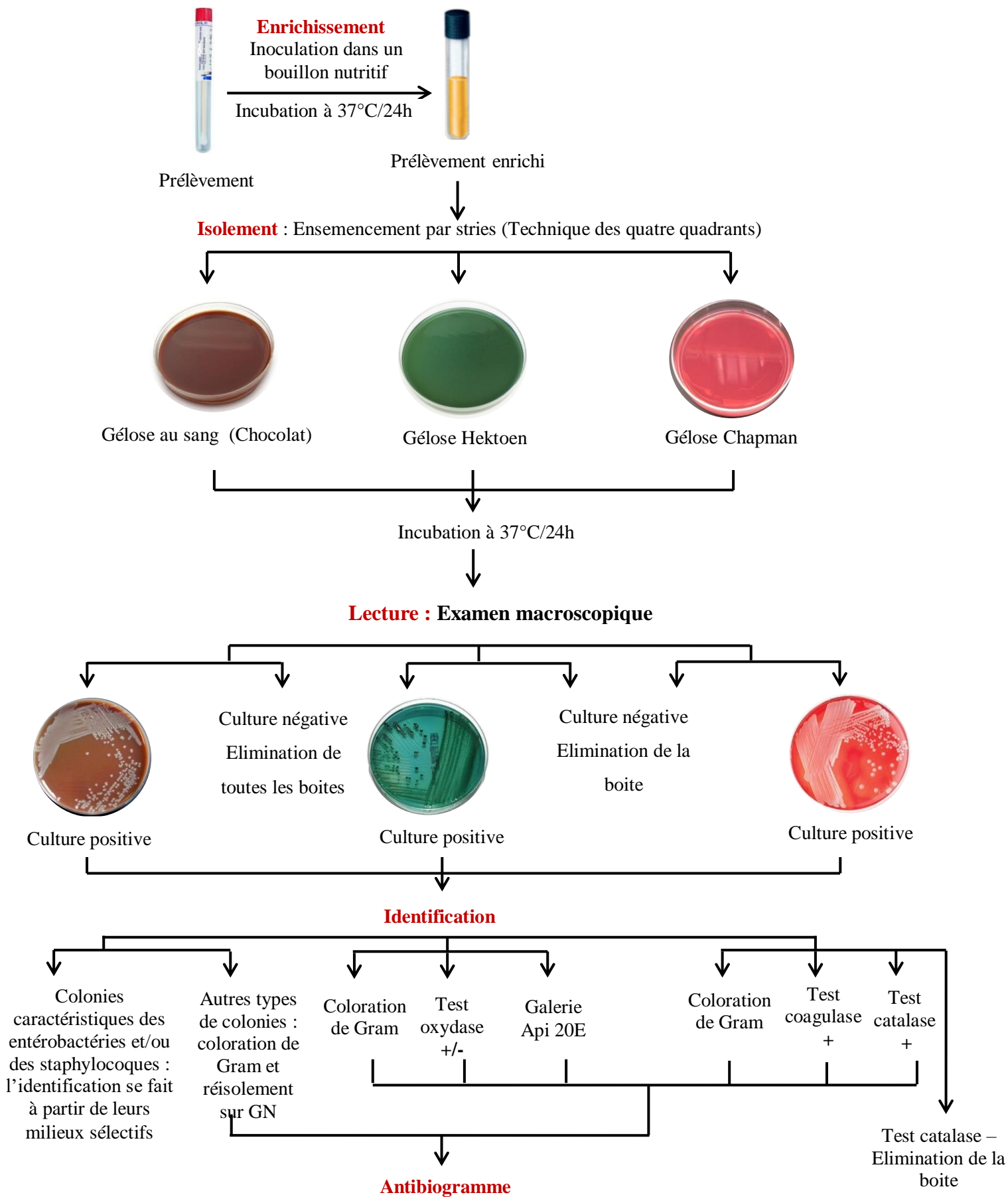


Figure 9. Schéma général du protocole d'analyse de pus.

8. Culture

8.1. Enrichissement

La présence de certaines bactéries à pouvoir pathogène spécifique dans un prélèvement, a une signification pathologique indiscutable, même si elles sont peu représentées. Leur proportion peut être minime par rapport à celle de la flore commensale et leur présence ne peut être révélée par un isolement et donc un enrichissement est indispensable (**Vendepitte *et al.*, 1994**).

L'enrichissement a été fait suivant les étapes décrites ci-dessous :

- Retirez le capuchon de l'écouvillon contenant le prélèvement ;
- Insérer l'écouvillon dans un tube contenant 2 à 3ml du bouillon nutritif, la pointe de l'écouvillon ne doit pas être immergée dans le liquide avant de casser la tige.
- Incliner avec précaution l'écouvillon contre le bord du tube et rompre la tige (**Fig.10**). Jeter la partie supérieure de l'écouvillon.
- Refermer le tube en serrant bien le bouchon et le passer à l'incubation à 37°C pendant 24h.

Le bouillon d'enrichissement est ensuite repiqué sur des milieux gélosés pour isolement (**Vendepitte *et al.*, 1994**).

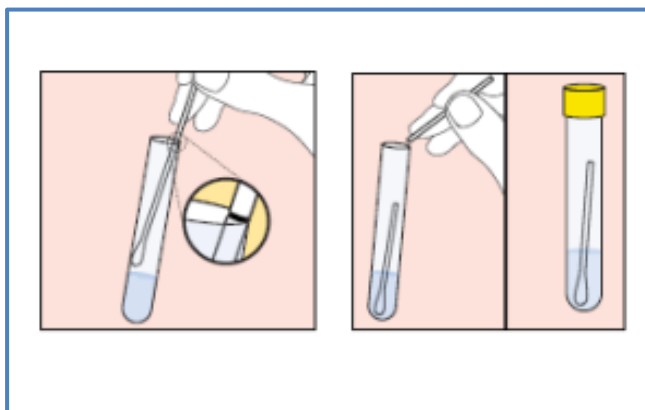


Figure 10. Inoculation du prélèvement.

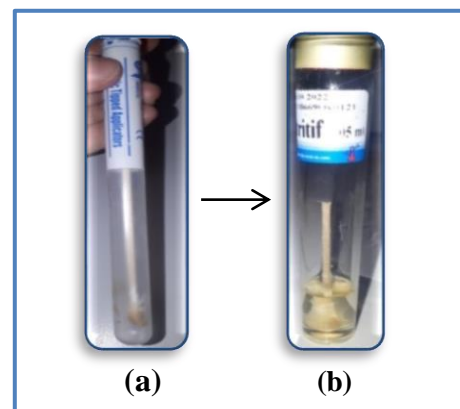


Figure 11. Enrichissement, **a** : Prélèvement, **b** : Prélèvement enrichi (**Cliché personnel**).

8.2. Isolement

L'isolement utilise essentiellement des milieux solides. Les milieux solides utilisés en routine sont des milieux, dont certains sont additionnés de sang et incubés entre 35 et 37°C sous diverses atmosphères. Ces milieux permettent la croissance en 24 heures de la plupart des bactéries rencontrées en pathologie humaine (SFM, 2004).

Les prélèvements de pus ont étéensemencés sur trois milieux de culture :

8.2.1. Milieux non sélectifs

❖ Gélose au sang cuit (chocolat)

Elle est utilisée pour l'isolement et la culture d'une variété de micro-organismes exigeants et non exigeants (Difco et BBL Manual, 2009).

C'est un milieu d'isolement plus particulièrement destiné à la croissance des souches exigeantes appartenant aux genres *Neisseria*, *Haemophilus*, *Streptococcus pneumoniae* (BioMérieux). Ce milieu peut être utilisé pour le repiquage des souches bactériennes afin d'obtenir des cultures pures (BioMérieux).

- **Principe**

Chocolat Agar est la gélose au sang lysé. Donc la composition reste la même, seule différence entre eux c'est que les globules rouges dans la gélose chocolat sont lysés pendant la préparation (à cause de chauffage) ce qui donne au milieu la couleur brun chocolat d'où le nom « gélose chocolat » (9).

La culture de la plupart des bactéries est favorisée par les substances nutritives présentes dans le milieu et par l'hémoglobine, source de facteurs V(NAD) et X (hémine) indispensables à une croissance optimale des bactéries exigeantes (10).

- **Ensemencement et incubation**

Les boîtes de gélose chocolat ont étéensemencées en stries, méthode des quatre quadrants (Fig.12) à partir du prélèvement déjà enrichi et ensuite incubées à 37°C pendant 24 à 48h.

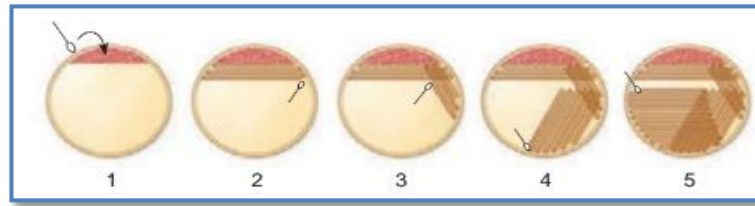


Figure 12. Ensemencement par la méthode des quatre quadrants.

- **Lecture**

Observation macroscopique des colonies caractéristiques d'entérobactéries, *Pseudomonas*, staphylocoques et streptocoques et comparaison des résultats avec celles des autres milieux sélectifs (Chapman et Hektoen).

- Si la culture est négative, et le résultat est de même pour les autres milieux sélectifs (Chapman et Hektoen), nous procédons à un repiquage, si le résultat reste négatif, cela signifie que le prélèvement ne contient aucun germe.
- Si la culture est positive, et l'aspect des colonies est identique à celui des deux autres milieux sélectifs (Chapman, Hektoen) ou à l'un de ces derniers, nous poursuivons donc notre identification à partir de ces milieux sélectifs déjà cités.
- Si la culture est positive mais présente un aspect de colonies différents à celui des autres milieux sélectifs, donc présence d'un germe autre que les entérobactéries et les staphylocoques (possibilité de présence de streptocoques). Dans ce cas-là un repiquage des colonies caractéristiques de streptocoques est nécessaire sur GN et confirmation avec coloration de Gram et ensuite un antibiogramme.

8.2.2. Milieux sélectifs

❖ **Gélose Chapman**

La gélose Chapman est utilisée pour isoler et différencier les staphylocoques sur la base de la fermentation du mannitol (**Difco et BBL Manual, 2009**).

- **Principe**

Le chlorure de sodium à concentration élevée (75g/l) inhibe de nombreux germes, sauf les staphylocoques qui sont des halophiles ou halotolérants (**Delarras, 2014**).

La fermentation du mannitol par certaines espèces de staphylocoques, libère des acides qui font virer le rouge de phénol au jaune en milieu acide ; dans le cas contraire le milieu conserve sa couleur rouge initiale (**Delarras, 2014**).

- **Ensemencement et incubation**

Les boîtes de gélose ont été ensemencées en stries (méthode des quatre quadrants) à partir du prélèvement déjà enrichi et incubées à 37°C pendant 24 à 48h.

- **Lecture**

Les colonies jaunes entourées d'une zone jaune, mannitol + sont des *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus* ...

Les colonies entourées d'une zone rouge ou pourpre, mannitol - sont des *Staphylococcus epidermidis*, *S. hominis* ...

Dans tous les cas nous observons les colonies présomptives des staphylocoques recherchés et nous procédons à leur identification (**Delarras, 2014**).

❖ **Gélose Hektoen**

La gélose Hektoen (BioMérieux SA) est un milieu d'isolement sélectif et de différenciation pour la recherche des *Salmonella* et *Shigella* en bactériologie clinique.

Cette gélose peut être aussi utilisée pour la recherche de *Pseudomonas aeruginosa* (**Delarras, 2014**).

- **Principe**

Les sels biliaires inhibent les bactéries à Gram + et quelques bactéries Gram - .

Le lactose et le saccharose sont des disaccharides ; la salicine est le glucoside de la saligénine. Ces trois sucres peuvent être fermentés par certaines entérobactéries en produisant des acides qui font virer le bleu de bromothymol et la fuchsine acide (indicateur coloré) au jaune saumon : test sucre (+) ; dans le cas contraire, la coloration est bleu-vert : test sucre (-) (**Delarras, 2014**).

- **Ensemencement et incubation**

Les boîtes de gélose Hektoen ont été ensemencées en stries (méthode des quatre quadrants) à partir du prélèvement déjà enrichi et ensuite incubées à 37°C pendant 24 à 48h.

- **Lecture**

- Colonie jaune à jaune-saumon : au moins un sucre fermenté possibilité de présences de : *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*.
- Colonie jaune à jaune-saumon avec un centre noir : au moins un sucre fermenté, H₂S + : *Proteus vulgaris*.
- Colonie Verte à bleu-vert avec un centre noir : (Sucre -, H₂S +) : *Proteus mirabilis*.
- Colonie Verte à bleu-Vert : Sucre - : *Morganella morganii* (Delarras, 2014).

9. Identification bactérienne

9.1. Examen macroscopique

Après avoir incubé nos milieux de culture ensemencés (Gélose au sang, Chapman, Hektoen), un examen macroscopique des cultures positives est nécessaire, car il permet d'observer l'aspect, l'odeur, la couleur, la consistance des colonies et le virage de couleur des milieux de cultures.

9.2. Examen microscopique

❖ Coloration de Gram

A partir de nos cultures positives une coloration de Gram est réalisée suivant les étapes décrites ci-dessous :

- **Préparation du frottis**

- Avec un marqueur, marquer le nom de la culture bactérienne dans le coin extrême gauche sur la lame ;
- Placer une boucle d'eau distillée stérile au centre de la lame, à l'aide d'une anse de platine ;
- A partir des cultures positives, prélever aseptiquement une très petite quantité de culture et mélanger dans la goutte d'eau, étaler ceci à environ un pouce de surface, laisser la lame sécher à l'air libre ;

- Passer la lame à travers la flamme du bec bunsen trois fois pour fixer la préparation et tuer les bactéries (**Prescott, 2002**).

- **Coloration**

Les frottis sont colorés selon le protocole suivant :

- Couvrez la lame avec une solution de cristal violet. Laissez agir pendant 1 min;
- Couvrez la lame avec le lugol (mordant). Laissez agir pendant 1 min, lavez à l'eau de robinet ;
- Tenir la lame en biais au-dessus du support de coloration et décolorer avec de l'alcool éthylique (95%) goutte à goutte jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de couleur (généralement 10-20 secondes). Cette étape est très importante. Veillez à ne pas surdécolorer, car de nombreux organismes Gram positifs peuvent perdre facilement la coloration violette et donc apparaître comme gram négatifs après avoir été contre-colorés, lavez à l'eau de robinet ;
- Appliquez la safranine (contre-coloration) pendant 1 min, Lavez à l'eau de robinet ;
- Egouttez et épongez délicatement avec du papier absorbant. Séchez soigneusement la lame à l'air libre avant d'examiner la préparation au microscope (**Granato et al., 2019**).

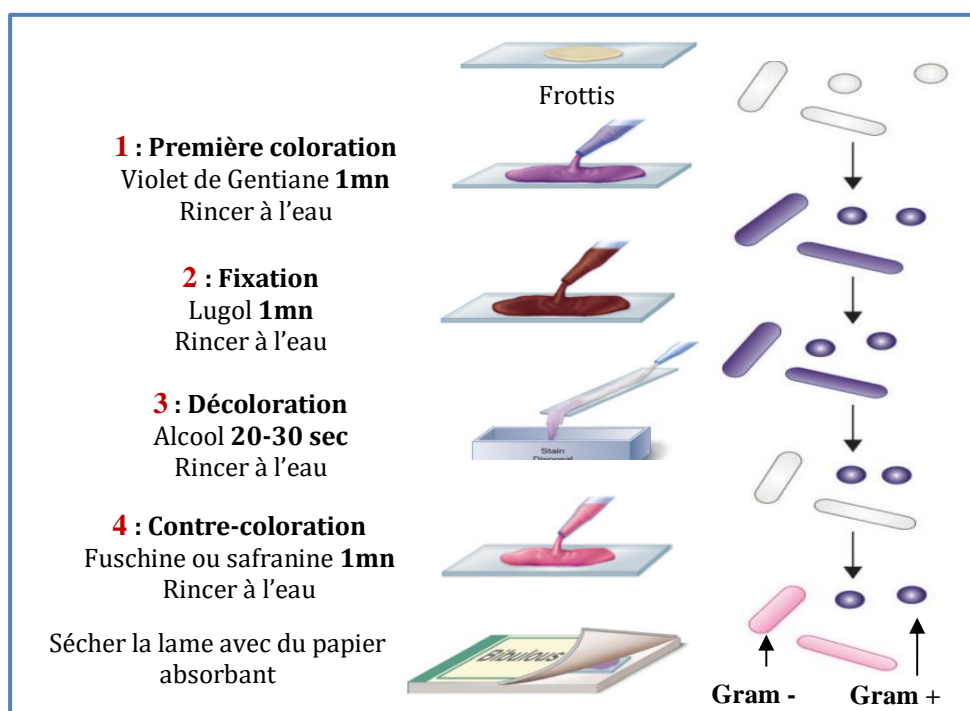


Figure 13. Principe et protocole de la coloration de Gram.

- **Lecture**

Observer au microscope à l'objectif X100 avec de l'huile à immersion.

Avec cette coloration double, les bactéries « Gram positif » apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries « Gram négatif » sont colorées en rose ou en rouge (Delarras, 2014).

9.3. Identification biochimique après culture

9.3.1. Identification par les Galeries biochimiques miniaturisées API 20E

❖ Principe

Le système API[®] 20 E BioMérieux, est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des bactéries.

Lorsqu'une suspension bactérienne de densité convenable est répartie dans les différentes alvéoles qui composent la microgalerie (contenant de substrats déshydratés), les métabolites produits durant la période d'incubation se traduisent par des changements de couleur spontanés ou révélés par addition de réactifs.

Elle permet l'identification d'une centaine de bacilles à Gram négatif dont les Entérobactéries. Elle comprend 20 tests biochimiques (13 ; Delarras, 2007)

❖ Technique

Les galeries API 20 E ont été préparées à partir des colonies caractéristiques d'entérobactéries ou des Gram négatifs, poussées sur gélose Hektoen et Chocolat. Le protocole suivi est celui décrit par le catalogue BioMérieux SA (Annexe 01).

- **Préparation de la galerie**

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation

- **Préparation de l'inoculum**

- Prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé ;
- Placer la colonie dans 5ml d'eau physiologique ;

- Réaliser une suspension bactérienne faible (opacité 0,5 sur l'échelle MC Farland).
- **Inoculation de la galerie**
 - Remplir les tubules et les cupules des tests du type **CIT**
 - Remplir les tubules des tests du type **ADH** et remplir la cupule avec de l'huile de paraffine, pour créer l'anaérobiose ;
 - Remplir uniquement les tubules des tests restants ;
 - Remplir en posant la pipette contre la paroi de la cupule, il est important de veiller à ne pas créer de bulles lors de l'inoculation qui pourraient fausser le résultat.
- ❖ **Résultats**
 - Noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées ;
 - Réaliser les tests nécessitant l'addition de réactifs : Test VP, TDA, IND, Nitrate réductase...

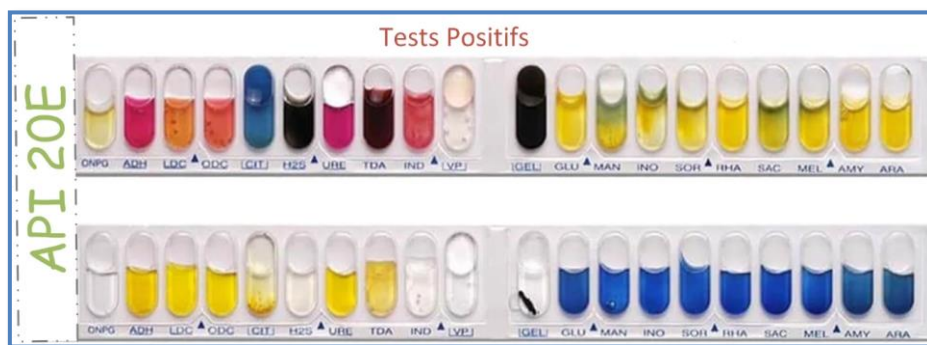


Figure 14. Système API 20E : En haut résultat positifs de tous les tests biochimiques
En bas galerie juste après remplissage.

❖ Identification

Pour la lecture, il convient de regarder si la réaction est positive ou négative séparément pour chacun des tests. La révélation est permise par la présence d'indicateurs colorés dans les substrats. Un changement de couleur du milieu dans le tube, signifie généralement que le test est positif. Il faut tout de même ne pas oublier que certains tests nécessitent l'addition de réactifs.

Un tableau de caractères à vérifier pour chaque milieu (**Annexe 02**) fourni par le fabricant afin de permettre l'interprétation des résultats.

- **Avec le catalogue analytique** : Les tests sont regroupés par triplet de gauche à droite. Un test négatif vaut toujours 0. La valeur des tests positifs, quant à elle, est différente selon la position du test dans le triplet. Dans chacun d'eux, si le premier test est positif, il vaut 1, si c'est le deuxième, 2 et si c'est le troisième, 4. Il faut ensuite additionner les trois valeurs obtenues pour obtenir le code du triplet (seules huit valeurs, de 0 à 7, sont possibles).

Un code à sept chiffres pour l'API 20 E est obtenu par lecture des codes des triplets de gauche à droite. Ce code comparé à ceux référencés dans la base de données gérée par le fabricant. Permet l'identification de la bactérie (**Fig.15**).



Figure 15. Lecture et identification par la méthode de sept chiffres (11).

- **Avec le tableau d'identification** : comparer les réactions notées sur la fiche de résultats avec celle du tableau : chaque cellule de ce tableau contient les pourcentages de positivité.
- **Avec un logiciel d'identification** : La lecture peut se faire facilement grâce à l'utilisation du logiciel d'identification. Les bases de données des galeries API sont désormais intégrées par Apiweb™ afin de faciliter leur interprétation (**Fig.16**).

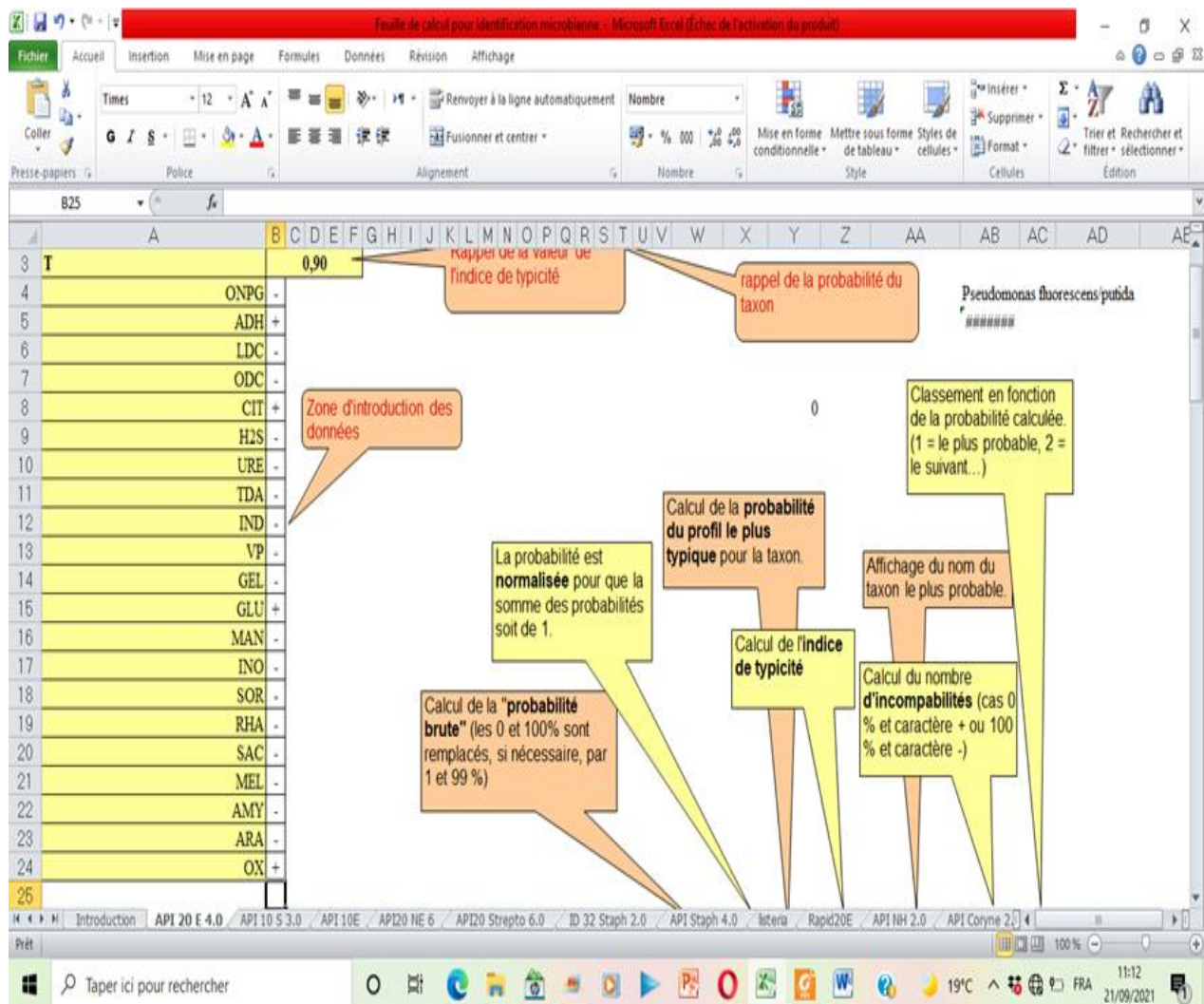


Figure 16. Feuille Excel de lecture de la galerie API

9.3.2. Identification par les Galeries biochimiques miniaturisées API 10S

C'est un Système d'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux, bioMérieux® SA.

❖ Principe

La galerie API 10 S comporte 10 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de Lecture et l'identification est obtenue en consultant la liste des profils de la notice ou à l'aide d'un logiciel d'identification.

❖ Technique

C'est le même principe du système API 20 E, nous poursuivons donc le même mode opératoire décrit par le catalogue BioMérieux SA de l'API 10S.



Figure 17. Système API 10S (12)

9.3.3. Tests complémentaires de l'identification biochimique

❖ Test catalase (Test biochimique du métabolisme respiratoire)

• Principe

La catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives. Elle décompose l'eau oxygénée formée, en eau et en oxygène qui se dégage (Delarras, 2007).



La recherche de cette enzyme est utile pour différencier les bactéries appartenant aux familles des *Micrococcaceae*, *Staphylococcaceae*, *Streptococcaceae*, *Enterococcaceae*.

Ce test permet de différencier les *cocci* Gram + :

- Des familles des *Micrococcaceae*, *Dermacoccaceae* et *Staphylococcaceae* catalase + ;
- Des familles des *Streptococcaceae*, *Enterococcaceae* catalase - .

- **Protocole**

À partir des cultures positives de la gélose Chapman, des colonies ont été prélevées et testées selon la technique suivante :

Prendre une lame porte objet propre. Déposer sur celle-ci une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes et émulsionner un peu de la colonie suspecte (**Delarras, 2007**).

- **Résultat**

Le test est effectué sur des souches à caractériser et observer (**Delarras, 2007**).

Le dégagement de bulles de gaz indique la présence de la catalase : test catalase +.

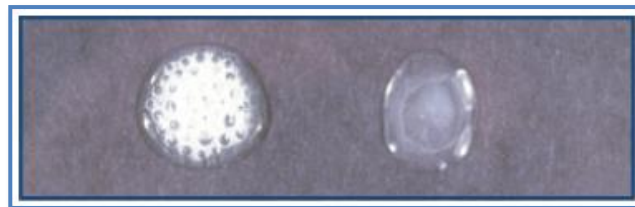


Figure 18. Test catalase : à gauche dégagement de bulle de gaz catalase +, à droite catalase négative (**Leboffe et Pierce, 2012**).

- ❖ **Test oxydase (Test biochimique du métabolisme respiratoire)**

- **Principe**

L'oxydase ou Cytochrome oxydase est une enzyme présente chez certaines chaînes respiratoires cytochromiques bactériennes. La recherche de cette enzyme est utile dans le diagnostic des bacilles à Gram négatif (**Delarras, 2007**).

Ce test permet l'identification de *Neisseria* oxydase positive et il peut également être utile pour différencier les *enterobacteriaceae* oxydase négative des *pseudomonadaceae* oxydas positive (Leboffe et Pierce, 2012).

- **Protocole**

À partir des cultures positives obtenues sur la gélose Hektoen ou gélose au sang, des colonies caractéristiques d'entérobactéries ou de bactéries à Gram négatif, ont été prélevées et testées selon le protocole suivant :

Déposer sur une lame porte objet propre, un disque « Ox » et l'imbiber avec une goutte d'eau distillée ou d'eau physiologique stérile. Prélever une partie de la colonie à étudier à l'aide d'une pipette pasteur boutonnée stérile et l'étaler sur le disque (Delarras, 2007).

- **Résultat**

Une coloration violet foncé apparaît immédiatement sur le disque ou en quelques secondes puis vire au noire : test oxydase + (Delarras, 2007).

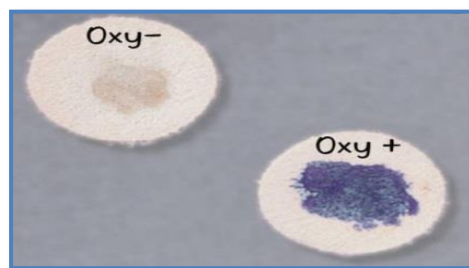


Figure 19. Test oxydase (7).

❖ Test coagulase

- **Principe**

La coagulase libre provoque la coagulation du plasma en transformant le fibrinogène en fibrine en activant un facteur réagissant à la coagulase présent dans le plasma. Sa présence est détectée par le test de coagulation en tube (Cheesbrough, 2006).

Parmi les *cocci* positif et catalase positive, les souches des *Staphylococcus aureus* provoquent la coagulation du plasma oxalaté de lapin en 24h ; les autres espèces et sous espèces de staphylocoques d'origine humaine ne possèdent pas la coagulase libre sauf *S. schleiferi subsp. coagulans* (Delarras, 2007).

- **Protocole**

À partir des cultures positives obtenues sur la gélose Chapman, des colonies caractéristiques de staphylocoques, ont été prélevées et testées selon le protocole suivant :

- Placer de manière aseptique 2 à 3ml de plasma stérile dans deux petits tubes à essai (Pollack *et al.*, 2009) , Etiqueter le 1^{er} tube avec le numéro du prélèvement, et le 2^{ème} tube "témoin" (Leboffe et Pierce, 2012) ;
- Inoculer uniquement le 1^{er} tube avec quelques colonies du germe à tester, mélanger le contenu en faisant rouler doucement le tube entre vos mains, n'inoculer pas le tube témoin, incuber les deux tubes à 35°-37° C /24h (Leboffe et Pierce, 2012).
- Examinez la coagulation après 1 heure (Fig.20). Si aucune coagulation ne s'est produite, examiner après 4 heures. Si le test est toujours négatif, laissez le tube à température ambiante pendant la nuit et examinez à nouveau (Cheesbrough, 2006).

Note : Lors de la recherche de la coagulation, inclinez doucement chaque tube.

- **Résultat**

- **Coagulase positive** : *Staphylococcus aureus*.
- **Coagulase négatives** : *Staphylococcus epidermidis*.



Figure 20. Test coagulase (Leboffe et Pierce, 2012).

10. Détermination de la résistance aux antibiotiques « Antibiogramme »

10.1. Principe

La résistance des souches aux antibiotiques est testée par la méthode de diffusion en milieu gélose «Miller Hinton (MH)» ; c'est une technique rapide basée sur l'observation de la croissance bactérienne en présence d'un gradient de concentration de l'antibiotique obtenu

après sa diffusion à partir du disque. La croissance bactérienne s'arrête lorsque les bactéries sont en contact avec la concentration minimale d'inhibition (CMI) autour du disque d'antibiotique.

10.2. Technique

- **Milieux**

Gélose MH, coulée en boîtes de Pétri sur épaisseur de 4 mm, et séchée.

- **Inoculum**

A partir d'une culture positives pure de 18 ou 24h sur Chapman, Hektoen et Chocolat, quelques colonies bien isolées et identiques ont été raclées à l'aide d'une anse de platine et déchargées dans un tube contenant 5 ml de l'eau physiologique stérile à 0,9%, la suspension est ensuite bien mélangée jusqu'à homogénéisation complète, son opacité doit être équivalente à 0,5 McFarland ou une DO de 0,08 à 0,10 lue à 625nm.

- **Ensemencement**

L'ensemencement doit être fait les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum.

L'ensemencement des boîtes de MH a été fait selon le protocole suivant :

- Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum ;
- L'essorer en le passant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum ;
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées (**Fig.21**) ;
- Répéter l'opération 3 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

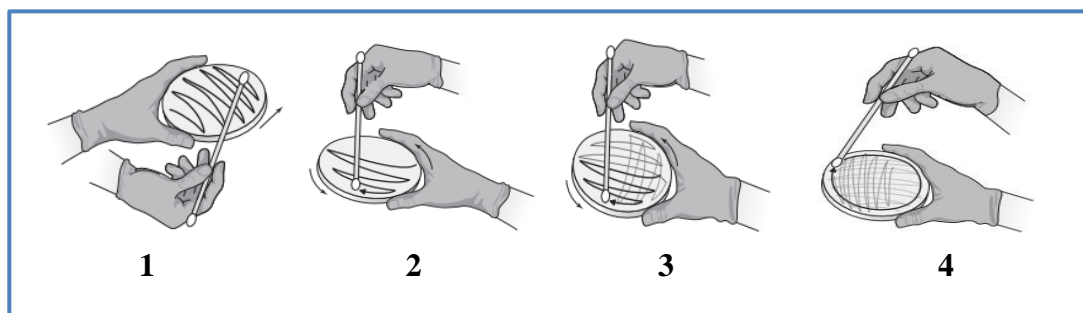


Figure 21 : Méthode d'ensemencement pour antibiogramme (Pollack *et al.*, 2009).

- **Choix des antibiotiques**

Les antibiotiques testés lors de la réalisation de l'antibiogramme sont :

- **Pour les entérobactéries :** Amoxicilline (AMX), Amoxicilline–acide clavulanique (AMC), Ticarcilline (TIC), Colistine (CT), Gentamicine (GN), Ciprofloxacine (CIP), Céfotaxime (CTX), Triméthoprine-sulfaméthoxazole (SXT), Fosfomycine (FOS), Acide nalidixique (NA), Céfazoline (CZ), Amikacine (AK) (**Bouzeraa, 2018**).
- **Pour les *Pseudomonas* :** Amoxicilline (AMX), Amoxicilline–acide clavulanique (AMC), Ticarcilline (TIC), Colistine (CT), Gentamicine (GN), Ciprofloxacine (CIP), Céfotaxime (CTX), Triméthoprine-sulfaméthoxazole (SXT), Fosfomycine (FOS), Acide nalidixique (NA), Céfazoline (CZ), Amikacine (AK), Imipénème (IMP), Céfotaxime (CAZ), Aztréonam (ATM).
- **Pour les staphylocoques :** Amikacine (AK), Gentamicine (GN), Fosfomycine (FOS), Triméthoprine-sulfaméthoxazole (SXT), Ciprofloxacine (CIP), Vancomycine (VA), Tétracycline (TET), Erythromycine (E), Oxaciline (OX), Pristinamycine (PT), Acide fusidique (FC).
- **Pour les streptocoques :** Tétracycline (TET), Erythromycine (E), Pristinamycine (PT), Vancomycine (VA), Amikacine (AK), Fosfomycine (FOS), Triméthoprine-sulfaméthoxazole (SXT), Ciprofloxacine (CIP), Amoxicilline (AMX), Céfotaxime (CTX), Céfazoline (CZ), Gentamicine (GN).

- **Application des disques d'antibiotiques**

Les disques choisis sont déposés sur la gélose à l'aide d'une pince flambée, en appuyant doucement sur chaque disque pour assurer un contact uniforme avec le milieu.

On dépose 6 ou 7 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm. Deux disques doivent être éloignés au minimum de 30 mm et une distance minimale de 15 mm doit séparer un disque du bord de la boîte (**Bouzeraa, 2018**).

- **Incubation**

Laisser diffuser les disques après leur application à température ambiante pendant 15 min, puis incuber dans l'étuve à 37°C pendant 18 à 24h.

- **Lecture et interprétation de l'antibiogramme**

La lecture de l'antibiogramme se fait par la mesure des diamètres d'inhibition à l'aide du pied à coulisse ou par une règle graduée.

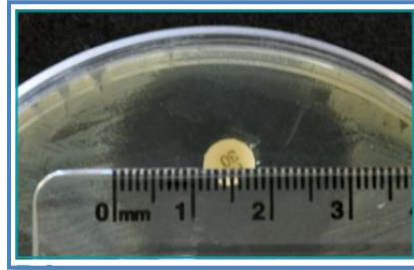


Figure 22. Mesure du diamètre de sensibilité (Leboffe et Pierce, 2012).

Les résultats sont comparés aux valeurs critiques standards (**Annexe 04**), pour classer les bactéries dans l'une des catégories : Sensible (S), Intermédiaire (I), Résistante (R).

CHAPITRE 5

RESULTATS ET DISCUSSION



1. Fréquence des infections nosocomiales post-opératoires

Durant notre période d'étude, nous avons collecté 15 prélèvements d'infections postopératoires parmi 125 prélèvements d'infections nosocomiales.

Et de 500 personnes opérées, enivrent 15 personnes ont eu des infections post-opératoires.

Les résultats sont démontrés dans la présentation graphique suivante :

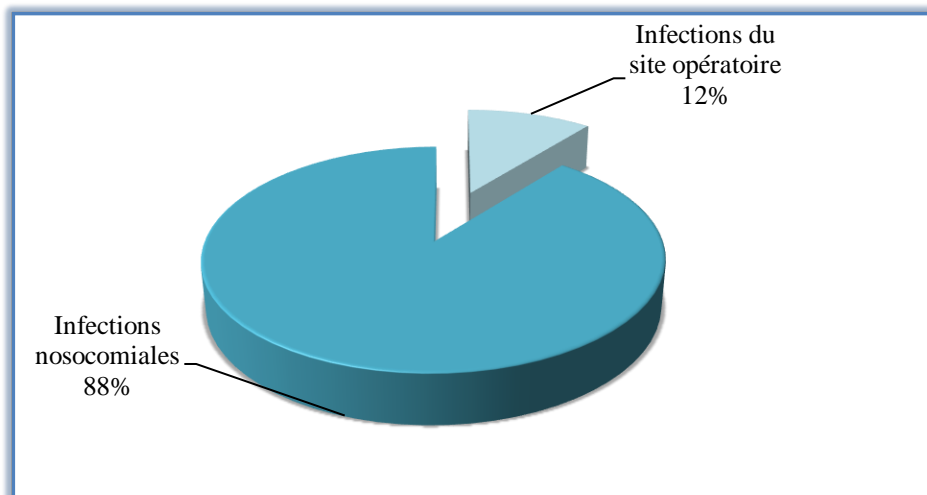


Figure 23. Fréquence des infections nosocomiales postopératoires

D'après les résultats, la fréquence des infections nosocomiales post-opératoire est de 12% (15 /125), elles occupent une place importante parmi les autres types d'infections nosocomiales, les statistiques portant sur la fréquence des infections postopératoire classent celles du site opératoire en second rang après les infections urinaires (**Sidibe, 2014**).

Les complications infectieuses post-opératoires constituent un problème majeur en chirurgie, elles compliquent 15,9% des interventions dans les pays africain contre 2% dans les pays développés (**Sidibe, 2014**).

2. Résultats de l'identification des germes

2.1. Résultats de l'examen macroscopique

2.1.1. *Staphylococcus aureus*

L'observation macroscopique des prélèvements N° : 3, 4, 12, 13, 14, et 15 a démontré la présence de colonies caractéristiques de *Staphylococcus aureus* décrite comme suit:

- **Sur gélose au sang** : Colonies lisses souvent de couleur jaune orangée, opaques atteignant 2 à 3mm de diamètre.
- **Sur Chapman** : Colonies jaunes, faisant virer au jaune le milieu Chapman.

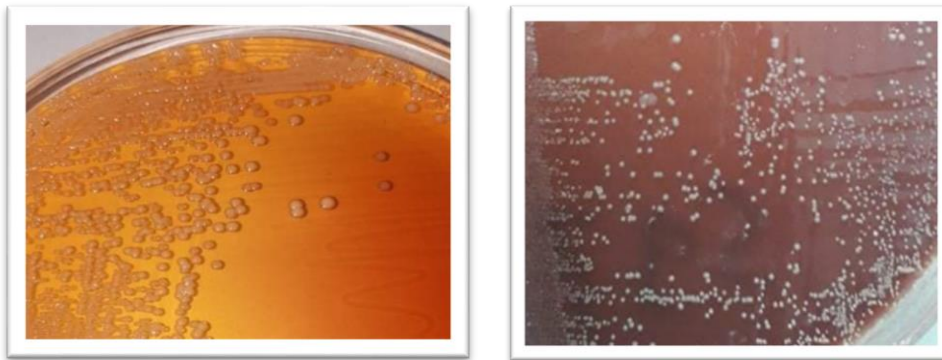


Figure 24. Colonies de *Staphylococcus aureus*, à gauche sur Chapman à droite sur gélose au sang (Clichés personnels, juillet 2021)

2.1.2. *Staphylococcus epidermidis*

La lecture des prélèvements N° : 1, 2, 5, 6, 7 et 8 a démontré la présence de *Staphylococcus epidermidis* avec un aspect de colonie décrit comme suit :

- **Sur gélose au sang** : Petites colonies blanches de 1 à 2 mm de diamètre.
- **Sur Chapman** : Colonies blanches, pas de virage coloré, le milieu garde sa couleur rouge.

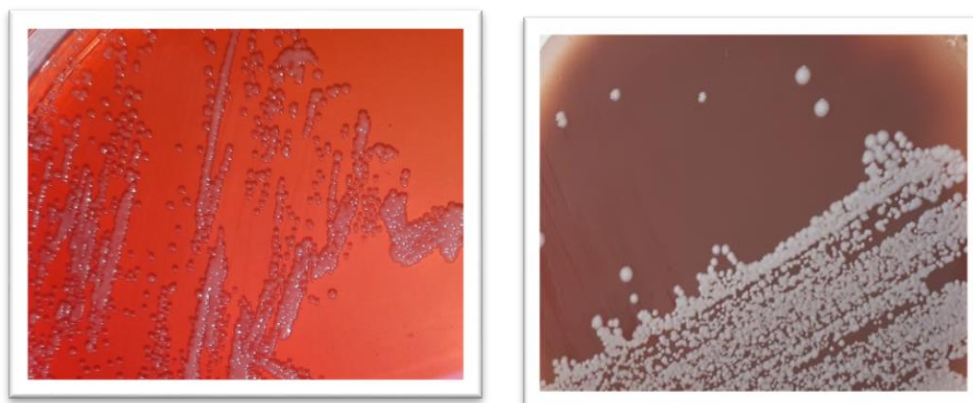


Figure 25. Colonies de *Staphylococcus epidermidis*, à gauche sur Chapman, à droite sur gélose au sang (Cliché personnel, juillet 2021)

2.1.3. *Escherichia coli*

La lecture des prélèvements N° : 1, 6, 11, et 12 a démontré la présence de colonies caractéristiques d'*Escherichia coli* décrites comme suit :

- **Sur Hektoen :** Colonies arrondie, lisses a bords réguliers de 2 à3 mm de diamètre, d'une couleur jaune souvent et un virage coloré du milieu vers l'orange.

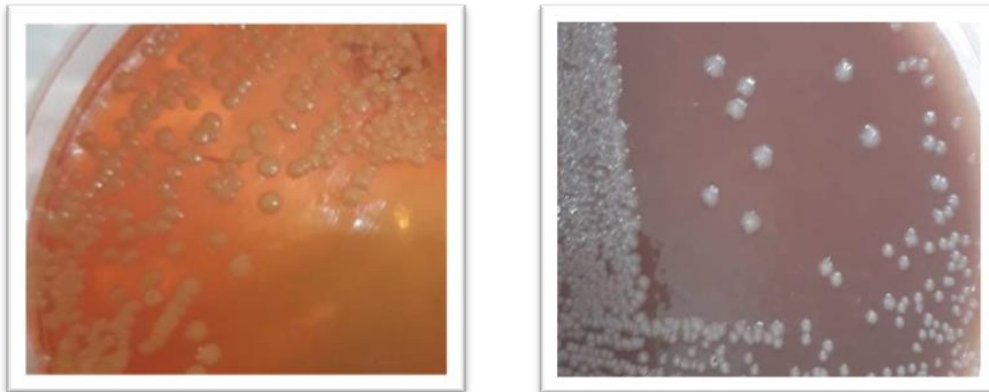


Figure 26. Colonies d'*E.coli*, à gauche sur Hektoen, à droite sur gélose au sang (Clichés personnels, juillet 2021)

2.1.4. *Pseudomonas*

La lecture des prélèvements N° : 3, 7, 8 et 9 a démontré la présence de colonies de *Pseudomonas* décrites comme suit :

- **Sur Hektoen :** Colonies transparentes vertes ou bleues avec odeur caractéristique d'acacia.
- **Sur gélose au sang:** les colonies sont larges, rugueuses avec un centre plus bombé et un bord irrégulier.

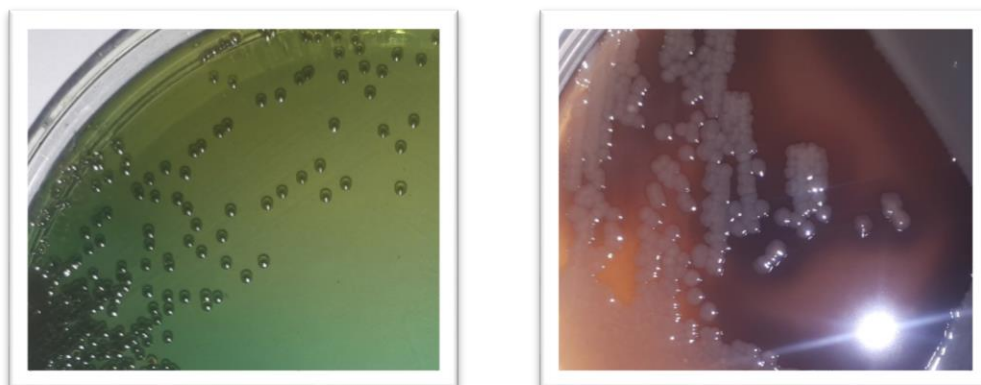


Figure 27. Colonies de *Pseudomonas aeruginosa*, à gauche sur Hektoen, à droite sur gélose au sang (Clichés personnels, juillet 2021)

2.1.5. *Proteus mirabilis*

La lecture des prélèvements N° : 4, et 10 a démontré la présence de colonies caractéristiques de *Proteus mirabilis* décrites comme suit :

- **Sur Hektoen** : Colonies bleues vertes à centre noir (production d'H₂S), lisses et arrondies à bords régulier.
- **Sur gélose au sang** : Colonies grosses, non hémolytiques, diffusent sur le milieu en formant des vagues

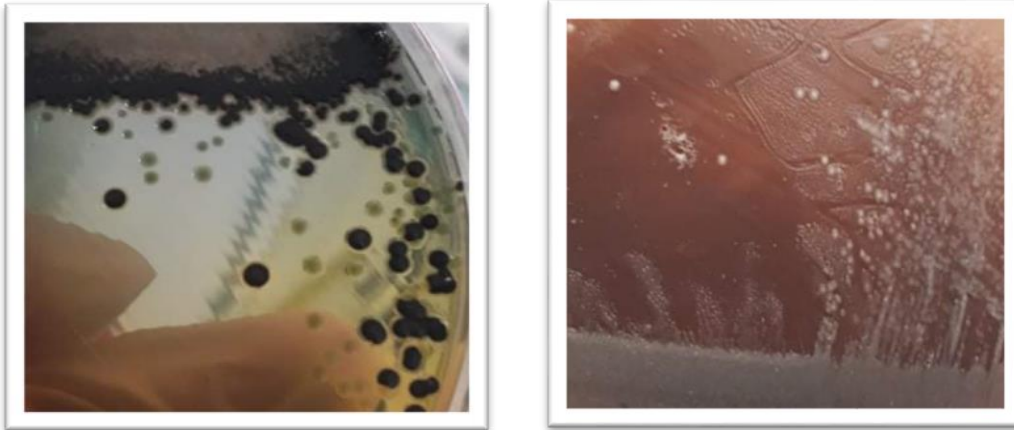


Figure 28. *Proteus mirabilis*, à gauche sur Hektoen à droite sur gélose au sang (Clichés personnels, juillet 2021)

2.1.6. *Enterococcus sp*

La lecture de prélèvements N° : 15 a démontré la présence de petites colonies brillantes caractéristiques d'*Enterococcus*.



Figure 29. *Enterococcus sp*, à gauche sur GN, à droite sur gélose au sang (Clichés personnels, juillet 2021)

2.2. Résultats de l'examen microscopique

L'examen microscopique (après coloration de Gram) a été fait pour tous les milieux positifs, les résultats de coloration sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 23: Résultats de coloration de Gram des colonies isolées.

N°	Milieux	Chapman	Hektoen
Prélèvement N°1		Cocci Gram + en amas (grappe de raisin)	Coccobacille Gram -
Prélèvement N°2		Cocci Gram + en amas	–
Prélèvement N°3		Cocci Gram + en amas	Bacille Gram -
Prélèvement N°4		Cocci Gram + en amas	Petit bacille Gram -
Prélèvement N°5		Cocci Gram + en amas	–
Prélèvement N°6		Cocci Gram + en amas	Coccobacille Gram -
Prélèvement N°7		Cocci Gram + en amas	Bacille Gram -
Prélèvement N°8		Cocci Gram + en amas	Coccobacille Gram -
Prélèvement N°9		–	Bacille Gram -
Prélèvement N°10		–	Petit bacille Gram -
Prélèvement N°11		–	Coccobacille Gram -
Prélèvement N°12		Cocci Gram + en amas	Coccobacille Gram -
Prélèvement N°13		Cocci Gram + en amas	–
Prélèvement N°14		Cocci Gram + en amas	–
Prélèvement N°15		Cocci Gram + en chaînette Cocci Gram + en amas	–

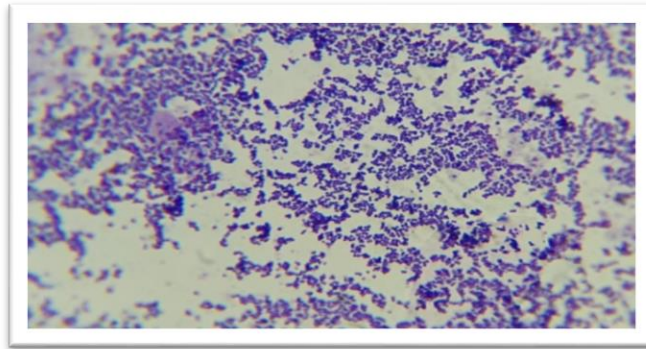


Figure 30. Cocci Gram+ en grappe de raisin (*Staphylococcus aureus*)
(Clichés personnels, juillet 2021)

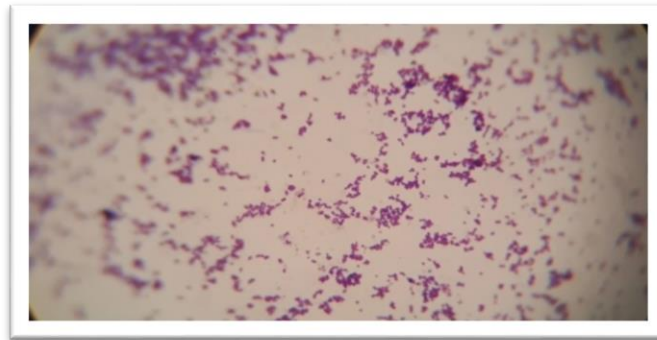


Figure 31. Cocci Gram + en amas (*Staphylococcus epidermidis*)
(Cliché personnel juillet, 2021)

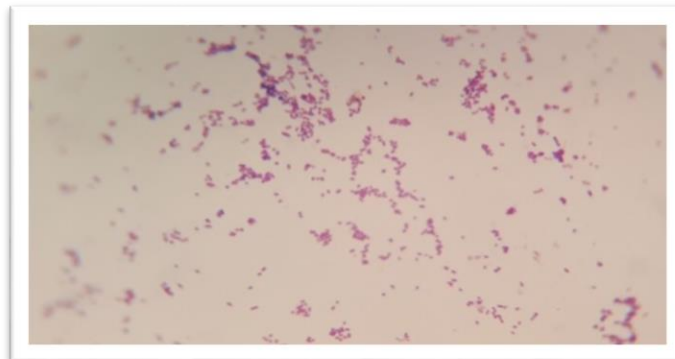


Figure 32. Coccobacilles Gram – (*E.coli*) (Cliché personnel, juillet 2021)

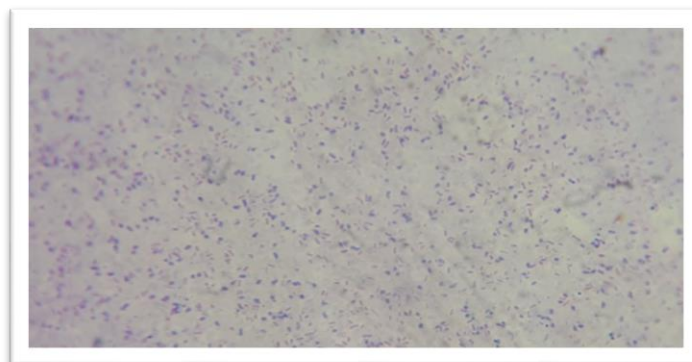


Figure 33. Petites bacilles Gram – (*Proteus mirabilis*) (Cliché personnel, juillet 2021)

2.3. Résultats de l'identification biochimique des germes

2.3.1. Résultats de l'identification des staphylocoques

Les caractères biochimiques de différentes espèces de staphylocoques isolés sont résumés dans le tableau et les figures suivants :

Tableau 24: Résultats de l'identification des staphylocoques

N°	Tests	Catalase	Coagulase	Espèce
Prélèvement N°1		+	+	<i>S. aureus</i>
Prélèvement N°2		+	-	<i>S. epidermidis</i>
Prélèvement N°3		+	+	<i>S. aureus</i>
Prélèvement N°4		+	-	<i>S. epidermidis</i>
Prélèvement N°5		+	-	<i>S. epidermidis</i>
Prélèvement N°6		+	-	<i>S. epidermidis</i>
Prélèvement N°7		+	-	<i>S. epidermidis</i>
Prélèvement N°8		+	-	<i>S. epidermidis</i>
Prélèvement N°12		+	+	<i>S. aureus</i>
Prélèvement N°13		+	+	<i>S. aureus</i>
Prélèvement N°14		+	+	<i>S. aureus</i>
Prélèvement N°15		+	+	<i>S. aureus</i>
		-	-	<i>Enterococcus sp</i>

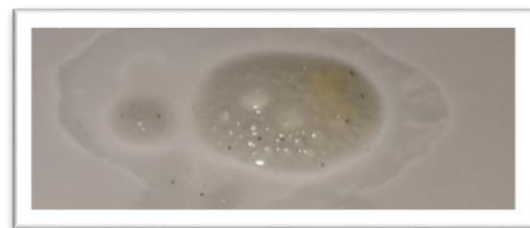


Figure 34. Test Catalase positif, à gauche *S. aureus*, à droite *S. epidermidis*
(Cliché personnel, juillet 2021)



Figure 35. Test Catalase Négatif, *Enterococcus sp.*
(Cliché personnel, juillet 2021)

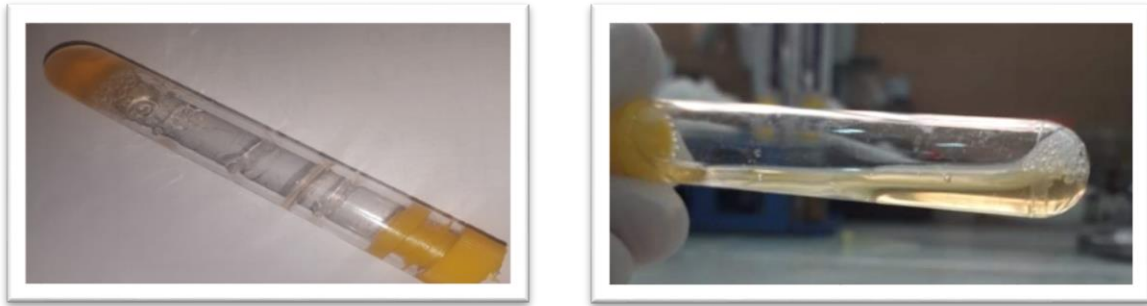


Figure 36. Test Coagulase, à gauche positif, à droite négatif (Cliché personnel, juillet 2021)

2.3.2. Résultats de l'identification des bacilles à Gram –

Les caractères biochimiques de différentes bacilles à Gram -, isolés sont résumés dans le tableau et les figures suivants :

Tableau 25 : Résultats de l'identification des bacilles à Gram -

N°	Tests	Oxydase	API	Espèce
Prélèvement N°1		-	API 20E : N° 4044773	<i>E.coli</i>
Prélèvement N°3		+	API 20E : N° 2207106	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Prélèvement N°4		-	API 20 E : N° 0757004	<i>Proteus mirailis</i>
Prélèvement N°6		-	API20 E : N° 0166732	<i>E.coli</i>
Prélèvement N°7		+	API 10 S : N° 0026	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Prélèvement N°8		+	API 10 S : N° 0406	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Prélèvement N°9		+	API20 E: N° 2204004	<i>Pseudomonas fluorecens</i>
Prélèvement N°10		+	API10S : N°2635	<i>Proteus mirabilis</i>
Prélèvement N°11		-	API10S : N°7305	<i>E.coli</i>
Prélèvement N°12		-	API10S : N°7305	<i>E.coli</i>

➤ Test oxydase



Figure 37. Test Oxydase, à gauche négatif, à droite positif (Cliché personnel, juillet 2021)

➤ **Galeries d'identification API 20E et API 10S**

L'identification par galerie API 20E et API 10S a révélé la présence de souches appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* et d'autres bacilles négatif non entérobactéries telles les *Pseudomonas*.

L'interprétation des résultats obtenus par les systèmes API 20E et API 10S était faite à l'aide du logiciel d'identification Excel.

Les espèces bactériennes identifiées par les API systèmes sont démontrées dans les figures ci-dessous :

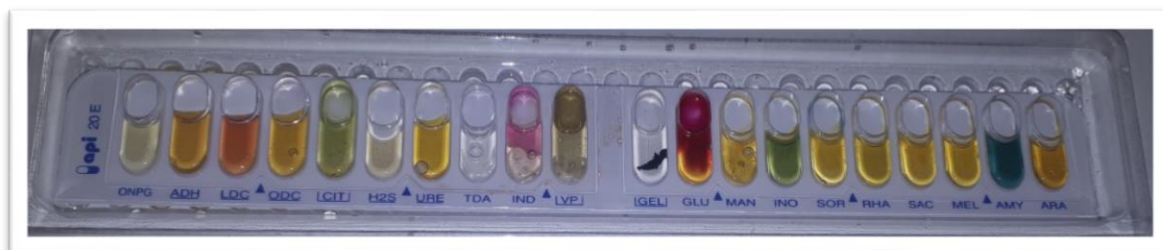


Figure 38. API 20E. *E. coli* (Cliché personnel, juillet 2021)



Figure 39. API 20E. *Pseudomonas aeruginosa* (Cliché personnel, juillet 2021)



Figure 40. API 20E. *Pseudomonas fluorescens* (Cliché personnel, juillet 2021)



Figure 41. API 20E. *Proteus mirabilis* (Cliché personnel, juillet 2021)



Figure 42. API 10S. *Proteus mirabilis* (Cliché personnel, juillet 2021)



Figure 43. API 10S. *E. coli* (Cliché personnel, juillet 2021)

3. Résultats globaux des espèces identifiées

Tableau 26: Résultats globaux des espèces identifiées.

N°	Cocci Gram +	Bacilles Gram -
Prélèvement N°1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Escherichia Coli</i>
Prélèvement N°2	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	–
Prélèvement N°3	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Prélèvement N°4	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
Prélèvement N°5	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	–
Prélèvement N°6	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Escherichia coli</i>
Prélèvement N°7	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Prélèvement N°8	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Prélèvement N°9	–	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
Prélèvement N°10	–	<i>Proteus mirabilis</i>
Prélèvement N°11	–	<i>Escherichia coli</i>
Prélèvement N°12	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
Prélèvement N°13	<i>Staphylococcus aureus</i>	–
Prélèvement N°14	<i>Staphylococcus aureus</i>	–
Prélèvement N°15	<i>Enterococcus sp</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	–

4. Antibiogramme

4.1. Résultats de l'antibiogramme des *Staphylococcus aureus*

La lecture de l'antibiogramme des *S. aureus* nous a révélé les résultats suivants :

Tableau 27: Résultats de l'antibiogramme de *S.aureus*

N°	Sensible	Intermédiaire	Résistante
P.N°3	SXT, TE, AK, VA, FO, E, OX, FC, GEN	–	–
P.N°4	SXT, E, FC, VA, GEN, TE, FO, AK, OX	–	–
P.N°12	VA, PT, TE, FC, AK, FO, GEN, SXT	E	OX, CIP
P.N°13	SXT, FO, AK, CIP, GEN, PT, VA, FC, TE, E.	–	OX

P.N°14	AK, VA, PT, FO, GEN, CIP, SXT	TE	OX, FC, E
PN°15	AK, FO, VA, GEN, PT.	CIP	FC, TE, SXT, E, OX

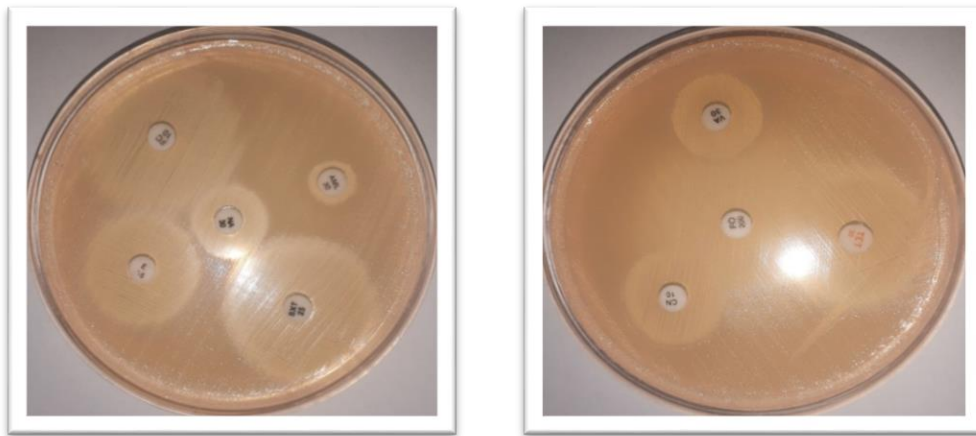


Figure 44. Antibiogramme de *S. aureus*. Prélèvement N°4 (Cliché personnel, juillet 2021)

4.2. Résultats de l’antibiogramme d’*Escherichia coli*

Tableau 28 : Résultats de l’antibiogramme d’*Escherichia coli*.

N°	Sensible	Intermédiaire	Résistante
P.N°1	COL, AK, FO, CTX, GEN	–	AMO, CZ, CIP
P.N°6	–	–	–
P.N°11	FO, GEN, NA, COL, CTX, CIP, AK, SXT.	–	AMO, TIC, AUG, CZ.
P.N°12	SXT, CTX, COL, AK, TIC, CIP, NA, FO, GEN, CZ	–	AMO, TIC, AUG,

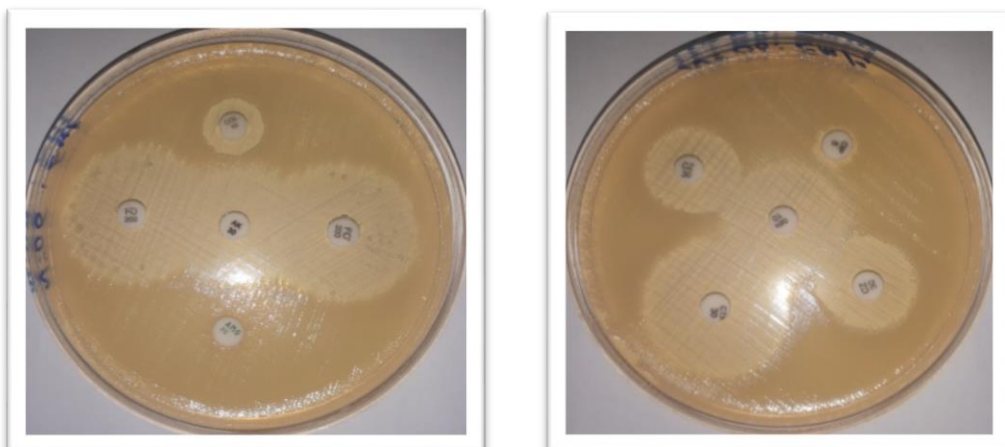
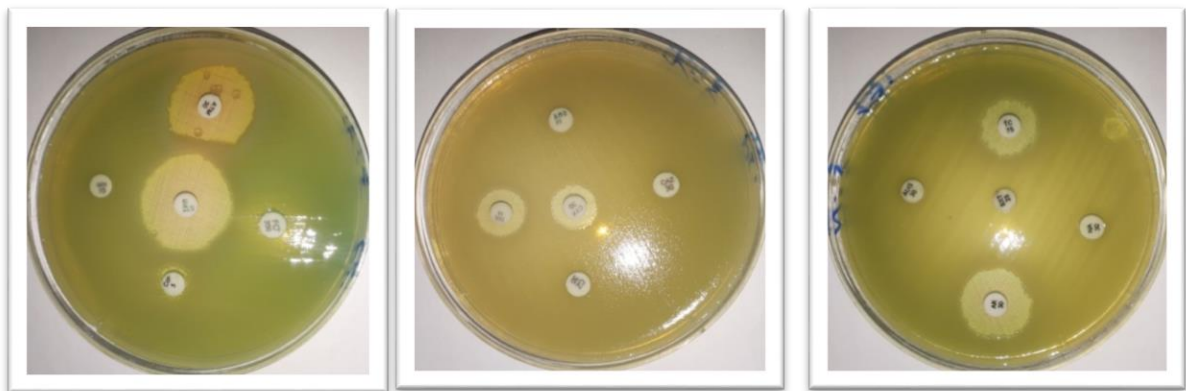


Figure 45. Antibiogramme d’*E. coli* du prélèvement N°1 (Cliché personnel, juillet 2021)

4.3. Résultats de l'antibiogramme de *Pseudomonas*Tableau 29: Résultats de l'antibiogramme de *Pseudomonas*

N°	Sensible	Intermédiaire	Résistante
P.N° 3	AK, IPM, COL	–	SXT, NA, AUG, FO, GEN, CIP, CAZ, AMO, CZ
P.N° 7	AK, COL, CIP, GEN, IPM, ATM	–	NA, AMO, AUG, SXT, CZ, FO, CAZ, CTX, TIC
P.N° 8	AK, COL, IPM	CIP	NA, AMO, AUG, SXT, FO, CZ, CTX, GEN, TIC.
P.N° 9	FO, AUG, NA, AMOX, CZ, SXT, ATM	–	GEN, COL, TIC, CIP, AK, IPA, Céfixime, CTX

Figure 46. Antibiogramme de *Pseudomonas aeruginosa* du prélèvement N°3 (Cliché personnel, juillet 2021)4.4. Résultats de l'antibiogramme de *Proteus mirabilis*Tableau 30: Résultats des antibiogrammes de *Proteus mirabilis*.

N°	Sensible	Intermédiaire	Résistante
P.N° 4	AK, GEN, CTX, SXT.	NA	FO, AMO, AUG, CZ, COL.
P.N° 10	CXT, TIC, FF, CIP, CN, AK, AML, AUG	–	CZ, NA, COL, SXT,

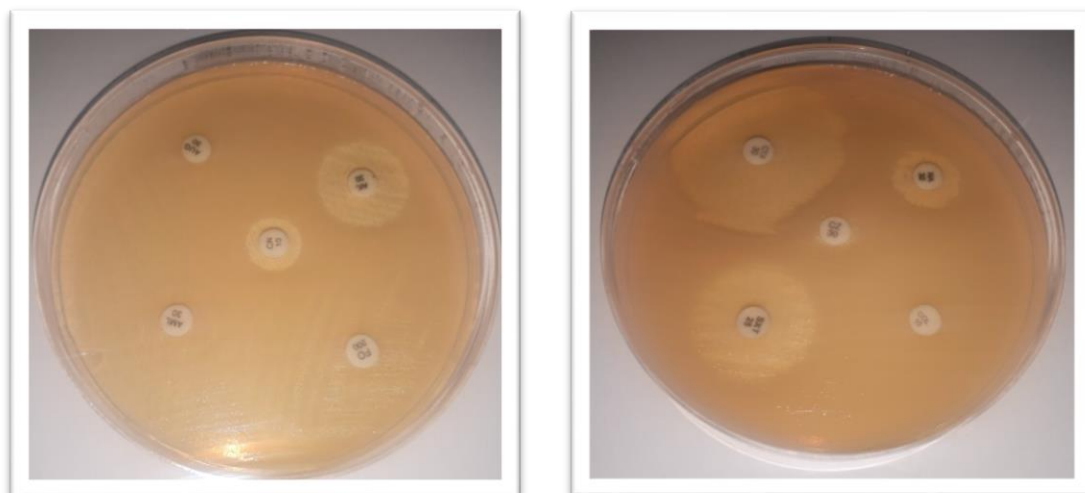


Figure 47. Antibiogramme de *Proteus mirabilis* (Cliché personnel, juillet 2021)

4.5. Résultats de l'antibiogramme d'*Enterococcus sp.*

Tableau 31 : Résultats de l'antibiogramme d'*Enterococcus sp.*

N°	Sensible	Intermédiaire	Résistante
P.N° 15	AMOX, BAC, FO, VA, CIP	CTX, PT, CFM	AMK, TET, E,GEN, CZ

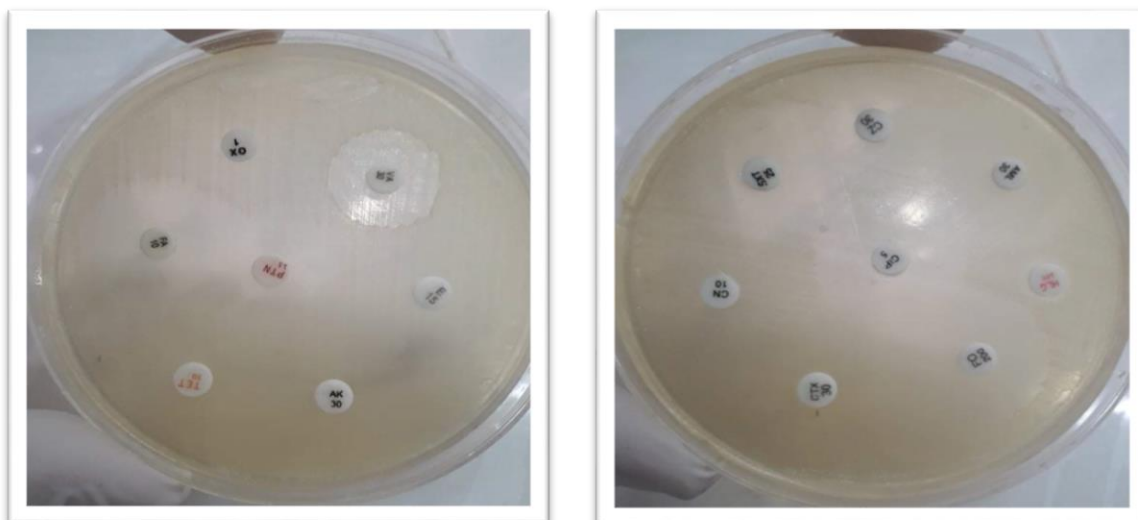


Figure 48. Antibiogramme d'*Enterococcus sp.* (Cliché personnel, juillet 2021)

5. Analyses statistiques et discussion

5.1. Répartition des infections du site opératoire selon la tranche d'âge

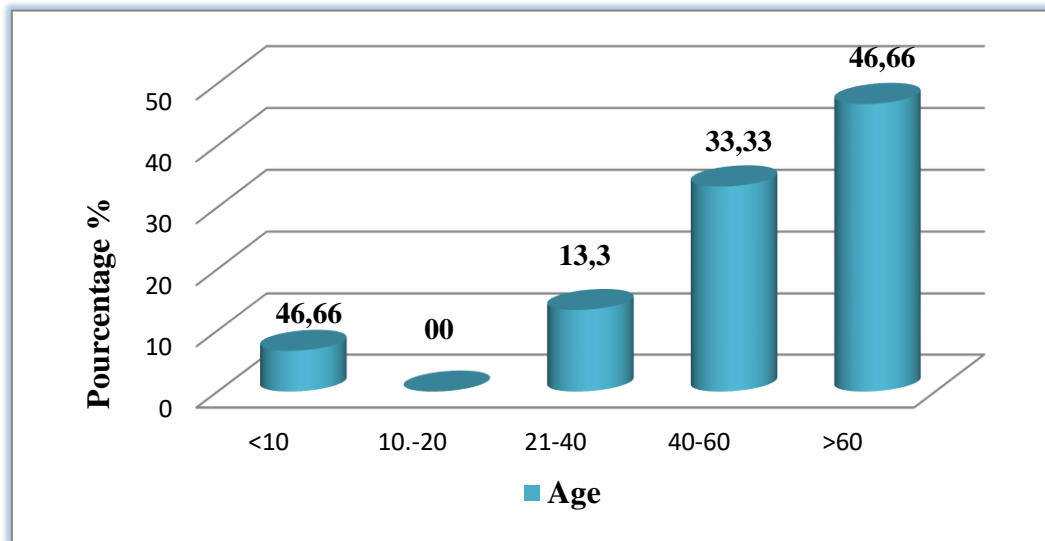


Figure 49. Répartition globale des échantillons selon la tranche d'âge

D'après le tableau et l'histogramme, le pourcentage des cas positifs le plus élevé **46,6%** est constaté avec la tranche d'âge supérieure à 60 ans. La fréquence de l'infection des plaies chirurgicales semble augmenter avec l'âge. Les facteurs intervenant dans l'augmentation de l'incidence des infections chez les personnes âgées sont multiples: Baisse des défenses immunitaires, alitement, effet des médicaments, présence de beaucoup de dispositifs médicauxetc.

5.2. Répartition des infections du site opératoire selon le sexe

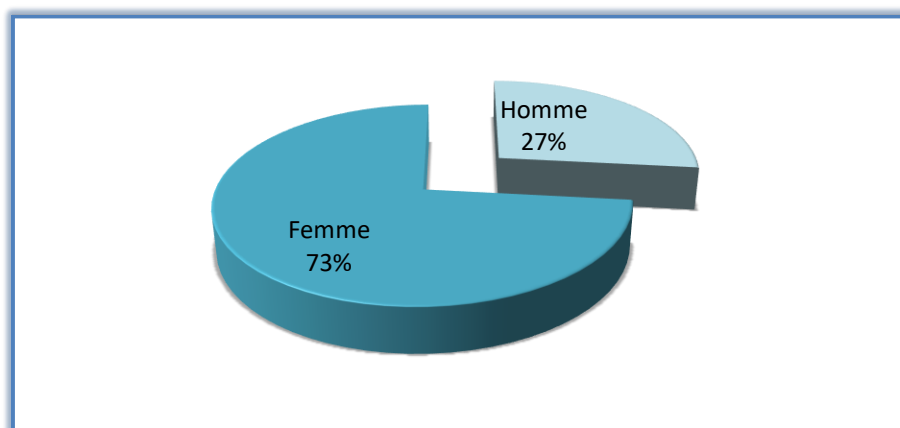


Figure 50. Répartition globale des échantillons selon le sexe

D'après les résultats, les infections du site opératoire touchent plus la population féminine avec une fréquence de 73% par rapport à la population masculine qui ne représente

que 27 %. Ceci correspond à un sexe ratio (Femme/Homme) =2,70. Ces résultats pourraient s'expliquer dans une certaine mesure par le fait que la femme est plus exposée aux facteurs de risques des infections postopératoires (ablation du sein, accouchement).

5.3. Répartition des résultats selon la nature du germe

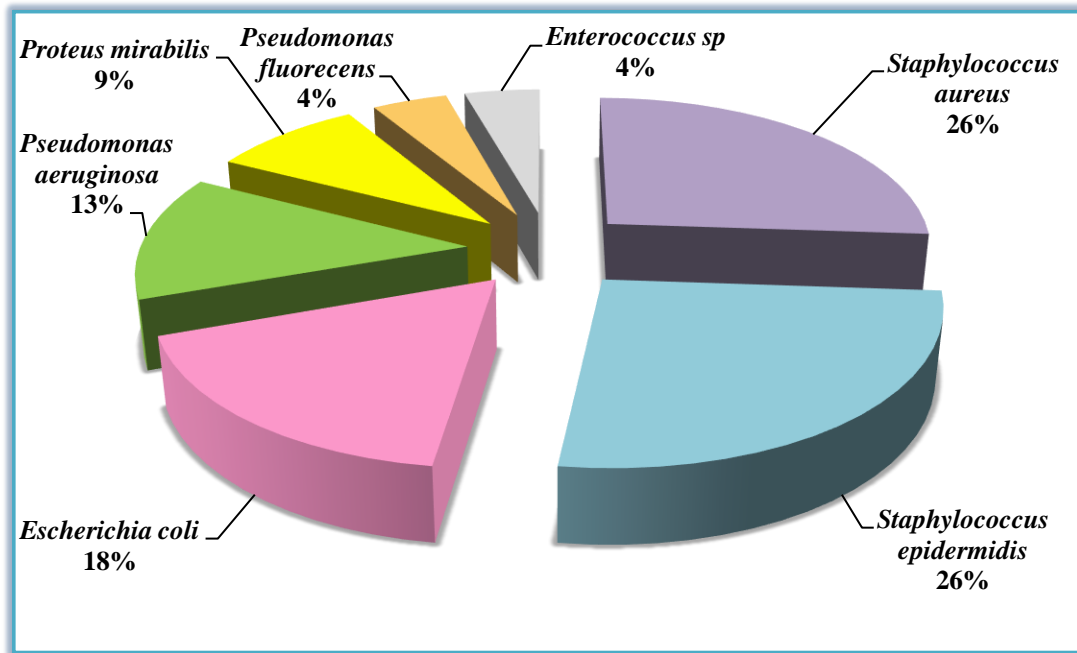


Figure 51. Répartition globale des résultats selon la nature du germe.

Les résultats montrent la prédominance des staphylocoques par rapport aux autres germes, avec une fréquence de **52%**, **26%** pour *Staphylococcus aureus* et de même pour *S.epidermidis*. Elles sont suivies par les entérobactéries avec un taux de **27%** dont **18%** pour *Escherichia coli* et **9%** pour *Proteus mirabilis*, le genre *Pseudomonas* présente un taux de **16%** et le pourcentage le plus faible est constaté avec les entérocoques avec un taux de **4%**.

Nos résultats sont concordants avec ceux obtenus dans une étude faite à l'hôpital Frères Meghlaoui- Mila (**Bendjouad et al., 2019**), qui ont constaté que les staphylocoques prédominaient dans le milieu hospitalier, principalement là où il y a un contact direct des mains du personnel et des malades avec le matériel et les locaux (interrupteur, mains d'infirmiers, perfuseur, cathéter, passe de portes et fenêtres), elles sont suivies par les entérobactéries particulièrement *Escherichia coli* puis les *Pseudomonas*.

Ces résultats rejoignent également ceux des statistiques de l'**ISO Raisin 2018** (Tableau N°3, Chapitre 2) qui ont démontré la prédominance des staphylocoques dans la plupart des

différents types de chirurgie suivie par les entérobactéries puis les bacilles à Gram négatif non entérobactéries tels les *Pseudomonas* et les entérocoques viennent en derniers rang.

5.4. Profil de résistance des souches isolées vis-à-vis des antibiotiques testés

5.4.1. Profil de résistance de *Staphylococcus aureus*

Au cours de l'étude rétrospective de nos prélèvements, un taux de 18% de souches de 26% a été isolé.

Les résultats de leur résistance sont mentionnés dans les histogrammes suivants :

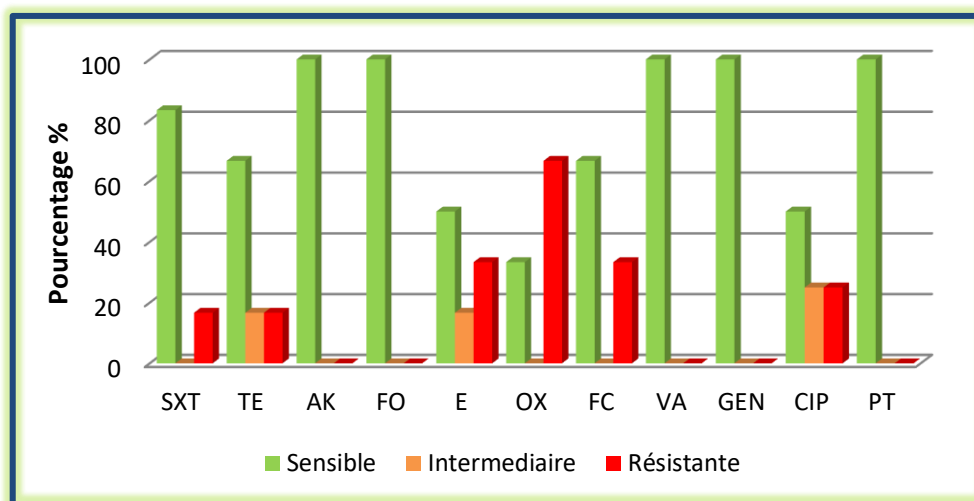


Figure 52. Taux de résistance des souches de *Staphylococcus aureus* isolées vis-à-vis des antibiotiques testés

D'après l'histogramme, nous constatons que de 25 à 66% des souches ont acquis une résistance aux SXT (Sulfamides), TE (Tétracyclines), E (Macrolides), OX (B-lactamines), FC (fusidamines), et CIP (Quinolones).

Concernant les autres antibiotiques aucune résistance n'a été constatée.

Ces baisses de sensibilité pourraient être également à cause de la très large utilisation des antibiotiques dans les hôpitaux, le personnel soignant hospitalier est fréquemment porteur de souches résistantes.

5.4.2. Profil de résistance d'*Escherichia coli*

Au cours de l'étude rétrospective de nos prélèvements, un taux de 18% de souches de *E. coli* a été isolé ont été isolées.

Les résultats de leur résistance sont mentionnés dans les histogrammes suivants :

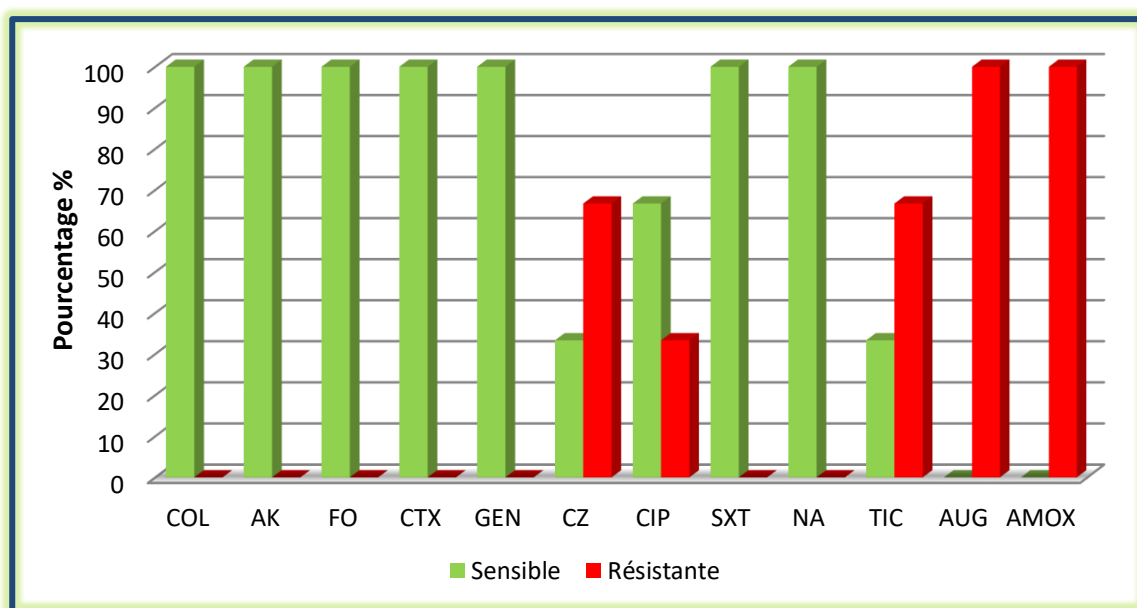


Figure 53. Taux de résistance des souches de *Escherichia coli* isolées vis-à-vis des antibiotiques testés

D'après l'histogramme, nous constatons que de 30 à 100% des souches ont acquis une résistance aux B-lactamines (AMOX, AUG et TIC) par l'acquisition de pénicillinase, aux céphalosporines (CZ), et aux quinolones (CIP).

Concernant les autres antibiotiques aucune résistance n'a été constatée.

Selon l'OMS, un taux de résistance de *E.coli* à l'amoxicilline est rapporté à (0,03%) en France, 44% en Grèce et 17% à Chypre, **Delmée (2004)** a noté un taux de 50% de résistance. a noté un taux de 50% de résistance (**Bouzeraa, 2018**).

Ces résistances pourraient s'expliquer par l'utilisation trop fréquente de ces antibiotiques en thérapeutique et aussi la pratique de l'automédication à l'origine d'une pression de sélection de mutants résistants.

5.4.3. Profil de résistance de *Pseudomonas aeruginosa*

Au cours de l'étude rétrospective de nos prélèvements, un taux de 13 % de souches de *Pseudomonas aeruginosa* a été isolé.

Les résultats de leur résistance sont mentionnés dans les histogrammes suivants :

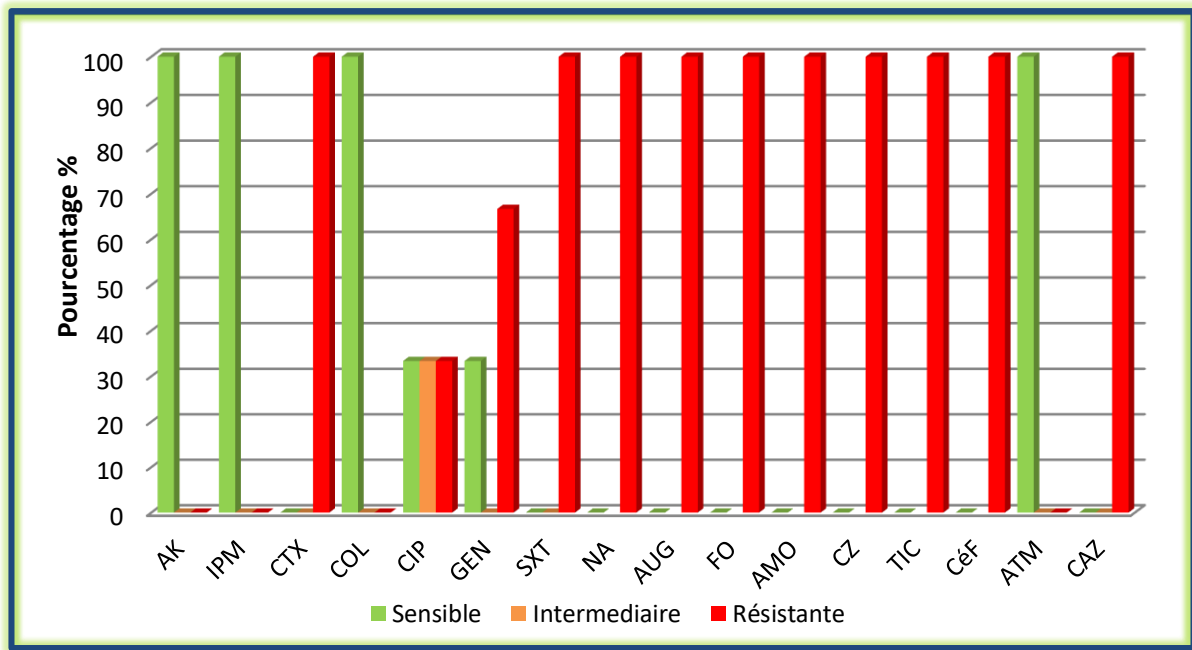


Figure 54. Taux de résistance des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées vis-à-vis des antibiotiques testés

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie nosocomiale bien connue, qui présente une résistance naturellement à de nombreux antibiotiques : AMOX, AUG, CTX, CFX, SXT, NA, CZ..etc,

D'après nos résultats, nous constatons que de 30 à 100% des souches de *Pseudomonas aeruginosa* ont acquis une résistance aux CIP (Quinolones 2^{ème} génération), GEN (Aminosides), TIC (Carboxypenicillines), IPM (Carbapénèmes), CAZ (Céphalosporines 3^{ème} génération) et la fosfomycine.

Nos résultats confirment donc la sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* à un petit nombre d'antibiotiques tels : CAZ, ATM, IPM FO, AK, CIP, COL, GEN et TIC. Et c'est pourquoi l'émergence de souches multirésistantes, voir totorésistantes, constitue un sujet d'inquiétude majeur en milieu hospitalier (16).

Discussion

Les infections nosocomiales sont des infections qui engagent le pronostic vital. Parmi les infections nosocomiales, les infections du site opératoire sont les plus redoutées par les chirurgiens car mettant en péril l'acte chirurgical.

L'analyse bactériologique de quinze prélèvements des plaies chirurgicales au service de chirurgie de l'hôpital des Sept frères Maghlaoui à Mila, permettait l'isolement et l'identification de certains germes bactériens comme : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens* et *Enterococcus sp.*

Les résultats des aspects macroscopiques obtenus montrent la présence des colonies sur tous les milieux utilisés : gélose nutritive, gélose au sang, Chapman et Héктоen. La coloration de Gram a révélé la présence des Cocci à Gram positif et des bacilles à Gram négatif.

Dans notre étude, les différents tests d'identification réalisés sur les quinze prélèvements ont montré la présence des bactéries responsables des infections nosocomiales post-opératoires.

Nos résultats montrent la prédominance des staphylocoques par rapport aux autres germes, avec une fréquence de 52%, 26% pour *Staphylococcus aureus* et de même pour *S.epidermidis*, ces résultats se concordent avec ceux obtenus dans une étude faite à l'hôpital Frères Maghlaoui- Mila (**Bendjouad et al., 2019**), qui ont constaté que les staphylocoques prédominaient dans le milieu hospitalier, principalement là où il y a un contact direct des mains du personnel et des malades avec le matériel et les locaux (interrupteur, mains d'infirmiers, perfuseur, cathéter, passe de portes et fenêtres). De même pour les études de (**Lepoutre France, 2006**) et (**Donigolob Chirurgie A CHU Pt G, 2004**) qui montrent la présence des *S. aureus* présentant respectivement un taux de 20% et 11%.

Les staphylocoques font partie des germes de la peau, des muqueuses et des tractus digestif...etc. donc l'infection du site opératoire peut être endogène à partir de la flore du patient lorsque le site opératoire n'est pas bien désinfecté avant l'intervention ou exogène à partir de l'environnement hospitalier et en particulier les soignants et les lits.

Ces résultats rejoignent aussi ceux des statistiques de l'ISO Raisin 2018 (Tableau N°3, Chapitre 2) qui ont démontré la prédominance des staphylocoques dans la plupart des différents types de chirurgie suivie par les entérobactéries puis les bacilles à Gram négatif non entérobactéries tels les *Pseudomonas* et les entérocoques viennent en derniers rang.

Dans nos résultats le germe le plus dominant après les streptocoques est *Escherichia coli* qui présente un taux de 18%, ces résultats sont presque similaires à celui de (FIORO Italie, 2004) avec un taux de 16,67% , mais ils sont minimes comparativement à d'autre résultats d'études telles (Lepoutre France, 2006), (DONIGOLOB Chirurgie A CHU Pt G, 2004) et (SAID S. F. H Chirurgie B CHU Pt G 2004) qui présentent respectivement des taux de 23%, 29,1% et 40%.

Escherichia coli est habituellement trouvé dans le tube digestif et les déjections humaines elle est impliquée dans de nombreuses infections à point de départ digestif ou urinaire : suppurations. Il peut s'agir d'infections communautaires ou nosocomiales (Nauciel et Vildé, 2007), Son origine dans les plaies chirurgicales est exogène à partir du milieu hospitalier cela peut être due à un manque d'hygiène.

Le troisième germe le plus dominant après les staphylocoques et *E.coli* c'est *Pseudomonas aeruginosa* à 13%, ce résultat est presque similaire à celui de (Lepoutre France, 2006) et (FIORO Italie, 2004) qui ont un taux de 11%, et il est inférieur à celui de (SAID S. F. H Chirurgie B CHU Pt G 2004) à 20%.

P. aeruginosa est capable de survivre dans l'environnement, particulièrement en milieu humide (robinets, tuyauteries..), en milieu hospitalier peut être rencontré dans l'environnement proche du malade, elle est responsable d'infections nosocomiales (17) et donc l'origine de ce germe dans les plaies chirurgicales est à partir du milieu hospitalier cela peut être due à un nettoyage et désinfection insuffisants des outils du matériel et des locaux.

Nos résultats montrent aussi la présence de *Proteus mirabilis* à 9%, Il est présent habituellement dans le colon humain ainsi que dans le sol et l'eau (Levinson, 2014). C'est un pathogène opportuniste, *P. mirabilis* a été signalé comme causant d'infections nosocomiales et il est présent dans les suppurations à partir du milieu hospitalier.

Les enterocoques viennent au dernier rang, ils sont présents avec un taux de 4%, on les trouve essentiellement chez l'homme (généralement pharynx, mais aussi se trouvent sur la peau) et donc leur présence dans la plaie peut être d'origine endogène à partir de la flore du

patient en cas d'une désinfection insuffisante du site chirurgical ou d'origine exogène à partir des soignants ou du matériel, outils et locaux mal désinfectés.

Sur le plan de la sensibilité aux antibiotiques, les bactéries isolées se sont révélées très sensibles à de nombreux antibiotiques, mais présentent aussi des résistances importantes à d'autres types d'antibiotiques qui ont un large spectre de consommation et prédomine dans le milieu hospitalier.

Au totale sept espèces ont été identifiées, les staphylocoques représentent 52%, dont 26% pour *Staphylococcus aureus* et de même pour *S.epidermidis*. Elles sont suivies par les entérobactéries avec un taux de 27% dont 18% pour *Escherichia coli* et 9% pour *Proteus mirabilis*, le genre *Pseudomonas* présente un taux de **16%** et le pourcentage le plus faible est constaté avec les entérocoques avec un taux de 4%, Cette diversité bactérienne semble être liée à l'écologie microbienne de l'hôpital et surtout du service de chirurgie (Bloc opératoire : soignants, matériel chirurgical , outils, lits) et ces infections sont favorisées par plusieurs facteurs liés aux patients, à l'acte chirurgical et à l'hygiène hospitalière.

***CONCLUSION ET
PERSPECTIVE***

Les infections du site opératoire (ISO) incluent toute infection sur le site opéré, survenant dans les 30 jours suivant l'intervention ou dans l'année s'il y a eu mise en place d'un implant ou d'une prothèse. Ils constituent un véritable problème de santé publique.

Ce travail consiste à étudier les aspects épidémiologiques et bactériologiques des souches bactériennes isolées au cours des infections du site opératoire (ISO) à l'Hôpital des Sept frères Maghlaoui- Mila. Nous avons mené une étude rétrospective, et descriptive sur une période de 4 mois. Toutes les souches isolées à partir de prélèvements bactériologiques effectués chez les patients présentant une infection du site opératoire ont été identifiées et testés aux antibiotiques selon les méthodes classiques conventionnelles.

A partir des résultats obtenus, sur les 15 prélèvements effectués de l'identification et la caractérisation microbiologiques des bactéries pathogènes présentes sur les surfaces des plaies infectés et d'après notre étude nous pouvons conclure que les espèces isolées sont celles du milieu hospitalier et aussi de la flore endogène du patient avec une dominance des staphylocoques : *Staphylococcus aureus* 26% ,*Staphylococcus aureus* 26%, *Escherichia coli* 18%, *Pseudomonas aeruginosa* 13%, *Proteus mirabilis* 9%, *Pseudomonas fluorescens* 4%, *Enterococcus sp* 4%.

Toutes les bactéries rencontrés dans notre étude chez les patients hospitalisés et les non hospitalisés sont responsables des infections nosocomiales mais peut être trouvé dans l'environnement donc on peut constater que sont à l'origine d'une infection préopératoire ou apporté (l'environnement, autre patient, personnelle ou autre facteur de contamination).

Une prévention rigoureuse par l'utilisation des règles d'hygiène corporelle correctes (des toilettes complètes avant l'intervention chirurgicales), lavage des mains, port de gants, stérilisation des instruments, bien préparer la peau avant l'opération (mais ne pas raser plusieurs heures avant l'opération), faire attention aux fautes d'asepsie préopératoire, per opératoire et postopératoire, peut minimiser le risque infectieux des plaies chirurgicales.

L'étude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques testés a montré une résistance aux aminopenicillines et au cotrimoxazole, par contre une assez bonne sensibilité a été observée avec la colistine et l'imipenème et les autres antibiotiques.

Au terme de cette étude, nous pensons que la rationalisation de la prescription des antibiotiques, surtout l'imipenème et la colistine, et l'optimisation des prescriptions bactériologiques sont souhaitables dans ces services chirurgicaux.

Cependant, la rigueur dans la dispensation en officines pharmaceutiques et l'utilisation rationnelle de ces antibiotiques sont indispensables pour éviter l'émergence des phénomènes de résistance. L'efficacité de l'activité antibactérienne de ces molécules sur le long terme est sans doute à ce prix.

En perspectives, les résultats obtenus restent préliminaires mais fournissent un point de départ et méritent d'être approfondis et complétés par :

- La prolongation de la période d'étude.
- L'étude d'un plus grand nombre d'échantillons
- Effecteur d'autres études similaire aux différents hôpitaux de la région.
- L'étude des infections post-opératoires de plusieurs types de chirurgies.

Suggestions

- Au Ministre de la Santé
 - Mettre en place des stratégies de surveillance et de lutte contre les infections du site opératoire dans toutes les wilayas.
 - Mettre à la disposition des services des spécialistes en matière d'infections nosocomiales

- Aux autorités de l'hôpital
 - Former le personnel médical en matière d'hygiène hospitalière
 - Mettre à la disposition du service de bactériologie virologie du matériel et réactif pour la réalisation des examens

- Au personnel soignant
 - Respecter les règles d'asepsie avant, pendant, après l'opération
 - Sensibiliser les patients en matière d'hygiène
 - Avoir le réflexe de faire des prélèvements chez tous les patients ayant une infection du site opératoire

- Aux patients et aux accompagnants
 - Respecter les règles d'hygiène

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

A

- **ASA physical status classification system**, (original approval: October 15, 2014). Last amended by the ASA House of Delegates on October 23, 2019.
- **Ashutosh K.** (2008). *Pharmaceutical Microbiology*. New Delhi: New age international publishers. 363P.
- **Astagneau P., Desplaces N., Vincent V., Chicheportiche V., Botherel A., Maugat S.** (2001). Mycobacterium xenopi spinal infections after discovertebral surgery :investigation and creening of a large outbreak. *Lancet*. 747P.
- **Avril J-L., Dabernat H., Denis F., Monteil H.** (1992). *Bactériologie clinique*, 2^{ème} édition. Paris: Ellipses. 511P.

B

- **Bassole I.** (2012). Profil bactériologique des suppurations postopératoires dans les services de chirurgie digestive et de chirurgie traumatologique du centre hospitalier universitaire – Yalgadoouedraogo (CHU-Ya), (Burkina Faso). Thèse pour l’obtention du grade de Docteur en Pharmacie. Université d’Ouagadougou. Burkina Faso.113P
- **Bernet C., Hajjar J., Caillet –Vallet E., Fabry J.** (2005). Infection du Site Opératoire: Protocole de surveillance C.CLIN Sud-Est. 30P.
- **Bernet C., Hajjar J., Caillet –Vallet E., Fabry J.** (2005). Infection du Site Opératoire: Protocole de surveillance C.CLIN Sud-Est. 30P.
- **Bighoumdan K.** (2020). Infections nosocomiales périopératoires chez les nouveau-nés en réanimation pédiatrique. Thèse pour l’obtention du doctorat en médecine. Faculté de Médecine et de pharmacie – Marrakech. Maroc.114P
- **Black J.G.** (2012). *Microbiology Principles and explorations*, 8^{ème} édition. USA: John Wiley& Sons, Inc. 851P.
- **Brachman Philip S., Abrutyn E.** (2009). *Bacterial Infections of Humans Epidemiology and Conrol*, 4^{ème} édition. New York:Springer Science + Business Media, 972P.

C

- **CDC ATLANTA. (1990).** Les infections nosocomiales. Recommandations en matière d'enregistrement des infections nosocomiales.pub.med.Atlanta,OP.
- **Chamberlain Neal R. (2009).** The Big Picture Medical Microbiology, New York: Mc Graw Hill Lange, 445P.
- **Cheesbrough M. (2006).** District Laboratory Practice in Tropical Countries, Part 2. 2ème edition. Cambridge University Press. USA. 434P.
- **Choukri N. (2019).** Infection du site opératoire en chirurgie digestive. Thèse pour l'obtention du diplôme docteur en médecine. Université Mohamed V de Rabat. Maroc. 99P.
- **Cowan Marjonie K. (2012).**Microbiology: a systems approach. 3ème edition. Miami University. Mc Graw Hill. New York. America. 785P.
- **Creanor S., Barton A., Marchbank A. (may 2012).** Effectiveness of a gentamicin impregnated collagen sponge on reducing sternal wound infections following cardiac surgery: a meta-analysis of randomised controlled trials. Ann R CollSurg Engl,94, 227P.

D

- **Dechoux C. (2007).** Antibioprophylaxie et infections du site opératoire: applications et évaluation des mesures mises en place dans un hopital de gyneco-obstetrique.
- **Delarras C. (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire : d'analyses ou de contrôle sanitaire . Lavoisier, Paris. 476P.
- **Delarras C. (2014).** Pratique en microbiologie de laboratoire : recherche de bactéries et de levures-moisissures. Lavoisier, Paris. 772P.
- **Dineen P. (1975).** Influence of operating room conduct on wound infections. SurgClin North Am, 55(6):1283–7.
- **DONIGOLO B. I.N. (2005).** dans le service de chirurgie « A » de l'hôpital national du Point G. Thèse de Médecine – BAMAKO.
- **Dripps R., Hynynen M., Tammisto T. (1997).** A survey of the ASA physical status classification significant variation in allocation among finnish anesthesiologists. Actaanesthesiolscand, 41: 629-32.

E

- **Epelboin L., Macey J.** (2009). Maladies infectieuses et transmissibles. Elsevier Masson SAS. Issy les Moulineaux Cedex.463P

F

- **Fioro M, Marroni M, Tristaino B, Capitanucci L, Serafini S, De socio G, Stagni G.** (2004). Nosocomial infections in a general surgical ward, Italie.
- **Francioli P *et al.*** (1996). Infections du site chirurgical : revue Swiss-Noso, volume 3, Numéro 1.
- **François D *et al.*** (2007). Bactériologie Médicale Techniques usuelles, France : Elsevier Masson SAS, 2007, 572P
- **Freeman-Cook L., Freeman-Cook K.** (2006). Deadly Diseases and Epidemics Staphylococcus aureus Infections, USA: Chelsea House Publishers, 175P.

G

- **Giamarellou H., Antoniadou A.**(1996). Epidemiology, diagnosis, and therapy of fungal infections in surgery. Infect Control HospEpidemiolOff J SocHospEpidemiol Am. 17(8):558–64.
- **Gillespie Stephen H., Hawkey Peter M.** (2006). Principal and practice of clinical bacteriology, 2ème edition. England: John Wiley & Sons, Ltd, 587P
- **Granato Paul A., Morton V., Morello Josephine A.** (2019). Laboratory manual and workbook in microbiology: Application to patient care. 12^{ème} edition. McGraw-Hill. United States of America. 321P.
- **Greenwood D *et al,*** (2012), Medical Microbiology a guide to Microbial Infection, 8ème edition. London: Churchill Livingstone Elsevier. 737P
- **Grosjean J, *et al,*** (2017). Bactériologie et virologie pratique, 3^{ème} édition. Belgique. 285P.

H

- **Hamel Said, (2005)** S F. I.N dans le service de chirurgie « B » de l'hôpital national du Point G. Thèse de Médecine - BAMAKO, N°49.

- **Hart T., Shears P,** (1999). *Atlas de poche de microbiologie*. Paris: Flammarion médecine sciences, 313P.
- **Hogg S,** (2005). *Essential Microbiology*, England: John Wiley & Sons Ltd, 468P
- **Horan T.C., Gaynes R P., Martowe, WJ, Coll.** (1992). *CDC Definitions for nosocomial surgical sites infections*. A modification of CDC definitions of surgical wound infections. *Infect control hosp epidemiol*.

I

- **Idrissi S,** (2019). *Infection du site opératoire : Etude prospective au sein du service de chirurgie viscérale Arrazi*. Thèse pour l'obtention du doctorat en Médecine. Faculté de médecine et de pharmacie- Marrakech. 124P.
- **Ittah- Desmeulles H,** (2004). *Prévention des infections du site opératoire, préparation cutanée de l'opéré : état actuel des connaissances*. EMC, N°2.

K

- **Kadi Z.** (2011). CCLIN Paris-Nord: Diaporama “ les infections du site opératoire (ISO): épidémiologie, facteurs de risque et prévention” .
- **Kayser F.H. et al.,** (2005). *Medical microbiology*. New York: Thieme, 698P.
- **Khiati M.** (2011). *Guide des maladies infectieuses et parasitaires*, 4ème édition. Alger : Office des publications universitaires, 250P.

L

- **Latabi A.** (2013). *Incidence des infections du site opératoire étude prospective au sein du service de chirurgie viscérale*. Thèse pour l'obtention du doctorat en médecine. université cadi Ayyad, faculté de médecine et de pharmacie .Marrakech. 93P.
- **Leboffe M., Pierce B.** (2012). *Brief microbiology laboratory theory & application*. 2ème edition. Morton Publishing Company. USA. 566P.
- **Lepoutre A.** (2001) (Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice), Réseau d'Alerte d'Investigation et de surveillance des Infections Nosocomiales (RAISIN) ; Enquête nationale de prévalence.
- **Lidwell OM., Lowbury E.J.L., Whyte W., Blowers R., Stanley S.J., Lowe D.** (1983). Airborne contamination of wound in joint replacement operation: the relationship to sepsis rates. *J HOSP Infect* .131P.

- **Lydyard Peter M, et al., (2010).** Case studies in infectious disease, London: Garland Science, Taylor & Francis Group, 598P.

M

- **Mainous Arch G., Pomeroy C, (2001).** Management of Antimicrobials in Infectious Diseases. Impact of Antibiotic Resistance, New Jersey, 350P.
- **Margoud L. (2004).** Etude bactériologique de bactéries isolées en milieu hospitalier, thèse de magistère en microbiologie de l'environnement, Université Hadj Moktar, Annaba, 152 p.
- **Mastro TD., Farley TA., Elliott JA., Facklam RR., Perks JR., Hadler JL., et al.,(1990).** An outbreak of surgical-wound infections due to group A streptococcus carried on the scalp. N Engl J Med.323(14):968–72.
- **May O , (2013).**Maladies Infectieuses, éditions Vernazobres- Grego.

N

- **Nauciel C., Vildé,J-L. (2007).** Bactériologie médicale, 2^{ème} édition. Issy-les Molineaux: Elsevier Masson, 255P.
- **Ndayisaba G, Bazira L, Gahongano G, Hitimana Akarayuba R. (1992).** Bilan des complications infectieuses en chirurgie générale Médecine d'Afrique Noire.

P

- **Pilly E. (2008).** Maladie infectieuses et tropicales, 21^{ème} édition, France : Collège des universitaires de Maladies Infectieuses et Tropicales, 685P.
- **Pollac R. et al., (2009).** Laboratory exercises in microbiology. 3^{ème} édition. John Wiley & Sons, INC. USA. 273P.
- **Prescott H. (2002).** Laboratory exercices in Microbiology.5^{ème} edition. McGraw–Hill. 466P.

R

- **Réseau d'alerte, (2003).** d'investigations et de surveillance des infections nosocomiales. Résultats de l'enquête de prévalence nationale 200.

S

- **Sidibe R.** (2014). Les infections post-opératoires dans le service de traumatologie et d'orthopédie du CHU Gabriel Toure. Thèse Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie. U.S.T.T.B. Mali. 76P.
- **Subhash Ch-P.** (2012). Textbook of Microbiology & Immunology, 2^{ème} édition. India: Reed Elsevier India Private Limited, 641P.

T

- **Taesch F.** (2018). Enquête auprès des cabinets libéraux : qu'en est-il de l'hygiène chez les médecins de ville ?. Mémoire de diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Strasbourg. France. 137P
- **Tayeb M.R., Zemmallache M. A., Nemiche I., Bouklikha M., Amiri F., Benahmed N.** (2011). Les infections nosocomiales du site opératoire. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention de doctorat en Médecine. Université Abou Bekr Belkaid de Telemcen. Algérie. 43P.
- **Tchall A. A. M.** (2006). Les complications postopératoires précoces dans le service de chirurgie générale de l'Hôpital Gabriel Touré. Thèse. Méd. N°6 Bamako. 116p.
- **Thibault M.** (2011). Les infections nosocomiales : l'importance d'un suivi épidémiologique et de l'identification rapide des bactéries en cause : exemple de quelques techniques de diagnostic permettant cette identification précoce. Sciences pharmaceutiques. 90P.

V

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

W

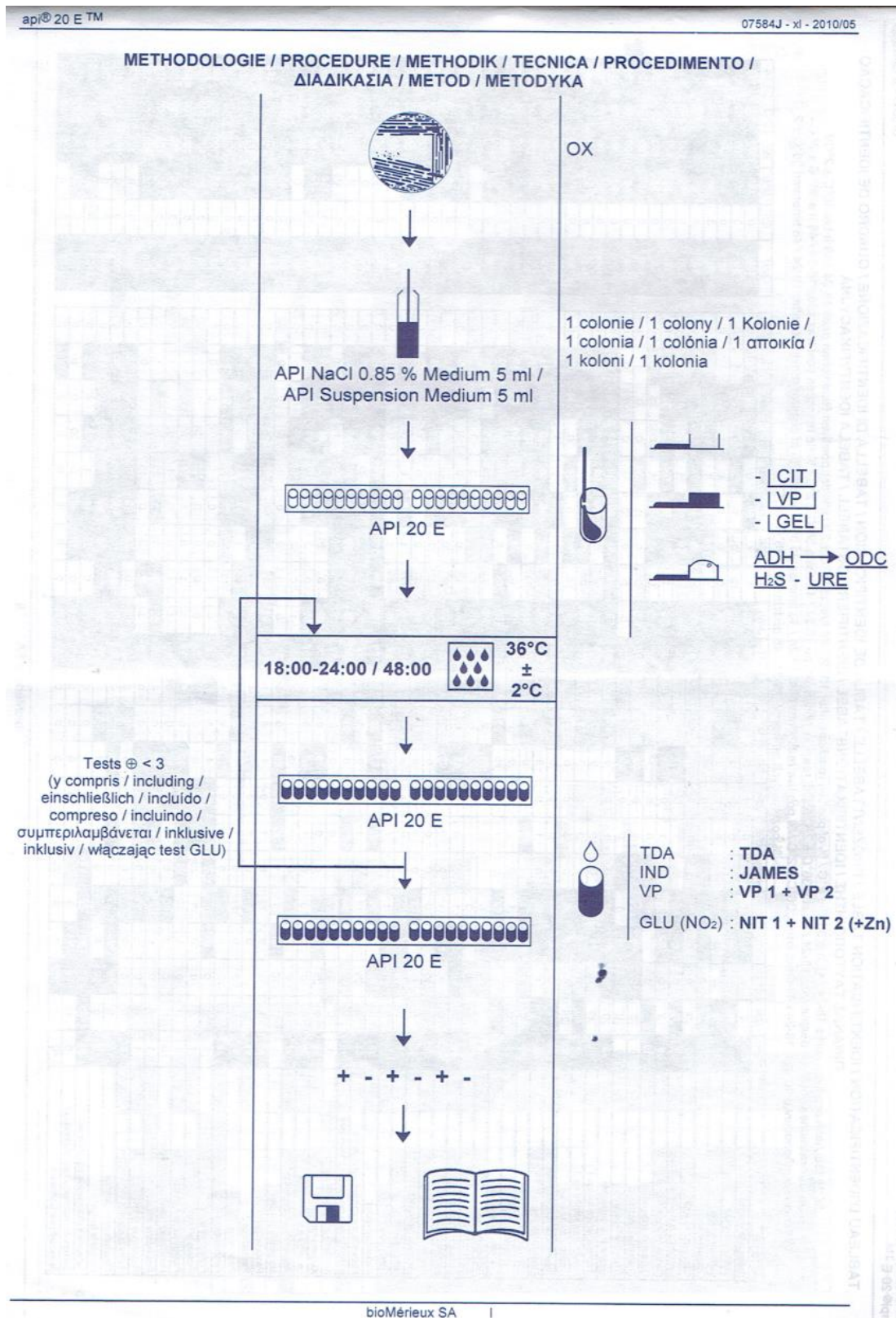
- **Warren L.** (2014). Review of Medical Microbiology and Immunology, 3^{ème} édition. New York: McGraw-Hill Education.
- **Wilson M.** (2008). Bacteriology of humans an ecological perspective, London: Blackwell publishing, 351P.

Webographie























1. <http://www.chromagar.com/clinical-microbiology-chromagar-acinetobacter-focus-on-acinetobacter-50.html#.YLvbb8zPzIU>
2. <https://www.cdc.gov/pneumococcal/clinicians/streptococcus-pneumoniae.html>
3. <https://www.atlanticlabo-ics.fr/cetrimide/10838-cetrimide-gelose-milieu-x-500g.html>
4. <http://www.who.int/fr/>
5. https://www.halyardhealth.com/wp-content/uploads/patient_risk_factors_best_practices_ssi.pdf
6. BOP_score_risque_HPCI_W_FT_00269.pdf
7. Onlinebiologynotes.com
8. Inserm.fr
9. <http://probiologiste.blogspot.com/2018/11/la-gelose-chocolat.html>
10. https://commerce.bio-rad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/fr/63934_2015_05_FR.pdf
11. <https://www.slideserve.com/edie/la-galerie-api-20e>
12. <https://www.urofrance.org/base-bibliographique/prise-en-charge-des-infections-postoperatoires-en-urologie>
13. Biomérieux.com
14. Science [directe.com/science/article/abs/pii/S246891141730347x](https://www.science-direct.com/science/article/abs/pii/S246891141730347x).
15. hpci.ch/surveillance/infections-du-site-operaire. Surveillance des infections du site opératoire. 11/12/2019
16. Université Paris-VI Bactériologie DCEM1. 2003. téléchargé sur : http://mas.stephanie.free.fr/microbiologie_bio2/bacterio.pdf
17. Inserm.fr /dossier /infections-nosocomiales

ANNEXES



Annexe 01 : Protocole d'inoculation de la galerie API 20 E




Annexe 02 : Lecture de la galerie API 20 E

TABLEAU DE LECTURE DE LA GALERIE MINIATURISEE API 20E					
Microtube	Substrat	Caractère recherché	Lecture directe ou indirecte (Test si nécessaire)	Résultat +	Résultat -
ONPG	Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	β -galactosidase	Lecture directe		
ADH LDC ODH	Arginine Lysine Ornithine	Arginine dihydrolase Lysine décarboxylase Ornithine décarboxylase	Lecture directe		
CIT	Citrate	Utilisation du citrate	Lecture directe		
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S	Lecture directe		
URE	Urée	Uréase	Lecture directe		
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de Perchlorure de Fer		
IND	Tryptophane	Production d'indole	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de réactif de Kovacs		
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	Lecture indirecte (Attendre 10 minutes) Test : ajouter 1 goutte de KOH et d' α -naphthol		
GEL	Gélatine emprisonnant des particules de charbon	Gélatinase	Lecture directe		
GLU à ARA	Substrat carboné	Utilisation de substrat carboné	Lecture directe		
NO ₂ / N ₂	Nitrates (NO ₃)	Nitrate réductase	Lecture indirecte dans la cupule GLU Test : ajouter 1 goutte de réactif de Griess Ajouter de la poudre zinc en cas de résultat négatif		

Annexe 03 : Fiches des résultats de la galerie API 20 E (Cliché personnel)



 07223 C REF : **P.N:01**



Origine / Source / Herkunft /
 Origen / Origen / Προέλευση /
 Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie :




1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
ONPG	ADH	LDC	ODC	LCIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	LVP	LGEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX	NO ₂	N ₂	MOB	McC	OF-0	OF-F															
+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-																				
4			0			4			4			7			7			3																							

Autres tests / Other tests / Andere Tests /
 Otras pruebas / Altri test / Outros testes /
 Άλλες εξετάσεις / Andra tester /
 Andre tests / Inne testy :

Ident. / Ταυτοποίηση : **4044773**
Escherichia coli



 07223 C REF : **P.N:04**

Origine / Source / Herkunft /
 Origen / Origen / Προέλευση /
 Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie :



1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
ONPG	ADH	LDC	ODC	LCIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	LVP	LGEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX	NO ₂	N ₂	MOB	McC	OF-0	OF-F																		
-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+																							
0			7			5			7			0			0			4																										

Autres tests / Other tests / Andere Tests /
 Otras pruebas / Altri test / Outros testes /
 Άλλες εξετάσεις / Andra tester /
 Andre tests / Inne testy :

Ident. / Ταυτοποίηση : **0757004**
Proteus mirabilis.

Annexe 04 : Tableaux de lecture de valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition

Entérobactéries

Antibiotiques testés	Diamètres critiques(mm)		
	R	I	S
Ampicilline	≤13	14-16	≥17
Amoxicilline +Ac.clavulantique	≤13	14-17	≥18
Céfazoline	≤19	20-22	≥23
Céfalotine	≤14	15-17	≥18
Céfoxitine	≤14	15-17	≥18
Céfotaxime	≤22	23-25	≥26
Céftriaxone	≤19	20-22	≥23
Impénème/Meropénème	≤19	20-22	≥23
Ertapénème	≤19	20-22	≥23
Amikacine	≤14	15-16	≥17
Gentamicine	≤12	13-14	≥15
Acide nalidixique	≤13	14-18	≥19
Ciprofloxacine	≤15	16-20	≥21
Chloramphénicol	≤12	13-17	≥18
Colistine	/	/	/
Furanes	≤14	15-16	≥17
Fosfomycine	≤12	13-15	≥16
Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole	≤10	11-15	≥16

ENTEROCOCCUS SPP.

Antibiotiques testés	Diamètres critiques(mm)		
	R	I	S
Ampicilline	16	/	17
Tétracycline	14	15-18	19
Vancomycine	14	15-16	17
Téicoplanine	10	11-13	14
Gentamicine Haut niveau	6	7-9	10
Streptomycine	6	7-9	10
Lévofloxacine	13	14-16	17
Erythromycine	13	14-22	23
Furanes	14	15-16	17
Rifampicine	≤16	17-19	≥20
Fosfomycine	12	13-15	16
Quinupristine- Dalfopristine	15	16-18	19
Chloramphénicol	12	13-17	18

Annexe 05: Tableaux d'études statistiques

Tableau 32 : Répartition des infections du site opératoire selon la tranche d'âge.

	<10	10-20	21-40	41-60	>60
N	1	00	2	5	7
Pourcentage %	6,66	00	13,33	33,33	46,66

Tableau 33 : Répartition des infections du site opératoire selon le sexe.

Sexe	N	Pourcentage %
Femme	11	73
Homme	4	27

Tableau 34 : Répartition des résultats selon la nature du germe.

Espèce	N	Pourcentage %
<i>S. aureus</i>	6	26
<i>S. epidermidis</i>	6	26
<i>E. coli</i>	4	18
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	13
<i>Proteus mirabilis</i>	2	9
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	2	4
<i>Enterococcus sp</i>	1	4

Annexe 06: Composition de certains milieux de cultures réactifs**Eau physiologique**

- Chlorure de sodium.....9g
- Eau distillé1000ml
- ❖ Filtration sur membrane
- ❖ Stérilisation par autoclave 15 min à 120 min
- ❖ PH = 7

**Bouillon nutritif
(milieu de base, complexe, liquide)**

- Extrait de viande sec 5g/l
- Bacot-peptone 10g/l
- Chlorure de sodium 5g/l
- Eau distillé1000ml
- ❖ Stérilisation par autoclave 15 min à 120°C
- ❖ pH = 7,2 – 7,4

Gélose nutritive

- Peptone 10 g/l
- Extrait de viande 3 g/l
- Extrait de levure 3 g/l
- Chlorure de sodium 5 g/l
- Agar 18 g/l
- ❖ 29g par litre d'eau distillée
- ❖ Autoclaver 15 min à 121 °C
- ❖ PH = 7,3 +/- 0,2

**Gélose Chapman
(milieu complexe gélosé, à la fois sélectif et différent)**

- Extrait de viande3 g/l
- Extrait de levure3 g/l
- Tryptone 5g/l
- Peptone bactériologique..... 10g/l
- Chlorure de sodium 70 g/l
- Mannitol 10 g/l
- Rouge de phénol 0,05 g/l
- Agar 18 g/l
- ❖ Autoclaver 15 min à 121°C
- ❖ pH = 7,4 +/- 0,1

Gélose Muller-Hinton

– Infusion de viande de bœuf	300 ml
– Peptone de caséine	17,5 g/l
– Amidon de maïs	1,5 g/l
– Agar	10 g/l
❖ 37 g par litre de l'eau distillé	
❖ Autoclaver 15 min à 116°C	
❖ pH = 7,4	

Gélose Hektoen

– Peptone pepsique de viande	15 g/l
– Extrait de viande	3 g/l
– Extrait de levure	3 g/l
– Lactose	12g/l
– Salicine	2 g/l
– Saccharose	12 g/l
– Chlorure de sodium	5 g/l
– Sels biliaires	4g/l
– Bleu de Bromothymol	0,064 g/l
– Fuchsine acide	0,1 g/l
– Agar	18g/l
– Eau distillé	1000 ml
❖ Autoclaver 15 min à 121°C	
❖ pH = 7,4 +/- 0,2	
❖ Refroidit aux environ de 45°C, 5 ml de l'additif Hektoen sont rajoutés au 225 ml de la gélose Hektoen.	

Année universitaire : 2020/2021

**Réalisé par
ZERIZER KENZA
CHERIFI Meryem**

Bactériologie des infections nosocomiales post-opératoires

Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de Master

En domaine : Science de la nature et de la vie

Filière: Sciences Biologiques Spécialité : Biochimie Appliquée

Résumé

L'infection post-opératoire est la deuxième plus fréquente de l'infection nosocomiale qui survient après une intervention chirurgicale, elle constitue une complication grave et redoutée par les chirurgiens car ruinant la réussite de l'acte chirurgical.

L'objectif de notre travail constitue l'isolement, l'identification et la détermination de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries responsables des infections nosocomiales post-opératoires, au sein de service de la chirurgie générale à l'hôpital des Sept frères Maghlaoui - Mila. Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de biologie du département de SNV de l'université de Mila.

Nous avons menés une étude durant la période du 1^{er} Avril 2021 au 20 juillet 2021 pour mieux cerner le profil bactériologique des suppurations, Au total 15 prélèvements de différents types de chirurgie ont été effectués, dont 11 femmes et 4 hommes, l'âge moyen de nos patients était supérieur à 60 ans.

Dans notre étude la fréquence des infections du site opératoire était de 12% ce qui était basse par rapport aux séries africaines.

Sur le plan bactériologique, par ordre de fréquence, nous avons identifié sept germes : *Staphylococcus aureus* 26% ,*Staphylococcus epidermidis* 26%, *Escherichia coli* 18%, *Pseudomonas aeruginosa* 13%, *Proteus mirabilis* 9%, *Pseudomonas fluorescens* 4% et *Enterococcus sp* 4%.

Sur le plan de la sensibilité aux antibiotiques, les bactéries isolées se sont révélées très sensibles à de nombreux antibiotiques, mais présentent aussi des résistances importantes à d'autres types d'antibiotique qui ont un large spectre de consommation et prédomine dans le milieu hospitalier.

La surveillance épidémiologique des infections en service de chirurgie et l'application des mesures d'hygiène sont des priorités à inclure dans tout programme de contrôle et de prévention des infections nosocomiales. Cette condition est une démarche globale qui s'inscrit dans la qualité des soins.

Mots clés : Infections postopératoires, Bactéries, Identification, Sensibilité, Chirurgie, Résistance aux antibiotiques, Hygiène hospitalière.

Présidente du jury : M^{me} BOUDJEHM Ibtissem (MCB - Université de Mila).

Examinatrice : M^{me} BOUKAZOULA Fatima (MCB - Université de Mila).

Promoteur: M^r MERZOUG Seyf Eddine (MCB-Université de Mila).