

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université LAGHROUR Abbes –Khenchela-**  
**Institut des Sciences de la Nature et de Vie**  
**Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire**

## **Mémoire**

**Présenté pour l'obtention du diplôme de Master**

**Option : Microbiologie**

## **Thème**

**Profil de Sensibilité des Bactéries Isolées du  
Site Opérateur**

**Devant le jury :**

**Président : Professeur DARBOUCHE Abdelhak**

**Examinatrice : Melle BENRDJEM Lamia**

**Promoteur : Professeur KASSAH Laouar Ahmed**

**Présenté par :**

**ZEROUAL Romaiissa**

**Session : 2011-2012**

*Au nom de Dieu le tout miséricordieux  
le très miséricordieux Mercie Dieu  
tout puissant qui m'a honoré  
d'être parmi ceux qui savent  
lire et écrire et qui a guidé  
mes pas sur le chemin  
de la science.*

*Citations scientifiques*

*"Au lieu de s'ingénier à tuer les microbes dans les plaies, ne serait-il pas plus raisonnable de ne pas en introduire?"*

*Pasteur*

## *Dédicaces*

*Avant tout je remercier le bon Dieu de m'avoir mis sur le bon chemin pour pouvoir réaliser ce travail que je dédie :*

*Au secret de mon existence et de mon succès : l'ange gardien mon chère père qui m'a toujours aidé et encourager tout au long de ma vie grâce à sa confiance et son soutien moral et matériel et pour son amour infini en exprimant mes gratitude mon profond amour et ma passion.*

*Et ma très chère mère, la lumière de ma vie, source d'amour, de tendresse de passion éternel en témoignage de ma profonde gratitude, de mon incontestable reconnaissance, pour tous les sacrifices qu'elle me contente, toute la confiance qu'elle m'a donné et tout l'amour dont elle m'entoure.*

*A mes chères sœurs : Oumeiima et Nousseiiba*

*A mon frère : Salah*

*A toute ma famille je ne citerai pas de noms ici pour ne pas en oublier*

*A ma très chère Houda Abed, en témoignage de ma profonde amitié et mon profond amour*

*A ma chère enseignante Benrdjem Lamia*

*A la mémoire de mon amie Chafia, que je ne l'oublierai jamais*

*Je dédie ce mémoire*

*A mes chères amies : Khawla ,Hana ,Asma, Sarah et Afraa*

*A tous mes collègues de fac surtout :*

*Amine et Amir*

*Et à tous ceux qui me porte dans le cœur*

*Romaiissa*

## *Remerciements*

*A MON MAITRE ET PRÉSIDENT DE MÉMOIRE  
MONSIEUR LE PROFESSEUR KASSAH LAOUAR  
AHMED*

*Médecin Chef du Laboratoire de Microbiologie  
Au CHU BENFLIS Touhami de Batna*

*J'exprime mes profonds remerciements et ma profonde gratitude à  
mon maître et mon encadreur de mémoire, allant de pour l'aide  
compétente qu'il m'a apporté, pour sa patience et son encouragement à  
finir ce travail, son œil critique m'a été très précieux pour structurer ce  
travail et pour améliorer sa qualité, qu'il trouve ici l'expression de ma  
sincère reconnaissance.*

*A MON MAÎTRE ET PRÉSIDENT DE JURY  
MONSIEUR LE PROFESSEUR DARBOUCHE  
ABDELHAK*

*Je tiens à remercier mon maître et président de mémoire, Mr le professeur DARBOUCHE Abdelhak, je le remercie de l'honneur qu'il m'a fait en acceptant d'être le président de mes jury. Je reconnais ses grandes qualités professionnelles et humaines, en témoignage de ma respectueuse reconnaissance.*

*A MON MAITRE ET JUGE DE MEMOIRE  
DEMOISELLE BENRDJEM LAMIA*

*Je tiens à remercier mon maître et juge BENRDJEM Lamia,  
qui a accepté très spontanément de faire partie de mes  
jury, et que j'ai pu apprécier la qualité de son enseignement et sa  
grande compétence, je te remercie de bien vouloir porter intérêt à ce  
travail.*

*Ce travail a été  
effectué au sein du Laboratoire de Microbiologie du Centre  
Hospitalier Universitaire BENFLIS Touhami de Batna  
Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à Monsieur le  
Dr : BENMHIDI et Dr: BESNANE. Je remercie également  
Dr : BOUARICHA, Dr : MAHDAOUI et Dr : NEZZAR  
pour leurs précieux conseils et leur disponibilité.*

*Aux personnels du laboratoire et des quatre services du Chirurgie  
(Homme, Femme, Infantile et Urologique),  
Pour leur disponibilité et leur sympathie  
Surtout Mounir et Nedjla*

*Je tiens plus particulièrement à remercier, tous ceux qui ont  
contribué un jour à mon éducation et ma formation*

# Sommaire

Dédicace.....	i
Remerciement.....	ii
Liste des figures.....	vi
Liste des tableaux.....	vii
Liste des abréviations.....	vii
Introduction.....	01

## Partie I : Connaissance Actuelles

### Chapitre 1 : Les infections Nosocomiales

I-Généralités sur les infections nosocomiales.....	03
I.1-Définition .....	03
I.2-Historique.....	04
I.3-Épidémiologie.....	05
I.4-Origine des germes .....	06
I.4.1.Flore permanente ou temporaire du patient (infection endogène).....	06
I.4.2.Flore d'un autre patient ou d'un membre du personnel(infection croisée exogène)	06
I.4.3. Flore présente dans l'environnement des soins de santé .....	07
I.5-Mode de transmission.....	08
I.5.1.Voie endogène.....	08
I.5.2.Voie exogène.....	10
I.5.3. Patients réceptifs.....	11
I.6- Germes responsables d'infection nosocomiale.....	12
I.6.1- Bactéries.....	12
I.6.2-Virus.....	15
I.6.3-Parasites et champignons.....	15
I.7-Principales infections nosocomiales.....	16
I.7.1- Infections urinaires.....	16
I.7.2- Infections du site opératoire.....	16
I.7.3-Pneumopathies nosocomiales.....	16
I.7.4-Infections sur cathéter vasculaire.....	17
I.7.5-Bactériémies nosocomiales.....	19
I.7.6-Autres infections nosocomiales.....	19
I.8-Facteurs de risque infectieux.....	20
I.8.1- Services à haut risque infectieux .....	20
I.8.2- Les autres facteurs de risque .....	20
I.9- La prévention des infections nosocomiales.....	22
I.9.1-Organisation de la lutte contre les infections nosocomiales.....	22
I.9.2-La surveillance des infections nosocomiales.....	23
I.9.3-Les méthodes de prévention.....	23

### Chapitre II : Les Infections du Site Opératoire

I-Critères de définition de l'Infection du site opératoire.....	28
I.1- Rappel anatomique du site opératoire.....	28
I.1.1-Infection superficielle de l'incision.....	28
I.1.2-Infection profonde de l'incision.....	28

I.1.3-Infection de l'organe ou du site.....	29
II-Epidémiologie des infections du site opératoire.....	30
II.1- Sources d'infection.....	30
II.1.1-Sources endogènes.....	31
II.1.2-Sources exogènes.....	31
II.2-Facteurs de risque .....	32
III-Germes responsables.....	35
IV-Morbidité, mortalité.....	35
V- Prévention des infections des plaies opératoires.....	36
VI- Traitement des infections des plaies opératoires.....	37

### Chapitre III : Les Bactéries Nosocomiales

I-Les <i>Entérobactériaceae</i> .....	38
I.1-Généralités sur les <i>Entérobactériaceae</i> .....	38
I.1.1-Classification et définition.....	38
I.1.2-Caractérisation des espèces.....	39
I.1.3-Habitat .....	39
I.1.4-Caractères cultureux.....	39
I.2- Genre <i>Escherichia coli</i> .....	40
I.2.1-Historique.....	40
I.2.2-Habitat.....	40
I.2.3- Caractérisation d'une souche d' <i>E.coli</i> .....	40
I.3-Le groupe KES : <i>Klebsiella-Enterobacter-Serratia</i> .....	41
I.3.1-Définition .....	41
I.3.2-Genre <i>Klebsiella</i> .....	41
I.3.3-Genre <i>Enterobacter</i> .....	43
I.3.4-Genre <i>Serratia</i> .....	45
II-Les <i>Pseudomonadaceae</i> .....	46
II.1-Généralités sur les <i>Pseudomonadaceae</i> .....	46
II.1.1-Classification et Définition.....	46
II.1.2-Morphologie et structure.....	47
II.1.3-Caractères physiologiques.....	47
II.2-Genre <i>Pseudomonas aeruginosa</i> « Le bacille pyocyanique ».....	48
II.2.1-Définition.....	48
II.2.2-Habitat.....	48
II.2.3-Morphologie et caractères cultureux.....	49
II.2.4- Identification bactériologique.....	50
II.2.5- Sensibilité aux antibiotiques.....	50
III. Les <i>Neisseriaceae</i> .....	51
III.1-Classification.....	51
III.2-Genre <i>Acinetobacter</i> .....	52
III.2.1-Classification et définition.....	52
III.2.2-Caractères Généraux, Physiologiques.....	52
III.2.3- Habitat.....	53
III.2.4- Caractères Bactériologiques.....	53
IV-Les <i>Staphylocoques</i> .....	54
IV.1-Historique.....	54
IV.2-Généralités sur les <i>Staphylocoques</i> .....	54
IV.2.1-Position taxonomique et classification.....	54
IV.2.2-Habitat .....	54

IV.3- <i>Staphylococcus aureus</i> .....	55
IV.3.1-Historique.....	55
IV.3.2-Habitat.....	55
IV.3.3-Caractères généraux.....	55
IV.3.4-Etude bactériologique.....	56
IV.3.5- Caractères biochimiques.....	57
IV.3.6-Diagnostic bactériologique.....	57
IV.4- <i>Staphylocoque à coagulase négatif</i> .....	58
IV.4.1-Identification.....	58
IV.4.2- Signification clinique des <i>Staphylocoques à coagulase négatif</i> .....	58
	60

## **Chapitre IV: Les Antibiotiques et la Résistance Bactérienne**

I-Historique de la découverte des antibiotiques.....	60
II-Définition des antibiotiques.....	60
III- Mode d'action.....	61
IV-Critères de classification.....	61
IV.1-Classification selon l'origine.....	61
IV.2- Classification selon l'effet .....	61
IV.3-Classification selon le spectre.....	61
IV.4-Classification selon le site d'action.....	62
IV.5- Classification selon la nature chimique.....	62
V-Activités des antibiotiques.....	65
V.1-Les inhibiteurs de la synthèse du peptidoglycane.....	65
V.1.1-Les bêta-lactamines.....	65
V.1.2-Les antibiotiques phosphoniques : la fosfomycine.....	68
V.1.3-Les glycopeptides.....	68
V.2-Les inhibiteurs de la synthèse protéique.....	69
V.2.1-Les aminosides ou aminoglycosides.....	69
V.2.2-Les tétracyclines ou cyclines.....	70
V.2.3-Les Phénicolés.....	70
V.2.4-Les macrolides, les lincosamides et les streptogramines (MLS).....	71
V.2.5-L'acide fusidique .....	73
V.3-Les inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques.....	73
V.3.1- Les quinolones.....	73
V.3.2- Les Rifamycines.....	74
V.4- Les inhibiteurs de la synthèse de l'acide folique.....	75
V.4.1- Les sulfamides.....	75
V.4.2-Sulfamides et associations.....	76
V.5-Les antibiotiques qui provoquent l'altération des membranes.....	77
V.5.1-Les polymyxines.....	77
V.6-Autre activités des antibiotiques.....	77
VI-La résistance bactérienne aux antibiotiques.....	77
VI.1-Définition .....	78
VI.2-Les types de résistance.....	78
VI.2.1-Résistance naturelle.....	78
VI.2.2-Résistance acquise.....	78

## Partie II : Partie Expérimentale

### Chapitre I : Cadre d'étude

I.1-Le CHU de Batna.....	81
I.2-Le laboratoire de microbiologie.....	81
I.2.1-Situation géographique.....	81
I.2.3-Les personnel .....	82
I.2.4-La mission du laboratoire .....	82

### Chapitre II : Matériels et Méthodes

II-Matériels et méthodes .....	83
II.1--Objectif de l'étude .....	83
II.2- Lieu d'étude .....	83
II.3- Période d'étude .....	83
II.4-Echantillonnage .....	83
II.5-Méthodes d'étude .....	83
II.5.1-Recrutement des patients.....	83
II.5.2-Techniques de prélèvement.....	84
II.5.3-Traitement des prélèvements.....	84
II.5.4-Examen cyto bactériologique.....	84
II.5.5-Méthodes d'isolement et d'identification des bactéries.....	86
II.5.6-Détermination de la sensibilité des souches isolées aux antibiotiques.....	86

### Chapitre III : Résultats

III-Résultats.....	94
III.1- Population d'étude.....	94
III.2- Fréquence globale des prélèvements effectués.....	95
III.3-Flore bactérienne.....	96
III.3.1-Répartition des souches isolées.....	96
III.3.2-Fréquence globale des germes isolés.....	97
III.3.3-Répartition des germes isolés en fonction du service.....	99
III.4- Profils de sensibilité des souches isolées.....	100

<b>Chapitre IV: Discussion.....</b>	<b>107</b>
-------------------------------------	------------

<b>Conclusion.....</b>	<b>110</b>
------------------------	------------

### Références Bibliographiques

### Annexes

## *Liste des figures*

<b>Figure 01</b>	Les infections d'origine endogène.....	09
<b>Figure 02</b>	Les infections d'origine exogène.....	11
<b>Figure 03</b>	Répartition des bactéries nosocomiales dans les services des CHU de Blida et de Beni Messous.....	13
<b>Figure 04</b>	Exemple de colonisation d'un cathéter vasculaire, avec les différentes voies de Colonisation.....	18
<b>Figure 05</b>	Classification anatomique des infections du site opératoire.....	30
<b>Figure 06</b>	Les cibles des principaux antibiotiques.....	63
<b>Figure 07</b>	Les différents types de résistances bactérienne.....	79
<b>Figure 08</b>	Les mécanismes de résistance bactérienne.....	80
<b>Figure 09</b>	Schéma de la démarche de l'analyse bactériologique.....	85
<b>Figure 10</b>	Répartition des patients en fonction des services.....	94
<b>Figure 11</b>	Fréquence globale des prélèvements effectués.....	95
<b>Figure 12</b>	Répartition des souches dans les infections du site opératoire.....	96
<b>Figure 13</b>	Répartition des espèces bactériennes isolées dans les infections du site Opératoire.....	98
<b>Figure 14</b>	Répartition des germes en fonction du service.....	99

## *Liste des Abréviations*

ADH	Arginine Di-Hydrolase.
ADN	Acide DésoxyriboNucléique.
ARN	Acide RiboNucléique.
ARN <sub>r</sub>	Acide RiboNucléique ribosomal.
ASA	American Society of Anesthesiology.
BCP	Bleu de bromocrésol Pourpre.
BGN	Bacilles à Gram Négatif.
BMR	Bactéries MultiRésistantes.
°C	Degré Celsius.
CDC	Center for Disease Control.
CHU	Centre Hospitalier Universitaire.
CIT	Citrate.
CLIN	Comité de Lutte Contre les Infections Nosocomiales.
CLSI	Clinical Laboratory Standards Institute.
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice.
CO <sub>2</sub>	Dioxyde de Carbone.
CTS	Centre de Transfusion Sanguin.
D.O	Densité Optique.
E.coli	Escherichia coli.
G + C	Guanine + Cytosine.
h	Heure.
H <sub>2</sub> S	Hydrogène sulfuré.
IN	Infection nosocomiale
ISO	Infection du site opératoire
L	Litre.
LCR	Liquide Céphalo-Rachidien.
LDC	Lysine décarboxylase.
MF	Mc Farland.
ml	Millilitre.
mm	Millimètre.
NaCl	Hydroxyde de Sodium
NB	Nota Béné
nm	Nanomètre.
NNISS	Système national de surveillance de l'infection nosocomiale
NO <sub>3</sub>	Nitrate
ODC	Ornithine DéCarboxylase
OMS	Organisation Mondiale de Santé
ONPG	Ortho-nitrophényl-β-galactoside
ORL	Oto-Rhino-Laryngée
PH	Potentiel hydrogène
PLP	Proteine Liant les Pénicillines
PSE	Pseudomonas Spécifie Enzyme
SAMR	Staphylococcus aureus Résistant à la Méthicilline
SIDA	Syndrome d'ImmunoDéficiency Acquisée
TDA	Tryptophane DésAminase

USA	United States of America
µg	Microgramme
µm	Micron
URE	Urée
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine
VP	Voges Proskauer
%	Pourcentage

## **Introduction**

Les patients reçoivent des soins dans des établissements de santé qui vont des dispensaires bien équipés et des hôpitaux universitaires à la pointe de la technologie aux postes de terrain ne disposant que de moyens rudimentaires(1). Le risque de contracter une infection à l'hôpital a toujours existé et ce risque s'est accru avec l'évolution des pratiques de soin et de recrutement des patients ce sont les infections nosocomiales. La pratique de soins plus efficaces mais souvent plus invasifs s'est accompagnée d'une possibilité de contamination par des micro-organismes d'origine endogène ou exogène. De plus, le recrutement des patients hospitalisés s'est modifié en particulier avec la prise en charge de personnes de plus en plus vulnérables à l'infection (patients immunodéprimés, interventions chirurgicales lourdes, patients présentant plusieurs pathologies graves, patients polytraumatisés en réanimation) (2)

En dépit des progrès considérables réalisés ces dernières années dans le domaine chirurgical, les infections du site opératoire (autrefois appelées infections de plaie), continuent d'être une cause majeure de morbidité et de mortalité postopératoires. (3)

A l'échelle mondiale, l'ampleur de cette infection nosocomiale est plus qu'alarmante ; on estime que de telles infections affectent entre 3 et 7% de tous les patients opérés et représentent environ un quart (1/4) de toutes les infections nosocomiales. En fréquence, elles en sont la deuxième cause après les infections urinaires. (4)

Dans ce cadre, j'ai entrepris une étude sur les infections du site opératoire dans les services de chirurgie du Centre Hospitalier et Universitaire Benflis Touhami de Batna. Du Mai au Juin 2012. Dans un but d'étudier les différents types de bactéries nosocomiales isolées du site opératoire et d'évaluer le profil de leur sensibilité aux antibiotiques. On a révélé l'existence d'une grande variété de bactéries nosocomiales

Cette étude avait pour objectifs:

- d'établir la cartographie des bactéries responsables d'infection du site opératoire,
- d'établir leur profil de sensibilité aux anti-infectieux,

Ce manuscrit est divisé en deux parties : La 1<sup>ère</sup> partie: Connaissances Actuelles comprenant quatre Chapitres et la 2<sup>ème</sup> partie: la Partie Expérimentale dans laquelle j'ai adopté le plan suivant : Méthodologie, Résultats et Discussions et j'ai conclu mon travail par une conclusion.

## I-Généralités sur les infections nosocomiales

### I.1- Définition

L'infection est la pénétration de l'organisme par un agent étranger (bactérie, virus, champignon, parasite) capable de s'y multiplier et d'y induire des lésions pathologiques. Le mot nosocomial vient du grec « *nosos* » qui signifie maladie et « *komein* » soigner ; qualifie ce qui se contracte à l'hôpital. (5)

Lorsque la situation précise à l'admission n'est pas connue, un délai d'au moins 48 heures après l'admission (ou un délai supérieur à la période d'incubation lorsque celle-ci est connue) est communément accepté pour distinguer une infection d'acquisition nosocomiale d'une infection communautaire. Toutefois, il est recommandé d'apprécier dans chaque cas douteux, la plausibilité du lien causal entre hospitalisation et infection(5). Pour les infections du site opératoire, on considère comme nosocomiales les infections survenues dans les 30 jours suivant l'intervention, Dans l'année qui suit la mise en place de matériel chirurgical (implant ou prothèse). (5)

L'infection peut se déclarer pendant le séjour à l'hôpital ou après la sortie de l'hôpital. Exemple : Maladie de Creutzfeld-Jacob(est une dégénérescence du système nerveux central caractérisée par l'accumulation d'un prion) , pouvant se déclarer plus de 15 ans après transplantation tissulaire ou injection d'hormone de croissance d'origine humaine. (6)

On ne distingue pas entre infection nosocomiale et infection iatrogène (*iatros* en grec= médecin) qui est une infection acquise dans une unité de soin à la suite d'une faute ou d'un accident imputable à un geste ou à une prescription (exemple d'infection iatrogène: infection urinaire provoquée par un sondage vésical. (6)

A noter que le terme iatrogène ne s'applique pas qu'aux problèmes infectieux. (6)

## I.2- Historique

Elle explique qu'à notre époque l'infection nosocomiale soit encore vue sous le seul angle réducteur de l'infection hospitalière. Si cet aspect extrêmement prépondérant, il ne doit pas cacher tous les problèmes connexes et progressivement émergents apparus grâce à l'affinement et au progrès de nos connaissances en microbiologie et en infectiologie et à l'évolution dans les modalités d'administration des soins.

Si l'on admet que la première conception du microscope optique remonté à la fin du 16<sup>ème</sup> siècle, à la fin de la Renaissance, c'est au hollandais A. Van Leeuwenhoek (1632-1723) que l'on attribue la construction du premier microscope digne de ce nom en 1690. Peut-être Z. Jansen l'avait-il précédé.

En effet, Kricher, dans un ouvrage publié en 1658 (*Scrutinium physico-medicum pestis*) découvre sous son microscope, décrit et dessine des créatures vivantes, imperceptibles à l'œil nu, dont Lange confirme l'existence en 1688 (in *Pathologia animata*). L'un comme l'autre reprennent la théorie de la contagion d'un visionnaire dépourvu d'appareil optique. J. Fracastor de Vérone. En 1546, dans son ouvrage *De contagione et contagiosis morbis et curatione*. Il affirme l'existence de très petits organismes vivants invisibles, il s'opposait par là à Hippocrate dans sa théorie miasmatique des infections encore communément admise jusqu'à l'ère pastorienne.

Cette vision intuitive et non scientifique ressurgira trois siècles plus tard, en 1846 avec les travaux d'I. Semmelweis (1818-1865) à Vienne sur les origines de la fièvre puerpérale. Le *Mémoire sur les hôpitaux de Paris* publié par J. René Tenon (1724-1816) en 1788 fut un des premiers cris d'alarme officiels sur l'infection hospitalière. Il souligne la mortalité très élevée chez les accouchées. La fièvre puerpérale sera le premier cheval de bataille de C. White (1728-1813) à Manchester, d'A. Gordon (1752-1813) à Aberdeen, de R. Collins en 1829 à Dublin, d'O. Wendel Holmes (1809-1894) à Boston, de S. Tarnier (1828-1897) à Paris en 1857. Ce dernier fut le divulgateur en France des travaux d'I. Semmelweis. Ceux-ci, prémices de l'antisepsie, ouvrent la voie aux travaux de J. Lister (1827-1912) à Glasgow. M. Lucas-Championnière (1843-1913) les fera connaître à Paris dès 1869. Les travaux de L. Pasteur (1822-1895) menés sur les microorganismes de 1865 à 1886 ouvrent enfin la voie de l'asepsie codifiée à Paris par deux chirurgiens, F. Terrier (1837-1908) et O. Terrillon (1844-1895),

grâce en particulier aux interventions de Poupinel en 1884 et de l'autoclave de C.E Chamberland (1851-1908). Le masque opératoire de J.F. Von Mikuliez-Radecki (1850-1905) retient les gouttelettes contaminantes de K.G.F.W. Flügge (1847-1923) tandis qu'en 1889 W.S.Hasled (1858-1926) préconise l'utilisation de gants en salle d'opération.

À la fin du 19<sup>ème</sup>, l'antisepsie et l'asepsie en salle d'accouchement et au bloc opératoire étaient parfaitement codifiées. L'hygiène générale, hospitalière en particulier, était en train de naître, marquée le 15 février 1902 par la première loi importante sur la protection de la santé publique en France.

Le 20<sup>ème</sup> siècle a été celui de l'antibiothérapie depuis la découverte en 1929 de la pénicilline par A.Flemming (1881-1955). L'équilibre est fragile entre l'adaptation des germes et l'élargissement de l'arsenal antibiotique.

Le 21<sup>ème</sup> siècle ne devra pas oublier l'importance de l'antisepsie et de l'asepsie. C'est la grande tâche de l'organisation de la lutte contre l'infection nosocomiale. (7)

### I.3- Épidémiologie

L'infection acquise à l'hôpital peut s'expliquer par l'interaction de trois facteurs : l'environnement hospitalier constitué de bactéries, virus, champignons, parasites et du traitement (antibiotiques, corticoïdes, immunosuppresseurs) et enfin le terrain du malade c'est-à-dire son état nutritionnel, physiologique et immunitaire. (8)

Les IN les plus fréquemment rencontrées sont les infections urinaires (40%), les infections du site opératoire (20%), les infections des voies respiratoires (15%), les bactériémies (6%), les infections sur cathéter vasculaire (4%). (9)

Les principaux micro-organismes (parmi 16356 micro-organismes isolés des IN) rencontrés sont les bacilles à Gram négatif 53% (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* représentant respectivement 20% et 11% des micro-organismes isolés), les Cocci à Gram positif 33% (*Staphylococcus aureus* représentant 16% des microorganismes isolés) et 14% de micro-organismes divers (germes anaérobies, bacilles Gram positifs, Cocci Gram négatifs, Mycobactéries, fungi, parasites et virus).(10)

Données de l'O.M.S.: 190 millions de personnes sont hospitalisées chaque année dans le monde et 9 millions d'entre elles contractent une infection à cette occasion. Un million de personnes meurent chaque année ; ces infections coûtent 10 milliards de dollars par an aux seuls États-Unis.

•Données Algériennes : La prévalence en Algérie avoisine 25% des cas

•Taux de Prévalence enregistrés :

-1987 Alger taux de prévalence des ISO= 23,8%.

-CHU Beni-messous 1991:24.8 % 1993:16.2% 1994:18.26%

-CHU BabEl Oued: 1996: 19.5 ±3.9 % (moyenne : 15 à 25 %) (14)

## **I.4- Origine des germes**

### **I.4.1. Flore permanente ou temporaire du patient : (infection endogène)**

Les bactéries présentes dans la flore normale provoquent des infections en cas de transmission vers d'autres sites que leur habitat naturel (voies urinaires), de lésions tissulaires (plaies) ou de traitement antibiotique inapproprié qui favorise leur prolifération (*Clostridium difficile*, levures). Par exemple, les bactéries à Gram négatif présentes dans les voies digestives sont fréquemment à l'origine d'infections du site opératoire après une intervention abdominale ou d'infections urinaires chez les patients sondés. (1)

### **I.4.2. Flore d'un autre patient ou d'un membre du personnel (infection croisée exogène)**

Les bactéries se transmettent d'un patient à l'autre de plusieurs façons : par contact direct entre patients (mains, gouttelettes de salive ou autres liquides biologiques) ; par l'air (gouttelettes ou poussières contaminées par les bactéries d'un patient) ; par le personnel contamine lors des soins aux patients (mains, vêtements, nez, gorge), qui devient un porteur temporaire ou permanent et transmet ensuite les bactéries à d'autres patients par contact direct lors des soins ; par des objets contaminés par le patient (y compris le matériel médical), les mains du personnel, les visiteurs ou d'autres sources environnementales (eau, autres liquides, aliments). (1)

### I.4.3. Flore présente dans l'environnement des soins de santé

Plusieurs types de microorganismes survivent bien dans l'environnement hospitalier (1) :

#### a)-Dans le Matériel médico-chirurgical

Les endoscopes, les instruments chirurgicaux, les compresses stériles, les champs opératoires.

- Désinfection incorrecte (endoscopes)

- Stérilisation de mauvaise qualité (Instruments chirurgicaux, Compresse, champs opératoires)

(1)

#### b)-Dans les Médicaments et produits biologiques

Les poches de sang et Produits Sanguins Labiles, le sérum salé servant comme solvant lors des perfusions médicamenteuses (Héparinothérapie par seringue électrique), les antiseptiques (Eosine Aqueuse), les collyres ophtalmologiques. (1)

#### c)-Dans l'Air en milieu hospitalier

L'air ambiant est chargé de germes véhiculés par des gouttelettes salivaires, des squames cutanées et des poussières. L'air contaminé peut occasionner des pneumopathies nosocomiales telles les aspergilloses pulmonaires. L'air contaminé par aérosols infectés peut occasionner des légionelloses. Il est souhaitable de ventiler les chambres de malades afin de renouveler l'air et d'empêcher la sélection de germes résistants ainsi que leur sédimentation sur la literie (Pyocyanique dans le service des Brûlés), le sol et les murs. (1)

- Blocs opératoires : un système de ventilation –filtration permet de renouveler régulièrement l'air de façon à garder les taux de particules microbiennes dans les normes acceptables. (1)
- Blocs de transplantation et bulles stériles pour sujets en aplasie médullaire : approvisionnés en air filtré totalement stérile. (1)

#### d)-L'Eau stérile à l'hôpital

On distingue :

- L'eau du bloc opératoire
- Les Humidificateurs de respirateurs

- Les Nébuliseurs
- L'eau des Barboteurs d'oxygène en Réanimation
- L'eau des incubateurs de biberon
- Les liquides de dialyse

L'eau est stérilisée grâce à des systèmes utilisant des lampes Ultra Violet ou des filtres bactériologiques. Un défaut de stérilisation peut occasionner des Pneumopathies à *Pyocyanique*, *Serratia sp* ou *Legionella pneumoniae*. (1)

#### **e)-Les aliments consommés par les malades hospitalisés**

Il est important de veiller à en contrôler la qualité et la température de conservation. De plus, la préparation des plats doit être assurée par un personnel dont l'hygiène est importante à contrôler et qui doit faire l'objet d'un dépistage régulier de germes (portage nasal de Staphylocoque, portage intestinal de bactéries entéropathogènes et de parasites). (1)

#### **f)-Mobilier, literie, sol, murs**

L'hygiène générale des locaux et de la literie (draps, couvertures) est primordiale afin d'éviter la colonisation des flores du malades (peau, intestin) par des bactéries multirésistantes (BMR) qui vont secondairement causer des infections nosocomiales chez ces mêmes patients. (1)

### **I.5-Mode de transmission**

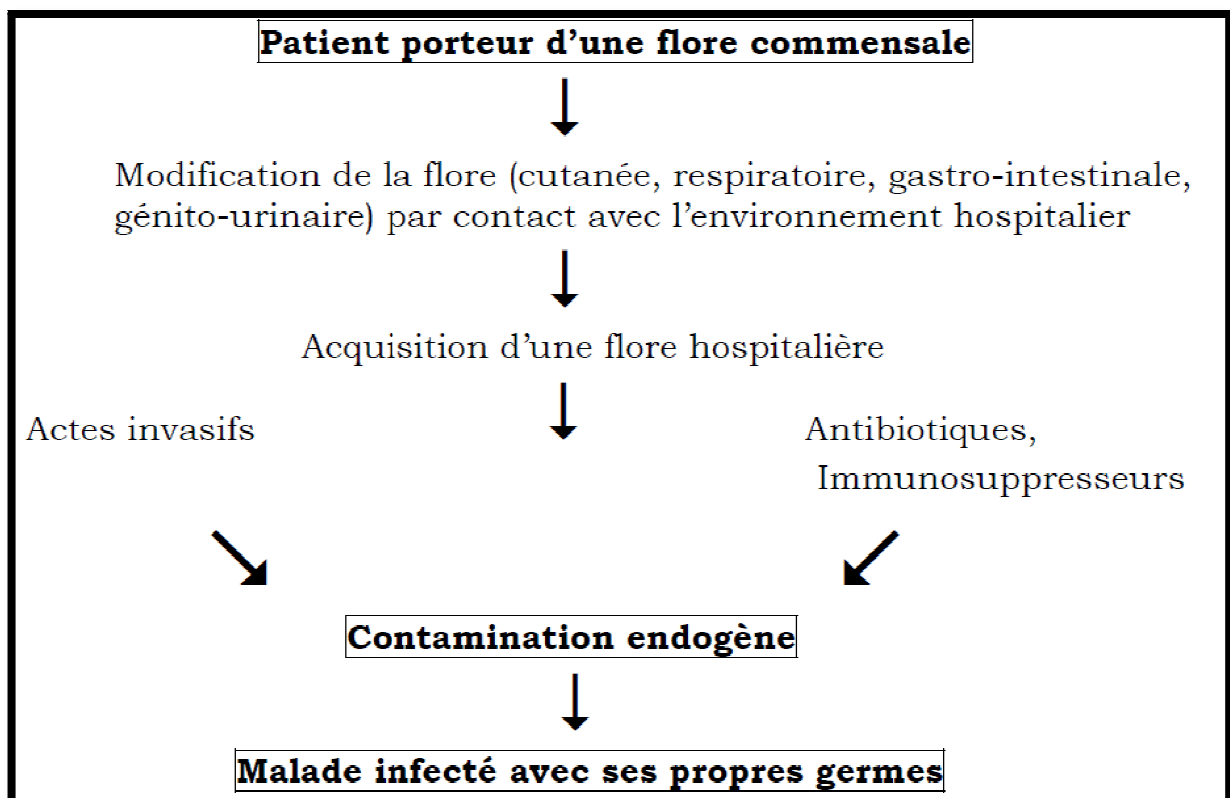
#### **I.5.1. Voie endogène**

##### **a)-Les auto-infections**

C'est lorsque le malade s'infecte soit par ses propres germes in situ soit à partir de l'environnement immédiat (surface de la peau, vêtement, lit). Ces infections sont dues généralement aux germes saprophytes qui deviennent pathogènes à la suite d'une antibiothérapie itérative ou d'un traitement immunosuppresseur(Figure1). (11)

Exemples:

- Un patient sous respiration artificielle peut déclarer une pneumonie due à un germe provenant de son propre tube digestif, et qui a pu remonter jusqu'aux voies respiratoires.
- Un patient porteur d'une sonde urinaire peut déclencher une infection urinaire avec des germes de son propre tube digestif remontés le long de la sonde.
- Une opération de l'intestin grêle ou du colon qui contient de nombreux germes, peut disséminer ceux-ci lors de l'incision de l'organe et déclencher une infection postopératoire.
- Enfin certains malades immunodéprimés (aplasie médullaire, SIDA) peuvent avoir des bactériémies dues aux germes intestinaux qu'ils hébergent. Ces infections rigoureusement endogènes sont aussi des auto-infections. (12)



**Figure01** : Les infections d'origine endogène(12)

## **I.5.2. Voie exogène**

### **a)- Les hétéro-infections**

On parle d'hétéro-infection lorsqu'un agent infectieux est transporté d'un malade à un autre provoquant une infection dite croisée ou hétéro-infection. L'agent infectieux est rarement transmis par contact direct ou par voie aérienne. Le plus souvent le vecteur est le personnel soignant par ses mains, et ou ses instruments de travail. On parle d'infection manu portée ou d'infection transmise par le matériel d'exploration ou de soin(13). C'est à ce mode de contamination que s'appliquent les mesures prophylactiques traditionnelles (hygiène des mains, procédures de désinfection et de stérilisation, sécurité de l'environnement). (11)

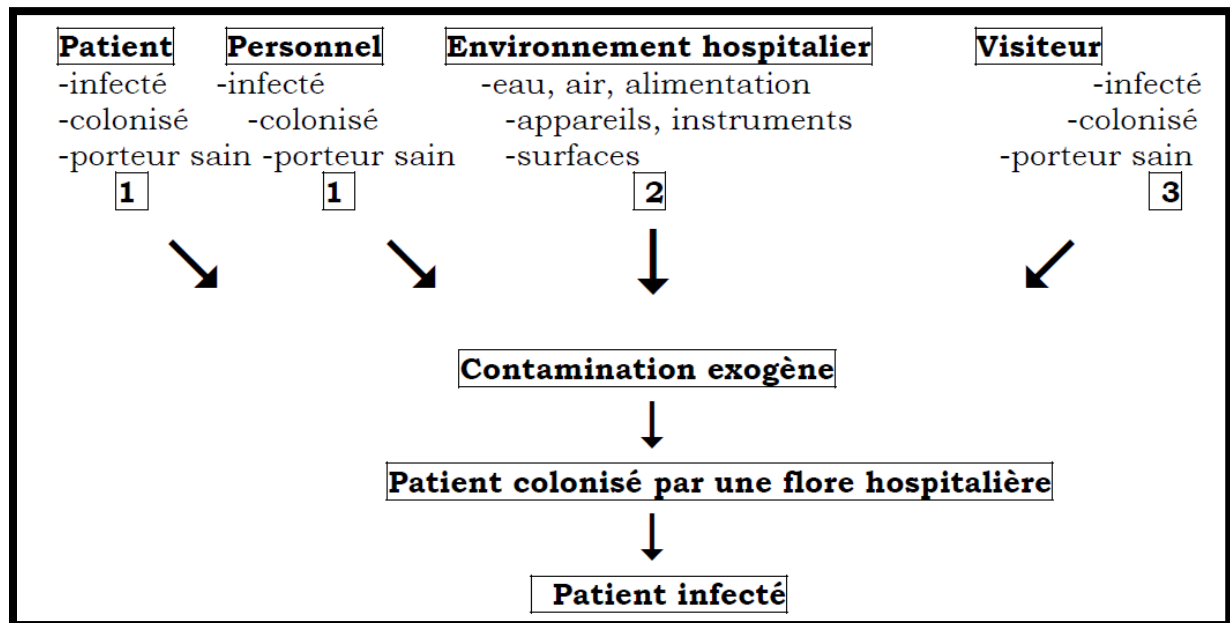
### **b)- Les xéno- infections**

C'est une infection qui sévit sous forme endémique ou épidémique dans la population extrahospitalière. Les agents infectieux sont importés à l'hôpital par l'entrée d'individus nouveaux dans le biotope hospitalier : nouveaux patients, personnels et visiteurs qui en sont atteints ou qui sont en phase d'incubation. Ils se transmettent par voie aérienne, par contact direct ou indirect et trouvent à l'hôpital des victimes particulièrement réceptives et des conditions de transmission facilitées. (12)

Exemple : gastro-entérites à *E. coli*, *Salmonella* ou Rotavirus dans les services pédiatriques.

### **c)- Les exo-infections**

Elles sont dues à des erreurs ou des insuffisances techniques: stérilisation ou ventilation inefficaces, pose de cathéters sans asepsie rigoureuse. Le bloc opératoire est un lieu à haut risque car une atmosphère stérile ne peut être garantie(Figure02). (6)



**Figure 02 :** Les infections d'origine exogène(12)

Combattues par :

1 -Hygiène des mains, règles d'asepsie, isolement des malades infectés.

2 -Sécurité de l'environnement : filtre à air, contrôle de l'eau...

- Nettoyage régulier des surfaces +/- désinfection.
- -Désinfection /stérilisation du matériel d'exploration et de soins.

3 -Règlementation des visites.

### I.5.3. Patients réceptifs

Quel que soit son mode de transmission, l'apparition d'une infection nosocomiale est favorisée par la situation médicale du patient :

- Son âge et sa pathologie: les personnes âgées de surcroît atteintes d'insuffisance respiratoire, les immunodéprimés, les nouveau-nés en particulier les prématurés dont le système immunitaire est immature, les polytraumatisés et les grands brûlés sont particulièrement réceptifs.
- L'antibiothérapie qui déséquilibre la flore des patients et sélectionne des bactéries résistantes.
- La réalisation d'actes invasifs tels que la pose de cathéters, d'une sonde urinaire ; les actes chirurgicaux ou endoscopiques complexes; l'assistance respiratoire qui sont

- nécessaires au traitement du patient. (12)

## I.6- Germes responsables d'infection nosocomiale

Des agents pathogènes très divers peuvent être à l'origine d'infections nosocomiales. Les agents infectieux varient selon les populations de patients et les types d'établissements de sante, d'un établissement à l'autre et d'un pays à l'autre. (13)

### I.6.1- Bactéries

Ce sont les plus courants des agents pathogènes responsables d'infections nosocomiales. On peut distinguer :

#### a) Les bactéries commensales

Présentes dans la flore normale des sujets en bonne santé. Elles jouent un rôle protecteur significatif en empêchant la colonisation par des micro-organismes pathogènes. Certaines bactéries commensales peuvent provoquer une infection si les défenses immunitaires de l'hôte sont affaiblies. Par exemple, les *Staphylocoques* cutanés à coagulase-négatifs provoquent des infections sur cathéter vasculaire et les *Escherichia coli* présentes dans l'intestin sont la cause la plus courante d'infections urinaires. (13)

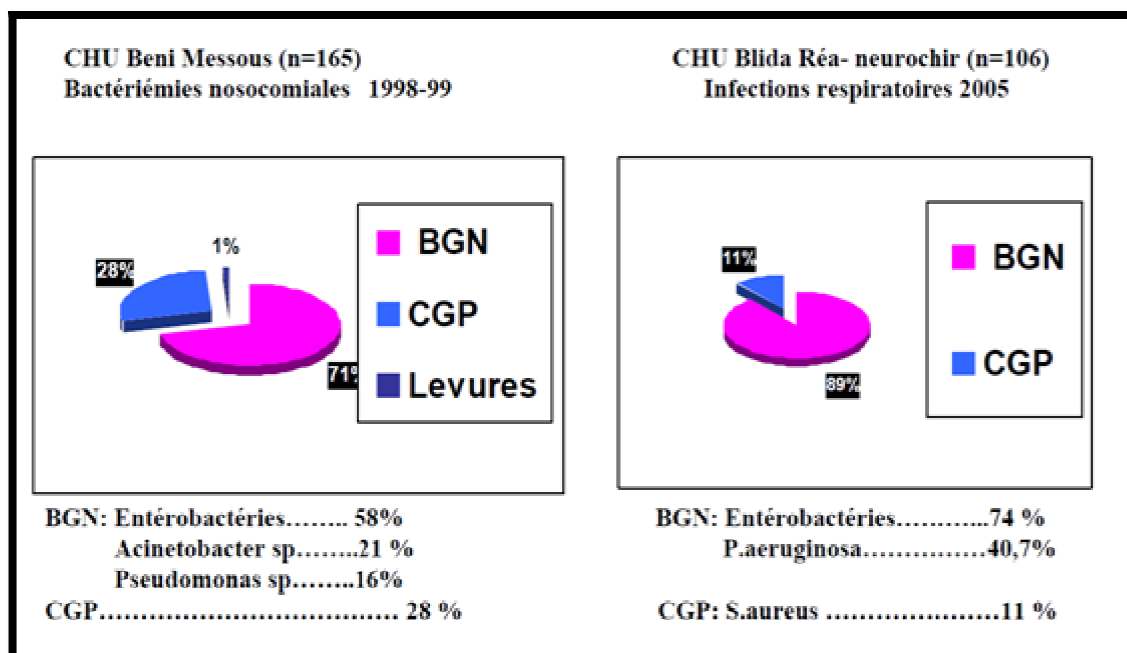
#### b)-Les bactéries pathogènes

Ont une virulence plus élevée et provoquent des infections (sporadiques ou épidémiques) quel que soit l'état immunitaire de l'hôte. Par exemple :

- Les bacilles anaérobies à Gram positif (par exemple *Clostridium*) provoquent la gangrène. (13)
- Bactéries à Gram positif : *Staphylococcus aureus* (bactérie cutanée qui colonise la peau et le nez du personnel hospitalier et des patients) provoque une grande variété d'infections pulmonaires, osseuses, cardiaques et sanguines et résiste fréquemment aux antibiotiques. Les streptocoques beta-hémolytiques sont également des agents pathogènes importants. (13)

- Bactéries à Gram négatif : les *Entérobactéries* (par exemple *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Serratia marcescens*) peuvent coloniser certains sites lorsque les défenses immunitaires de l’hôte sont affaiblies (site d’insertion d’un cathéter, d’une canule, sonde urinaire) et provoquer des infections graves (infection du site opératoire, infection pulmonaire, bactériémie, infection du péritoine). Elles peuvent également être hautement résistantes.(13)
- Les micro-organismes à Gram négatif comme *Pseudomonas* spp. sont souvent isolés dans l’eau et les milieux humides. Ils peuvent coloniser les voies digestives des patients hospitalisés. (13)
- Plusieurs autres bactéries représentent un risque spécifiquement hospitalier. Par exemple, les diverses espèces de *Legionella* peuvent provoquer des pneumopathies (sporadiques ou endémiques) par inhalation d’aérosols impliquant de l’eau contaminée (climatisation, douches, aérosols à visée thérapeutique).(13)

En Algérie : Nous retrouverons la prédominance des Bactéries à Gram Négatif sur les Cocci Gram Positif (Figure03).(14)



**Figure03** : Répartition des bactéries nosocomiales dans les services des CHU de Blida et de Beni Messous (14)

**c) - Caractéristiques des bactéries nosocomiales**

- **Grande vitalité** : Bactéries saprophytes (*Pseudomonas* , *Acinetobacter* , *Entérobactéries*)

**- Aptitudes nutritionnelles**

- Aptitude à utiliser divers substrats
- Croissance possible sur divers milieux de culture sélectifs
- Culture possible en milieu minimum
- T° de croissance très variable: 4°C à 45°C
- Aérobie strictes ou facultatives (13)

**- Aptitudes à l'adhérence par le biais de Biofilms sur divers matériels médico-chirurgicaux**

C'est la colonisation bactérienne c'est-à-dire la multiplication de germes en l'absence de réaction inflammatoire.

A noter que le terme colonisation s'applique aussi aux différents sites du corps : Tube digestif, escarres, plaies opératoires.

Le passage de l'étape de colonisation à l'étape d'infection est possible mais ses mécanismes sont mal connus.(13)

**- Aptitudes à développer des multirésistances aux antibiotiques**

Ce sont le plus souvent des résistances acquises, par transferts d'ADN extra-chromosomiques (plasmides, transposons..), de mécanismes surtout enzymatiques. Les principales Bactéries Multi Résistantes sont retrouvées parmi les espèces suivantes : *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* méticillino-Résistants(SAMR), *Acinetobacter* (surtout *baumanii*), *Enterococcus*, les Entérobactéries des groupes *Klebsiella* *Enterobacter* *Serratia* (K.E.S.) et *Proteus* *Providencia*, *Morganella*. (P.P.M.).(13)

**- Aptitudes selon l'état du malade**

Chez les malades dont les défenses immunitaires sont intactes, les *Streptocoques* (*Pneumocoques* et *Entérocoques*) et *Staphylococcus aureus* sont les micro-organismes les plus fréquemment rencontrés. *Staphylococcus aureus* est le pathogène typique des années

1950-60. Il est responsable entre autre, des complications des plaies chirurgicales, des brûlures. (13)

Chez les malades dont les défenses immunes sont affaiblies on rencontre surtout des bacilles à Gram négatif (*Pseudomonas*, *Acinetobacter* et des entérobactéries : *E. coli*, K.E.S., P.P.M.), mais aussi de plus en plus des *Staphylocoques à coagulase négative*. (13)

Au cours des dernières années, du fait de l'augmentation du nombre de patients immunodéprimés, les champignons (*Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*) et certains parasites (*Toxoplasma gondii*) prennent une place grandissante.(13)

### **I.6.2-Virus**

Il existe une possibilité de transmission nosocomiale pour de nombreux virus, notamment ceux des hépatites B et C (transfusions, dialyse, injections, endoscopie), le Virus Respiratoire Syncytial(VRS), les Rotavirus et les entérovirus (transmis par contact main-bouche et par voie féco-orale). D'autres virus comme le Cytomégalovirus, le VIH, le virus Ebola, les virus grippaux, les virus de l'Herpès et le Virus Varicelle Zona, sont également transmissibles.(13)

### **I.6.3-Parasites et champignons**

Certains parasites (par exemple *Giardia lamblia*) se transmettent facilement chez l'adulte et l'enfant. De nombreux champignons et autres parasites sont des agents opportunistes et provoquent des infections en cas de traitement antibiotique prolongé et d'immunodépression sévère (*Candida albicans*, *Aspergillus spp*, *Cryptococcus neoformans*, *Cryptosporidium*). Ils sont une cause majeure d'infection généralisée chez les patients immunodéprimés. La contamination de l'environnement par des germes aéroportés comme *Aspergillus spp*. Présent dans les poussières et le sol est également préoccupante, en particulier lors de la construction d'hôpitaux. *Sarcoptes scabies* (agent de la gale) est un ectoparasite qui provoque régulièrement des flambées épidémiques dans les établissements de santé. (13)

## I.7-Principales infections nosocomiales

On distingue cinq types d'Infections nosocomiales :

### I.7.1- Infections urinaires

Ce sont les infections nosocomiales les plus courantes ; 80 % des infections sont liées à un sondage vésical. Les infections urinaires sont associées à une plus faible morbidité que les autres infections nosocomiales, mais peuvent dans certains cas provoquer une bactériémie potentiellement mortelle. Ces infections sont habituellement définies selon des critères microbiologiques : uroculture quantitative positive ( $\geq 10^5$  micro-organismes/ ml, avec au maximum deux espèces microbiennes isolées). Les bactéries responsables proviennent de la flore intestinale du patient, normale (*Escherichia coli*) ou acquise à l'hôpital (*Klebsiella* multi résistantes). (1)

### I.7.2- Infections du site opératoire

Les infections du site opératoire sont également fréquentes : leur incidence va de 0,5 % à 15 % selon le type d'intervention et l'état général du patient. Il s'agit d'un problème important qui limite le bénéfice potentiel des interventions chirurgicales.

L'impact sur les couts hospitaliers et la durée du séjour postopératoire (3 à 20 jours de plus) est considérable. La définition de ces infections est essentiellement clinique : 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 utilisé en peropératoire). 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. (1)

### I.7.3-Pneumopathies nosocomiales

Les pneumopathies nosocomiales s'observent chez plusieurs catégories de patients, principalement les patients sous ventilation artificielle dans les unités de soins intensifs, ou leur taux atteint 3 % par jour. La pneumopathie associée à la ventilation assistée possède un taux de létalité élevé, bien que le risque attribuable soit difficile à déterminer du fait de l'importance des co-morbidités. Les microorganismes colonisent l'estomac, les voies respiratoires supérieures et les bronches, et provoquent une infection pulmonaire (pneumopathie) ; ils sont souvent endogènes (appareil digestif ou rhinopharynx) mais peuvent être exogènes, souvent à partir d'un appareil respiratoire contaminé. La définition de la pneumopathie peut reposer sur des critères cliniques et radiologiques faciles à établir mais non spécifiques : opacités radiologiques récentes et progressives au niveau du parenchyme pulmonaire, expectorations purulentes et fièvre d'apparition récente. Le diagnostic est plus spécifique lorsqu'on peut obtenir des échantillons microbiologiques quantitatifs par bronchoscopie spécialisée et protégée. Parmi les facteurs de risque connus figurent le type et la durée de la ventilation, la qualité des soins respiratoires, la gravité de l'état du patient (insuffisances organiques) et les antécédents d'antibiothérapie. (1)

A part les pneumopathies associées à la ventilation, les patients atteints de convulsions ou dont le niveau de conscience est altéré sont exposés au risque d'infection nosocomiale même en l'absence d'intubation. Les bronchiolites virales (virus respiratoire syncytial) sont fréquentes dans les services de pédiatrie, et la grippe et les pneumopathies par surinfection bactérienne peuvent toucher les établissements pour personnes âgées. Chez les patients gravement immunodéprimés, une pneumopathie à *Legionella* spp. Et à *Aspergillus* peut survenir. Dans les pays à forte prévalence de la tuberculose et en particulier de ses souches résistantes, la transmission dans les établissements de santé peut constituer un grave problème. (1)

### I.7.4-Infections sur cathéter vasculaire

L'infection liée au cathéter est définie par la présence de micro-organismes à la surface interne et/ou externe du cathéter responsable d'une infection locale et/ou générale. Les signes cliniques locaux et/ou généraux peuvent s'accompagner ou non d'une hémoculture positive.

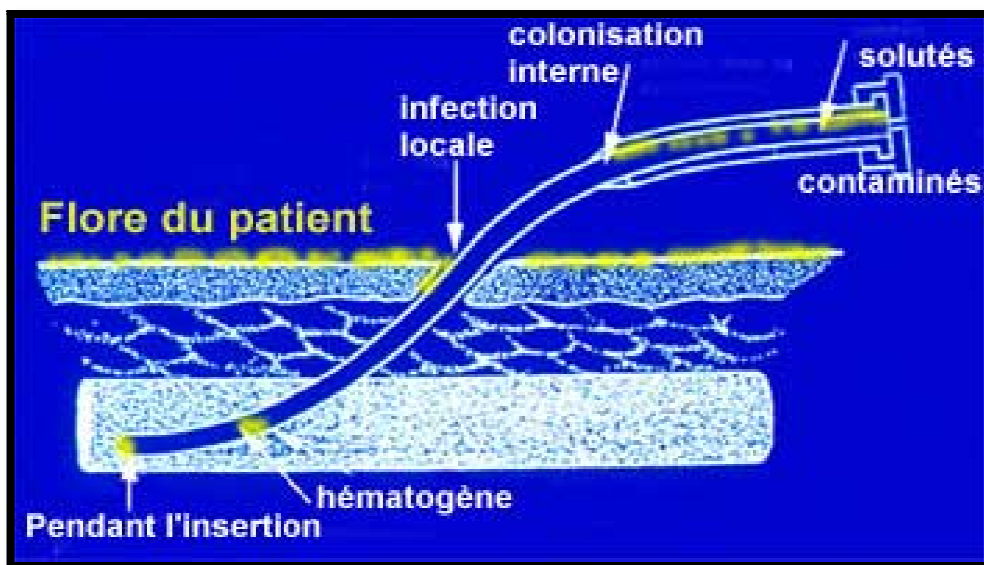
A l'inverse, une hémoculture positive peut exister sans que ces signes soient présents. A l'exclusion du pus au point de ponction, aucun des signes ne permet d'affirmer l'infection sur cathéter ; aussi les relier à la présence de micro-organismes sur le cathéter requiert des analyses microbiologiques. L'analyse la plus simple est la culture de l'extrémité distale du cathéter, ce qui nécessite son ablation. (15)

La colonisation du cathéter est le résultat de l'interaction entre l'hôte, le microorganisme et le matériau(Figure04).

- **L'hôte** : il se forme autour du corps étranger un manchon de thrombine riche en fibrine et fibronéctine, et de collagène. Ces protéines de l'hôte permettent à certains micro-organismes d'adhérer au cathéter (*staphylocoques* et *Candida sp*). (15)

- **Le micro-organisme** : l'hydrophobicité de la paroi supportée par les protéines de surface est un facteur d'adhérence. La production d'un exopolysaccharide ou slime consolide cette fixation. Elle favorise la colonisation en protégeant les microorganismes des défenses de l'hôte (macrophages, polynucléaires, anticorps) et des antibiotiques. (15)

- **Le matériau** : l'hydrophobicité et l'irrégularité de surface du cathéter favorise l'adhérence bactérienne influencée par la nature du matériau : celle de *Staphylococcus aureus* et *Candida spp* est plus grande pour le polyvinylchloride que pour le téflon. (15)



**Figure 04** : Exemple de colonisation d'un cathéter vasculaire, avec les différentes voies de colonisation(6)

### I.7.5-Bactériémies nosocomiales

Les bactériémies ne représentent qu'une faible proportion des infections nosocomiales (environ 5 %) mais possèdent un taux de létalité élevé – plus de 50 % pour certains micro-organismes. Leur incidence est en augmentation, en particulier pour certains micro-organismes comme *Staphylococcus* et *Candida* spp. coagulase-négatifs multiresistants. L'infection peut se développer au point d'insertion cutané d'un dispositif intravasculaire ou sur le trajet sous-cutané d'un cathéter (infection du tunnel). Les micro-organismes qui colonisent le cathéter à l'intérieur du vaisseau peuvent provoquer une bactériémie sans infection externe visible. L'infection prend sa source dans la flore cutanée résiduelle ou temporaire. Les principaux facteurs de risque sont la durée du cathétérisme, le niveau d'asepsie lors de l'insertion, et les soins continus une fois le cathéter en place. (1)

### I.7.6-Autres infections nosocomiales

Les infections décrites plus haut sont les Cinq types les plus fréquents et les plus importants d'infections nosocomiales, mais il existe de nombreux autres sites potentiels d'infection, par exemple :

- **Infections de la peau et des tissus mous** : les plaies ouvertes (ulcères, brûlures, escarres) favorisent la colonisation bactérienne et peuvent conduire à une infection généralisée.
- **La gastro-entérite** : est l'infection nosocomiale la plus fréquente chez l'enfant, avec un rotavirus comme principal agent pathogène. Dans les pays développés, *Clostridium difficile* est la cause principale des gastro-entérites nosocomiales chez l'adulte.
- **Sinusites**, autres infections de la sphère ORL, infections de l'œil et de la conjonctive.
- **Endométrite** et autres infections de l'appareil génital après l'accouchement.(1)

## **I.8-Facteurs de risque infectieux**

### **I.8.1-Services à haut risque infectieux**

Catégorie des malades recrutés, durée d'hospitalisation et agressivité des thérapeutiques administrées:

- Réanimation Polyvalente ou chirurgicale
- Diabétologie,
- Néonatalogie,
- Oncologie.

Les infections sont plus importantes dans les services médicaux lourds : réanimation et soins intensifs. Les infections nosocomiales sont ainsi naturellement corrélées aux pathologies importantes. Les taux de prévalence confirment cette conclusion : Réanimation (28,1%), Chirurgie (7,4%), Médecine (7,2%) Gynécologie (2,7%), Pédiatrie (1,4%). (6)

### **I.8.2- Les autres facteurs de risque**

Peuvent être distingués en 2 catégories :

- Liés au malade et à la nature de la pathologie ayant motivé l'hospitalisation
- Liés aux techniques diagnostiques et thérapeutiques

#### **a)- Les facteurs liés au malade ou à la pathologie ayant motivé son hospitalisation**

- Les pathologies préexistantes :
  - Diabète
  - Insuffisance rénale
  - Insuffisance hépatique
  - Incontinence urinaire (facteur de risque d'infection urinaire nosocomiale)
  - Leucopénie, cancer (Immunodépression)
- la pathologie à l'origine de l'hospitalisation :
  - Polytraumatisme (Accident de la circulation, chute d'une hauteur)
  - Brûlures étendues. (6)

- L'état nutritionnel non satisfaisant :

La dénutrition est un facteur favorisant important des infections nosocomiales car elle provoque une atrophie de toutes les muqueuses. A l'opposé, l'obésité peut représenter un facteur de risque en favorisant les abcès pariétaux post-opératoires. (6)

- L'âge : Avant 1 an et après 65 ans, le risque infectieux est majoré.

### **b)- Les facteurs liés aux techniques diagnostiques et thérapeutiques**

La nature et la qualité des soins influent sur le taux d'infections nosocomiales :

- Certains traitements agressifs tels les perfusions, cathétérismes, sondes, constituent des portes d'entrée faciles pour l'agent infectieux.
- L'encombrement du service, le défaut d'isolement des malades infectés et des antibiotiques administrés abusivement comme « couverture » augmentent le risque infectieux en favorisant la sélection de bactéries multirésistantes, au sein de la flore hospitalière. (6).
- Les actes invasifs :

Ce sont particulièrement tous les procédés iatrogènes lésant le revêtement cutané-muqueux (endoscopie respiratoire, digestive ou génito-urinaire, mise en place de sondes, cathéters, trachéotomies, iléostomie) ou permettant l'inoculation directe de bactéries dans la circulation sanguine (cathétérisme vasculaire, explorations hémodynamiques, injections veineuses, ponctions sternales).

Les malades présentant des comas prolongés, des tumeurs cérébrales, les para- et tétraplégiques sont candidats à des infections nosocomiales souvent respiratoires, urinaires ou cutanées.(6)

On distingue parmi ces actes invasifs:

- Endoscopie
- Sondage
- Cathétérisme cardiaque
- Intubation-ventilation
- Drainage
- Perfusion

- Alimentation parentérale
- Ponction
- Dialyse, Hémodialyse

- Les traitements diminuant la résistance à l'infection :

Certains traitements aggravent l'état d'immunodépression dans laquelle se trouve une catégorie donnée de patients. Ces traitements agressifs sont : Radiothérapie – chimiothérapie – corticothérapie

Ainsi, les infections nosocomiales induites chez les sujets neutropéniques (déficients en polynucléaires neutrophiles  $< 1.10^9/L$ ) souvent à la suite d'une chimiothérapie antileucémique, sont gravissimes.(6)

- Les erreurs dans l'organisation des soins :

Dans certains services, le risque infectieux est lié à la précarité des installations, au manque ou à la mauvaise répartition du personnel soignant, à l'encombrement des box. Il peut être également dû à des fautes qui incombent au personnel médical, paramédical, ou au personnel chargé de l'hygiène des locaux. On distingue :

- L'antibiothérapie à l'aveugle : l'utilisation des antibiotiques à large spectre sélectionne les bactéries multi résistantes aux antibiotiques et diminue l'effet barrière de la flore commensale.
- La désinfection insuffisante.
- La stérilisation de mauvaise qualité. (6)

## **I.9- La prévention des infections nosocomiales**

### **I.9.1-Organisation de la lutte contre les infections nosocomiales**

La prévention contre les infections nosocomiales est un travail d'équipe, supervisé par un CLIN au niveau de chaque structure de soin. Par circulaire ministérielle, le CLIN a été créé en Algérie dans chaque établissement d'hospitalisation participant au service public de santé. Les missions du CLIN sont de 2 ordres :

- Centre de réflexion et de proposition d'un programme de lutte et de prévention des IN
- Dispositif d'intervention (enquêtes épidémiologiques). (14)

### **I.9.2-La surveillance des infections nosocomiales**

**L'endémie** : est la présence d'une infection nosocomiale, sans variation brutale dans le temps du nombre de cas. (16)

**L'épidémie** : est une augmentation inattendue et statistiquement significative du nombre de cas par comparaison avec le taux endémique antérieur : on parle de bouffée épidémique. Les épidémies ne représentent que 5 % des infections nosocomiales, mais elles peuvent justifier la fermeture d'un service hospitalier. (16)

Il faut faire attention aux **fausses épidémies** qui sont liées à la mise en place d'un dépistage systématique des infections (par exemple contrôle microbiologique systématique des cathéters vasculaires après retraits). (16)

**L'hyper-endémie ou endémo-épidémie** : correspond à un taux élevé d'infections nosocomiales persistant dans le temps, comparativement aux taux endémiques enregistrés dans le service antérieurement.

La surveillance des infections nosocomiales consiste d'une part, au niveau prophylactique, en des examens réglementés de contrôle de l'environnement : analyses microbiologiques de l'eau, contrôles de stérilisation, examens de surface des objets, sols, tables d'opération, chariots infirmiers. (16)

D'autre part, lors de la survenue d'une épidémie, une enquête épidémiologique est diligentée. Plusieurs problèmes sont à résoudre : il faut déterminer, la source de l'infection, l'identité du germe et retracer la chaîne d'hétéro-infection de façon à montrer que l'on retrouve le même germe à travers l'épidémie, dans le temps et dans l'espace.

Même non concluante, l'enquête épidémiologique est à elle seule une mesure prophylactique : elle est l'occasion d'une autocritique et d'une remise en question des protocoles de soin ou de nettoyage, des appareillages, des gestes et des habitudes du personnel. (16)

### **I.9.3-Les méthodes de prévention**

L'hygiène hospitalière est à la base de la prévention des infections nosocomiales. Elle prend en compte l'ensemble des aspects cliniques, microbiologiques et épidémiologiques des

infections mais également l'organisation des soins, la maintenance des équipements hospitaliers, la gestion de l'environnement, la protection du personnel. Elle constitue un indicateur de qualité des soins et de sécurité.

Ses règles de base sont :

### **a) Le lavage des mains**

#### **- Lavage simple des mains**

L'objectif est de prévenir la transmission manuportée et d'éliminer la flore transitoire.

Indications :

Pour le soignant :

- A la prise de service et en le quittant
- Après tout geste de la vie courante

#### **- Lavage antiseptique des mains :**

Les objectifs sont d'éliminer la flore transitoire et de diminuer la flore commensale.

Indications :

- Geste invasif et mise en œuvre de techniques d'isolement septique ou aseptique - Soins ou technique aseptique (exemples : sondage urinaire, cathétérisme périphérique)

#### **- Lavage chirurgical des mains :**

Les objectifs sont d'éliminer la flore transitoire et de réduire la flore commensale de façon significative.

Indications :

- Acte à haut risque infectieux en service de soins nécessitant une technique chirurgicale (pose d'un dispositif invasif. Exemples : cathétérisme central, ponction lombaire.)
- Acte chirurgical : en blocs opératoires, services de radiologie interventionnelle et autres services d'investigation ; en secteurs fermés et tout secteur protégé (service de brûlés, d'hématologie, de réanimation)

NB : Utilisation de la Solution hydro alcoolique : Elle permet une antiseptie rapide et fréquente des mains, à tout moment, en l'absence de point d'eau. Elle ne remplace pas le lavage des mains avec un savon, antiseptique ou non, lorsque celles-ci sont souillées ou poudrées. Le nombre d'utilisation de cette solution varie selon nos sources (3 à 5 fois). (16)

**b) Le port de gants**

Il est nécessaire lors de tout contact avec un liquide biologique (sang, urines, ..) afin de prévenir le risque infectieux et de protéger le personnel soignant. Le port de gants n'exclut pas le lavage des mains avant et après leur utilisation. Ils doivent être changés entre chaque patient et entre chaque soin. (16)

Ainsi, la prévention concerne aussi le personnel, en particulier pour les risques liés au sang : port de gants obligatoire lors des prélèvements sanguins, protocoles de soin du personnel lors des piqûres accidentelles (trithérapie antirétrovirale en cas de contact avec du sang VIH positif).(16)

**c) La tenue professionnelle**

Elle doit être changée quotidiennement et à chaque fois qu'elle est souillée. Les ongles doivent être courts et sans vernis. Les mains et poignets doivent être nus et les cheveux longs attachés. Toutes ces mesures sont destinées à réduire le risque de transmission des germes car ces endroits favorisent leur « accueil ». Pour la prise des repas, la tenue est remplacée par la tenue de ville afin de la protéger des souillures et limiter les voies de transmission des micro-organismes dont elle est porteuse. (16)

**d) Les isolements :**

Les mesures d'isolement ont pour objectif d'établir des barrières à la transmission des micro-organismes :

- D'un patient à un autre patient.
- D'un patient à une personne soignante.
- D'une personne soignante à un patient.
- De l'environnement au patient.

On distingue les mesures d'isolement septique et les mesures d'isolement protecteur.

- Isolement protecteur :

Il est mis en place pour protéger un patient fragile ou immunodéprimé (ex : patients brûlés ou en aplasie médullaire).

- Isolement septique :

Il est indiqué à chaque fois qu'un patient est atteint d'une maladie contagieuse ou porteur d'un agent infectieux susceptible de disséminer lors de gestes de soins. Quelques soient les mesures d'isolement, des précautions standards sont requises parmi lesquelles : l'hygiène des

mains, le port des gants, la surblouse, les lunettes et/ou masque s'il existe un risque de projection ou d'aérolisation de sang ou tout autre produit d'origine humaine. Parfois, des précautions particulières sont nécessaires en complément des précautions standard. Elles sont définies en fonction de l'agent infectieux (réservoirs, modes de transmission, résistance dans le milieu extérieur...) et de l'infection (localisation, gravité...). (16)

Il existe donc différents types d'isolements septiques :

- Isolement respiratoire
- Isolement cutané
- Isolement entérique
- Isolement Bactérie Multi Résistante

Ces précautions peuvent comporter :

- L'isolement géographique en chambre individuelle.
- La limitation des déplacements.
- Un renforcement du lavage des mains.
- Le port de vêtements de protection (gants, sur blouse, lunettes, masque).
- Le renforcement des précautions lors de l'élimination des déchets

### **e) Elimination des déchets**

Pour prévenir le risque infectieux, les déchets hospitaliers doivent être éliminés selon certaines procédures.

- Les sacs noirs sont utilisés pour des déchets assimilables aux ordures ménagères.
- Les sacs jaunes sont utilisés pour les déchets d'activité de soins à risque infectieux :
  - ✓ Tous les objets ou instruments ayant été en contact avec les patients infectés ou à risque
  - ✓ Tous les objets ou instruments souillés par des liquides biologiques
  - ✓ Tous les objets ou instruments provenant de la préparation et de l'administration de médicaments.

Des collecteurs rigides incinérables pour déchets perforants sont utilisés pour l'élimination de tous les déchets coupants et tranchants (ex : aiguilles, ampoules...). (16)

**f) Les antiseptiques**

- **L'antiseptie** : Opération au résultat momentané permettant au niveau des tissus vivant dans la limite de leur tolérance, d'éliminer ou de tuer les micro-organismes et/ou d'inactiver les virus.(16)
- **Un antiseptique** : Produit ou procédé utilisé pour l'antiseptie dans les conditions définies. (16)

Les antiseptiques s'utilisent uniquement au niveau des tissus vivants. Ce sont des médicaments. Un bon antiseptique doit être soluble dans l'eau ou l'alcool, être stable dans le temps, avoir un large spectre d'activité, être incapable d'induire des résistances, ne pas provoquer d'effets secondaires. Les antiseptiques sont bactériostatiques/bactéricides et/ou virucides et/ou fongicides. (16)

Règles d'utilisation :

- Ne s'appliquent que sur une peau propre.
- A conserver 8 à 10 jours après son ouverture.
- Ne jamais mélanger 2 gammes d'antiseptiques différentes.
- Les antiseptiques moussants doivent être rincés après usage.
- Respecter les flacons d'origine, préférer les unidoses.
- Vérifier date de péremption.
- Temps de contact : 1 minute.

**g) Les désinfectants**

La désinfection est une opération au résultat momentané permettant d'éliminer les microorganismes et/ ou d'inactiver les virus portés par les milieux inertes (contrairement aux antiseptiques). Elle s'adresse uniquement au matériel décontaminé et rincé. La décontamination est une opération au résultat momentané permettant d'éliminer les microorganismes. Elle s'adresse uniquement au matériel souillé. (16)

## I- Critères de définition de l'Infection du site opératoire

Anatomiquement trois(3) niveaux de profondeurs sont considérés selon les critères validés par les CDC (Center for Disease Control) d'Atlanta USA.(17)

### I.1- Rappel anatomique du site opératoire

#### I.1.1-Infection superficielle de l'incision

C'est une infection survenant dans les trente (30) jours suivant l'intervention, et affectant la peau (ou les muqueuses), les tissus sous-cutanés ou les tissus situés audessus de l'aponévrose de revêtement(Figure05), diagnostiquée par :

**Cas1:** Un écoulement purulent ou puriforme de l'incision ou du drain.

**Cas2:** L'isolement d'un micro-organisme à la culture du liquide produit par une plaie fermée ou d'un prélèvement tissulaire.

**Cas3:** Une 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 négative).

**Cas4:** Le diagnostic d'infection établi par le chirurgien ou le médecin.

N.B.: L'inflammation minime confinée aux points de pénétration des sutures ne doit pas être considérée comme une infection. (17)

#### I.1.2-Infection profonde de l'incision

C'est une infection survenant dans les trente (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(Figure05), diagnostiquée par :

**Cas1:** Un écoulement purulent ou puriforme provenant d'un drain sousaponévrotique.

**Cas2:** La présence d'un des signes suivants :

La déhiscence spontanée de l'incision, de la cicatrice ou de la paroi.

L'ouverture par le chirurgien en cas de fièvre  $> 38^{\circ}\text{C}$ , douleur localisée et sensibilité à la palpation (sauf si la culture du prélèvement de plaie est négative).

**Cas3:** L'abcès ou autres signes d'infection observés lors d'une réintervention chirurgicale ou d'un examen histo-pathologique.

**Cas4:** Diagnostic d'infection établi par le chirurgien ou le médecin. (17)

### **I.1.3-Infection de l'organe ou du site**

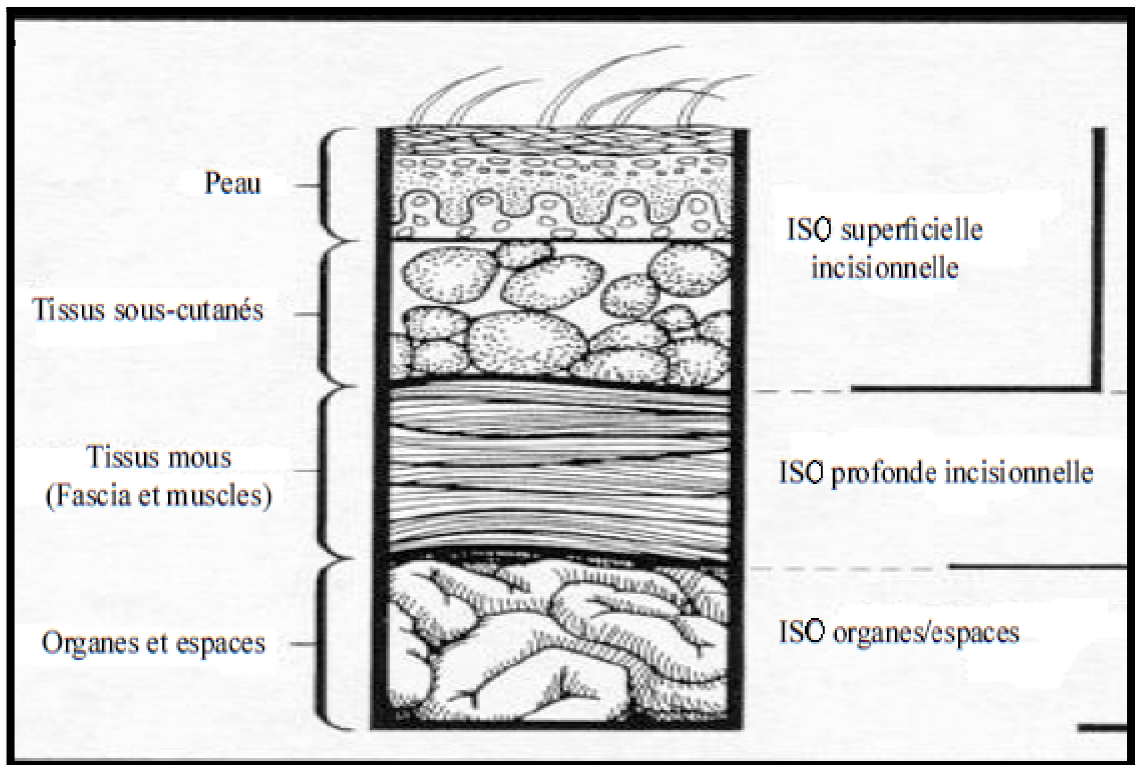
C'est une infection survenant dans les trente (30) jours suivant l'intervention ou dans l'année, s'il y a eu mise en place d'un implant ou d'une prothèse, impliquant les organes ou espaces (autres que l'incision)(Figure 05), ouverts ou manipulés durant l'intervention, diagnostiquée par :

**Cas1:** La présence de pus franc ou liquide puriforme provenant d'un drain placé dans l'organe ou le site ou l'espace.

**Cas2:** L'isolement d'un micro-organisme à la culture d'un prélèvement de l'organe ou du site ou de l'espace.

**Cas3:** La présence de signes évidents d'infection impliquant l'organe ou le site ou l'espace, observés lors d'une réintervention chirurgicale ou d'un examen histopathologique.

**Cas4:** Le diagnostic d'infection établi par le chirurgien ou le médecin. (17)



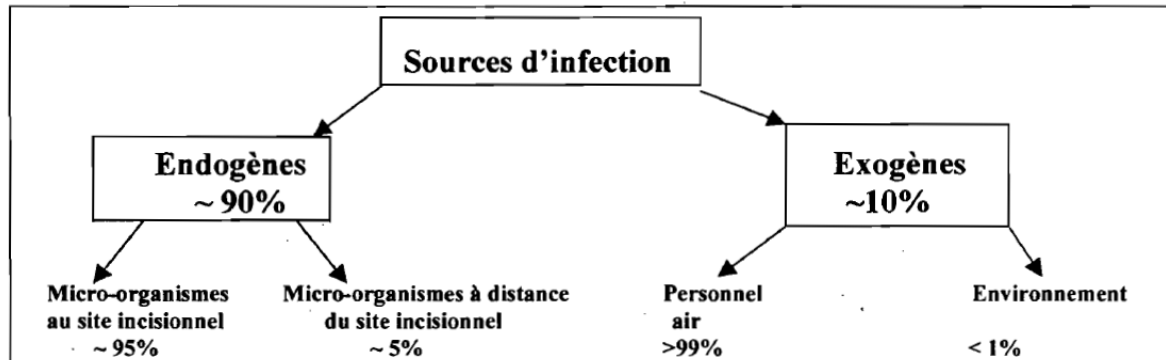
**Figure05** : Classification anatomique des infections du site opératoire(17)

## I.2- Epidémiologie des infections du site opératoire

### I.2.1- Sources d'infection

Les micro-organismes qui sont responsables d'infections du site opératoire peuvent être acquis par voie endogène, à partir de la flore microbienne du patient ou par voie exogène à partir du personnel de salle d'opération ou de l'environnement. (18)

Les différentes sources d'infection sont consignées dans le tableau suivant.

**Tableau 01** : Sources d'infection du site opératoire(18)

### A-Sources endogènes

La flore microbienne présente dans la région du site opératoire au moment de l'opération est responsable de la majorité des infections. Ainsi, les *Staphylocoques dorés* et *Staphylocoques coagulase négatif*, qui sont des germes d'origine cutanés sont les germes les plus fréquemment rencontrés. On suppose qu'ils sont inoculés au moment de l'incision ou pendant l'opération. Lors d'une opération impliquant l'ouverture d'une muqueuse (tractus respiratoire, gastro-intestinal et uro-génital), la flore normale de ces muqueuses peut contaminer directement le site opératoire. Ainsi, les bactéries du genre *Bacteriodes* et *Clostridium* qui constituent l'essentiel de la flore anaérobie sont les plus souvent retrouvées dans les suppurations abdomino-pelviennes, alors que *Fusobacterium* accompagne souvent les suppurations de la flore O.R.L.(18)

La flore endogène se trouvant à distance du site opératoire peut également être responsable d'infections, que cela soit par contact direct (erreur d'asepsie), par voie hématogène ou lymphatique, ou même par voie aérienne.(18)

### B-Sources exogènes :

On estime à 10% au maximum les infections du site opératoire dont les microorganismes seraient d'origine exogène. Les micro-organismes colonisant le personnel peuvent certainement jouer un rôle dans ce contexte. Les mains de l'équipe chirurgicale sont colonisées par des micro-organismes qui peuvent contaminer le site chirurgical par une

inoculation directe pendant l'acte chirurgical. En plus des mains, la flore du cuir chevelu et de la face peut contaminer le site opératoire.(18).

Le rôle de l'air des salles d'opération est un sujet débattu depuis longtemps. On peut aussi isoler divers micro-organismes à partir de l'environnement (matériel, surfaces) de salles d'opération. Des infections exogènes faisant suite à une colonisation secondaire (après l'opération) du site chirurgical (par voies hématogène ou lymphatique, ou par inoculation directe du site incisionnel) ont été décrites également mais sont relativement rares.(18)

### **I.2.2-Facteurs de risque**

Ils sont représentés par le terrain, le type de chirurgie (classification d'Altmeier), la durée du séjour préopératoire, la préparation préopératoire, la nature de l'intervention.

- Le risque est étroitement dépendant du degré de contamination bactérienne au site opératoire. Ce facteur est certainement très important. Il est à l'origine du schéma de classification des différents types de chirurgie: propre, propre-contaminée, contaminée et sale-infectée.(18)
- Le risque dépend de la virulence des micro-organismes. De fait, il n'existe pas de bonne corrélation entre micro-organismes colonisant le site opératoire et ceux qui sont trouvés lors d'une infection. Ceci suggère que des facteurs de virulence ou d'autres facteurs (corps étrangers par exemple) doivent être présents pour que se développe une infection.(18)
- Le risque est inversement proportionnel à la résistance de l'hôte ;
  - **L'âge** : Les âges extrêmes sont des raisons de déséquilibre cardio-pulmonaire, hépatique et rénal.
  - **Les maladies sous-jacentes** : Le diabète, les tumeurs, l'immunodépression, les infections préalables et/ou concomitantes favorisent la survenue d'infection nosocomiale.

- **L'état nutritionnel** : La malnutrition entraîne une diminution de la synthèse des immunoglobulines, du taux des protéines sériques, de l'activité des cellules macrophagiques.
- **Les conditions locales** au niveau du site opératoire sont également incriminées. En effet, des évidences expérimentales suggèrent que la présence d'un corps étranger, de tissus nécrotiques ou mal vascularisés augmentent le risque d'infection.(18)
- **Les facteurs liés à l'hospitalisation** : Un séjour préopératoire prolongé augmente le risque d'infection en dehors de la présence d'autres facteurs de risque. Les raisons exactes ne sont pas claires et sont multiples: colonisation par des germes hospitaliers, exposition à différentes procédures diagnostiques, administration de divers médicaments (stéroïdes, antibiotiques).(18)
- **Les facteurs liés à la pratique de l'équipe médico-chirurgicale** : La douche antiseptique à la veille de l'intervention diminue le risque infectieux. Le rasage préopératoire influence également le risque infectieux. Plusieurs études ont montré une augmentation du risque lorsque les poils étaient enlevés avec un rasoir à main par rapport à un rasoir électrique ou une épilation.(18)
- **La durée de l'opération** est un facteur de risque qui a été identifié depuis longtemps. Ce risque semble particulièrement accru pour les opérations qui durent plus de deux heures. Plusieurs facteurs sont évoqués pour expliquer cette augmentation du risque: augmentation de la contamination de la plaie, augmentation du traumatisme chirurgical, augmentation du nombre de sutures et de procédure d'électrocoagulation, augmentation des pertes sanguines, diminution de l'effet des antibiotiques prophylactiques.(18)
- **La technique chirurgicale** joue certainement un rôle central dans le risque infectieux. Elle est étroitement dépendante de l'habileté du chirurgien. Il

existe une relation significative entre un nombre réduit d'interventions réalisées par un

chirurgien et un taux d'infection élevé. Ceci a été démontré pour les appendicectomies, les cholécystectomies, les résections coliques ou les hystérectomies vaginales.(18)

- Des études ont également montré que la présence d'une infection à distance du site opératoire jouait un rôle important dans la survenue d'une infection au niveau du site chirurgical.(18)
- **La présence de drains abdominaux** : a également été associée à un risque plus élevé de développer une infection au niveau du site chirurgical. (18)
- **Les facteurs liés à l'intervention** : La longue durée de l'intervention, le mouvement des personnes dans la salle d'opération ; le risque d'infection augmente s'il y a plus de cinq personnes dans la salle d'opération, le type de champ utilisé, l'expérience de l'équipe chirurgicale, la qualité de l'hémostase, la chronologie de l'acte opératoire, le matériel chirurgical, le contexte d'urgence (chirurgie non programmée), le fait qu'il s'agisse d'une réintervention, le type de chirurgie selon la classification d'Altemeier sont des facteurs de risque importants. (18)

#### **Les deux facteurs les plus fortement associés au risque infectieux sont :**

1. **La classe ASA (American Society of Anesthesiology):** (18)
  - **ASA I:** Patient n'ayant pas d'affection autre que celle nécessitant l'acte chirurgical.
  - **ASA II :** Patient ayant une perturbation modérée d'une grande fonction.
  - **ASA III :** Patient ayant une perturbation grave d'une grande fonction.
  - **ASA IV :** Patient ayant un risque vital imminent.
  - **ASA V :** Patient moribond.
2. **La classification d'Altmeier :**(18)

- **Classe I : chirurgie propre**, définie par l'absence de traumatisme, d'inflammation, d'ouverture de viscères creux, pas de rupture d'asepsie. Le risque infectieux est de l'ordre de 1 à 2% en l'absence d'antibioprophylaxie.
- **Classe II : chirurgie propre contaminée**, définie par l'ouverture d'un viscère creux avec contamination minime (oropharynx, tube digestif haut, voies biliaires, voies respiratoires, appareil uro-génital) ou une rupture minime d'asepsie. Le risque infectieux est de l'ordre de 10 à 20% en l'absence d'antibioprophylaxie.
- **Classe III : chirurgie contaminée**, définie comme un traumatisme ouvert depuis moins de 4h, une chirurgie des voies urinaires ou biliaires infectées, une contamination importante par le contenu digestif. Le risque infectieux est de l'ordre de 20 à 35% en l'absence d'antibioprophylaxie.
- **Classe IV : chirurgie sale**, définie comme un traumatisme ouvert datant de plus de 4h ou avec présence de corps étrangers, de tissus dévitalisés, d'une contamination fécale, d'une infection bactérienne au site opératoire. Le risque infectieux est de l'ordre de 20 à 50% en l'absence d'antibioprophylaxie.

### I.3-Germes responsables

Les bactéries sont les agents microbiens en cause dans la majorité des ISO. On observe aussi, dans certaines circonstances, des levures et des champignons filamenteux. Le patient est la source principale de ces bactéries qui proviennent soit de la peau (*Staphylocoques* pénétrant la plaie lors de l'incision ou des manœuvres chirurgicales), soit des tractus respiratoire, digestif, génital et urinaire (contenant naturellement des bactéries Gram négatif et anaérobies), soit d'un site opératoire infecté et concerné par l'acte chirurgical. Les bactéries commensales de la flore cutanée ou muqueuse (mains, cuir chevelu, nasopharynx, périnée) des membres de l'équipe opératoire, les bactéries pathogènes dont ils seraient porteurs sains ou infectés (*Streptocoque* du groupe A par exemple), les bactéries présentes sur les instruments (malstérilisés ou longtemps exposés à l'air ambiant), dans l'eau ou les solutés (*Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobactérie atypique*) et des levures ou des champignons filamenteux présents dans l'air (système de ventilation) peuvent être à l'origine d'ISO. (19)

Les germes responsables sont bien détailler dans le chapitre suivant.

#### **I.4-Morbidité, mortalité**

Les ISO représentent la deuxième cause d'IN (20%). Leur incidence est variable selon le type de chirurgie (4 à 5%). Les ISO sont directement ou indirectement responsables du décès du patient dans 0,6 à 4,6% des cas. Elles entraînent un allongement de la durée d'hospitalisation de l'ordre de 7 jours. (17)

#### **I.5-Prévention des infections des plaies opératoires**

Les fournisseurs de soins de santé devraient prendre les précautions suivantes pour éviter les ISO :

- Adopter des pratiques de lavage de mains rigoureuses. Avant l'opération, le chirurgien et tout le personnel du bloc opératoire devraient se nettoyer vigoureusement les mains et les bras avec un savon antiseptique.
- Nettoyer le lieu de l'incision avec une solution antiseptique.
- Porter des tenues médicales (combinaison chirurgicales), des sarraus pour milieu stérile à manches longues, des masques, des charlottes, des couvre-chaussures et des gants stériles.
- Couvrir le patient d'un drap stérile avec un trou là où l'incision est faite.
- Surveiller de près la glycémie du patient après l'intervention chirurgicale pour s'assurer qu'elle reste à un niveau normal. Un taux de glycémie élevé retarde la cicatrisation.
- Réchauffer les solutions intraveineuses, monter la température du bloc opératoire et, le cas échéant,
- Fournir des couvertures à air chaud pour assurer une température corporelle normale. Une température corporelle inférieure à la normale pendant ou après l'opération empêche l'oxygène d'atteindre la plaie, et il est donc plus difficile pour que le corps combatte une infection.
- Tondre tous les poils devant être enlevés au lieu de les raser. Cela évite les petites coupures à travers lesquelles les germes peuvent s'introduire.

- Couvrir la plaie fermée (fermée avec des points de suture) avec un pansement stérile pendant un ou deux jours. Si la plaie est ouverte, l'envelopper de gaze stérilisée et la recouvrir avec un pansement stérile.
- Il faut limiter le plus possible la durée du séjour hospitalier préopératoire et proposer les explorations préopératoires en ambulatoire.
- Les infections préexistantes doivent être dépistées et traitées.
- éviter les injections de substances ou de médicament dans les systèmes de drainage et privilégier les systèmes d'aspiration clos.
- Le nettoyage, la désinfection des bâtiments et lits, la stérilisation des instruments, l'incinération et l'enfouissement des déchets permettent de diminuer la survenue des infections nosocomiales. (18)

### **I.6- Traitement des infections des plaies opératoires**

- La plupart des infections sont traitées avec des antibiotiques. Le type de médicament sera déterminé par le germe provoquant l'infection.
- Une plaie infectée peut être rouverte et nettoyée.
- Si l'infection survient lors de l'implantation d'une prothèse, celle-ci peut être retirée.
- Si l'infection est profonde, une autre opération peut être nécessaire pour la traiter.(20)

Beaucoup de malades qui n'auraient pas survécu il y a quelques décennies se trouvent aujourd'hui, grâce au progrès de la médecine et de la chirurgie, dans nos hôpitaux. Ces malades, du fait de leur pathologie ou de leurs interventions chirurgicales, sont particulièrement sensibles aux infections. Finalement, c'est bien souvent d'infections nosocomiales dues à des bactéries opportunistes. Les principales bactéries responsables de ces infections méritent d'être citées ; les entérobactéries 40 % de ces bactéries, les *Staphylocoque dorées* 20% (dont la moitié de SAMR) et le bacille pyocyanique (*Pseudomonas aeruginosa*) 10%. (20)

## I-Les *Entérobactériaceae*

### I.1-Généralités sur les *Entérobactériaceae*

#### I.1.1-Classification et définition

La famille des *Enterobacteriaceae* est constituée de genres bactériens qui sont rassemblés en raison de leurs caractères bactériologiques communs.

La famille des entérobactéries se définit par les caractères suivants :

- Bacilles à Gram Négatif(BGN) (2 à 4 microns de long sur 0,4 à 0,6 microns de large),
- Mobiles avec ciliature péritriche ou immobiles,
- Poussant sur milieux de culture ordinaires,
- Aérobie - anaérobie facultatif,
- Fermentant le glucose avec ou sans production de gaz,
- Réduisant les nitrates en nitrites,
- Oxydase négatif.

Voici les genres décrits dans la famille des *Enterobacteriaceae* :*Buttiauxella, Cedecea, Citrobacter, Edwardsiella, Enterobacter, Erwinia, Escherichia, Ewingella, Hafnia, Klebsiella, Kluyvera, Moellerella, Koserella, Leclercia, Morganella, Obesumbactenum, Proteus, Providencia, Rahnella, Salmonella, Serratia, Shigella, Tatumella, Xenorhabdus, Yersinia, Yokenella.*(21)

### I.1.2-Caractérisation des espèces

Au sein de chaque genre, on individualise des espèces, par l'étude des caractères biochimiques ou antigéniques. Les entérobactéries possèdent toutes des antigènes de paroi (« somatiques ») ou antigènes O. Les entérobactéries mobiles possèdent en plus des antigènes de flagelle (« flagellaires ») ou antigènes H. Enfin, certains possèdent un antigène d'enveloppe ou antigène K. (21)

### I.1.3-Habitat

Parmi les nombreuses espèces d'*Enterobacteriaceae* certaines sont trouvées dans l'environnement, d'autres chez les végétaux ou les animaux. Il en est qui ont un pouvoir phyto-pathogène. Parmi les espèces qui peuvent être isolées chez l'homme, certaines (*Shigella*) sont constamment pathogènes. D'autres espèces se comportent comme des bactéries pathogènes opportunistes responsables d'infections chez des malades fragilisés. Leur identification est une part importante du travail du laboratoire de bactériologie. (21)

### I.1.4-Caractères cultureux

Les *Enterobacteriaceae* se développent bien dans un bouillon ou sur une gélose ordinaire incubés 18 heures à 37°C.

- Les formes S (smooth) sont l'aspect habituel au sortir de l'organisme.

Les colonies sont lisses, bombées, brillantes et humides, elles ont 2 à 4 mm de diamètre.

Le bouillon est trouble de façon homogène.

- Les formes R (rough) s'observent surtout avec des souches ayant subi plusieurs repiquages.

Les colonies sont rugueuses, sèches, à contours irréguliers et de teinte mate.

En bouillon, les formes R donnent un aspect grumeleux.

- Les colonies muqueuses sont habituelles avec les *Klebsiella*. Leur diamètre peut dépasser 10 mm; elles ont une tendance à la confluence. On peut les rencontrer aussi avec d'autres espèces, notamment *Salmonella paratyphi B*.

- Les colonies naines s'observent avec des souches déficientes dans certaines de leurs chaînes métaboliques. Elles ne sont pas exceptionnelles chez les *Escherichia coli* isolés d'infections urinaires. (21)

Seuls les genres et les espèces qui ont un intérêt dans les infections nosocomiales reconnu seront envisagés dans ce chapitre.

## I.2- Genre *Escherichia coli*

### I.2.1-Historique

Isolée pour la première fois par Escherich en 1885, *Escherichia coli* est l'espèce bactérienne qui a été la plus étudiée par les fundamentalistes pour des travaux de physiologie et de génétique. Cette bactérie est connue depuis longtemps comme commensale du tube digestif et pathogène pour l'appareil urinaire. Au cours des dernières décennies, le rôle de certaines catégories d'*E.coli* dans les syndromes diarrhéiques a été précisé et les mécanismes de ce pouvoir pathogène ont été analysés. (21)

### I.2.2-Habitat

*E. coli* est une espèce commensale du tube digestif de l'homme et des animaux. Dans l'intestin, *E. coli* est l'espèce aérobie quantitativement la plus importante. La présence d'*E.coli* dans l'eau est le témoin d'une contamination fécale récente et la rend impropre à la consommation. (21)

### I.2.3- Caractérisation d'une souche d'*E.coli*

*E. coli* possède tous les caractères décrits plus haut comme étant communs aux *Enterobacteriaceae*. Cette espèce est le plus souvent mobile. (21)

## A - Caractères culturels et métaboliques

*E. coli* se développe en 24 heures à 37°C sur les milieux géloses en donnant de colonies rondes, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre, non pigmentées. Sur les milieux lactoses, les colonies sont généralement lactose positif. Sur gélose au sang elles peuvent être hémolytiques.

-Les principaux caractères positifs sont :

- indole (+) (exceptions)
- ONPG (+) (exceptions)
- mannitol (+)

-Les caractères suivants sont positifs de façon moins constante : mobilité, LDC, ODC, sorbitol, production de gaz lors de l'attaque du glucose.

- Les caractères qui sont toujours négatifs : inositol, urée, TDA, VP, gélatinase, citrate de Simmons. (21)

### I.3-Le groupe KES : *Klebsiella-Enterobacter-Serratia*

#### I.3.1-Définition

Dans le groupe *Klebsiella - Enterobacter - Serratia*, dit K.E.S ; Ce sont des Bactéries Pathogènes Opportunistes. Peu virulentes par elles-mêmes, elles se rencontrent peu en pratique extrahospitalière. Opportunistes, elles sont responsables d'infections hospitalières nosocomiales chez des malades débilisés : cirrhotiques, diabétiques, brûlés, cancéreux, vieillards, malades de réanimation, nourrissons.

Ces espèces sont souvent multirésistantes aux antibiotiques. La fréquence avec laquelle on les rencontre est d'autant plus grande que la pression de sélection par des antibiotiques à large spectre est forte. (21)

Tableau : Principaux caractères distinctifs entre les genres *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* et *Hafnia*

	<i>Klebsiella</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Serratia</i>	<i>Hafnia</i>
Mobilité	-	+	+	+ à 22°C
ODC		+	(+)	+
ADH		d		
DNase			+	
Gélatinase			+	

(+)=exceptions ; d=caractère variable.

#### I.3.2-Genre *Klebsiella*

##### A- Définition et classification

Les *Klebsiella* sont des *Enterobacteriaceae* toujours immobiles, possédant généralement une capsule et fermentant de nombreux glucides. Elles ne possèdent ni ODC, ni ADH, ni tryptophane-désaminase (TDA), ni lipase et ne produisent pas d'H<sub>2</sub>S.

La classification des différentes espèces de *Klebsiella* est discutée. Néanmoins 6 espèces sont usuellement reconnues :

- Quatre espèces ont un pouvoir pathogène pour l'homme : *K. pneumoniae* (espèce-type), *K. oxytoca*, *K. ozaenae* et *K. rhinoscleromatis*.

Deux espèces sont trouvées dans l'environnement et sont rarement pathogènes, ce sont *K. terrigena* et *K. planticola*. (21)

## B-Habitat

*K. pneumoniae* et *K. oxytoca* sont les espèces les plus souvent rencontrées. 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 avec des souches responsables de petites épidémies hospitalières. Elles sont alors manuportées de malade à malade.(21)

## C-Caractères bactériologiques

- **Aspect des colonies**

Sur milieux usuels, les *Klebsiella* donnent après une incubation de 24 heures à 37°C des colonies généralement lactose (+), rondes, de 3 à 4 mm de diamètre, bombées, muqueuses et ayant une tendance à la confluence.

Cet aspect muqueux, en relation avec la présence habituelle d'une capsule plus ou moins volumineuse, est parfois observée avec d'autres *Enterobacteriaceae* notamment certaines souches de *E. coli*. (21)

- **Diagnostic d'espèce**

Les caractères biochimiques utiles au diagnostic pour chaque espèce sont :

- *K. pneumoniae* est VP (+), ONPG (+), LDC (+) et attaque le glucose en produisant beaucoup de gaz.
- *K. oxytoca* se distingue par la production d'indole.
- *K. ozaenae* est VP (-), ONPG (+) et malonate (-).
- *K. rhinoscleromatis* est VP (-), ONPG (-) et LDC(-).

- **Diagnostic différentiel**

La majorité des souches de *K. pneumoniae* est uréase (+) en milieu « uréeindole ». Les souches uréase (-) de *K. pneumoniae* sont parfois confondues avec *Enterobacter aerogenes* qui s'en distingue par la mobilité et l'ODC. (21)

## D-Sensibilité aux antibiotiques

Les *Klebsiella* ont une résistance naturelle à l'ampicilline et la carbénicilline. Elles sont normalement sensibles aux céphalosporines. Des enzymes récemment caractérisées, rendent

les souches résistantes aux uréidopénicillines, à toutes les céphalosporines (excepté les céphamycines) et aux monobactames. Ces nouvelles bêta-lactamases plasmidiques sont fortement inhibées par l'acide clavulanique. (21)

### I.3.3-Genre *Enterobacter*

#### A – Définition et classification

Les *Enterobacter* sont des *Enterobacteriaceae* VP (+), voisines des *Klebsiella* dont elles se distinguent par leur mobilité, par la présence d'une ODC, parfois d'une ADH et par l'absence d'uréase. La TDA, la DNase, la production d'indole et sont négatives.

L'espèce type est *E. cloacae*. C'est aussi la plus souvent rencontrée. L'espèce *Hafnia alvei* est aujourd'hui classée dans le genre *Hafnia* dont elle est le seul représentant. Les *Erwinia* sont des *Enterobacteriaceae* phytopathogènes non rencontrées en bactériologie médicale. (21)

#### B-Habitat

Les *Enterobacter* 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 des bactéries de l'hospitalisme. (21)

#### C-Caractères bactériologiques

Les caractères biochimiques qui permettent de distinguer les espèces rencontrées en clinique sont indiqués dans le tableau 02.

Il est à noter que les colonies d'*E. sakazakii* sont pigmentées en jaune. Un pigment jaune peut aussi être produit par des souches de *E. agglomerans*. Cette dernière espèce est hétérogène et constituée de plusieurs biotypes. (21)

- *E. gergoviae* possède une uréase.
- *E. asburiae* est immobile, malonate (-), rhamnose (-).

Tableau 02 : Caractère des différentes espèces d'Enterobacter. (21)

	<i>E. cloacae</i>	<i>E. aerogenes</i>	<i>E. agglomerans</i>	<i>E. gergoviae</i>	<i>E. sakazakii</i>	<i>E. asburiae</i>
ADH	+				+	
LDC		+		+		
ODC	+	+		+	+	+
Sorbitol	+	+	<b>d</b>			+
Uréase				+		
Pigment jaune			<b>d</b>		+	

d=caractère variable.

### D-Sensibilité aux antibiotiques

Les *Enterobacter* sont souvent très résistants aux antibiotiques. *E. cloacae* a une résistance naturelle à l'ampicilline et à la céphalotine. Un pourcentage important des souches est résistant à la carbénicilline, à la gentamicine, aux tétracyclines, au chloramphénicol, aux sulfamides et au triméthoprime. La sensibilité aux ureido-pénicillines, aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération, aux aminosides et aux quinolones doit être déterminée par antibiogramme. (21)

Certaines souches de *E. cloacae* initialement sensibles au céfotaxime peuvent devenir résistantes aux céphalosporines de troisième génération au cours d'un traitement par une de ces céphalosporines. Il s'agit soit de l'induction d'une céphalosporinase chromosomique, soit de la sélection d'un mutant dérégulé produisant à haut niveau cette céphalosporinase. (21)

L'enzyme en cause est une bêta-lactamase. Elle inactive les molécules récentes à l'exception de l'imipénème. Elle n'est pas inhibée par l'acide clavulanique. L'induction peut être détectée sur antibiogramme en plaçant un disque de céfoxitine, très inductrice, à côté d'un disque de céfotaxime. Ce mécanisme de résistance, fréquent chez *E. cloacae*, peut aussi être rencontré chez les principales espèces de *Enterobacteriaceae* sauf *E. coli* et *Shigella* et chez *Pseudomonas aeruginosa*. (21)

### I.3.4-Genre *Serratia*

#### A -Définition et classification

Les *Serratia* sont des *Enterobacteriaceae* généralement mobiles. Elles donnent parfois des colonies pigmentées en rouge. Elles sont VP (+), ONPG (+) et produisent de nombreux enzymes extracellulaires. Elles ne possèdent pas d'ADH, ni de TDA, ni d'uréase.

Huit espèces sont actuellement reconnues :

*S. marcescens*, *S. liquefaciens* (antérieurement classée comme *Enterobacter*), *S. plymuthica*, *S. rubidaea*, *S. odorifera* et *S. ficaria*, *S. fonticola* et *S. entomophila*. (21)

#### B-Habitat

Les *Serratia* sont des bactéries de l'environnement trouvées sur le sol et sur les plantes. *S. marcescens* est une espèce ubiquitaire qui est la seule à jouer un rôle important comme pathogène opportuniste. Les souches pigmentées sont répandues dans la nature, mais rarement isolées en milieu hospitalier ; les souches non pigmentées sont fréquemment isolées en milieu hospitalier. Elles sont beaucoup plus résistantes aux antibiotiques. (21)

Les *Serratia* sont les Entérobactéries les plus résistantes aux agents physiques et chimiques. Elles peuvent survivre des mois dans l'eau distillée et se multiplier dans des solutions antiseptiques : ammoniums quaternaires, chlorhexidine. Elles se multiplient bien à +4°C. Elles sont tuées par la chaleur ou l'eau de Javel. Les infections hospitalières peuvent être en relation avec des antiseptiques ou des flacons contaminés, mais la transmission manuportée semble la plus fréquente. (21)

#### C-Caractères Bactériologiques

Certaines souches de *S. marcescens*, isolées plus souvent de l'environnement que chez l'homme, produisent un pigment rouge, la prodigiosine. La majorité des souches de *S. marinorubra* et de *S. plymuthica* produit un pigment rosé ou rouge. (21)

La plupart des souches de *Serratia* donne sur antibiogramme une zone d'inhibition autour de la colistine avec une repousse autour du disque. Cet aspect peut parfois s'observer avec d'autres espèces bactériennes. (21)

Les caractères distinctifs des différentes espèces de *Serratia* sont :

- *S. marcescens* est raffinose (-) et arabinose (-),
- *S. liquefaciens* est adonitol (-), arabinose (+),
- *S. rubidaea* est ODC (-) et sorbitol (-),
- *S. odorifera* produit de l'indole. (21)

## II-Les *Pseudomonadaceae*

### II.1-Généralités sur les *Pseudomonadaceae*

#### II.1.1-Classification et Définition

Bacilles à Gram négatif, mobiles par une ciliature polaire, rarement immobiles, non sporulés. Oxydatifs ou inactifs dans l'épreuve de Hugh et Leifson. Presque toujours oxydase (+) c'est-à-dire possédant pour la plupart une chaîne cytochromique complète comprenant le cytochrome C et une cytochrome C oxydase. Caractérisés par la pluralité des substrats hydrocarbonés utilisés comme source de carbone et d'énergie. Bactéries très répandues dans la nature, caractérisées par leur résistance aux antibiotiques et aux antiseptiques. (21)

Le genre *Pseudomonas* est un genre pléthorique avec 160 espèces répertoriées en 1957. En réalité, beaucoup de ces souches ne sont que des *nomenspecies* mal connues et dont l'espèce-type ne peut être définie. Deux cent soixante cinq espèces étaient répertoriées, mais l'édition 1974 du Bergey's Manual retenait 29 espèces dont 13 d'intérêt médical. La nouvelle édition 1984 du Bergey's Manual retient 30 espèces principales.

La famille des *Pseudomonadaceae* regroupe actuellement 5 genres : *Pseudomonas*, *Comamonas*, *Frateuria*, *Xanthomonas* et *Zoogloea*. (21)

Un certain nombre d'études génétiques ont été réalisées et ont permis de diviser le genre *Pseudomonas* en 5 **groupes d'affinité génétique** différents : Groupes d'homologies d'après les hybridations ADN-ARNr et ADN-ADN.

- Groupe génomique I groupe *fluorescens* + groupe *stutzeri* + groupe *alcaligenes*.
- Groupe génomique II groupe *pseudomallei* + *cepacia*.
- Groupe génomique III groupe *acidovorans*.
- Groupe génomique IV groupe *diminuta-vesicularis*

- Groupe génomique V groupe *maltophilia* (*Xanthomonas*) (21)

Il faut avoir conscience, et ceci est vrai pour toute bactérie largement répandue dans la nature, que le diagnostic d'une souche de *Pseudomonas* sera souvent effectué par la combinaison de plusieurs caractères. Ces germes ubiquitaires présentent de très nombreux biotypes qui tendent à s'écarter de l'espèce-type. (21)

### II.1.2-Morphologie et structure

- Bâtonnets droits et fins 0,5 à 1,3µm.
- Structure des bacilles à Gram négatif, pas de différence significative dans la structure du peptidoglycane de la paroi.
- Mobilité très vive en aérobiose.
- Ciliature polaire : monotriche - multitriche.
- Pour les espèces multitriches le type de ciliature ne peut être établi que statistiquement en déterminant l'index flagellaire. Elle peut varier selon les conditions de culture. Quelques souches et *P. mallei* sont immobiles et aciliées. (21)

### II.1.3-Caractères physiologiques

Ces bactéries ont une longévité faible en culture même à 4°C.

- Tous les modes de conservation possibles sont proposés : lyophilisation, eau distillée stérile avec une anse de culture à température ordinaire de 18°C (*Pseudomonas* phytopathogènes), gélose inclinée avec huile de paraffine, surface d'une gélose molle, tube à vis comme pour les Entérobactéries, congélation.
- Propriétés lytiques : *P. aeruginosa* - autolyse tardive (4 à 5 jours) ou précoce (taches irisées à reflets métalliques sur gélose).
- Sensibilité aux agents lyriques : plusieurs espèces de *Pseudomonas* sont lysogènes et bactériocinogènes
  - *P. aeruginosa* : probablement 100 % de souches lysogènes + nombreuses pyocines.
  - *P. fluorescens* : lysogénie fréquente ; fluocines.
  - *P. stutzeri* : lysogénie encore peu étudiée.

Ces caractères présentent un intérêt épidémiologique.

## II.2-Genre *Pseudomonas aeruginosa* « Le bacille pyocyanique »

### II.2.1-Définition

Le bacille pyocyanique, du grec *puon* = pus et du grec *kuanos* = bleu foncé, est désigné sous le nom d'espèce *Pseudomonas aeruginosa* du latin *aeruginosus* = couvert de rouille. Isolé en 1882 par Gessard.

C'est l'espèce la plus connue et la plus répandue du genre *Pseudomonas*. La plus pathogène, elle constitue l'espèce-type du genre. (21)

### II.2.2-Habitat

C'est une bactérie qui vit normalement à l'état de saprophyte dans l'eau et le sol humide ou sur les végétaux. Elle résiste mal à la dessiccation. Cette bactérie peut vivre en commensale dans le tube digestif de l'homme et de divers animaux. Le Bacille pyocyanique peut survivre et se multiplier dans une infinie variété de liquides et de milieux, sur des supports et des matériels surtout s'ils sont humides. Considéré comme une bactérie pathogène opportuniste c'est le germe-type des infections hospitalières ou nosocomiales. (21)

#### A - Sources de contamination

- **Le milieu extérieur** et l'eau sous toutes ses formes ou le malade lui-même par ses exsudats (urines, crachats, selles)
- **L'environnement hospitalier** : fleurs coupées (eau des vases), plantes en pots, fruits, légumes crus ou en salade (tomates, carottes, radis, laitues), siphons d'éviers ou de sol, humidificateurs, respirateurs, eau distillée, (possibilité de multiplication jusqu'à 10<sup>7</sup> germes/ml, sans trouble visible).
- **Antiseptiques** : par exemple les ammoniums quaternaires sont souvent inactifs et permettent la multiplication de la bactérie. (21)

#### B - Vecteurs de contamination

La transmission à partir d'une source de contamination initiale à un malade ou de patient à patient, résulte de la contamination ou la souillure des supports inertes, des mains des visiteurs et surtout du personnel qui véhiculent la bactérie selon un schéma épidémiologique désormais

classique. Dans les services de réanimation, les malades trachéotomisés hébergent rapidement du Bacille pyocyanique qui colonise la partie supérieure du tractus respiratoire. Le germe pourra ainsi disséminer dans le service. (21)

### II.2.3-Morphologie et caractères cultureux

Bacille à Gram négatif— 1 à 3  $\mu\text{m}$  de long ; 0,5 à 1  $\mu\text{m}$  de large. Parfois entouré d'une pseudo-capsule appelée slime qui peut jouer un rôle important dans la pathogénicité de cette bactérie.

Il peut être cultivé facilement sur tous les milieux en aérobiose (température de 37°C ou 30°C). Il dégage une odeur aromatique caractéristique de seringa due à la production d'ortho-amino-acétophénone, intermédiaire du métabolisme du tryptophane et non liée à la production de pigment. Un milieu sélectif comme le milieu de Drigalski convient pour la culture. Des milieux sélectifs à base de Cétrimide que l'on peut additionner d'antibiotique (Acide Nalidixique) sont proposés pour la recherche dans des produits très contaminés ou les eaux (hydrologie). (21)

#### A - Aspects des colonies

Ils sont particuliers à cette espèce. Une dissociation spontanée en 3 types principaux peut être observée :

- colonies *la* (« large ») : isolées, grandes avec une partie centrale bombée et un contour irrégulier — *Fried Eggs* (oeufs sur le plat). Elles sont caractérisées par une autolyse qui donne un aspect métallique, irisé lors de la culture en nappe de la bactérie. Ce phénomène est lié à l'action des enzymes protéolytiques bactériennes.
- colonies *Sm* (« small ») : petites, mates légèrement bombées avec un bord circulaire régulier.
- colonies *M* (*muqueuse*), bombées, opaques, visqueuses parfois coulantes comme pour *Klebsiella*. Ces colonies se rencontrent presque spécifiquement dans des infections chroniques, urinaires ou pulmonaires. La bactérie produit alors un polysaccharide extracellulaire (l'acide alginique) qui est différent du « slime ». (21)

### II.2.4- Identification bactériologique

Le diagnostic est facile : oxydase (+), culture à 37°C : culture à 41°C mais pas à 4°C. Il est préférable d'étudier les caractères biochimiques à 30°C. Milieux A et B de King (production de pyocyanine et pyoverdine), oxydation de certains sucres avec production d'acides, utilisation comme seule source de carbone et d'énergie de nombreux substrats hydrocarbonés  
Hydrolyse : gélatine, lécithine, ADN.

En anaérobiose respire les nitrates d'où une confusion si la gélose profonde contient des nitrates, mais son métabolisme est uniquement respiratoire.

Arginine dihydrolase positive. (21)

### II.2.5- Sensibilité aux antibiotiques

*P. aeruginosa* n'est sensible qu'à quelques antibiotiques et le choix d'un traitement est donc important. Malgré l'efficacité de certains, le succès n'est souvent que relatif et l'effort de lutte contre les infections à Bacille pyocyanique doit passer avant tout par la prévention : mesures d'hygiène. (21)

*P. aeruginosa* est résistant à de nombreux antibiotiques, (benzylpénicillines, Aminopénicillines, Céphalosporines de 1<sup>ère</sup> et de 2<sup>ème</sup> générations, Phénicolés, Tétracyclines, Triméthoprime). Cette résistance répond à trois mécanismes :

- L'imperméabilité de la paroi à certains antibiotiques (résistance naturelle pour les pénicillines M = méthicilline, cloxacilline ; résistance acquise faisant intervenir des porines = Ticarcilline, Cefsulodine, Imipénème).
- L'inactivation enzymatique (17 bêta-lactamases plasmidiques, plusieurs types : PSE Pseudomonas Spécifie Enzyme, PSE-1 et PSE-4 : Carbapénicillinases ; oxacillinases), résistance naturelle aux premières bêta-lactamines par synthèse d'une bêta-lactamase chromosomique.
- Modification de l'affinité de l'antibiotique pour la cible. (21)

Le choix d'une Bêta-lactamine pourra se faire en fonction de l'antibiogramme parmi les Carboxypénicillines (Ticarcilline, Association Ticarcilline + Acide Clavulanique) ayant une bonne vitesse de bactéricidie comme les Acyluréidopénicillines (Pipéracilline), Acylpénicillines (Apalcilline), certaines céphalosporines (Cefsulodine et Ceftazidime),

monobactame (aztréonam), Carbapénème (Imipénème). En outre, l'association la plus efficace d'une bêta-lactamine à un Aminoside sera souvent recherchée afin d'être rapidement bactéricide dans les infections généralisées. Parmi les Aminosides plusieurs phénotypes de résistance sont observés, l'Amikacine restant la plus active. La diminution de la perméabilité aux Bêta-lactamines affectant également les Aminosides rend certaines souches particulièrement résistantes. *P. aeruginosa* est résistant à l'Acide Nalidixique mais les quinolones de 2<sup>ème</sup> génération, ont une activité intéressante : la Péfloxacin, la Norfloxacin, l'Ofloxacin et la Ciprofloxacin donnant les CMI les plus basses. (21)

Les Aminosides associées aux bêta-lactamines antipycyaniques constituent le traitement de première intention.

La sensibilité de *P. aeruginosa* à la colistine est constante, mais son efficacité *in vivo* est décevante. Certaines souches sont sensibles à la Fosfomycine, mais cet antibiotique doit être associé pour éviter l'émergence rapide de mutants résistants. (21)

Dans la réalisation de l'antibiogramme, un inoculum trop lourd est un écueil à éviter. Cela est dû à la tendance des corps bactériens à former des agglutinats. (21)

### III. Les *Neisseriaceae*

#### III.1-Classification

Cette famille comprend classiquement les genres :

- *Neisseria*
- *Moraxella*
- *Acinetobacter*
- *Kingella*
- *Oligella*

Le genre *Acinetobacter* est rattaché à cette famille, mais ses caractères sont très différents de ceux des autres *Neisseriaceae* (absence d'oxydase et de nitrate réductase). Par contre, *Branhamella* et *Moraxella* sont proches génétiquement bien que la morphologie les différencie. Ils ont été réunis au sein d'un même genre (*Moraxella*) avec deux sous-genres

(*Moraxella* et *Branhamella*). Au genre *Oligella*, nouvellement créé, sont rattachées les souches antérieurement désignées comme : *Moraxella urethralis*. (21)

## III.2-Genre *Acinetobacter* :

### III.2.1-Classification et définition

Il s'agit de coccobacilles, courts, souvent en diplocobacilles, immobiles, à Gram négatif. Ce sont des aérobies stricts, souvent encapsulés, ne réduisant pas les nitrates, catalase (+), oxydase(-). Prototrophes, ils peuvent croître sur un milieu minéral avec une source de carbone simple.

La dernière édition (1984) du Bergey's Manual reconnaît une seule espèce, *Acinetobacter calcoaceticus*, avec 7 phénotypes. Toutefois il n'est pas rare de trouver dans certains manuels une distinction entre diverses variétés ou biotypes : *A. calcoaceticus* var. *anitratus*, var. *haemolyticus*, var. *alcaligenes*, var. *Iwoffi*. La dernière édition du Manual of Clinical Microbiology préfère retenir deux sous-espèces : *A. calcoaceticus* subsp. *anitratus* et subsp. *Iwoffi* qui correspondent en fait aux réalités de la bactériologie médicale courante. (21)

### III.2.2-Caractères Généraux, Physiologiques

Les colonies ont 1 à 2 mm de diamètre en 24 heures, elles sont lisses souvent muqueuses, blanc-jaunâtre et d'aspect butyreux. Les nitrates ne sont pas réduits en nitrites ou alors très rarement et très lentement. Certaines souches acidifient sans production de gaz le glucose, galactose, mannose, xylose, arabinose, lactose. Le glucose est oxydé en acide gluconique, les glucides sont oxydés en acides hexoniques et pentoniques par une aldose déshydrogénase non spécifique. (21)

Les *Acinetobacter* capables d'utiliser le glucose comme source de carbone et d'énergie dégradent ce composé uniquement selon la voie d'Entner-Doudoroff. La possibilité pour certains *Acinetobacter* (*glucidolytica*) de former de l'acide en aérobiose à partir du glucose est liée à la présence chez ces souches d'une glucose-déshydrogénase qui oxyde le D.glucose en D.gluconolactone et la possibilité pour certaines souches de croître aux dépens du glucose, est fonction de leur possibilité de dégrader l'acide gluconique. L'oxygène est l'accepteur terminal

d'électrons pour la forme particulière de cette enzyme qui est absente chez les souches non saccharolytiques. (21)

*Acinetobacter* ressemble aux *Pseudomonas* par le fait qu'il peut utiliser une large variété de composés organiques comme source de carbone et d'énergie. Il n'exige pas de facteurs de croissance particuliers et peut croître dans un milieu minéral simple avec une seule source de carbone et d'énergie. (21)

### III.2.3- Habitat

Bactérie ubiquitaire, *Acinetobacter* se trouve principalement dans le sol et l'eau (douée, marine), les eaux d'égouts, isolée parfois dans le lait et les produits laitiers, dans les aliments. Elle est très fréquemment isolée chez l'homme : peau, salive, urine, conjonctive. Elle figure parmi les bactéries de la flore résidente normale du revêtement cutané. (21)

Les sources d'infections nosocomiales à *Acinetobacter* sont nombreuses en milieu hospitalier. Cette bactérie a la faculté de coloniser de nombreux matériels : respirateurs, humidificateurs, lavabos, savons et antiseptiques. Elle peut être véhiculée par les mains du personnel soignant et la majorité des infections sont acquises à l'hôpital. Le fait que les *Acinetobacter* soient fréquemment isolés de la peau des malades hospitalisés, mais aussi de sujets normaux ne permet pas de dire avec certitude s'il s'agit de germes commensaux ou de contaminants. (21)

### III.2.4- Caractères Bactériologiques

#### A- Identification

L'identification d'*Acinetobacter* est basée tout d'abord sur les caractères morphologiques : diplobacilles à Gram Négatif, souvent polymorphes avec des formes allongées filamenteuses. Cette morphologie ne doit pas les faire confondre avec *Neisseria*.

La culture est facile sur les milieux usuels. Certaines souches ont une odeur désagréable ; quelques rares souches sont hémolytiques sur gélose au sang. Ils sont tous oxydase négative et immobiles. (21)

Les principaux caractères à étudier sont :

- Absence de réduction des nitrates.

- Acidification du glucose.
- Croissance en bouillon à différentes températures (44°C, 41°C et 37°C).
- Citrate de Simmons.
- Gélatinase.

Le diagnostic différentiel se fait facilement avec *Neisseria*, *Moraxella* et les autres bacilles à Gram négatif aérobies

## IV -Les *Staphylocoques*

### IV.1-Historique

Les Staphylocoques ont été découverts dans un pus par Pasteur en 1880. En 1883, Ogston a créé le nom de « Staphylocoque » pour décrire ces grains (*kokkos*) groupés en amas irréguliers à la façon d'une grappe de raisin (*staphylos*). En 1884, Rosenbach a obtenu des cultures pures de ces bactéries. Il a scindé le genre *Staphylococcus* en deux groupes selon que les colonies étaient blanches ou dorées. (21)

### IV.2-Généralités sur les *Staphylocoques*

#### IV.2.1-Position taxonomique et classification

La famille composée de trois genres de cocci à Gram positif en amas qui diffèrent par leur G + C % : *Staphylococcus* (30 - 39 %), *Micrococcus* (65 - 75 %) et *Planococcus* (48 - 52 %). Ce dernier genre n'est rencontré qu'en bactériologie marine.

Les espèces appartenant à ces trois genres possèdent une catalase et se développent en aérobiose. Les cocci à Gram positif en amas qui se développent uniquement en anaérobiose sont dénommés *Peptococcus* et seront traités avec les bactéries anaérobies.

Le genre *Staphylococcus* occupe une place très importante en pathologie humaine et animale.

Le genre *Micrococcus* a un pouvoir pathogène pratiquement nul.

Néanmoins des souches de microcoques sont fréquemment isolées en bactériologie médicale.

Il s'agit alors de contaminants qu'il faut distinguer des staphylocoques. (21)

#### IV.2.2-Habitat

Il s'agit de germes très répandus dans la nature (air, eau, sol). Les staphylocoques, en particulier les espèces *S. aureus* et *S. epidermidis*, font partie de la flore normale de nombreux individus qui sont des « porteurs asymptomatiques ». Cependant ces souches peuvent être à l'origine d'auto-infections ou contaminer d'autres individus.

On peut estimer que 20 à 75 % des sujets sont porteurs de *S. aureus* : porteurs persistants, porteurs occasionnels, ou transitoires ; à l'opposé, certains individus sont « non porteurs ». Les staphylocoques peuvent être trouvés particulièrement dans les fosses nasales antérieures (*S. aureus* : 30 - 40 %, *S. epidermidis* 30 - 100 %). On peut également les isoler de la peau (*S. epidermidis* 85 - 100 %) et surtout des zones chaudes et humides de celle-ci (creux axillaire, périnée) où l'on peut également trouver *S. aureus*. n n'est pas rare d'isoler *S. aureus* des selles. (21)

La transmission est surtout interhumaine directe (contact, dissémination manuportée, à partir du nez notamment) ou indirecte par l'intermédiaire des aliments ou du milieu extérieur. Le nouveau-né est rapidement colonisé par *S. aureus* après l'accouchement et, plus tard, l'enfant peut être contaminé au sein d'une collectivité ; la contamination interhumaine est très variable, certains individus étant de « dangereux disséminateurs », alors que d'autres sujets ne transmettent pratiquement jamais leurs souches. (21)

### IV.3- *Staphylococcus aureus*

#### IV.3.1-Historique

Observés par Pasteur en 1879 dans un pus de furoncle, les *staphylocoques* doivent leur nom à OGSTON (1881) qui les a mis en évidence dans des abcès aigus et chroniques. (21)

#### IV.3.2-Habitat

*S.aureus* est un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux (rhino-pharynx, intestin). On le trouve sur la muqueuse nasale d'un tiers environ des sujets normaux. Éliminé dans le milieu extérieur, cette bactérie peut survivre longtemps dans l'environnement. (21)

### IV.3.3-Caractères généraux

- Germe pyogène par excellence, *S.aureus* est le microbe de la suppuration.
- Certaines souches agissent aussi par libération d'une ou de plusieurs toxines (intoxication alimentaire, syndrome de choc toxique, impetigo).
- La fréquence et la gravité des infections à staphylocoques sont liées à trois principaux facteurs :
  - Le caractère ubiquitaire du germe,
  - L'abaissement des défenses locales et générales des malades soumis à des soins intensifs, des interventions chirurgicales graves, etc.,
  - La fréquente résistance aux antibiotiques du staphylocoque, notamment du staphylocoque hospitalier. (21)

### IV.3.4-Etude bactériologique

#### A-Microscope

Cocci à Gram positif, isolés ou groupés en diplocoques ou en amas ayant la forme de grappes de raisin, de 0,8 à 1µm de diamètre. La grande majorité des souches sont capsulées, mais les souches peuvent perdre leur capsule par culture. (21)

#### B-Culture

Comme tous les germes très répandus dans la nature, *S.aureus* cultive facilement sur les milieux usuels, à des conditions de pH et de température variables. Il est même capable de pousser dans des conditions hostiles, par exemple en présence de 7 % de NaCl. Ce caractère est mis à profit dans le milieu de culture sélectif hypersalé de CHAPMAN pour isoler le *Staphylocoque* d'un prélèvement polymicrobien. (21)

#### C-En bouillon

*S.aureus* donne un trouble uniforme en quelques heures. (21)

#### D-Sur gélose ordinaire

Les colonies sont lisses, rondes, bombées, brillantes, opaques, de 1 mm de diamètre. Elles se pigmentent habituellement en jaune doré (aureus), parfois en jaune citron, et parfois sont non pigmentées. (21)

## E-En gélose profonde

*S.aureus* pousse dans la zone d'aérobiose et dans la zone d'anaérobiose. C'est donc une bactérie aérobie-anaérobie facultative, capable de se multiplier à la surface de la peau, en aérobiose et dans les tissus mal oxygénés, plaie profonde par exemple. (21)

### IV.3.5- Caractères biochimiques

*S.aureus* a un métabolisme aérobie prédominant et anaérobie facultatif. Il est *catalase positive* à la différence des bactéries du genre *Streptococcus* qui n'ont pas de métabolisme aérobie. Il est tout de même capable de fermenter le glucose (métabolisme anaérobie) à la différence des microcoques. Il est habituellement capable de fermenter le mannitol. Ce caractère est souvent, mais pas obligatoirement, associé à la pathogénicité. Il est utilisé dans le milieu de CHAPMAN. La fermentation se traduit par le virage au jaune du milieu de culture. (21)

### IV.3.6-Diagnostic bactériologique

Le diagnostic bactériologique de l'infection staphylococcique est uniquement direct (mise en évidence de la bactérie). Il n'y a pas de diagnostic indirect par recherche des anticorps circulants. Le diagnostic repose sur les principales étapes suivantes :

- Le prélèvement : aseptique (pour être certain que le *Staphylocoque* que l'on va isoler n'est pas un simple commensal de la peau ou des muqueuses) et avant le début du traitement antibiotique.
- L'examen microscopique d'orientation à la recherche de Cocci réguliers, à Gram positif, groupés en amas.
- La culture sur gélose ordinaire dans la majorité des cas ou sur milieu de culture sélectif, type milieu de CHAPMAN (qui contient 7 % de NaCl, du mannitol et un indicateur de pH) si le prélèvement est fortement contaminé par d'autres bactéries.(21)

L'identification de la bactérie repose sur la mise en évidence des caractères suivants :

- catalase (différence avec le streptocoque),
- fermentation du glucose en anaérobiose (différence avec le microcoque),
- coagulase (différence avec *S.epidermidis* et *S.saprophyticus*),
- DNase. Thermostable (qui signe l'espèce *S.aureus*).

Le diagnostic sera toujours complété par la mesure de la sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme) étant donné la fréquence de la résistance de *S.aureus* aux bêta-lactamines (ex.:pénicilline), aux Aminosides (ex.:Gentamicine) et à certains Macrolides (ex : Erythromycine), notamment chez les souches hospitalières. (21)

#### IV.4- *Staphylocoque à coagulase négatifs* :

##### IV.4.1-Identification

Les *Staphylocoques à coagulase négatifs* ne sont identifiés complètement que lorsque les circonstances de leur isolement indiquent qu'ils sont potentiellement en situation de jouer un rôle de pathogène. (21)

**Tableau03** : Caractères différentiels des principales espèces de Staphylocoque ayant un rôle potentiellement pathogène. (21)

Caractère	<i>S.aureus</i>	<i>S.epidermidis</i>	<i>S.saprophyticus</i>
Coagulase	+	-	-
DNase thermostable	+		
Résistance à la novobiocine (disques 5µg)			+a
Nitrate-réductase	+	+	
Phosphatase	+	+	
D-manitol (acidification)	+		±

(a) Diamètre de la zone d'inhibition < 16mm

##### IV.4.2- Signification clinique des *Staphylocoques à coagulase négatif*

Certaines espèces (*S. epidermidis*, *S. hominis*, *S. saccharolyticus*, *S. capitis* et *S. auricularis*) sont trouvées de façon constante sur la peau ou les muqueuses des orifices naturels.

Les autres espèces y sont rencontrées de façon inconstante et la densité de ces populations bactériennes est souvent faible. Il existe une adaptation écologique de *S. capitis* au cuir chevelu et de *S. auricularis* au conduit auditif externe. (21)

Les *Staphylocoques à coagulase négatifs* ont longtemps été considérés comme dépourvus de pouvoir pathogène et comme de simples contaminants de prélèvements défectueux. Aujourd'hui il est clair qu'au moins deux espèces, *S. epidermidis* et *S. saprophyticus*, sont des bactéries opportunistes potentiellement pathogènes. (21)

Les principales infections dues à des *Staphylocoques à coagulase négatifs* sont :

- Infections sur matériel étranger :
  - cathéters intravasculaires.
  - shunts et greffes d'hémodialyse.
  - shunts de dérivation du LCR.
  - cathéters de dialyse péritonéale.
  - prothèses valvulaires cardiaques.
  - prothèses vasculaires.
  - prothèses articulaires.
  - sondes et électrodes de pacemaker.
- Endophtalmie après chirurgie oculaire.
- Endocardites sur valve native.
- Ostéomyélite.
- Inféodons urinaires.
- Infections chez les sujets immunodéprimés. (21)

#### **A- *S. epidermidis***

Il peut être responsable d'infections de prothèses vasculaires ou articulaires, de valves cardiaques, L'aptitude de cette espèce à coloniser la surface des polymères (cathéters, prothèses), et les cellules serait liée à l'abondante capsule polysaccharidique produite par ce germe. (21)

#### **B- *S. saprophyticus***

Cette espèce a un nom particulièrement mal choisi puisqu'elle peut être responsable d'infections urinaires qui ont la particularité de s'observer chez des jeunes femmes habituellement non hospitalisées. Cette espèce serait responsable de 5 à 10 % des infections urinaires en raison de son aptitude à adhérer à l'épithélium urinaire. (21)

## I-Historique de la découverte des antibiotiques

- ❖ Dès 1877, Pasteur et Joubert avait remarqué que certaines moisissures élaborent des substances empêchant le développement d'autres champignons,
- ❖ En 1912, Vandremmer montra que les extraits obtenus à partir de l'*Aspergillus fumigatus* avaient une activité anti-staphylococcique
- ❖ En 1928, Fleming montra que le champignon *Penicillium notatum* produisait une substance bactériostatique agissant sur de nombreux microbes et inhibait le développement des bactéries ; il venait de découvrir la pénicilline
- ❖ En 1934 à 1945, les applications thérapeutiques de la pénicilline et sa préparation industrielle furent étudiées par Chain et Florey, qui mirent en valeur son action antibiotique.
- ❖ A la suite de la découverte de Fleming, de nombreux chercheurs étudièrent les produits de sécrétion d'un grand nombre de végétaux inférieurs, obtenant ainsi des antibiotiques nouveaux
- ❖ Puis, la constitution chimique des antibiotiques ayant été définie, en remplaçant certains atomes dans les formules par des radicaux plus ou moins complexes. Constituant ainsi les antibiotiques hemisynthétiques.
- ❖ On arriva ultérieurement à des antibiotiques de synthèse totale.
- ❖ Enfin, on pourra faire fabriquer des antibiotiques après modification génétique de certaines bactéries. (22)

## II-Définition des antibiotiques

Le mot antibiotique signifie au sens étymologique : **Anti** ; contre les organismes vivants et le mot **biotique** signifie ici plus précisément contre les bactéries.

Au sens strict, les antibiotiques sont des agents antibactériens naturels d'origine biologique ; ils sont élaborés par des microorganismes, champignons et diverses bactéries. Cependant, quelques-uns sont maintenant produits par synthèse et beaucoup parmi les produits employés

actuellement sont des dérivés semi-synthétiques préparés par modification de produits de base naturels ayant les propriétés suivantes :

- Activité antibactérienne.
- Activité en milieu organique.
- Une bonne absorption et bonne diffusion dans l'organisme.

Les antibiotiques ont la propriété d'interférer directement avec la prolifération des micro-organismes à des concentrations tolérées par l'hôte.(23)

### III- Mode d'action

Les antibiotiques agissent à l'échelon moléculaire au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie. Ils agissent par :

- **Toxicité sélective au niveau de la :**
  - Synthèse de la paroi bactérienne
  - Membrane cytoplasmique
  - Synthèse des protéines
  - Acides nucléiques
  -
- **Inhibition compétitive :** dans ce cas l'antibiotique est un analogue structural, il interfère avec une fonction essentielle à la bactérie. (23)

### IV-Critères de classification

La classification des antibiotiques peut se faire selon :

#### IV.1-Classification selon l'origine

- Antibiotiques naturels : Pénicilline.
- Antibiotiques semi synthétique : bêta-lactamines.
- Antibiotiques synthétique : Quinolones(23)

## IV.2- Classification selon l'effet

- **Antibiotique bactéricides:** Béta-lactamines, Aminosides, Polypeptides, Rifamycines, Nitroimidazolés, Fosfomycine
- **Antibiotiques bactériostatiques :** Phénicolés, Cyclines, Sulfamides, Triméthoprimine.(23)

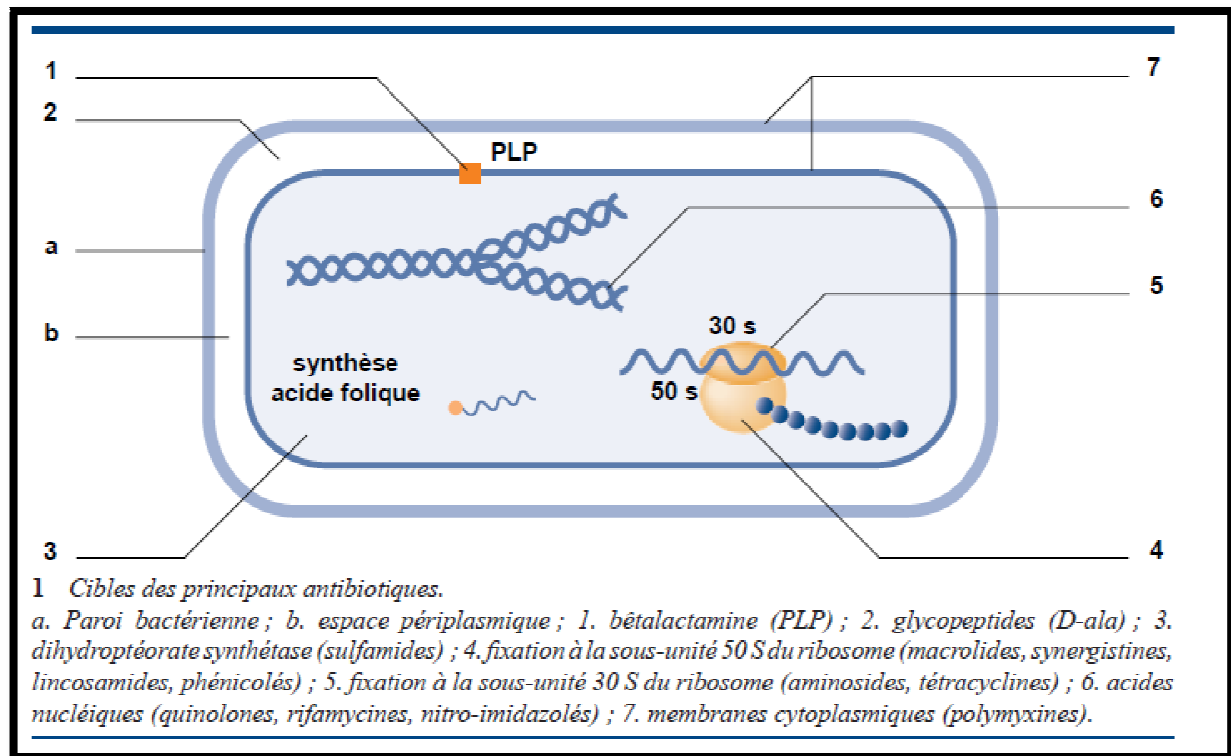
## IV.3-Classification selon le spectre

- **Antibiotiques à large spectre :** Aminosides, Phénicolés, Cyclines, Sulfamides.
- **Antibiotiques à spectre étroit :**  
Pénicillines,Macrolides,Polymyxines,Glycopeptides.(23)

## IV.4-Classification selon le site d'action

Les antibiotiques peuvent agir à différents niveaux de la structure bactérienne. Le lieu et le mode d'action de l'antibiotique peuvent être à la base d'une classification. Les antibiotiques peuvent agir sur la paroi,la membrane cytoplasmique, les acides nucléiques, les ribosomes, la synthèse de l'acide folique(Figure06). (23)

- **Antibiotiques agissant sur la paroi :** en inhibant la synthèse de peptidoglycane (la muréine) , l'antibiotique empêche la formation de la paroi, ce qui entraîne la mort de la bactérie (les Béta-lactamines, Fosfomycines ,Glycopeptides)
- **Antibiotiques agissant sur la membrane cytoplasmique :(Polymyxines).**
- **Antibiotiques agissant sur les acides nucléiques :** (Quinolones, Fluoroquinolones,Rifampicines)
- **Antibiotiques agissant sur les ribosomes :** (Aminosides, Macrolides,Lincosamides, Synergitines, Phénicolés, Tétracyclines, Acide fusidique ).
- **Antibiotiques empêchant la synthèse de l'acide folique :** (Sulfamides, Triméthoprimine).(23)



**Figure06** : Les cibles des principaux antibiotiques. (24)

#### IV.5-Classification selon la nature chimique

Cette classification permet de distinguer les antibiotiques en familles qui sont subdivisées en sous familles, groupes, générations.(23)

##### a)-Famille des bêta-lactamines :

La famille des bêta –lactamines se compose de quatre groupes des molécules :

- Les pénames
- Les pénèmes
- Les céphèmes
- Les monobactames
- Les Oxapénèmes(Clavames)

Les pénames composés par :

- Les pénicillines :
  - Péni G (pénicilline, oracilline)
  - Péni A (ampicilline, amoxicilline)
  - Péni M (oxacilline, méthicilline) : résiste à la pénicillinase des staphylocoques.
  - Carboxypénicillines (carbénicilline, ticarcilline).
  - Uréidopénicillines (pipéracilline, mezlocilline).
  - Amidinopénicilline (pivmécillinam).
- Les métoxy-pénames : témocilline.
- Les oxapénames : acide clavulanique, Sulbactam, Tazobactam

Les pénèmes composés par :

- Les carbapénèmes : Imipénème, Méropénème.

Les céphèmes comprenant :

- Les Céphalosporines avec 4 générations :
  - **1<sup>ère</sup> génération** : Céfalotine, Céfazoline
  - **2<sup>ème</sup> génération** : Céfuroxime, Céfoxitine.
  - **3<sup>ème</sup> génération** : Céfotaxime, Ceftriaxone, Ceftazidime, Céfopérazone
  - **4<sup>ème</sup> génération** : Céfépime, Cefpirome.

Les Monobactames comprenant :

- Les Monobactames : Azétéonam.

Les Oxapénèmes (Clavames) comprenant : Acide clavulanique, Sulbactam, Tazobactam (23)

### b)- Famille des Macrolides et apparentés

- Les Macrolides vrais Erythromycine, Spiramycine, Josamycine.
- Les Synergistines : Streptogramines, pristinamycine, Virginiamycine.
- Les Lincosamides : Clindamycines, Lincomycines. (23)

**c)-Famille des Glycopeptides**

Vancomycine ,teicoplanine

**d)-Famille des polymyxines**

Polymyxine E (colistine).

**e)-Famille des Aminosides**

Streptomycine B (antituberculeux), Gentamicine, Kanamycine,Tobramycine,Spectinomycine.

**f)-Famille des Cyclines**

Tétracycline, Minocycline, Doxycycline.

**g)-Famille des phénicolés**

Chloramphénicol, Thiamphénicol.

**h)-Famille des sulfamides +associé**

Sulfadiazine, Cotrimoxazole (Triméthoprim +Sulfaméthoxazole).(23)

**i)-Famille des Quinolones :**

- **1<sup>ère</sup> génération** : Acide Nalidixique, Acide Pipémidique, Acide Oxolinique.
- **2<sup>ème</sup> génération**Fluoroquinolones : Fluméquine, Péfloxacine, Norfloxacine.(23)

**V-Activités des antibiotiques****V.1-Les inhibiteurs de la synthèse du peptidoglycane****V.1.1-Les bêta-lactamines**

Elles sont des acides plus ou moins forts qui traversent difficilement la membranebactérienne.

Elles ont une action bactéricide.(25)

### A- Les cibles

Les cibles sont les protéines liant les pénicillines (PLP). Elles correspondent à une fonction enzymatique : transpeptidases, glycosylases, peptidases.(25)

### B- Le mécanisme d'action

Les bêta-lactamines agissent sur la membrane des bactéries. En effet elles se fixent aux protéines liant les pénicillines (les transpeptidases et les carboxypeptidases), indispensables à la formation du peptidoglycane. L'inhibition de ces enzymes fait accumuler des précurseurs du peptidoglycane qui activent le système autolytique de la bactérie (la muréine-hydrolase), entraînant ainsi sa lyse. Les bêta-lactamines n'agissent donc que sur les bactéries en croissance.(25)

### C- Spectre d'action

- Les pénicillines à spectre étroit (pénicillines G et V) : elles sont actives sur les bactéries Gram positif (Cocci et Bacilles), les Cocci Gram négatif, la majorité des anaérobies, les spirochètes et les tréponèmes. Mais elles sont inactives sur les bacilles Gram négatif, *Bacteroides fragilis*, les *Chlamydiae*, les mycobactéries, les rickettsies, les mycoplasmes et les gonocoques.(25)
  
- Les pénicillines à spectre étroit mais résistantes aux pénicillinases staphylococciques : il s'agit des pénicillines du groupe M inactives sur la plupart des bactéries Gram négatif résistantes à la pénicilline G et sur les entérocoques mais très efficaces sur les staphylocoques producteurs de pénicillinases.(25)
  
- Les pénicillines à spectre élargi vers les bacilles Gram négatif (*Escherichia*, *Proteus*, *Bordetella*, *Brucella*, *Shigella*...) : il s'agit des pénicillines du groupe A. Elles sont sensibles à certaines bêta-lactamases telles que les bêta-lactamases staphylococciques, mais actives sur certains cocci Gram positif (Streptocoques, *Diplococcus pneumoniae*), et sur certains bacilles Gram positif (*Listeria*, *Clostridium*). Elles sont en règle générale résistantes sur les cocci Gram négatif, et habituellement sensibles sur les bacilles Gram négatif (*Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia*). (25)

- Les pénicillines à spectre élargi vers les entérobactéries multirésistantes et vers les *Pseudomonas* : il s'agit des N-acylpénicillines (antipyocyaniques). Elles sont sensibles aux bêta-lactamases mais actives sur les entérobactéries, les *Pseudomonas*.(25)

Les principaux produits sont :

- les carboxypénicillines
- les uréidopénicillines

- Les amidinopénicillines : dans ce groupe, nous pouvons citer la mécillinam et la pivmécillinam actives sur les bacilles Gram négatif uniquement, à l'exception du *Pseudomonas*. Toutefois les *Serratia* et les *Proteus* sont rarement sensibles.(25)

- Les pénèmes sont actifs sur les entérobactéries, sur quelques souches de *Pseudomonas* et sur certaines bactéries Gram positif.

Par contre, certaines bactéries résistent à leur action. Il s'agit des *Staphylocoques* sécréteurs de pénicillinases, de *Pseudomonas maltophilia* et de *Pseudomonas cepacia*.(25)

- Céphalosporines de 1<sup>ère</sup> génération : Elles sont actives sur les bactéries Gram positif (*Streptocoque* bêta-hémolytique, *Haemophilus*, *Pneumocoque*, *Staphylocoque* sauf méticillino-Résistant), et sur quelques bacilles Gram négatif.(25)

- Céphalosporines de 2<sup>ème</sup> génération : Elles ont une grande efficacité vis-à-vis de certaines souches de bactéries Gram négatif (*Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*) et une efficacité amoindrie vis-à-vis des bactéries Gram positif (pneumocoque, streptocoque). Cependant, certaines bactéries sont souvent résistantes. Il s'agit du *Streptococcus D*, du *Staphylococcus* méticillino-Résistant, du *Pseudomonas* et d'*Acinetobacter*.(25)

- Les céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération : sont moins actives sur les bactéries Gram positif et plus actives sur les entérobactéries.

Elles sont actives sur de nombreux bacilles Gram négatif, *Pseudomonas*, *Bacteroides*

fragiliset les entérobactéries (*Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Serratia*...).(25)

- Les céphalosporines les plus récentes, dites parfois de 4<sup>ème</sup> génération se montrent plus actives vis-à-vis des souches hyperproductrices de céphalosporinases. Mais toutes les céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération sont inactivées, à des degrés divers par les bêta-lactamases à spectre élargi (produite surtout par certaines souches de *Klebsiellapneumoniae*).(25)
- L'aztréonam a une activité sur les bacilles à Gram négatif comparable à celle des céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération, mais elle est inactive sur les bactéries à Gram positif et les anaérobies.(25)

### V.1.2-Les antibiotiques phosphoniques : la fosfomycine

#### A- Mode d'action

Elle possède une action bactéricide. Elle agit en inhibant la pyruvyl-transférase cytoplasmique, responsable de la formation de l'acide N-AcétylMuramique. Elle inhibe donc le premier stade de la synthèse du peptidoglycane.(25)

#### B- Spectre d'action

Certaines bactéries sont habituellement sensibles telles que : le *Streptococcus pneumoniae*, le *Neisseriameningitidis*, l'*Escherichia coli*, le *Citrobacter*, le *Klebsiella*, le *Proteus mirabilis*, l'*Enterobacter*, et l'*Haemophilus* spp...

Par contre d'autres sont résistantes telles que : les streptocoques A, B, D ; l'*Acinetobacter*.(25)

### V.1.3-Les glycopeptides

Ils sont des antistaphylococciques.

#### A- Le mécanisme d'action

Ces antibiotiques inhibent la 2<sup>ème</sup> phase de la synthèse de la paroi des bactéries en croissance, et ce après fixation précoce et irréversible aux parois bactériennes.

En effet, elles recouvrent le D-Ala-D-Ala terminal du pentapeptide-disaccharide prêt à être incorporé dans le peptidoglycane en cours d'élongation. En raison de leur volume, les glycopeptides vont ainsi empêcher l'action des glycosyltransférases et destranspeptidases et bloquer l'élongation du peptidoglycane.(25)

### **B- Le spectre d'action**

Il concerne les bactéries Gram positif car ils ne peuvent pas traverser la membrane externe à cause de leur masse trop grande pour passer par les porines.

Les glycopeptides sont actifs contre les *Staphylocoques*, les *Pneumocoques*, les *Streptocoques*, les *Entérocoques* et le *Listeria*...(25)

## **V.2-Les inhibiteurs de la synthèse protéique**

### **V.2.1-Les aminosides ou aminoglycosides**

Elles sont bactériostatiques à faibles doses et bactéricides à fortes doses.

#### **A- Le mécanisme d'action des aminosides**

Elles se fixent sur des sites de la sub-unité 30S et ou 50S des ribosomes bactériens entraînant une déformation du ribosome. Ce qui perturbe la synthèse des protéines. Les aminosides induisent également des erreurs de lecture de l'ARN messager provoquant ainsi la synthèse de protéines anormales.(26)

#### **B- Le spectre d'action**

Il englobe les bactéries Gram positif et négatif. On peut citer : *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter*, *Salmonella*, *Shigella*...

Par contre, les streptocoques, les pneumocoques, les méningocoques, les tréponèmes, les *Bacteroides*, les *Clostridium*, les *Legionella*, le mycoplasme, les *Pseudomonas* sont toujours résistants.(26)

## V.2.2-Les tétracyclines ou cyclines

### A- Le mécanisme d'action

Les tétracyclines se fixent sur la sous unité 30S du ribosome et inhibent la fixation de l'aminocyl-tARN sur son site ribosomal.

### B- Le spectre d'action

C'est avec les tétracyclines qu'est apparu le terme "à très large spectre".(26)

- **Bacilles à Gram négatif et autres bactéries**

Les tétracyclines sont indiquées pour le traitement des Pasteurelloses, Brucelloses, Chlamydioses, Coxielloses, Rickettsioses, Mycoplasmes, Spirochètes, Leptospira et Borrelia.

- **Cocci à Gram positif sont souvent résistants**

- **Bacilles à Gram positif**

Les tétracyclines ont une bonne activité, pour la majorité des bacilles à Gram positif aérobies et anaérobies sporulés. Cependant, la sensibilité in vitro doit être vérifiée.

- **Cocci à Gram négatif**

Les tétracyclines restent actives sur *Neisseria gonorrhoeae*, bien que des résistances aient été décrites (*Neisseria gonorrhoeae* Résistant aux Tétracyclines)

- **Parasites**

Les tétracyclines sont actives sur *Plasmodium falciparum* avec un effet synergique avec la quinine. *Candida albicans* est sensible à la minocycline. (26)

## V.2.3-Les Phénicolés

### ➤ **Chloramphénicol**

Le chloramphénicol est un antibiotique bactériostatique à large spectre. En Algérie, il est réservé au traitement de la fièvre typhoïde.(27)

### ➤ **Thiamphénicol**

Le thiamphénicol est très voisin chimiquement du chloramphénicol, son spectre d'action est similaire.(27)

#### **A- Mécanisme d'action**

Les deux molécules sont bactériostatiques. Elles agissent au niveau de la sous unité 50 S du ribosome. Ceci a pour conséquence une inhibition de la synthèse des protéines.(27)

#### **B- Spectre d'activité**

Les phénicolés, étant de petites molécules hydrophobes, traversent facilement la membrane externe et interne des bactéries à Gram Négatif. Ainsi le spectre d'activité est très large englobant les Bacilles à Gram Positif, les Bacilles à Gram négatif, les Cocci à Gram positif et les Cocci à Gram négatif.

En Algérie, ces molécules sont réservées aux traitements des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes et dans certains cas de méningites purulentes à *Haemophilus* et *Streptococcus pneumoniae* lorsque des molécules moins toxiques ne sont pas disponibles.(27)

## **V.2.4-Les macrolides, les lincosamides et les streptogramines (MLS)**

### **A- Les macrolides**

Les macrolides sont des antibiotiques fréquemment utilisés en pratique de ville à cause de leur facilité d'emploi. Ils ont un spectre étroit, et sont parfaitement actifs sur les germes intracellulaires. Ils ont une excellente pénétration tissulaire.(27)

#### **• Mécanisme d'action**

Les macrolides agissent en inhibant la synthèse protéique bactérienne. Ils se fixent sur l'unité 50S du ribosome et bloquent ainsi la réunion du dernier stade de la synthèse. Ils sont bactériostatiques.(27)

#### **• Spectre d'activité**

- Ces substances ont un spectre relativement étroit limité aux germes suivants :
- Cocci à Gram positif (*Streptocoques*, *Staphylocoques* méticillino Sensibles.)
- Cocci à Gram négatif (*Neisseria*, *Moraxella catarrhalis*),
- Bacilles à Gram négatif (*Bordetella*, *Campylobacter* et *Helicobacter*),

- Bacilles à Gram positif (*Corynebactéries*, *Bacillus anthracis*, *Erysipelothrix*, *Listéria*),
- Germes anaérobies (*Propionibacterium* acnes, *Eubacterium*),
- Germes intra - cellulaires (*Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydiae*, *Borrelia*).
- 
- **Germes particuliers** *Tréponéma*, *Legionella pneumophila* (excepté pour la Spiramycine, la Dirithromycine, et l'Azithromycine pour lesquelles il est classé comme modérément sensible), *Toxoplasma gondii* ; *Mycoplasma hominis* est uniquement sensible à la Spiramycine, la Josamycine et la Midécamycine.(27)
- 
- **Espèces résistantes** Les Entérobactéries sont naturellement résistantes aux macrolides du fait de leur paroi. L'azithromycine possède une activité augmentée sur certaines souches. Les *Staphylococcus Métilino Résistant*, *Nocardia*, *Bacteroides fragilis*, *Pseudomonas spp.*, *Acinetobacter spp.*(27)

### B- Les Lincosanides

Ce groupe d'antibiotiques comprend la Lincomycine et son dérivé hemisynthétique chloré : la Clindamycine.(27)

- **Mode d'action**

Les Lincosanides agissent sur la fraction 50 S du ribosome en inhibant la phase initiale de la synthèse protéique.(27)

- **Spectre d'action**

Les lincosanides ont un spectre comparable à celui des macrolides en ce qui concerne les bactéries à Gram positif. Elles possèdent une bonne activité sur :

- Cocci à Gram négatif, les anaérobies,
- *Staphylococcus Métilino Sensibles.*,
- *Streptocoques* du groupe A, B, non groupables et le *Pneumocoque*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Nocardia spp.* et *B. anthracis*.(27)

### C- Les Synergistines

Les Synergistines ou Streptogramines sont composées d'un mélange de deux types de molécules: la streptogramine A et B agissant synergiquement sur le plan bactériologique.(27)

- **Mode d'action**

Les deux composants des synergistines agissent sur la sous unité 50 S du ribosome en bloquant en deux étapes différentes la synthèse de la chaîne peptidique.(27)

- **Spectre d'activité**

- Cocci et bacilles à Gram positif (*Staphylococcus Méticillino- Résistant*)
- Cocci à Gram négatif *Haemophilus spp., Moraxellacatarrhalis, Bordetellapertussis* et certaines bactéries à développement intra-cellulaire (*Chlamydia, Rickettsia*)(27)

### V.2.5-L'acide fusidique

De structure stéroïdique, il a été isolé de *Fusidiumcoccineum* en 1962. Il a un effet bactériostatique.(27)

#### A- Le mécanisme d'action

Il inhibe la synthèse des protéines en agissant sur le facteur G (substance responsable de la translocation de la chaîne des peptides durant la synthèse des protéines); ceci entraîne le blocage de la traduction de l'ARN messager au niveau de la sous unité 50S du ribosome.(27)

#### B- Le spectre d'action

Il est actif sur les bactéries à Gram positif, les cocci à Gram négatif, les *Neisseria*, les *Clostridium*, les corynebactéries et les bactéries anaérobies Gram positif.(27)

## V.3-Les inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques

### V.3.1-Les quinolones

#### A- Le mécanisme d'action

Après pénétration des quinolones dans la membrane externe des bactéries, elles inhibent la réplication de l'ADN. En effet, les quinolones agissent sur les topoisomérases (gyrase, topoisomérase de type 1) qui sont des enzymes régulant les changements de formes topologiques de l'ADN. Il s'en suit alors la formation d'un complexe ADN-Gyrase-Quinolone. Ainsi elles empêchent la réplication, transcription, recombinaison, réparation au niveau du noyau cellulaire inhibant donc la synthèse de l'ADN.(27)

### B- Spectre d'activité

Les quinolones de 1<sup>ère</sup> génération ont à peu près le même spectre d'activité dirigé essentiellement contre les bactéries à Gram négatif excepté *Pseudomonas spp.* Les fluoroquinolones ont un spectre élargi, on retrouve les bactéries à Gram négatif, les Cocci à Gram positif dont l'activité est 100 à 1000 fois plus élevée que celles des quinolones de 1<sup>ère</sup> génération (sauf *Streptocoques* et *Pneumocoques*). L'Ofloxacin et la Ciprofloxacine ont une activité sur *Mycobacterium tuberculosis*. Les fluoroquinolones sélectionnent assez facilement des mutants résistants. Ce phénomène est particulièrement net pour les *Staphylococcus* et pour le *Pseudomonas spp.* Il est recommandé d'utiliser une association pour prévenir l'émergence de ces résistances sur les espèces instamment sensibles telles que *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Proteus*, *Enterobacter* et *Klebsielle*.

Les différents antibiotiques proposés en association sont les aminosides, les bêtalactamines et la fosfomycine.(27)

## V.3.2- Les Rifamycines

### A- Le mécanisme d'action

Elles sont bactéricides. Elles se fixent sur l'ARN polymérase en formant un complexe irréversible. Ainsi elles inhibent l'ARN-polymérase bactérienne et bloquent la formation de l'ARN messager.(27)

### B- Le spectre d'action

Il est très large. On a entre autres : la plupart des Cocci Gram positif (*Streptocoques*, *Pneumocoques*, *Staphylocoques*...), les *Neisseria*, les *Haemophilus influenzae*, les *Listeria*, les *Clostridium*, les *Escherichia coli*, les *Enterobacter*, les *Proteus*, les *Serratia*, les *Klebsiella*, les *Acinetobacter*, les *Providencia*, les *Brucella*, les *Salmonella*, les *Shigella*, les *Pseudomonas aeruginosa*

En Algérie, la rifampicine est réservée au traitement de la tuberculose.(27)

## V.4- Les inhibiteurs de la synthèse de l'acide folique

### V.4.1- Les sulfamides

#### A- Le mécanisme d'action

Les sulfamides sont bactériostatiques. La bactérie édifie l'acide folique à partir de l'acide para-amino-benzoïque, l'acide glutamique et la ptéridine grâce à une enzyme appelée la dihydrofolique acide synthétase. L'acide folique ainsi sécrété doit être réduit par une hydrofolate réductase entétrahydrofolate acide synthétase.

Les sulfamides inhibent la dihydrofolique acide synthétase et bloquent ainsi la synthèse de l'acide folique.(27)

#### B- Spectre d'activité

Ils ont un large spectre d'action, mais actuellement plus réduit (résistances).

- Cocci à Gram positif
  - *Staphylococcus* ont une sensibilité variable
  - *Streptococcus* groupe A, B, C et G présentent actuellement des résistances acquises,
  - *Streptococcus pneumoniae* a une sensibilité variable,
  - *Enterococcus faecalis* est résistant naturellement.
  
- Bacilles à Gram positif
  - Les lactobacilles sont naturellement résistants, *Clostridium*, *Bacillus*, *nocardia*, *Actinomyces*, *Listeria monocytogènes* ainsi que quelques souches de *Corynebacterium* sont sensibles.
  
- Cocci à Gram négatif
  - *Neisseriameningitidis* et *gonorrhoeae* ont une sensibilité variable,
  - *Haemophilus*, *Pasteurella* et *Vibrio cholerae* sont sensibles,
  - *Brucella*, *Franciella* et *Bordetella pertussis* sont peu sensibles,
  - *Chlamydia* est sensible,
  - *Borrelia*, *leptospire*, *Treponemes*, Mycoplasmes et Rickettsies sont résistants.(27)

## V.4.2-Sulfamides et associations

### A- Mécanisme d'action

Le Triméthoprime agit dans le blocage enzymatique de la synthèse de l'acide folique, juste après les sulfamides. Les deux molécules bloquent la synthèse des folates à deux stades différents, ce qui renforce leurs activités antibactériennes.

L'intérêt de cette association est que les mutants résistants aux deux composants apparaissent moins rapidement et l'association a un effet bactéricide.(27)

### B- Spectre d'activité

#### • Cocci à Gram positif

- *Staphylococcus aureus* reste sensible à l'association alors que les *Staphylococcus à coagulase négative* sont souvent résistants,
- *Enterococcus faecalis* et le *Streptocoque* du groupe A doivent être considérés comme résistants
- Les *Streptocoques* B, C et G sont le plus souvent sensibles ainsi que *Streptococcus pneumoniae*,

#### • Bacilles à Gram positif

- *Listeria*, *Actinomycètes* sont sensibles,
- *Clostridium* est résistant,

#### • Cocci à Gram négatif

- *Neisseriameningitidis* est naturellement résistant au triméthoprime et à une sensibilité variable au sulfa-méthoxazole

#### • Bacilles à Gram négatif

- Entérobactéries: sensibilité variable,
- *Haemophilus*, *Legionella* et *pseudomonaspseudomallei* et *cepacia* sont sensibles.(27)

## V.5-Les antibiotiques qui provoquent l'altération des membranes

### V.5.1-Les polymyxines

Elles appartiennent à la classe des polypeptides cycliques et sont extraites de *Bacilluspolyxema*.

#### A- Le mécanisme d'action

Les polymyxines pénètrent dans la bactérie et se fixent sur les phospholipides des membranes externes et cytoplasmiques. Ceci entraîne la désorganisation de celles-ci.(27)

#### B- Le spectre d'action

Elles sont actives contre les germes Gram négatif : *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Vibrio*, *Shigella*...(27)

## V.6-Autre activités des antibiotiques

Les antibiotiques sont des agents antibactériens dont plusieurs sont également actifs sur certains parasites ou champignons. Ainsi, la rifampicine (Rifadinet) est active dans certaines formes de leishmanioses cutanées ou en association sur *Aspergillus* sp ; la minocycline (Mynocinet), l'adoxycycline (Vibramycinet) et certains macrolides sont actifs sur *Plasmodium falciparum* et sur *Toxoplasma gondii*. La clindamycine (Dalacinet) et les nouveaux macrolides sont efficaces dans le traitement de la toxoplasmose. Le métronidazole (Flagylt), ou ses dérivés, est le traitement de référence des amibiases digestives, et possède également une action sur *Trichomonas vaginalis* et *Lambliaintestinalis*. Le cotrimoxazole (Bactrimt) est utilisé dans le traitement des pneumocystoses. Ceci incite donc à évaluer la possible extension du spectre d'activité clinique de chaque nouvelle molécule.(28)

## VI-La résistance bactérienne aux antibiotiques

Pour être efficace, un antibiotique doit pénétrer dans la bactérie, sans être détruit ni être modifié, se fixer sur une cible et perturber la physiologie bactérienne. Un antibiotique peut être caractérisé par son spectre d'action.

Normalement les espèces bactériennes n'appartenant pas au spectre d'action d'un antibiotique sont les seules résistantes à cet antibiotique. Depuis l'émergence de nouvelles

molécules d'antibiotiques dans la thérapeutique, on constate que beaucoup de bactéries appartenant au spectre d'action d'un antibiotique ne sont plus sensibles à ce dernier. (29)

## **VI.1-Définition**

Une souche bactérienne est dite résistante à un antibiotique lorsqu'elle peut croître en présence d'une concentration plus élevée de cet antibiotique que la concentration qui inhibe la majorité des souches de la même espèce.(29)

## **VI.2-Les types de résistance**

Il existe deux types :

### **VI.2.1-Résistance naturelle**

Leur mécanisme sur le génome bactérien, est constant dans un taxon et est généralement chromosomique. Elles correspondent à la résistance de toutes les souches d'une même espèce bactérienne à un antibiotique.

Elles sont dues soit à une absence de cible pour l'antibiotique soit à une imperméabilité de la paroi à cet antibiotique.Par exemple les entérobactéries sont résistantes aux macrolides.(29)

### **VI.2.2-Résistance acquise**

C'est l'acquisition de nouveaux gènes capables de rendre la bactérie insensible à un antibiotique ou à un groupe d'antibiotiques. Ce nouveau gène peut être obtenu soit par mutation au niveau du chromosome qui est un phénomène rare soit par transfert d'ADN de plasmides conjuguatifs ou de transposons (mécanisme le plus fréquent).(29)

- **Plasmides :**

L'information génétique est portée par des plasmides, transférables à d'autres bactéries par conjugaison, transduction ou transformation.(29)

- **Transposons :**

Ce sont des fragments d'ADN "sautiers" qui peuvent s'intégrer soit dans le chromosome soit dans des plasmides, en allant de l'un à l'autre.(29)

• **Les intégrons :**

Sont de nouveaux éléments génétiques contenant un ou plusieurs gènes de résistance sous forme de cassettes. Les cassettes sont des unités mobiles qui peuvent être facilement intégrées dans un intégron par un mécanisme de recombinaison spécifique de site. Les intégrons ont surtout été étudiés chez les bactéries à Gram négatif mais ont aussi été mis en évidence chez des bactéries à Gram positif (Corynebactéries, Entérocoques). Les intégrons jouent donc probablement un rôle important dans la dissémination des gènes de résistance aux antibiotiques au sein du monde bactérien. La découverte récente de « superintégrons » hébergeant une centaine de cassettes codant des fonctions différentes de la résistance aux antibiotiques suggère en fait un rôle plus large des intégrons qui seraient impliqués dans l'évolution des génomes bactériens et dans l'adaptation des espèces.(30)

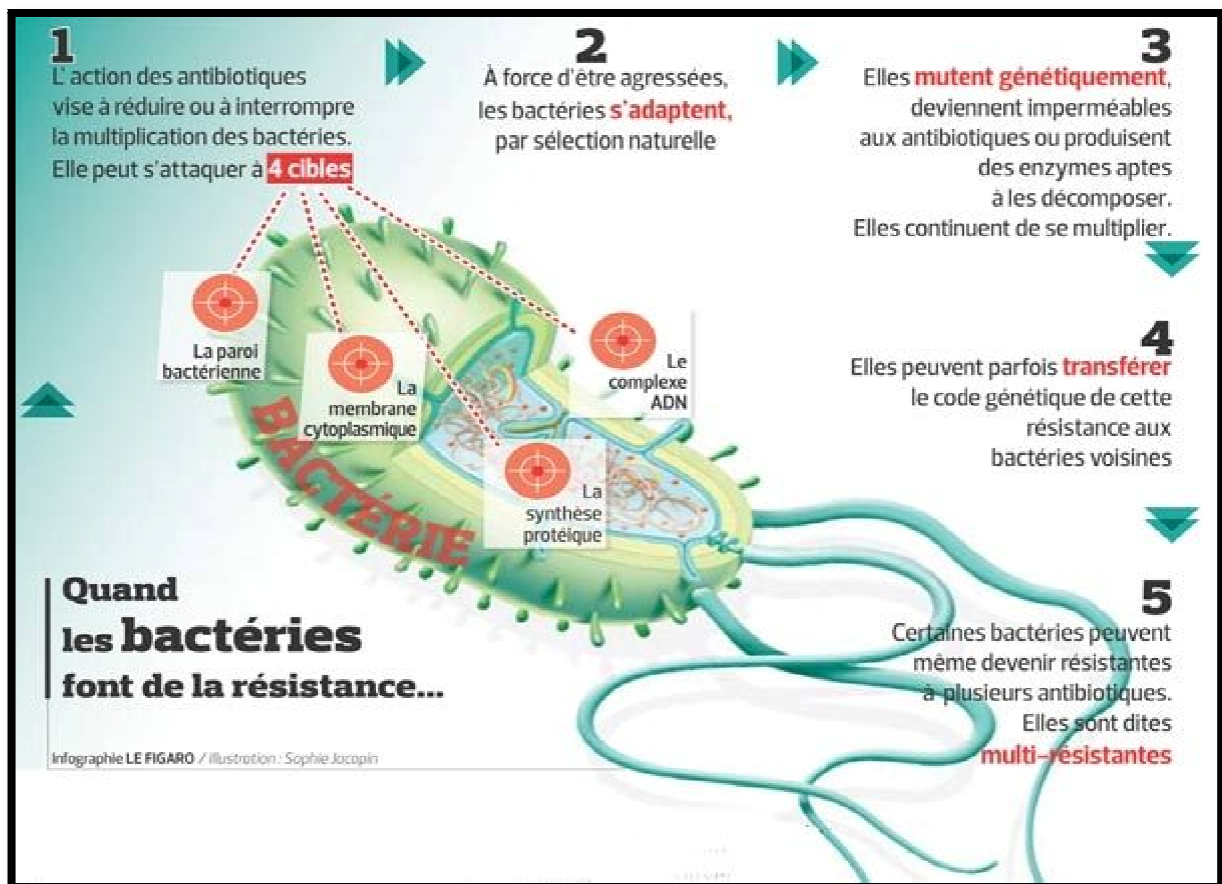
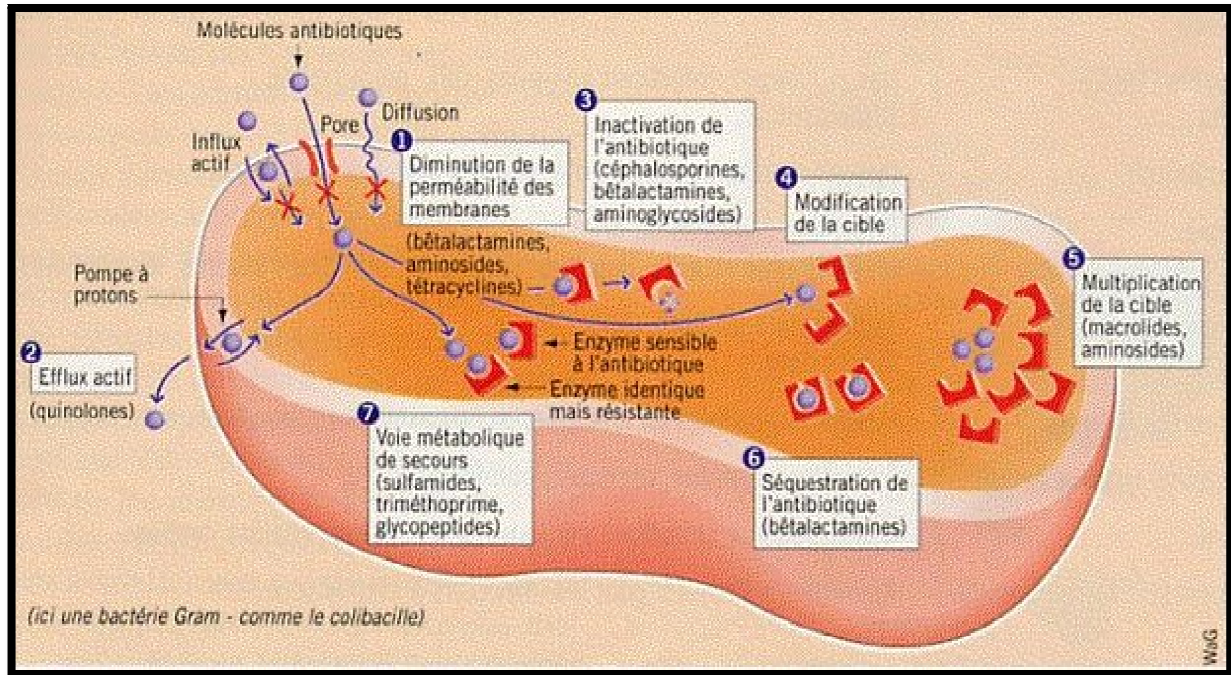


Figure 07 : Les différentstypes de résistances bactériennes (31)

### VI.3-Mécanismes de la résistance

Pour chacune des familles d'antibiotiques, il existe au moins un mécanisme permettant à la bactérie de résister. Les mécanismes les plus fréquemment observés sont :



**Figure 08** : Les mécanismes de résistance bactérienne (32)

١. La modification de la perméabilité membranaire (1)
٢. L'efflux (2)
٣. La production d'enzymes (3)
٤. La modification de la cible de l'antibiotique (4)

Cependant, il existe des voies secondaires moins souvent utilisées :

٥. La multiplication de la cible permet aussi de diminuer l'efficacité de l'antibiotique.(5)
٦. L'emprisonnement de la substance par la bêta-lactamine.(6)
٧. Voie alternative : Le système « by pass » Il s'agit de la mise en place d'une voie métabolique de secours remplaçant la réaction inhibée par le médicament. (7)

(33)

## **I-Cadre d'étude**

Cette étude s'est réalisée sur une période de deux mois, au laboratoire de microbiologie du Centre Hospitalier Universitaire(CHU) BENFLIS Touhami de Batna. Ont participé à celle-ci les services suivants: la Chirurgie Homme, Femme, Infantile et Urologique .Dans chacun de ces services se trouvait une équipe composée au moins d'un médecin ou d'un chirurgien chargé de faire le diagnostic d'infection et d'un infirmier qui s'occupait des pansements quotidiens.

### **I.1-Le CHU de Batna**

Le CHU de Batna est composé de différents services :

- Le service de Pharmacie,
- Les services : les laboratoires [de Microbiologie, de Biochimie et de Parasitologie], le service de Radiologie, Hématologie, Immunologie, Toxicologie, Histologie, CTS (Centre de Transfusion Sanguin) + La Banque de sang, Pédiatrie, Cardiologie, Ophtalmologie.

**I-II** se trouve au Terrain principal du service : Néphrologie, Hématologie, Réanimation médicale, Biochimie, Immunologie, Toxicologie, CTS + Banque de sang, Microbiologie.

**II- 1<sup>er</sup>** étage : Ophtalmologie, Traumatologie,

**III-2<sup>ème</sup>** étage: Chirurgie (Femme, Homme, Infantile et Urologique),

**IV-3<sup>ème</sup>** étage : Pédiatrie, Endocrinologie, Cardiologie,

**V-4<sup>ème</sup>** étage : Médecine (Femme et Homme), Neurologie.

### **I.2-Le laboratoire de microbiologie**

#### **I.2.1-Situation géographique**

Le laboratoire de microbiologie du CHU Benflis Touhami de Batna se trouve au terrain principal du service.

Les locaux sont composés :

- D'un bureau du chef de service (Médecin chef),
- D'une secrétaire et surveillante de service,
- D'un bureau des maîtres assistants + bureau des résidents,
- D'une salle de préparation des milieux de culture,
- D'une salle de manipulation qui comporte 4 paillasse :
  - ✓ Une paillasse pour l'examen cyto bactériologique des urines,
  - ✓ Une paillasse pour l'examen d'hémoculture,
  - ✓ Une paillasse pour les prélèvements génitaux,
  - ✓ Une paillasse pour l'antibiothérapie et recherche,
  - ✓ Unité de Tuberculose,
  - ✓ Unité d'urgences bactériologiques,

### **I.2.3-Les personnel**

Le personnel est composé :

- D'un professeur,
- 06Maîtres assistants,
- 03Spécialistes,
- 08Résidents,
- 01Surveillant médical (Chef d'équipe),
- 01 Secrétaire,
- 20Techniciens.

### **I.2.4-La mission du laboratoire**

Le laboratoire de Microbiologie a pour vocation diagnostic et recherche. En effet, comme tous les laboratoires de Microbiologie, le laboratoire aide les cliniciens dans l'établissement d'un diagnostic rapide et efficace des maladies. Il vient également, dans l'étude de la sensibilité des bactéries en facilitant les choix des molécules d'antibiotiques dans le traitement des maladies infectieuses. Le laboratoire de Microbiologie intervient en outre dans la surveillance épidémiologique des maladies épidémiques. Le laboratoire du CHU de Batna fait également des études de recherche et participe à la formation des étudiants en Microbiologie, Médecine, Pharmacie et des étudiants des écoles de formation paramédicale.

## II-Matériels et méthodes

### II.1--Objectif de l'étude

- Connaître la fréquence des bactéries isolées et leur profil de sensibilité aux antibiotiques.

**II.2- Lieu d'étude :** Laboratoire central de Microbiologie.

**II.3- Période d'étude :** Mai- Juin 2012.

### II.4-Echantillonnage :

- **Origine des souches :** Services de chirurgie Femme, Homme, Infantile et Urologique
- **Nombre de prélèvement :** 33
- **Nature des prélèvements :** Pus et sérosités purulentes au niveau des sites opératoires

### II.5-Méthodes d'étude

#### II.5.1- Recrutement des patients

##### A- Patients inclus

Ont été considérés dans cette étude les patients qui répondaient exclusivement aux situations suivantes:

- Admission aux services concernés par l'étude,
- Présence d'une infection du site opératoire suite à l'intervention chirurgicale,
- Présence suffisante de pus permettant de faire un prélèvement à l'écouvillon.

##### B- Patients exclus

Ont été exclus dans cette étude les patients suivants:

- patients ayant suppuré après leur sortie et qui venaient aux services pour un traitement,
- patients ayant subi une réintervention chirurgicale au niveau d'une même localisation opératoire en raison d'une complication infectieuse ou non de l'intervention (sauf si le temps écoulé entre les deux est supérieur à 30 jours),

- Patients ayant subi les procédures suivantes: incision d'abcès cutané superficiel (panaris, abcès de la marge anale...).

### II.5.2-Techniques de prélèvement

Les prélèvements sont effectués en passant un écouvillon stérile sur plaies opératoires fermées et ouvertes. L'enrichissement du nombre de germes est réalisé en mettant chaque écouvillon dans un tube contenant du Bouillant Nutritif.

Tous les prélèvements effectués sont notés des informations concernant le patient telles que: nom, prénom, âge, sexe, service, nature de la plaie et la date d'admission.

#### Quelques fautes techniques à éviter :

- Contaminer les prélèvements avec les flores commensales.
- Laisser les prélèvements en attente pendant plusieurs heures.

### II.5.3- Traitement des prélèvements

Selon la consistance, il était nécessaire de faire une dilution du produit Pathologique (Pus) dans de l'eau physiologique pour permettre une bonne observation microscopique cette dilution s'effectuait au moment de confectionner le frottis.

### II.5.4-Examen cytobactériologique

#### A- Examen macroscopique

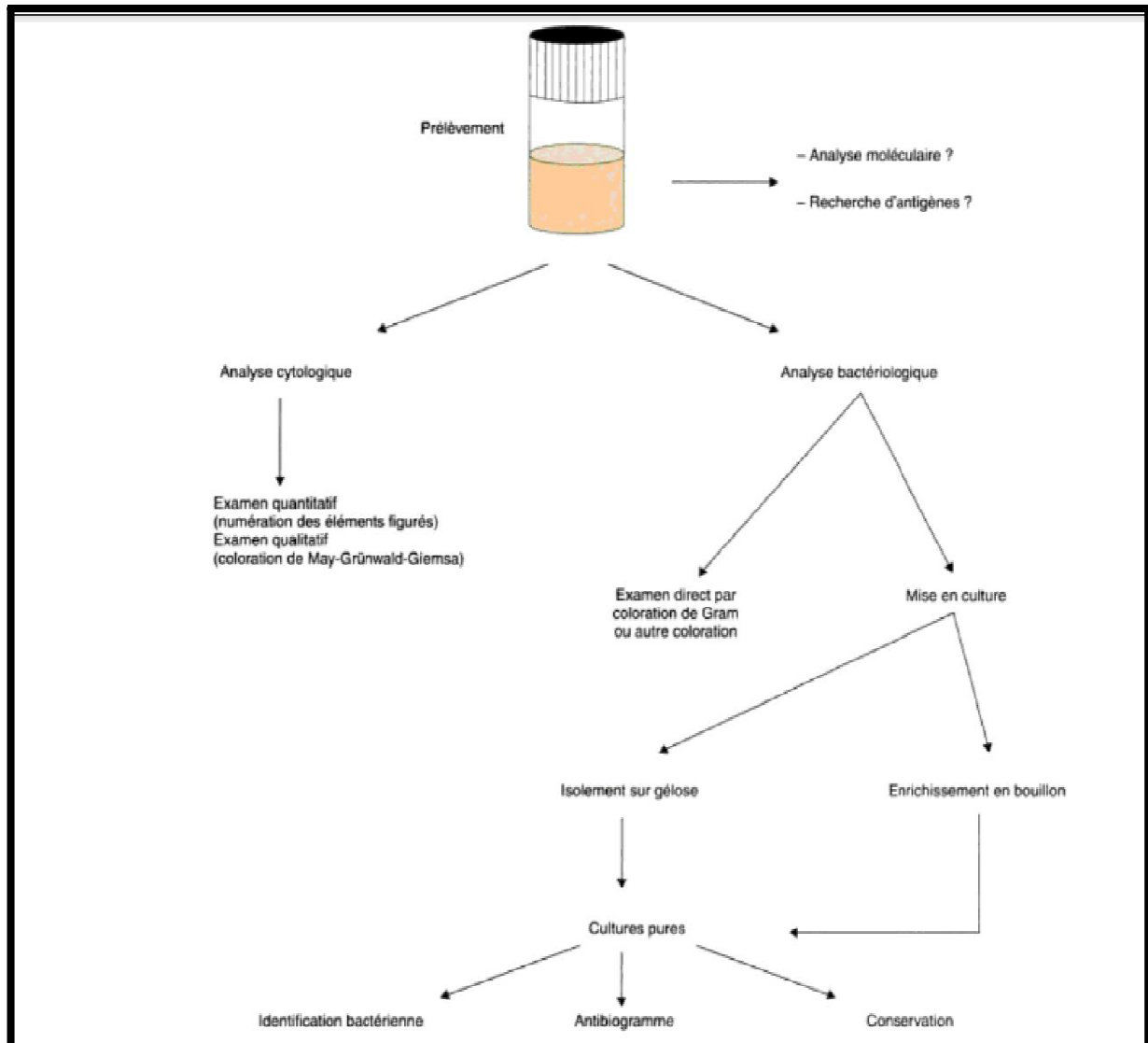
A ce stade on notait, l'aspect du produit pathologique.

#### B- Examen microscopique

A l'aide du microscope optique il y'a tout d'abord :

- **Observation microscopique à l'état frais (x40-x100) :** Permet de déterminer la morphologie, la mobilité et le type de regroupement regroupement. (Voir Annexe N°2)

- **Observation microscopique avec coloration de Gram :** A partir du prélèvement traité si nécessaire, on réalisait un frottis qui était coloré au Gram pour la bactériologie. L'examen microscopique à l'objectif (x100) permettait d'apprécier l'aspect de la flore. Une grande importance était accordée à ce Gram direct, car il permettait de faire un choix judicieux des milieux à ensemencer. (Voire Annexes N°02)



**Figure 09 :** Schéma de la démarche de l'analyse bactériologique(34)

## II.5.5-Méthodes d'isolement et d'identification des bactéries

### A- Méthode d'isolement

#### - Ensemencement

L'ensemencement des prélèvements a été fait en premier temps sur une gélose nutritive ensuite sur deux milieux sélectifs :

- **Milieu Hektoën ou BCP** : Pour les Bacilles à Gram Négatif(BGN).
- **Milieu Chapman** : Pour les Staphylocoques.

Et sur

- **Gélose au sang cuit(Chocolat)** : Pour les germes exigeants et déficients.

(Voir Annexes N°3)

### B- Méthode d'identification

- Galerie classique et Api 20 E** : pour les Bacilles à Gram Négatif fermentaires type Entérobactéries. (Voir Annexe N°4 et 5)
- Galerie Api 20 NE** : pour les bacilles non fermentaires. (Voir Annexe N°6)
- Milieu Chapman+ Recherche de la coagulase (sur plasma humain)** : pour les Cocci à Gram positif (Voir Annexe N°7)

## II.5.6-Détermination de la sensibilité des souches isolées aux antibiotiques [L'antibiogramme]

### A-Définition

L'antibiogramme ou la détermination de la sensibilité des bactéries aux agents antibactériens est l'étude de la croissance bactérienne en présence d'un gradient de concentration réalisée dans un milieu de culture. (35)

## **B- But de l'antibiogramme**

Le but essentiel de l'antibiogramme est l'aide à la décision thérapeutique, il sert également à :

- La surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne qui orientera ultérieurement l'antibiothérapie probabiliste.
- La comparaison des phénotypes de résistance de souches présumées responsables d'infections nosocomiales.
- L'identification bactérienne par la mise en évidence des résistances naturelles.

(35)

## **C-Principe de l'antibiogramme**

La technique consiste à déposer à la surface de la gélose préalablementensemencée avec une suspension bactérienne, des disques de papier buvard imprégnés des différents antibiotiques ; il existe des disques spécifiques des bactéries à Gram positif et des disques spécifiques des bactéries à Gram négatif. Après 18 à 24 heures d'incubation à 37°C, chaque disque est entouré d'une zone d'inhibition de la gélose, une concentration d'antibiotique égale à la CMI. Le profil de sensibilité aux antibiotiques des bactéries peut être déterminé par les diamètres des zones d'inhibition des colonies incubées sur boîtes en contact avec les disques des antibiotiques. (35)

## **D- Antibiogramme par diffusion des disques**

### **a.Milieu pour antibiogramme**

- Il doit être coulé en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm.
- Les géloses doivent être séchées avant l'emploi.

(35)

### **b. Préparation de l'inoculum**

-A partir d'une culture de 18 à 24h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.

-Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 MF(Mc Farland) ou à une D.O (Densité Optique) de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm. L'utilisation d'un densitomètre est fortement souhaitable dans la technique CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) préconisée par l'OMS.(35)

### **c.Ensemencement**

-Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.

-L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum.

-Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrés.

-Répéter l'opération 2 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.

- Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

(35)

### **d.Application des disques d'antibiotiques**

- Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotique sur une boîte de 90mm.

- Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces bactériologiques stériles et ne pas déplacer les disques après application.

(35)

### e. Conditions d'incubation

-Respecter la température, l'atmosphère et la durée d'incubation recommandées pour chaque bactérie.

(35)

### f. Lecture

-Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.

--Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton simple(Voir Annexe N°8), les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de Pétri fermée.

-Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton au sang, les mesures de diamètres de zones d'inhibition seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de Pétri ouverte et bien éclairée.

-Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques dans les tables de lecture correspondantes selon CLSI.

-Classer les bactéries dans l'une des catégories **S**, **R** ou **I**.

(35)

**Tableau04** : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour les Entérobactéries (35)

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètre critique (mm)		
		R	I	S
Ampicilline	10µg	≤13	14-16	≥17
Amoxicilline+Acide clavulanique	20/10µg	≤13	14-17	≥18
Céfazoline	30µg	≤19	20-22	≥23
Céfalotine	30µg	≤14	15-17	≥18
Céfoxitine	30µg	≤14	15-17	≥18
Céfotaxime	30µg	≤22	23-25	≥26
Ceftriaxone	30µg	≤19	20-22	≥23
Imipénème/Méropénème	10µg	≤19	20-22	≥23
Ertapénème	10µg	≤19	20-22	≥23
Amikacine	30µg	≤14	15-16	≥17
Gentamicine	10µg	≤12	13-14	≥15
Acide nalidixique	30µg	≤13	14-18	≥19
Ciprofloxacine	05µg	≤15	16-20	≥21
Chloramphénicol	30µg	≤12	13-17	≥18
Furanes	300µg	≤14	13-17	≥17
Fosfomycine	200µg	≤12	13-15	≥16
Trimétoprime+Sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	≤10	11-15	≥16

I=Intermédiaire, R=Résistant, S=Sensible

**Tableau 05** : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *Pseudomonas aeruginosa* (35)

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètre critique (mm)		
		R	I	S
Ticarcilline	75µg	≤14	.....	≥15
Ticarcilline+Ac.clavulanique	75/10µg	≤14	.....	≥15
Pipéracilline	100µg	≤17	.....	≥18
Céftazidime	30µg	≤14	15-17	≥18
Aztréonam	30µg	≤15	16-21	≥22
Imipénème	10µg	≤13	14-15	≥16
Amikacine	30µg	≤14	15-16	≥17
Gentamicine	10µg	≤12	13-14	≥15
Nétilmicine	30µg	≤12	13-14	≥15
Tobramycine	10µg	≤12	13-14	≥15
Ciprofloxacine	5µg	≤15	16-20	≥21
Lévofloxacine	5µg	≤13	14-16	≥17
Fosfomycine	50µg	≤14	.....	≥14
Rifampicine	30µg	≤14	14-18	≥19
Colistine	10µg	≤10	.....	≥11

I=Intermédiaire, R=Résistant, S=Sensible

**Tableau 06** : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *Acinetobacter spp* (35)

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètre critique (mm)		
		R	I	S
Ticarcilline	75µg	≤14	15-19	≥20
Ticarcilline+Ac.clavulanique	75/10µg	≤14	15-19	≥20
Pipéracilline	100µg	≤17	18-20	≥21
Céftazidime	30µg	≤14	15-17	≥18
Imipénème	10µg	≤13	14-15	≥16
Amikacine	30µg	≤14	15-16	≥17
Gentamicine	10µg	≤12	13-14	≥15
Nétilmicine	CMI	.....	.....	.....
Tobramycine	10µg	≤12	13-14	≥15
Ciprofloxacine	5µg	≤15	16-20	≥21
Lévofloxacine	5µg	≤13	14-16	≥17
Rifampicine	30µg	≤14	14-18	≥19

I=Intermédiaire, R=Résistant, S=Sensible

**Tableau 07** : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *Staphylococcus spp* (35)

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètre critique (mm)		
		R	I	S
Pénicilline	10µg	≤28	.....	≥29
Oxacilline	1µg	≤10	11-12	≥13
Cefoxitine	30µg	≤24	.....	≥25
Gentamicine	10µg	≤12	13-14	≥15
Kanamycine	30µg	≤13	14-17	≥18
Amikacine	30µg	≤14	15-16	≥17
Erythromycine	15µg	≤13	14-22	≥23
Lincomycine	2µg	14	15-20	≥21
Vancomycine	CMI	.....	.....	.....
Teicoplanine	30µg	≤10	11-13	≥14
Ofloxacine	5µg	≤14	15-17	≥18
Rifampicine	5µg	≤16	17-19	≥20
Triméthoprim+Sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	≤10	11-15	≥16
Tétracycline	30µg	≤14	15_18	≥19
Chloramphénicol	30µg	≤12	13-17	≥18
Pristinamycine	15µg	≤19	19-21	≥22
Acide fusidique	10µg	≤24	.....	≥24
Fosfomycine	50µg	≤14	.....	≥14

I=Intermédiaire, R=Résistant, S=Sensible

## Discussion

Notre étude a porté sur un total de 30 souches bactériennes comprenant 08 espèces différentes réparties en Bacilles Gram Négatif (BGN) et en Cocci Gram Positif (CGP). Les entérobactéries forment le groupe bactérien le plus fréquemment isolé. C'est ainsi que 70% été des bacilles à Gram négatif avec comme tête de file les *Entérobactériaceae* (*Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* 13,33% , 10% d'Enterobactersp, *Shigella* 3,33% et *Proteus morgani* 3,33%), *Pseudomonadaceae* [*Pseudomonas aeruginosa* 20%] et finalement la famille des *Neisseriaceae* [*Acinetobacter* sp 6,67%].

Mes résultats se rapprochent de ceux rapportés par MALLARET (36) qui montrent une prédominance nette des Entérobactéries (30%) et des Staphylocoques (30%), suivies des Bacilles à Gram Négatif non Fermentaires (BGNF) (21%) et autres (19%).

Par ailleurs FRANCIOLI P (37) présentent un tableau plutôt favorable aux Staphylocoques avec (31%) des isolats suivis des Entérobactéries (21%), des Streptocoques (15%), des BGNF (8%), *Candida albicans* (2%) et autres (20%).

Mais tous ont montré que la majeure partie des infections étaient polymicrobiennes comme le montrent mes résultats.

Dans une autre étude de DIOP. O (38), les résultats obtenus présentent à peu près le même profil avec toutefois une plus faible implication des Entérobactéries contrairement à mes résultats. Cette différence pourrait s'expliquer par l'évolution de la multirésistance de ces germes aux antibiotiques usuels.

L'étude de la sensibilité par diffusion des disques constituait la dernière étape mais permettait d'édifier sur le choix des antibiotiques à utiliser en thérapeutique. Il était donc impératif de travailler sur une souche pure et jeune pour éviter des variations de sensibilité par mutation comme l'expliquent FAYE. I (39).

Dans mon étude, la sensibilité des Entérobactéries a montré plus de 75% des souches sont résistantes aux Aminopénicillines et aux Carboxypénicillines serait essentiellement due à la synthèse de bêta-lactamases. Ces résultats sont comparables à une étude effectuée à Marseille. Une bonne activité des Aminosides a été notée 100% pour l'Amikacine.

La Colistine a présenté 100% de sensibilité en moyenne, ce qui est proche du pourcentage obtenu par une étude Marseillaise. Ces résultats confirment la bonne activité de cette molécule sur les *Entérobactéries*.

La résistance naturelle de *Pseudomonas aeruginosa* à l'égard des antibiotiques est très importante en raison de l'imperméabilité de sa paroi. Elle est naturellement résistante vis-à-vis des Aminopénicillines, des Céphalosporines de première et de deuxième génération par production de céphalosporinases chromosomiques inductibles.

Mes résultats sont comparables à ceux décrits par KANE K.T (40).

Les souches qui présentent un profil de sensibilité à 100% aux Aminosides. Les quinolones ont conservé leur bonne activité notamment la Ciprofloxacine et les autres antibiotiques : Colistine, Tobramycine et la Gentamycine avec 100% de souches sensibles.

Les deux souches isolées d'*Acinetobacter*.sp montrent une résistance vis-à-vis aux Carboxypénicillines, Carbapénèmes, des Aminosides, des Polymixines et de la Ciprofloxacine avec 100% des souches sensibles.

Les Céphalosporines de deuxième génération sont moyennement actives contre les souches étudiées avec les Sulfaméthoxazol+Triméthoprim. Alors que les Céphalosporines de troisième génération sont actives à 100% contre les *Acinetobacter*.sp.

Mais vu le nombre limité de germes étudiés, il serait illusoire de comparer ces résultats à d'autres afin de donner une idée précise sur l'évolution de l'épidémiologie des résistances bactériennes.

Les Cocci à Gram positif représentent 30 % de mon isolat avec la prédominance de *Staphylococcus aureus*, suivi de *Staphylococcus à coagulase négative* (blanc).

Les infections à *Staphylococcus aureus* occupent en milieu hospitalier une place croissante en raison de leur forte présence dans la flore commensale de l'homme, mais aussi de leur pouvoir pathogène et de leur caractère de résistance aux antibiotiques (21). 80% des souches de notre étude sont méthicillino-Résistants. Les taux obtenus dans l'étude de KANE (40) sont inférieures aux miennes 15%. Ce qui me fait penser à une diminution de la sensibilité des souches de *Staphylococcus aureus* à la pénicilline. Cette inactivité à la pénicilline est essentiellement due à la sécrétion de pénicillinases.

Les Aminosides ont été très efficaces sur les Staphylocoques et ont inhibé la quasi-totalité des souches.

La Rifampicine constitue également une alternative au traitement surtout en cas de multirésistance, cela est confirmé par les études de FAYE I(39). avec 60% de souches sensibles.

La Vancomycine est active sur 60% des souches alors que DIOP. O(38) note que la Vancomycine est active sur toutes les souches. Cette disparité peut être expliquée par un développement de la résistance des bactéries contre la Vancomycine.

L'Erythromycine a montré une faible activité contre les souches de *Staphylococcus aureus* avec 40% de souches résistantes.

Les Aminoside montrent une faible activité contre le *Staphylococcus aureus* contrairement à l'étude de CHRISTAIN(41).

Au vu de tous ces résultats, il serait indispensable d'effectuer un antibiogramme avant la prescription d'un antibiotique, surtout les Aminopénicillines. Cependant, les Aminosides (sauf pour les Staphylocoques) et la Colistine présentent une bonne activité et doivent être utilisés avec une grande efficacité

## Conclusion

La surveillance des infections nosocomiales est un bon moyen de sensibiliser les personnels de santé et d'attirer leur attention sur l'épidémiologie infectieuse locale, permettant ainsi de développer des actions de prévention au niveau d'un service ou d'un établissement de santé.

Ces actions s'intègrent dans une démarche d'amélioration de la sécurité et de la qualité des soins dispensées aux patients.

C'est dans cette optique que j'ai entrepris cette étude pour mieux évaluer la place occupée par les bactéries aérobies dans les infections suppuratives post-opératoires.

Cette étude a porté sur un total de 33 prélèvements provenant de malades hospitalisés ayant subi une intervention chirurgicale et qui ont développé une infection du site opératoire. Ces malades ont été sélectionnés dans différents services du CHU Benflis Touhami de Batna, notamment dans les services de Chirurgie Homme, Femme, Infantile et Urologique.

C'est ainsi que 30 souches bactériennes aérobies, à l'origine d'infections du site opératoire, ont été isolées au Laboratoire Centrale de Microbiologie du CHU Benflis Touhami du 9 Mai jusqu'au 7 Juin 2012.

70% des souches isolées sont des Bacilles à Gram négatif et 30% sont des Cocci à Gram positif

Les souches bacillaires à Gram négatif sont connues pour leur rôle prépondérant dans les infections du site opératoire (*E.coli* 13,33%, *Klebsiella pneumoniae* 13,33% , *Enterobacter sp* 10%, *Morganella morganii* 6,67%, *Pseudomonas aeruginosa* 20% et *Acinetobacter sp* 6,67%)

Quant aux Cocci à Gram positif, dont le plus fréquent *Staphylococcus aureus* 16,67%, suivis des *Staphylococcus à coagulase négative* 13,33% qui sont connues pour leur existence dans l'environnement mobilier (l'air, eau, sol), matériel, peau, cheveux et elles vivent très fréquemment à l'état commensal sur la peau et les muqueuses des organismes humains.

Pour mieux lutter contre ces germes, il est impératif de déterminer et de connaître leur profil de sensibilité vis à vis des agents anti-infectieux.

Ainsi, l'analyse des données pour la sensibilité des germes aux antibiotiques a permis de dégager un certain nombre de profils. C'est ainsi que pour les Entérobactéries, les aminopénicillines ont présenté une faible activité.

Cette faible activité peut être néanmoins améliorée par l'utilisation d'inhibiteur de bêtalactamases comme l'acide clavulanique.

Par contre les céphalosporines de troisième génération se sont révélées très actives de même Les aminosides (surtout l'Amikacine) se sont montrés très efficaces. La Colistine constitue un très bon anti-infectieux pour le traitement des infections dues à ces Entérobactéries.

Pour *Pseudomonas aeruginosa*, les bêta-lactamines et l'Imipenem se sont montrés efficaces. Cependant, les céphalosporines de troisième génération ont été particulièrement efficaces, La Ciprofloxacine, la Colistine et les Aminosides se sont révélés comme des anti-pyocyanique de choix constituant ainsi une bonne alternative.

Quant aux cocci à Gram positif, *Staphylococcus aureus* s'est montré résistante aux Pénicillines. On a aussi noté un pourcentage de 80% de souches méthicillino-Résistants (SAMR). Les autres antibiotiques tels que la Lincomycine, la Tétracycline Le Chloramphénicol et la Pristinamycine demeurent de bonnes alternatives.

La résistance aux antibiotiques des micro-organismes n'a cessé de croître de manière est ce que l'utilisation de certains antibiotiques est devenue très limitée (cas des de Pénicilline et d'Amoxicilline montrés dans ce travail).

Au sortir de cette étude, le constat qui se dégage est qu'à chaque nouveau anti-infectieux, les bactéries développent des contre-mesures défensives. Face à cette immense plasticité du monde bactérien qui s'adapte aux nouvelles thérapies avec une rapidité supérieure à celle avec laquelle évolue l'industrie pharmaceutique. Ainsi, la prévention demeure le meilleur moyen de lutte contre les infections du site opératoire. Cette prévention s'articule :

- D'abord sur le respect des mesures d'hygiène et propreté individuelle, collective et de l'environnement hospitalier (locaux, matériels médicaux, personnel hospitalier, malades et visiteurs) ;
- Ensuite, veiller sur l'efficacité de l'antibioprophylaxie et de l'antibiothérapie.

L'emploi d'un antibiotique à spectre étroit est préférable à un antibiotique large spectre qui va exercer une forte pression de sélection sur la flore commensale et concourt ainsi à la dissémination des plasmides de résistance.

Enfin, une politique d'installation de comités de lutte contre les infections nosocomiales devrait être initiée pour mieux contribuer à la surveillance de ces infections mais aussi à faire respecter les mesures préventives.

## Références Bibliographiques

- (1) Guide Pratique :Prévention des infections nosocomiales.2<sup>ème</sup> édition. Suisse : Organisation Mondiale de Santé(OMS),2008, 5-9
- (2) **ASTRAGNEAU P.** (1998)Epidémiologie des infections nosocomiales.Revu Pratique(OMS).
- (3) **FRISON.ROCHE.**(1995).Les infections nosocomiales.Revu Pratique.Paris-Nord.CLIN.
- (4) Programme de surveillance et prévention des infections du site opératoireGuide Methodologique.Paris-Nord. CLIN,( Décembre 2000).
- (5) **CONSEIL SUPERIEUR D'HYGIENE PUBLIQUE DE France.**100 recommandations pour la surveillance et la prévention des I.N. Comité Technique National des I.N-2<sup>ème</sup> édition(1999).
- (6) **GLEN MAYHALL.C.**(2004).D'épidémiologie hospitalière et lutte contre les infections.3<sup>ème</sup> édition illustrée.Lippincott.w et Wilkins.
- (7) **HUREAU.J,POITOUT.D.**(2010). L'expertise médicale en responsabilité médicale et en réparation d'un préjudice corporel.3<sup>ème</sup> édition. France: ELSEVIER / MASSON.
- (8) **EBERTIN T.**(1997).Les infections microbiennes. 2<sup>ème</sup> éditions Nathan Université. Collection. Sciences.
- (9) **JARLIER V.**(2004).Bactéries multi résistantes dans les hôpitaux français. Epidemiologie Hebdomadaire.
- (10) **KADI Z, GOLLIOT F, ASTAGNEAU P.**(1995).Guide de définition des I.N. CCLIN Paris-Nord.

- (<sup>11</sup>) **BERCHE P, GALLARD J. L, SIMONNET M.** (1991). Les infections nosocomiales d'origine bactérienne et leur prévention. Bactériologie des infections humaines de la biologie à la clinique. Paris : Flammarion.
- (<sup>12</sup>) **Centre de Coordination de la Lutte contre les I.N de l'inter-region Paris-Nord.** Guide de définition des I.N.(1995).CCLIN Paris-Nord.
- (<sup>13</sup>) **BERGOGNE-BÉRÉZIN.** 14 janvier 1995.Les infections nosocomiales : nouveaux agents, incidence, prévention. La Presse Médicale.
- (<sup>14</sup>) **BENSLIMANI.A.**(2008).Cours de Microbiologie première année post graduation.(SAMIC)Société Algérienne de Microbiologie Clinique.
- (<sup>15</sup>) **BLEICHNER G, BEUCAIRE G, GOTTOT S ET Coll.**(1994).Conférence de consensus de la Société de Réanimation de la Langue Française. Infections liées aux cathéters veineux centraux en Réanimation.
- (<sup>16</sup>) **AVRIL (J.L.) & CARLET (J).**(1998).Les infections nosocomiales et leur prévention. Édition Ellipses.
- (<sup>17</sup>) **HORAN T C, GAYNES R P, MARTOWE WJ ET Coll.** (1992).CDC definitions for nosocomial surgical sites infections. A modification of CDC definitions of surgical wound infections. Infection control hospital epidemiology.
- (<sup>18</sup>) **DRIPPS R, HYNYNEN M, TAMMISTO T.**(1997).A survey of the ASA physical status classification significant variation in allocation among finnish anesthesiologists. Acta anesthesiol scand.
- (<sup>19</sup>) **HAJJAR J.**(2008).Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux –CCLIN Valence Sud-Est.
- (<sup>20</sup>) **BEUCAIRE G.** (1997).Infections nosocomiales. Epidémiologie, critères du diagnostic, prévention et principe de traitement. Revu Pratique.

- (٢١) **AVRIL J.L ,DABERNAT H., DENIS F. ,MONTEIL H.**(2000). BACTERIOLOGIE CLINIQUE. 2<sup>ème</sup> édition : Paris. Ellipses.
- (٢٢) **STORA D.** (2008).Pharmacologie.B.P.Classes Pharmacologiques,3<sup>ème</sup> édition: Paris.
- (٢٣) **FRANCOIS.J, CHOMARAT.M, WEBER.M, GERARD.** (2003).A De l'antibiogramme à la prescription. 2<sup>ème</sup> édition : Nancy l'étoile. BIOMERIEUX.
- (٢٤) **ANDRE.M, LORTHOLARY.O, BRYSKIER. A.**(1998).Classification des antibiotiques :Relation structure-activité Encyclopédie Pratique de Médecine :(Elsevier, Paris), AKOS.
- (٢٥) **BERGOGNE-BEREZIN.E, DELLAMONICA.P.** (1999). Antibiothérapie en pratique clinique, 2<sup>ème</sup> édition :Paris.MASSON.
- (٢٦) **SCHORDERET M. et coll.** (1992).Pharmacologie. Des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques. 2<sup>ème</sup> édition : Genève.*Slatkine*.
- (٢٧) **YALA.D, MERAD.A.S.MOHAMEDI.D,OUAR KORICH. M.N.** (2001).CLASSIFICATION ETMODE D'ACTION DES ANTIBIOTIQUES.Médecine du Maghreb.
- (٢٨) **CARBON. C, REGNIER. B, SAIMOT. G, VILDE JL, YENI. P.** (1995).Médicaments anti infectieux.Paris : Flammarion Médecine-Sciences.
- (٢٩) **NANCIEL.CH.**(2001).Abrégés de bactériologie médicales.1<sup>ère</sup> édition.Paris : MASSON.
- (٣٠) **PLOY M.-C, GASSAMA. A, CHAINIER. D, DENIS. F.**(2005). Les intégrons en tant que support génétique de résistance aux antibiotiques.Elsevier Masson.
- (٣١) **NATHALIE SZAPIRO-MAANOUKIAN.**(2012). L'alarmante résistance des bactéries aux antibiotiques .le FIGARO santé.

- (٣٢) **MARINA.J et DENIS.S.** (1998). Résistance aux antibiotiques: l'état d'urgence, Eurêka n°31.
- (٣٣) **ANTOINE. A, DENIS.C,PATRICE.C.** (1997).La résistance des bactéries aux antibiotiques, Pour la science, n°232.
- (٣٤) **FRANCOIS.D,MARIE-CECILE.P ,CHRISTIAN.M,EDOUARD.B, ROLAND,Q.**(2007).BACTERIOLOGIE MEDDICALE, Technique usuelles. MASSON.
- (٣٥) Document édité avec la collaboration de l'OMS, STANDARISATION DE L'ANTIBIOGRAMME A L'ECHELLE NATIONAL (MEDECINE HUMAINE ET VETERINNAIRE),(2012).6<sup>ème</sup> Edition.
- (٣٦) **MALLARET.M, BOSSERAY.A.**(1996).Infections nosocomiales. Encyclopédie Médecine (ELSEVIER, Paris).
- (٣٧) **FRANCIOLI .P, NAHIMANA .I, WIDMER.A.**(1999). Infections du site chirurgical.Revue Scientifique,MASSON.
- (٣٨) **DIOP. O.**(2001).Place des Bactéries aérobies dans les infections suppuratives du site opératoire.Sénégal :Faculté de Médecine,de Pharmacie et d'Ento-Stomatologie.
- (٣٩) **FAYE.I.**(1997).Surveillance de la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées.Dakar : Faculté de Pharmacie Whonet.
- (٤٠) **KANE K.T.** (1996). Mise au point d'une microméthode d'étude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques. Dakar : Faculté de Médecine et de Pharmacie.
- (٤١) **CHRISTAIN.P.**(1999).Maladies infectieuses 1.doin :Groupe liaison CEDEX.

## *Références Bibliographiques*

---

## ***Annexe 01 : Matériels utilisés***

**1-Instruments et Appareillage :** Anse de platine; Bec Bunsen ; Pipettes Pasteur ; Boîtes de Pétri ;Etuves ;Lames et lamelles ; Microscopes optique ; Becs Bunsen ; Tubes en verre ; Chambre froide ; Sachets en plastique ; Pincés ; Ecouvillons stériles ; Gangs stériles, Densitomètre ; Distributeurs d'antibiotiques, portoirs ;

**2- Réactifs :** Eau physiologique stérile ; violet de gentiane ; lugol ; alcool 90 C° ; fuschinebasique ; huile à immersion ; huile de vaseline ; Kovacs ; bleu de méthylène ; disques imprégnés d'antibiotiques ; Plasma.

**3- Milieux de culture :** Gélose nutritive ; gélose au sang cuit(Chocolat) ; bouillant nutritif ; milieu mannitol- mobilité ; milieu de citrate de Simons ; milieu urée-indole; milieu urée-tryptophane (Urée-Indole);milieu de TSI ; milieu Chapman ; milieuHektoën ; milieu BCP (Bleu de bromocrésol Pourpre) ; Milieu Müller Hinton (MH).

**4-Antibiotiques :** Les antibiotiques utilisés pour la réalisation d'antibiogramme sont résumés dans le tableau avec leurs abréviations.

**Tableau1** : Liste des antibiotiques à tester pour les entérobactéries, BNF et les Cocci à Gram positif

Antibiotiques pour les entérobactéries	Antibiotiques pour les bacilles Non Fermentaires (BNF)	Antibiotiques pour les cocci à Gram Positif
Ampicilline (AMP)	Ticarcilline(TIC)	Pénicilline(P)
Amoxicilline+ Acide clavulanique(AMC)	Ticarcilline+Acide Clavulanique (TIM)	Oxacilline(OXA)
Céfalotine(KF)	Pipéracilline(PPR)	Céfoxitine(FOX)
Céfoxitine(FOX)	Céftazidime(CAZ)	Amikacine(AK)
Céfotaxime(CTX)	Aztréonam(ATM)	Gentamicine(CN)
Imipénème(IMP)	Imipénème(IMP)	Kanamycine(K)
Amikacine(AK)	Amikacine(AK)	Erythromycine(E)
Gentamicine(CN)	Gentamicine(CN)	Lincomycine(MY)
Ciprofloxacine(CIP)	Tobtamycine(TOB)	Pristinamycine(PR)
Colistine(CT)	Ciprofloxacine(CIP)	Chloramphénicol(C)
Chloramphénicol(C)	Rifampicine(RIF)	Vancomycine(VA)
Fosfomycine(FOS)	Fosfomycine(FOS)	Teicoplanine(TEC)
Trimétoprime+ Sulfaméthoxazole (SXT)	Trimétoprime+ Sulfaméthoxazole(SXT)	Trimétoprime+ Sulfaméthoxazole(SXT)
Céfuroxime (CXM)	Colistine(CT)	Tétracycline(TE)

## ***Annexe 02 : Examen microscopique***

### **1. Observation microscopique à l'état frais**

- Déposer une goutte d'une culture en milieu liquide sur une lame de verre.
- Recouvrir la goutte d'une lamelle couvre objet (la culture ne doit pas déborder les contours de la lamelle).
- Luter la lame avec de la paraffine fondue.
- Observer immédiatement au microscope (objectif x40, condenseur non relevé au maximum, diaphragme non complètement ouvert).
- Après observation jeter immédiatement la lame dans un bocal contenant de l'eau de Javel.

### **2. Observation microscopique avec coloration de Gram**

- **À partir d'une culture en milieu liquide**

- Déposer une goutte de bouillon au centre d'une lame de verre, étaler la goutte et laisser sécher.
- Fixer par flambage à l'alcool à 95°.
- Recouvrir la lame de violet de gentiane phéniqué et laisser agir une minute.
- Rincer rapidement à l'eau du robinet et éliminer l'excès d'eau.
- Recouvrir la lame de lugol et laisser agir une minute.
- Rincer à l'eau du robinet et éliminer l'excès d'eau.
- Différencier (décolorer) avec un mélange alcool -acétone ("Différenciateur rapide").  
Ce temps est le plus
- Rincer abondamment à l'eau du robinet.
- Recouvrir la lame de fuchsine de Ziehl 1/10 et laisser agir une minute.
- Rincer à l'eau du robinet.
- Sécher puis observer au microscope (objectif x100 à immersion).

- **À partir d'une colonie**
  - Déposer une goutte d'eau sur une lame de verre.
  - Prélever un fragment de colonie à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée.
  - Dissocier soigneusement l'inoculum dans la goutte d'eau et laisser sécher.
  - Fixer par flambage à l'alcool à 95°.
  - Poursuivre la coloration comme indiquée ci-dessus.

### Annexe 03 : Milieux de culture utilisés pour l'isolement des Germes

#### 1. BCP (gélose lactosée au bromocrésol pourpre)

**Usage :** Isolement non sélectif en particulier pour les Entérobactéries

**Composition :** en grammes par litre d'eau distillée

Peptone.....	5,0 g
Extrait de viande.....	3,0 g
Lactose.....	10,0 g
Bromocrésol pourpre .....	0,025 g
Agar.....	11,0 g
pH =	6,8

#### **Lecture :**

Toutes les bactéries de culture facile cultivées sur ce milieu. Les colonies lactose + sont jaunes, les colonies lactose - restent violettes.

#### 2. Chapman

**Usage :** Isolement des *Staphylococcus*

**Composition :** en grammes par litre d'eau distillée

Peptone.....	10,0 g
Extrait de viande de bœuf.....	1,0 g
Chlorure de sodium.....	75,0 g
Mannitol.....	10,0 g
Rouge de phénol.....	0,025 g
Agar.....	15,0 g
pH =	7,4

#### **Lecture :**

Cultivent sur ce milieu les *Micrococcaceae* et quelques autres (*Bacillus*, *Enterococcus*) et même très rarement des bacilles Gram négatifs, colonies rouges : mannitol - , colonies jaunes : mannitol + La culture démontre que la bactérie cultive en milieu hypersalé.

### 3. Gélose au sang cuit (Chocolat)

**Usage :** Milieu riche non sélectif pour l'isolement des bactéries

**Composition:** en grammes par litre d'eau distillée

Peptone tryptique de caséine.....	7,5g
Peptone pepsique de viande.....	7,5g
Amidon de maïs.....	1g
Hydrogénophosphate de potassium.....	4g
Dihydrogénophosphate de potassium.....	1 g
NaCl.....	5g
Hémoglobine.....	10 g
Agar.....	15g
pH = 7,2	

#### **Lecture :**

Après 24 à 48 heures à 37°C, en aérobiose (éventuellement atmosphère enrichie en CO<sub>2</sub>). Un milieu riche, comme la gélose chocolat, permet la culture des bactéries exigeantes, mais aussi, bien-sûr, la culture des bactéries non exigeantes. La présence de culture sur un tel milieu ne permet donc en aucun cas de dire que la souche est exigeante ! (il faudrait, pour cela, pouvoir constater en parallèle l'absence de culture sur un milieu de base).

#### 4. Hektoen\_(gélose)

**Usage :** Isolement des *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*

#### **Composition :**

Protéose-peptone.....	12,0 g
Extrait de levure.....	3,0 g
Lactose.....	12,0 g
Saccharose.....	12,0 g
Salicine.....	2,0 g
Citrate de fer III et d'ammonium.....	1,5 g
Sels biliaires.....	9,0 g
Fuchsine acide.....	0,1 g
Bleu de bromothymol.....	0,065 g
Chlorure de sodium.....	5,0 g
Thiosulfate de sodium.....	5,0 g
Agar.....	13,0 g
pH = 7,5	

#### **Lecture :**

Les colonies sont normalement des colonies de bacilles Gram négatif. Les colonies à centre noir sont H<sub>2</sub>S +. Les colonies bleues ou vertes n'utilisent aucun des glucides du milieu. Elles sont donc saccharose et salicine et lactose négatives. La couleur bleue peut être due à l'utilisation du citrate. Les colonies jaunes utilisent un ou plusieurs des glucides. Elles sont donc saccharose et/ou lactose et/ou salicine positives. Un précipité de sels biliaires peut apparaître pour les souches acidifiantes.

## ***Annexe 04 : Milieux de culture utilisés pour l'identification des Germes***

On a utilisé deux types de galeries pour l'identification des germes au laboratoire :

1. La galerie biochimique classique.
2. La galerie Api20(E, NE).

### **1. La galerie biochimique classique**

Elle permet l'identification des Bacilles à Gram Négatifs, elle est composée de :

- **Citrate\_de\_Simmons**

**Usage :** utilisation du citrate comme seule source de carbone

#### **Composition :**

Citrate de sodium.....	1,0 g
Bleu de bromothymol.....	0,08 g
Chlorure de sodium.....	5,0 g
Sulfate de magnésium.....	0,2 g
Hydrogénophosphate de potassium.....	1,0 g
Dihydrogénophosphate d'ammonium.....	1,0 g
Agar.....	15,0 g
pH = 7,1	

#### **Lecture :**

Les bactéries utilisant le citrate comme seule source de carbone bleussent normalement le milieu (alcalinisation) les bactéries ne l'utilisant pas ne cultivent pas. Toutefois, des bactéries peuvent utiliser le citrate comme seule source de carbone sans bleuir. (Enterococcus) ATTENTION : le bouchon doit être débouché pour l'incubation.

- **Urée-tryptophane\_(Urée\_Indole)**

**Usage :** recherche de l'indole, de l'uréase et de la TDA

**Composition :**

Urée.....	2,0 g
L-tryptophane.....	0,3 g
Éthanol à 0,95.....	1 ml
Rouge de phénol.....	2,5 mg
Chlorure de sodium.....	0,5 g
Dihydrogénophosphate de potassium.....	0,1 g
Hydrogénophosphate de potassium.....	0,1 g
pH = 7	

**Lecture :**

Milieu rouge (basique) : uréase +milieu orange ou jaune : uréase -après addition de réactif de Kovacs : anneau rouge (indole +), anneau jaune (indole -)après addition de chlorure de fer III : marron (TDA +), jaune (TDA -)

- TSI

**Usage :** utilisation du lactose, fermentation du glucose, production d'H<sub>2</sub>S

**Composition :**

Peptone.....	15,0 g
Extrait de viande.....	3,0 g
Extrait de levure.....	3,0 g
Peptone pepsique de viande.....	5,0 g
Glucose.....	1,0 g
Lactose.....	10,0 g
Saccharose.....	10,0 g
Rouge de phénol.....	0,024 g
Chlorure de sodium.....	5,0 g
Sulfate de fer II (Pasteur).....	0,2 g
Thiosulfate de sodium.....	0,3 g
Agar.....	11,0 g
pH = 7,5	

**Lecture :**

Pente jaune : lactose et/ou saccharose +, Pente rouge : lactose et saccharose - Culot jaune : glucose + et aéro-anaérobie, Culot rouge : glucose - ou aérobie stricte. Présence d'un précipité noir : H<sub>2</sub>S +

- **Lactose-Glucose-H<sub>2</sub>S\_(Kligler-Hajna)**

**Usage :** Utilisation du lactose, fermentation du glucose, production d'H<sub>2</sub>S

**Composition :**

Peptone.....	15,0 g
Extrait de viande.....	3,0 g
Extrait de levure.....	3,0 g
Peptone pepsique de viande.....	5,0 g
Glucose.....	1,0 g
Lactose.....	10,0 g
Rouge de phénol.....	0,024 g
Chlorure de sodium.....	5,0 g
Sulfate de fer II (Pasteur).....	0,2 g
Thiosulfate de sodium.....	0,3 g
Agar.....	11,0 g
pH = 7,5	

**Lecture :**

Pente jaune : lactose +, Pente rouge : lactose - Culot jaune : glucose + et aéro-anaérobie. Culot rouge : glucose - ou aérobie stricte. Présence d'un précipité noir : H<sub>2</sub>S +

- **Mac-Conkey**

**Usage :** Isolement des bacilles Gram Négatifs.

**Composition :**

Peptone.....	20,0 g
Lactose.....	10,0 g
Sel biliaires n°2.....	1,5 g
Cristal violet.....	0,001 g
Rouge neutre.....	0,05 g
Chlorure de sodium.....	5,0 g
Agar.....	15,0 g

**Lecture :**

Colonies rouges : lactose +colonies jaunes ou incolores : lactose -Seuls les bacilles Gram Négatif cultivent sur ce milieu en raison des sels biliaires n°3 plus inhibiteurs que les n°2 et qui permettent d'éliminer les *Enterococcus*.

- **Mannitol-Mobilité-Nitrate**

**Usage :** Utilisation du mannitol, réduction des nitrates, mobilité en gélose semi-molle.

**Composition :**

Hydrolysate tryptique de caséine.....	10,0 g
Mannitol.....	7,5 g
Rouge de phénol.....	0,4 mg
Nitrate de potassium.....	1,0 g
Agar .....	3,5 g
pH = 7,6	.

**Lecture**

Milieu jaune : mannitol +milieu rouge : mannitol -Pour une bactérie aérobie stricte, la culture sur toute la hauteur accompagnée éventuellement de bulles montre une respiration nitrate.La réduction des nitrates pourra être visualisée par addition des réactifs habituels. Leur acidité

entraîne un virage progressif au jaune d'un milieu rouge : une coloration rouge après addition des nitrite 1 et 2 montre donc bien la présence de nitrites.

## **2. La galerie Api20(E, NE)**

### *Annexe 05 : La galerie API20E*

#### **Principe :**

La galerie API 20E compte 20 microtubes contenant des substrats sous forme déshydratée. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux. 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 à l'aide du tableau d'identification.

#### **Technique :**

- 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 :
  - Faire une suspension bactérienne, dans une ampoule de Suspension Medium ou dans un tube d'eau distillée stérile, d'opacité légère avec une seule colonie prélevée sur un milieu gélosé.
- Inoculation de la galerie :
  - Remplir les tubes et les cupules des tests : CIT, VP, GEL avec la suspension bactérienne.
  - Remplir uniquement les tubes des autres tests.
  - Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H2S en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
  - Refermer la boîte d'incubation et la placer à 35-37°C pendant 18 à 24 heures.

**Lecture :**

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au Tableau de Lecture.

Réaliser les tests nécessitant l'addition de réactifs : voir tableau de résultats.

**Identification :**

- Avec le tableau d'identification :
  - Comparer les réactions notées sur la fiche de résultats avec celle du tableau ;
- Avec le catalogue analytique :
  - Les tests sont regroupés en groupe de 3, et une valeur (1,2 ou4) est indiquée pour chacun.
  - Additionner à l'intérieur de chaque groupe les nombres correspondants aux tests positifs.
  - On obtient un nombre 7 chiffres qui sert de code d'identification.
- Avec un logiciel d'identification

Tableau de lecture de la galerie miniaturisée Api 20E

Tests	Substrat	Caractère recherché	Résultats	
			Négatif	Positif
ONPG	Ortho-nitro-phenyl-galactoside	Beta-galactosidase	incolore	Jaune
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orangé
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orangé
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
CIT	Citrate de sodium	Utilisation du citrate	Vert pâle/jaune	Bleu-vert/vert
H <sub>2</sub> S	Thiosulfate de sodium	Production d'H <sub>2</sub> S	Incolore/grisâtre	Dépôt noir/ fin liseré
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/orangé
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	<b>TDA / Immédiat</b>	
			jaune	Marron foncé
IND	Tryptophane	Production d'indole	<b>IND / 2 mn, maxi</b>	
			jaune	Anneau rouge
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	<b>VP 1 + VP 2 / 10 mn</b>	
			incolore	Rosé-rouge
GEL	Gélatine de Kohn	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	Glucose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MAN	Mannitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SOR	Sorbitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
RHA	Rhamnose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SAC	Saccharose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MEL	Melibiose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
ARA	Arabinose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
Ox	Sur papier filtre	Cytochrome-oxydase	<b>Ox / 5-10 mn</b>	
			incolore	Anneau violet
NO <sub>3</sub> -NO <sub>2</sub>	Tube GLU	Production de NO <sub>2</sub>	<b>NIT 1 + NIT 2 / 2-3 mn</b>	
		Réduction au stade N <sub>2</sub>	Jaune	Rouge
			<b>Zn</b>	
			Rouge	Jaune
MOB	Microscope	Mobilité	Immobile	Mobile
MAC	Milieu de MacConkey	Culture sur	Absence	Présence
OF	Glucose	Fermentation : sous huile	Vert	Jaune
		Oxydation : à l'air	Vert	Jaune
CAT		Possession d'une catalase	<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> / 1-2 mn</b>	
			Pas de bulles	Bulles

## *Annexe 06 : La galerie API20NE*

### **Principe :**

La galerie API 20 NE se compose d'une galerie constituée de 20 microtubes contenant milieux et substrats sous forme déshydratée. Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne saline qui reconstitue les milieux. Les réactions produites durant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. Les tests d'assimilation sont inoculés avec un milieu minimum et les bactéries cultivent seulement si elles sont capables d'utiliser le substrat correspondant. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du tableau d'identification.

### **Technique :**

- 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 :
  - Faire une suspension bactérienne, dans une ampoule de NaCl 0,85% Medium ou dans un tube d'eau distillée stérile, de turbidité égale à celle de l'étalon 0,5 Mcfarland.
- Inoculation de la galerie :
  - Remplir les tubes (et non les cupules) des tests NO<sub>3</sub> à PNPG avec la suspension précédente. Éviter la formation de bulles.
  - Transférer 200 µl (4 à 8 gouttes) de la suspension précédente, dans une ampoule OX Medium. Homogénéiser.
  - Remplir les tubes et cupules des tests GLU à PAC.
  - Remplir d'huile de paraffine les cupules des trois tests GLU, ADH, URE.
  - Incuber 24 heures à 30°C.

**Lecture :**

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au Tableau de Lecture.

Réaliser les tests nécessitant l'addition de réactifs : voir tableau de résultats.

**Identification :**

- Avec le tableau d'identification :
  - Comparer les réactions notées sur la fiche de résultats avec celle du tableau ;
- Avec le catalogue analytique :
  - Les tests sont regroupés en groupe de 3, et une valeur (1,2 ou 4) est indiquée pour chacun.
  - Additionner à l'intérieur de chaque groupe les nombres correspondants aux tests positifs.
  - On obtient un nombre 7 chiffres qui sert de code d'identification.
- Avec un logiciel d'identification.

Tableau de lecture de la galerie miniaturisée Api 20 NE

Tests	Substrat	Enzymes/Réactions	Résultats	
			Négatif	Positif
NO <sub>3</sub>	Nitrate de potassium	Réduction des nitrates en nitrites	<b>NIT 1 + NIT 2 / 5 mn</b>	
			Incolore	Rose-rouge
TRP	Tryptophane	Réduction des nitrates en azote	<b>ZN / 5 mn</b>	
			Rose	Incolore
TRP	Tryptophane	Formation d'indole	<b>TRP / 3-5 mn</b>	
			Incolore	Goutte rouge
GLU	Glucose	Fermentation	Bleu à vert	Jaune
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Orange/rose/rouge
URE	Urée	Uréase	Jaune	Orange/rose/rouge
ESC	Esculine	Hydrolyse	Jaune	Gris/marron/noir
GEL	Gélatine	Hydrolyse	Pas de diffusion du pigment	Diffusion du pigment noir
PNPG	p-nitro-phényl-βD-galactopyranoside	B-galactosidase	Incolore	Jaune

GLU	Glucose	Assimilation	Transparence	Trouble
ARA	Arabinose			
MNE	Mannose			
MAN	Mannitol			
NAG	N-acétyl-glucosamine			
MAL	Maltose			
GNT	Gluconate			
CAP	Caprate			
ADI	Adipate			
MLT	Malate			
CIT	Citate			
PAC	Phényl-acétate			
Ox	Tetraméthyl-p-phenylène diamine	Cytochrome oxydase	Incolore	Violet

## ***Annexe 07 : Test coagulase pour Staphylocoques***

### **Techniques :**

- Dans un tube à hémolyse stérile, introduire 0,5 mL de plasma humain + 0,5 mL d'une culture de 18 h de la souche à étudier.
- Placer le mélange à 37°C.
- Des lectures doivent être effectuées toutes les heures au moins pendant les cinq premières heures.

### **Résultats :**

- Coagulation du plasma =>Coagulase + =>*Staphylococcus aureus*.
- Pas de coagulation du plasma =>Coagulase - => ininterprétable => faire d'autres tests (ADNase thermostable, recherche protéine A, recherche récepteur au fibrinogène).

## ***Annexe 08***

### **Mueller-Hinton**

**Usage :** Gélose riche pour la réalisation de l'antibiogramme standard

### **Composition :**

Infusion de viande de bœuf.....	300,0 ml
Peptone de caséine.....	17,5 g
Amidon de maïs.....	1,5 g
Agar.....	17,0 g
pH =	7,4

### **Lecture :**

Cette gélose standardisée est la gélose permettant de tester l'action des antibiotiques sur les bactéries. Elle peut être additionnée de sang (pour les *Streptococcus*), d'extrait globulaire (pour *Haemophilus*), Elle doit être coulée en boîte de façon à obtenir une épaisseur de 4 mm. Il existe un bouillon équivalent.

## Résumé

Cette étude a été réalisée au niveau des quatre services de chirurgie (Homme, Femme, Infantile et Urologique) au Centre hospitalier et universitaire (CHU) BENFLISTouhami de Batnadans du Mai à Juin 2012 dans un but d'étudier les différents types de bactéries nosocomiales isolées des sites opératoire et d'évaluer le profil de leur sensibilité aux antibiotiques. A partir de 33 prélèvements issus des plaies suppurantes répondant à la définition de l'infection du site opératoire, des bactéries ont été isolées et identifiées au moyen des techniques bactériologiques. 30 souches ont été isolées appartenant à 8 espèces. Elles se répartissent par service comme suit : la chirurgie homme est de 50%, alors qu'elle est de 30% pour la chirurgie femme, 10% pour la chirurgie infantile et 10% pour la chirurgie urologique. Le profil bactériologique se présente de la manière suivante : 70% Bacilles à Gram Négatifs (BGN) et 30% Cocci à Gram Positif. Toutes les souches à Gram positif isolées ont une résistance à la Pénicilline et des résistances variables aux autres antibiotiques testés. Alors que la plupart des souches à Gram Négatifs présentent une résistance à l'Amoxicilline et des résistances variables aux autres antibiotiques

**Mots clés :** Infections du site opératoire, Bactéries, Profil de sensibilité, Antibiotiques, Résistance

## Abstract

This study was carried infection in the University Hospital Center BenflisTouhami of Batna in the four surgical units (Men, Women, Infantil and Urology) out from May to June 2012 in an aim to study the different types of bacteria isolated from surgical sites to determine their frequency and to evaluate their profil of sensibility to antibiotics. 33 samples from post-operative festering wounds that meet the definition of surgical site infection were analysed. Bacteria were isolated and identified using bacteriological techniques. 30 strains were isolated. The frequencies of bacteria were 50%, 30%, 10% and 10%, respectively, in Man surgery unit, Woman surgery unit, Paediatric surgery unit, and Urological surgery unit. The bacteriological profile is presented as follows: 70% Gram Negative bacilli (GNB) and 30% Gram-positive cocci. All Gram positive strains isolated have a resistance to Penicillin and variable restances to other antibiotics tested. While the most of Gram Negatif bacilli present a resistant to Amoxixillin and variable resistance to other antibiotics

**Key words:** Post-operative wounds infections, Bacteria, profil of sensibility, Antibiotics, Resistance

## المخلص

هذه الدراسة أنجزت بأقسام الجراحة الأربعة (جراحة الرجال، النساء، الأطفال و جراحة المسالك البولية) بالمركز الاستشفائي الجامعي بن فليس التهامي بباتنة من ماي إلى جوان 2012 و التي تهدف إلى دراسة الميكروبات والتي تم عزلها من المواقع الجراحية و تحديد مجال حساسيتها للمضادات الحيوية. 33 عينة من الجروح المتقيحة والتي ينطبق عليها تعريف التهابات الجراحية تم تحليلها و عزل الميكروبات المتواجدة بها باستخدام تقنيات البيولوجيا الدقيقة. تحصلت على 30 سلالة تنتمي إلى 8 أصناف موزعة بدلالة الأقسام الجراحية كما يلي: 50% بقسم جراحة الرجال، في حين كان 30% بقسم جراحة النساء، 10% بقسم جراحة الأطفال و 10% بقسم جراحة المسالك البولية.

أما التحليل الجرثومي بين تواجد: 70% عصيات سلبية الجرام و 30% مكورات ايجابية الجرام. كل السلالات التي عزلت و التي تنتمي إلى البكتيريا ايجابية الجرام تبدي مقاومة للبنسلين و هي تقاوم بدرجات مختلفة بقية المضادات الحيوية بينما معظم السلالات التي عزلت و التي تنتمي إلى العصيات سلبية الجرام تبدي مقاومة للاموكسيسيلين و هي تقاوم بدرجات مختلفة بقية المضادات.

كلمات البحث: التهابات المواقع الجراحية، البكتيريا، مجال حساسية البكتيريا، المضادات الحيوية، المقاومة