**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE DE MEDEA**

**FACULTE DES SCIENCES**

## Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

**En** : Biologie

**Spécialité :** Microbiologie Appliquée

## Thème:

# L'isolement de quelques germes responsables des infections postopératoires à l'EPH de MEDEA

**Présentée par :**

**MEZIANE BEN TAHAR MEZIANE Soumeya**

**LAZILI Rima**

Soutenue publiquement le : **21 /06 /2018**

**Devant le jury:**

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Président** | **Afkir** | **MAA** | **UYFM** |
| **Examinateurs** | **Rahal M** | **MAA** | **UYFM** |
| | **Bennadji A** | **MAA** | **UYFM** |
| **Encadreur** | **Hoceini A** | **MAB** | **UYFM** |

**Année universitaire: 2017/2018**

# REMERCIMENT

En tout premier lieu, nous remercions le bon dieu Allah, tout puissant, de nous avoir donné le courage, la force et la volonté pour réaliser ce travail et dépasser toutes les difficultés.

En second lieu, nous tenons à remercier notre chère promotrice : Melle **HOCEINI Amina**, pour ses précieux conseils sa confiance et son aide durant toute la période du travail.

Nous remercions profondément Mr OUMOUNA M., le doyen de notre faculté, un grand merci et on espère qu'il nous soit permis de vous exprimer vivement notre profonde gratitude, nos sentiments très respectueux.

Nous remercions **Mme AFKIR K. ;** qui a accepté de présider ce jury dont on lui exprime notre haute considération.

Nos sincères remerciements vont à **Mr BENADJI A. et Mr RAHAL M.**, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nos profonds remercîments vont également à tous les enseignants qui nous ont donné les bases de la recherche pendant les cinq ans.

Un grand merci à **Dr KABACHE R** et **Mme BOUTRIGE** laborantin dans l'hôpital de MEDEA et Les personnes de l'Hôpital de Médéa, plus particulièrement, le service Bactériologie

Tous les personnes qui nous ont aidé et contribué, de près o de loin, à la réalisation de ce travail.

**Soumeya et Rima.**

# Je dédie cet humble travail

## A ma très chère mère

*Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.*

## A mon très cher père

*Je te rends hommage par ce modeste travail en guise de ma reconnaissance éternelle et de mon infini amour, nous aurions voulu te voir là assis en ce jour, mais Dieu en a décidé autrement. Accueillir dans son paradis cher papa.*

## A ma chère grand-mère

*Je te dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur et de santé.*

## A mes très chers frères

*Kheiredin, Samir, Mastapha, Salem, et des enfants : Chaima, Assma, Meriem,Aberahime, Tinhinane, En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous. Je vous souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité.*

## A mes très chères sœurs et leurs maris

*Malika et Houria, et ses enfants : Ali, Zineb, Mohamed, Djihad, Aissa, Abdel malek, Hamza et Abdel moumen .En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous. Que je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur et de santé avec vos maris.*

## A mes très chères belles-sœurs

*Malika, Nawel, Sabah, Meriem. En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous. Je vous souhaite un avenir plein de joie, de bonheur.*

## À toute la famille LAZILI

*Sans oublier la famille Rahali et Sekkal, mes chères cousines :*
*Hadjira ,Malika, Wahiba et Ratiba, et leurs maris.*

*A mon binôme, Soumia, ainsi qu'à toute sa famille.*

*A toutes mes amis, plus particuliers : Amina kh, Rym,Yasmine, Randa, Amina, Mouna, Ikram, Meriem, Hanane, Moufida, Innase , Dalale,*

***LAZILI Rima***

*Je dédie cet modeste travail, fruit de mes étude*

A

**D**ieu, tout puissant, qui m'a donné la force, la santé et
le courage de réaliser ce précieux travail.

**M**es très chers et adorables parents qui m'ont toujours fort encouragé et aider dans la recherche du savoir durant tout mon parcours avec beaucoup de tendresse de dévouement de gentillesse d'amour, et leurs affections et qui ont toujours éclairémes chemins.

**M**a unique douce petite sœur Chaima, mes tendres frères Mohamed et Ibrahime pour tous bons et chaleureux moments qu'on a passé ensemble.
A mon époux qui m'a motivé et m'a soutenu

**M**a famille et ma belle famille sans exception

**T**outes mes amies en particulier Rima , Meriem, et Hanane ; Pour toute l'ambiance, la spontanéité et les moments chaleureux que nous avons passé ensemble.

**A**insi que toute l'équipe du laboratoire de microbiologie de l'Etablissement Public De Santé Mohamed Boudiaf de Médéa

**M**es enseignants de l'université de MEDEA YAHIA FERESSE qui doivent voir dans ce travail la fierté d'un savoir bien acquis

**E**t à tous mes proches.

**MEZIANE BENTAHAR MEZIANE Soumeya**

## Résumé :

Malgré les progrès réalisés au cours des dernières décennies en matière de prévention des infections des sites post opératoires (SPO), la survenue de ses infections reste relativement fréquente ce qui a un impact certain sur les patients et sur la santé publique.

C'est dans ce cadre que notre travail visait à identifier les germes responsables des infections bactériennes poste opératoires. Les prélèvements de pus provenant de différents services de chirurgie de l'EPH de Médéa ont été analysés en se basant sur les critères macroscopiques, microscopiques et biochimiques, en suite, les isolats bactériens ont subi une étude d'antibiorésistance.

A partir de 46 prélèvements effectués, nous avons pu isoler 26 bacilles à Gram négatif et 9 cocci à Gram positif, avec la prédominance des *Staphylococcus,aureus*(16%) suivis par *klebsiella,pneumoniae* (14%).

L'étude des paramètres sociodémographiques a montré que la prévalence des sujets hospitalisés à plaies infectés est de 35% chez les hommes contre65% chez les femmes, et queles sujets âgés de 31 à 45ans semblent être les plus exposés au risque de l'infectionà cause de la haute proportion des opérés dans cette tranche d'âge.

L'étude de la sensibilité des isolats aux antibiotiques a révélé que: 84% des *Staphylococcus,aureus* isolées sont résistantes à la pénicilline et que les souches de *klebseilla,pneumoniae* présentaient une résistance à l'Ampicilline (AMP), à l'Amoxicillin+Acide clavulanique (AMC), à la Céfotaxime (CTX) et à la Céfazoline (CZ).



**Mots clés :** suppuration, les germes, infection poste opératoire, pus, antibiotiques.

## Summary:

In spite of the progress made during the last decades as regard prevention of post surgical suppuration (PSS), this difficulty remains relatively frequent and still has a definite impact on patients and public health.

It is within this framework that our work aims to identify the germs responsible for postoperative bacterial infections. Collection of pus from different surgical departments of Médéa Hospital were analyzed on the basis of macroscopic, microscopic and biochemical criteria, subsequently, the bacterial isolates underwent an antimicrobial resistance study.

From 46 samples taken, we were able to isolate 26 Gram-negative bacilli and 9 Gram-positive cocci, with the prevalence of *Staphylococcus,aureus* (16%) followed *by klebsiella,pneumoniae* (14%).

The study of sociodemographic parameters has shown that the prevalence of hospitalized patients with infected wounds is 35% in men against 65% in women, and those aged between 31 and 45 years seem to be the most exposed to the risk of infection because of the high proportion of those operated on in this age group.

The study of the susceptibility of isolates to antibiotics revealed that: 84% of isolated *Staphylococcus,aureus* are penicillin-resistant and strains of *klebseilla,pneumoniae* show resistance to Ampicillin with Amoxicillin + clavulanic acid, with Cefotaxime, and Cefazolin.

**Key words**: suppuration, germs, infection operative post, pus, antibiotics.

## تلخيص:

على الرغم من التقدم في العقود الأخيرة في ما يتعلق بمنع التقيح بعد العمليات الجراحية، هذه الصعوبات لا تزال شائعة نسبيا و مازال لها بعض التأثير على المرضى و الصحة العامة.

و في هذا الإطار ،يهدف عملنا إلى تحديد الجراثيم المسؤولة عن العدوى البكتيرية بعد العملة، انطلاقا من عينات تلقيح (46 عينة ) من مختلف الأقسام الجراحية لمستشفى المدية. تم تحليلها على أساس المعايير المجهرية والميكروسكوبية والكيميائية الحيوية ، وبعد ذلك ، خضعت العزلات البكتيرية لدراسة مقاومة مضادة للميكروبات.

من 46 عينة التي تم أخذها، تمكنا من عزل 26 **عصارة سالبة الجرام و** 9 مكورات إيجابية موجبة الجرام، **مع** سيطرة *Staphylococcus,aureus* (16 ٪) تليها *klebseilla,pneumoniae* (14 ٪)

أوضحت دراسة العوامل الاجتماعية والديموغرافية أن انتشار المرضى المصابين بالجروح المصابة هو 35٪ **عند الرجل مقابل** 65٪ **عند النساء**. ويبدو أن الأشخاص الذين تتراوح أعمارهم بين 31 **و** 45 سنة هم الأكثر تعرضًا لخطر الإصابة بسبب النسبة المرتفعة من الأشخاص الذين يتم تشغيلهم في هذه الفئة العمرية.

كشفت دراسة قابلية العزلات للمضادات الحيوية **أن**: 84٪ **من** *Staphylococcus,aureus* **المعزولة مقاومة** للبنسلين ,وتظهر سلالات *klebseilla,pneumonia* مقاومة للأمبسلين. مع أموكسيسيلين + **حمض** كلافولانيك, مع سيفوتاكسيم و سيفازولين.



**الكلمات الدالة** : تقيح ، جراثيم ، عدوى ما بعد الجراحة ، القيح ، المضادات الحيوية.

# Table des matières

**Liste des abréviations**

**Liste des Tableaux**

**Liste des figures**

**Introduction……..…….……... 1**

**Partie I :Etude bibliographique.**

I. Généralité..……..……3

I.1. Historiques……...……4

I.2. Définitions……4

I.2.1. infection…….……...4

I.2.2. infection nosocomiale……...4

I.2.3. infection de site opératoire……4

I.2.3.1. Infection superficielle de l'incision……...4

I.2.3.2. Infection profonde de l'incision…….4

I.2.3.2. Infection de l'organe-espace……..5

I.3. La pathologie……5

I.3.1. Les composants de la flore cutanée……..…….5

I.3.1.1. flore résidente…….5

I.3.1.2. flore transitaire……...6

I.3.2. Agents infectieux……..……6

I.3.3. facteurs de risque……..……6

I.3.3.1. facteurs exogènes……..…….6

I.3.3.2. facteurs endogènes…….……7

I.3.4. taux d'infection de site opératoire selon le type……...7

I.4. le pus……...8

I.4.1. Définition du pus……...8

I.4.2. Principaux germes responsable…….8

I.4.2.1. Les bacilles à gram négatifs…….……..8

I.4.2.1.1. Les entérobactéries……..8

I.4.2.1.2. Bacilles à gram négatifs oxydatif……..11

a. Genre *Pseudomonas*……..……..12

b.Genre*Acinétobactèr*……..……..12

I.4.2.2.Cocci a gram positif…….…….....13

a. Genre *Staphylococcus* ……...…13

b. Genre *Streptococcus.*……...…14

I.5. Facteurs favorisant les ISO ……..…….……15

I.6. Antibiogramme et L'antibiorésistance……...…….16

I.6.1. L'origine génétique de la résistance et modalité de transfértgénétiqu……..17

I.6.1.1. Résistance naturelle……..17

I.6.1.2. Résistance acquise……..……..18

I.6.1. 3. Les mécanismes de résistances bactériennes aux antibiotiques …….……19

I.6.1.4.Résistance croisée et Co-résistance ……..21

I.6.2. La résistance de *S.aureus*à la méthicilline (S.A.R.M)……...22

I.6.3.La β-lactamase à spectre élargi (BLSE)chez les entérobactéries ……22

I .6.4.L'antibiorésistance……...…..……..22

**Partie II : Matériel et Méthodes**

**I.1.Matériel :**…….……..……24

I.1. Matériel biologique……...……..…24

I.2. Matériel non biologique……..…24

**II.Méthodes**…….……..……..…25

II.1. Période et lie d'étude ……...……25

II.2.1Objectif d'étude …….…….……25

II.3.population d'étude ……..……..25

II.4.prélèvements……..……25

II.5.Acheminement des prélèvements …….……..…….26

II.6. Etude bactériologique…….……..……26

II. 6.1. Examen macroscopique……26

II.6.2.Examen microscopique…….……..……26

II.6.2.1. Examen à l'état frais……..…….26

II.6.2.2. Coloration simple au bleu de méthylène…….……...27

II.I6.2.3. Coloration de gram……28

II.6.3. Culture et isolement…….……..29

II.6.4 Identification……...…29

II.6.4. 1Identification macroscopique……..…….29

II.6.4.2. Identification microscopique…….……..…30

II.6.4.3. enrichissement…….……...30

II.6.4. Identification biochimique……..……...……30

II.6.4.4.1. identification des cocci à gram positif…….……31

II.6.4.4.1.1.Test d'orientation (Test de catalase)……..……31

II.6.4.4.1.2. identification des caractères biochimiques des staphylocoques……..31

II.6.4 .4 .2.Identification des caractères biochimiques des Streptocoques et des Entérocoques :……..…34

II.6.4 .4 .2.1.Test d'orientation (La recherche du pouvoir hémolytique) :……...…33

II.6.4 .4 .3.Identification des caractères biochimiques des bacilles gram négatif :……...33

II.6.4 .4 .3. .1Test d'orientation d'oxydase :…….....33

II.6.4 .4 .4.Identification biochimique des entérobactéries :……..…34

II.6.4.5. L'antibiogramme……35

**Partie III :Résultats et Discussion**

III.Résultat et discussions :…….……...……40

III.1.Répartition des prélèvements en fonction de l'âge :……..……..40

III.2.Répartition des prélèvements en fonction de sexe :……..……..……42

III.3.Résultats de l'analyse des prélèvements …….43

III.3.1.Evaluation du pourcentage de positivité des prélèvements…….……...…43

III.3.2.Répartition des résultats selon les milieux de culture(culture positif) :……44

III.3.3.Répartition des prélèvements selon coloration de gram:……...45

III.3.4.Répartition des prélèvements selon test de coagulase :…….47

III.3.5.Résultats des germes identifiés :……..……..…47

III.4.Répartition des souches en fonction des morphotypes (cocci et bacille)…….47

III.5.Répartition des bacille a gram négatif :……...…….……50

III.6.Répartition des cocci à gram positif :……...……52

III.7.Etude de la résistance aux antibiotiques :…….53

III.7.1.Le taux de résistance de *Staphylococcus aureus* :…..…..…..…..…..…..…..…..…..…..…..…..…...53

III.7.2.Le taux de résistance de *klebsiellapneumoniae* :……..……54

III.7.3.Le taux de résistance d'*E cloacae* :……...……54

III.7.4.Le taux de résistance de *Proteus mirabilis* :……..…..…..….55

**Conclusion :…….57**

**Références bibliographiques**

**Annexes**

# Liste des abréviations

**ISO :** Infections de Site Opératoires

**ATB :**Antibiotique

**NHS:**National Health Service

**ASA:** American Society of Anesthesiologists

**NNIS:** National Nosocomial Infections Surveillance

**ECDC:**European center for disease control

**IAS:**Infection Associés au Soins

**ORL:**Otorhinolaryngologie

**IC:** Intervalle de Confiance

**BGN:** Bacilles à Gram Négatif.

**CGP:** Cocci à Gram Positif.

**EPH:** Etablissement Public Hospitalier

**SARM :** *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline

***S.aureus* :** *Staphylococcusaureus*

***E.coli :*** *Eschirichiacoli*

***A.bumani*** : *Acénitobacterbumani*

***E.cloacae*** *: Enterobactercloacae*

***P.mirabilis*** *: Proteus,mirabilis*

***P.aerogenosa*** *: Pseudomonasaerogenosa*

***P.nettiger*** *: Providencianettiger*

**PEN :** Pénicilline.

**AMP :** Ampicilline

**AMC :** Amoxicillin+Acide clavulanique

**CTX :**Céfotaxim

**CZ :**Céfazoline

**CTX :**Céfotaxime

**CRO** :Cétriaxone

**CAZ :**ceftazidime

**ATM**:Aztréonam

# Liste des Tableaux

**Tableau 1:** Répartition des prélèvements en fonction de l'âge.....41

**Tableau 2 :**La répartition des prélèvements selon le sexe……..…43

**Tableau 3:** Evaluation du pourcentage de positivité des prélèvements……..44

**Tableau 4:** culture positif……45

**Tableau 5:**coloration de gram (après culture)…….46

**Tableau 6:** Les résultats de test de coagulase……47

# Liste des figures

**Figure 1:** Diagramme d'identification biochimique des coccis a Gram positif……...31

**Figure 2:**Diagramme d'interprétation de l'examen bactériologique des prélèvements du pus…….39

**Figure 3:** Répartition des prélèvements en fonction de l'âge…….……..... 42

**Figure 4 :** La répartition des prélèvements selon le sexe…….…43

**Figure 5 :**Évaluation du pourcentage de positivité des prélèvements……..44

**Figure 6 :** milieux de culture (les cultures positives)……...……46

**Figure 7 :** les coccis à gram positif…….…….46

**Figure 8 :** les bacilles à gram négatifs……..……46

**Figure 9 :** résultat de galerie API 20E pour *klebsiellapneumoniae*…….…….48

**Figure 10 :** résultat de galerie API 20E pour *E.coli*…….48

**Figure 11:** Fréquence des germes infectieux identifiés……49

**Figure 12 :** Répartition des souches en fonction des morphotypes (cocci et bacille)…..... 50

**Figure 13 :** Répartition des bacilles a gram négatif…….……51

**Figure 14 :** Répartition des coccis à gram positif……...……. 52

**Figure 15 :** Le taux de résistance de *Staphylococcus aureus*…….…. 53

**Figure 16**: Le taux de résistance de *klebsiellapneumoniae*……. 54

**Figure 17:** Le taux de résistance d'*E cloacae*…….. 55

**Figure 18 :** Le taux de résistance de *Proteus mirabilis*……..…

**Introduction :**

L'infection est le résultat d'interactions complexes entre le mécanisme de défense du patient,le site de l'intervention et les bactéries. C'est une prolifération microbienne ayant pour conséquence des réactions cellulaires, tissulaires ou générales, se traduisant, le plus souvent, par un syndrome inflammatoire **(Bone et *al*., 1992)**

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

Selon l'OMS, la prévalence des infections nosocomiales en Afrique varie à l'échelle de l'hôpital entre 2.5% et 14.8%. Le risque de contracter une infection au cours de soins de santé est 2 à 20 fois plus élevé dans les pays en développement que dans les pays développés. Dans certains pays en développement, la proportion de patients présentant une infection résultant de soins de santé peut dépasser 25 **%( Sepieh et** *al*., **2011)**

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

La majorité des ISO ne sont pas compliquées et ne concernent que la peau et les tissus sous-cutanés, mais peuvent parfois évoluer vers des infections nécrosantes. La présentation habituelle d'une plaie chirurgicale infectée peut être caractérisée par la douleur, la sensibilité, la chaleur, l'érythème, l'enflure et la formation de pus.

Le pus est un exsudat pathologique liquide et opaque, résultant d'une inflammation. Il est formé de sérum de nombreux leucocytes polynucléaires plus au moins altéré, de cellules provenant des tissus lésés, de microbes et d'hématies, qui provoqué par un invasion d'un

organisme vivant par des micro-organismes pathogènes (bactéries) qui agissent en se multipliant et éventuellement en secrétant des toxines.

Dans ce contexte, nous avons réalisé notre travail dans l'Etablissement Public Hospitalier (EPH) Mohamed Boudiaf de Médéa, ayant pour objectif l'isolement des germes responsables des infections post opératoires à partir des prélèvements de pus des malades hospitalisés souffrants de plaies infectées.

Ce travail est constitué de quatre parties :

La première est une synthèse bibliographique qui rassemble des informations sur les plaies, les infections post opératoires, les germes responsables des ISO.

La deuxième partie détaille les matériels et méthodes ; dont on a adopté la démarche expérimentale suivante :

- Prélèvements.
- Isolement et identification des souches cliniques.
- Détermination du profil de résistances des isolats aux antibiotiques.

La troisième partie consacrée aux résultats et à la discussion donne des résultats pertinents et clairement argumentés.

Ce travail s'achève par une conclusion générale qui permettra de tirer quelques perspectives de prolongement à ce travail.

**Généralités :**

## I.1. Historiques :

Le Français Louis Pasteur fit la découverte fondamentale qui opéra un vaste changement dans la pratique médicale. A la suite d'une série d'expérience, de 1857 à 1863, Pasteur prouva que l'air transportait facilement les micro-organismes invisibles à l'œil nu, responsables de la fermentation alcoolique. Ces micro-organismes furent appelés « germes». Le rapprochement entre la thèse de germes de Pasteur et les suppurations des tissus vivants fut l'œuvre de Lister.

Depuis les écrits hippocratiques, on cherchait à distinguer le «bon» du «mauvais» pus, et cette ambiguïté subsistait encore au Moyen-Age, où l'on retrouve l'étrange appellation de «laudable pus». Parmi les chirurgiens qui ont essayé de remédier à cette complication, citons Ambroise Paré qui, au XVIe siècle, préconisait l'utilisation sur les plaies d'un mélange de jaune d'œuf, d'huile de rose et de térébenthine. Le milieu du XIXe siècle a connu des précurseurs avec Semmelweis et Lister, le premier démontrant l'importance du lavage des mains, le second réussissant à réduire le risque infectieux par la dispersion de phénol dans la salle d'opération. **(Troillet et Zanetti ,2002).**

Afin d'empêcher la contamination des plaies opératoires par les micro-organismes de l'environnement et du personnel soignant, en appliquant l'acide phénique sur les mains, les pansements et sur la peau du patient avant de l'opérer. Vers 1880, les instruments emmanchés en bois furent remplacés par d'autres métalliques faciles à nettoyer. A la fin du 21éme siècle, la prévention des infections de plaies opératoires a été parfaitement codifiée.

Au cours du XXe siècle, les esprits devenaient progressivement plus enclins à accepter les théories de Pasteur, puis à développer les techniques d'asepsie. Quant à la prophylaxie antibiotique, après plusieurs échecs initiaux, on a compris comment l'utiliser de façon efficace au début des années 1960, grâce aux travaux expérimentaux de Burke **(Troillet et Zanetti ,2002)**

**I.2. Définition :**

**I.2.1. infection :**

C'est une prolifération microbienne ayant pour conséquence des réactions cellulaires, tissulaires ou générales, se traduisant, le plus souvent, par un syndrome inflammatoire **(Sidibe ,2014)**

**I.2.2. infection nosocomiale :**

Les infections nosocomiales ou infections hospitalières sont des infections acquises dans un établissement de soins public ou privé et qui n'étaient pas présentes, ni en incubation à l'admission **(DiaN et *al*, 2008)**

**I.2.3. Infection de site opératoire (ISO) :**

Une infection du site chirurgical ou opératoire est définie selon des critères établis par les Centers for disease control and prevention en 1992/1999 et se situe dans une ou toutes les couches de tissus touchées par l'intervention : on différencie des infections de plaie chirurgicale superficielles et profondes et des infections d'organe ou de cavité**.(Di Benedetto ,2013)**

**I.2.3.1. infection superficielle de l'incision :**

L'infection survient dans les 30 jours suivant l'intervention et l'infection ne concerne que la peau ou le tissu sous-cutané de l'incision et au moins un des éléments suivants: Drainage purulent, avec ou sans confirmation de laboratoire, de l'incision superficielle, Organismes isolés à partir d'une culture de fluide ou de tissu obtenue de manière aseptique à partir de l'incision superficielle, au moins un des signes ou symptômes d'infection suivants: douleur ou sensibilité, gonflement localisé, rougeur ou chaleur et l'incision superficielle est délibérément ouverte par le chirurgien, sauf si l'incision est négative pour la culture, et diagnostic de l'ISO incisionnelle superficielle par le chirurgien ou le médecin traitant.**( Allen et R'Brien, .2009)**

**I.2.3.2. infection profonde de l'incision :**

L'infection se produit dans les 30 jours suivant l'opération si aucun implant n'est laissé en place ou dans l'année si l'implant est en place, et l'infection semble être liée à l'opération et implique des tissus mous profonds (par exemple, les couches

aponévrotiques et musculaires) de l'incision et au moins l'un des éléments suivants: drainage purulent de l'incision profonde mais pas de l'organe, des signes ou symptômes: fièvre (-38 ° C), douleur localisée ou sensibilité, à moins que le site ne soit négatif à la culture. Ou un abcès ou tout autre signe d'infection impliquant l'incision profonde se trouve à l'examen direct, pendant la réintervention ou par examen histopathologique ou radiologique. .**( Allen et R'Brien, .2009)**

**I.2.3.3. infections de l'organe-espace :**

L'infection se produit dans les 30 jours suivant l'opération si aucun implant n'est laissé en place ou dans l'année si l'implant est en place et l'infection semble être liée à l'opération et l'infection implique n'importe quelle partie de l'anatomie (par exemple, des organes ou des espaces), autre que l'incision, qui a été ouverte ou manipulée pendant une opération et au moins l'une des opérations suivantes: drainage purulent d'un drain qui est placé à travers un coup de couteau dans l'organe **,** organismes isolés à partir d'une culture ou d'un fluide ou d'un tissu obtenu de manière aseptique dans l'organe**,** abcès ou autre signe d'infection impliquant l'organe ou l'espace qui se trouve à l'examen direct, pendant la réopération, ou par examen histopathologique ou radiologique.**( Allen et R'Brien, .2009).**

**I.3. Pathologie :**

**II.I.3.1.Composante de la flore cutanée :**

La peau saine est physiologiquement colonisée par une flore double : résidente et permanente

**I.3.1.1 La flore résidente :**

C'est celle qui vit et se multiplie sur la peau, majoritairement dans les couches superficielles, pour une faible part dans les couches profondes. Cette flore dite non pathogène est constituée de bactéries aérobies (Corynebacteries, Staphylocoque à coagulase négative) et anaérobies (Propionibacteriumacnes).En chirurgie orthopédique et traumatologie, l'ensemble de cette flore devient pathogène lorsqu'elle est inoculée au contact d'un matériel étranger. Cette flore peut être réduite mais non éradiquée au cours de la préparation du malade en pré-opératoire. **(Reanis , 1994).**

### I.3.1.2. La flore transitaire :

C'est la flore pathogène qui colonise les patients infectés ou non (Staphylococcus aureus, Streptocoques, Entérobactéries, Pseudomonas) provenant des réservoirs muqueux de chaque patientou de l'environnement hospitalier. Par contre la flore transitaire est fortement réduite par le lavagede la peau avec un savon antiseptique en pré - opératoire. Seule la préparation de la peau équivalente au lavage chirurgical de mains permet son élimination temporaire. **(Reanis , 1994)**

### I.3.2. Agents infectieux :

Ils appartiennent à la flore hospitalière, population microbienne implantée dans le service qui peut être considérée comme un réservoir. Elle est composée de la flore liée aux malades, liée au personnel et l'environnement hospitalier défini par l'ensemble (eau, air, surface, linge, dispositifs médicaux, aliments, etc.) **(Hygis, 1998)**

### I.3.3. facteurs de risque infectieux :

La fréquence des infections des plaies opératoires est variable selon le risque infectieux de l'intervention, les facteurs permettant de diminuer le taux de la plaie opératoire sont multiples:

### I.3.2.1. Facteurs exogènes :

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

- **L'équipe chirurgicale** : les mains et les ongles de l'équipe chirurgicale portent des micro-organismes qui peuvent contaminer le site chirurgical par inoculation directe durant la procédure chirurgicale **(Borer et** *al*. 2001, **Kurmann et al. 2011).** Ce phénomène a mène a l'utilisation de gants chirurgicaux stériles comme barrière au transfert de micro-organismes et a l'hygiène chirurgicale des mains pour diminuer la population microbienne sur la peau et les mains. En plus des mains, les cheveux du personnel (aussi bien que ceux du patient lui-même), le nez, l'oropharynx ont été montres comme pouvant porter des bactéries pathogènes comme *S. aureus* ou des bactéries Gram-négatif **(Creanor et *al*. *2*012).** Le matériel chirurgical (problème de stérilisation, de contamination…) **(Barie,** Eachempati 2005)

- **L'air** : traitement de l'air, concentration des micro-organismes en suspension proportionnelle a l'activité et au nombre de personnes en salle. La flore exogène est principalement des anaérobies, des bactéries Gram-positif (*Staphylococcus* et *Streptococcu*s). Les contaminations fongiques sont rares, que ce soit en source endo ou exogène et leur pathogénicité n'est pas complètement comprise **(Makary, 2013).**

### I.3.2.2. Facteurs endogènes :

La flore des patients présente au niveau ou a contigüité du site opéré est a l'origine de la majorité des ISO **(Astagneau et *al*. 2009),** le *S. aureus* et le staphylocoque coagulase négative, premier et second micro-organismes les plus fréquemment rencontres, sont des résidents de la peau et des muqueuses, et sont à haut risque de contaminer le site opératoire durant l'incision ou les manipulations,Pour le *S. aureus*, le portage nasal ou cutané est un facteur de risque de survenue d'ISO et peut quadrupler le risque d'ISO a ce même germe, en comparaison de patients non porteurs. **(Wilson et *al*. 2007).** La préparation cutanée de l'opéré est maintenant inscrite dans la routine. Elle permet de réduire la flore résidente cutanée et de réduire le risque d'ISO. En revanche, si la peau devient fortement colonisée suite a des atteintes cutanées, la flore résidente peu persister et contaminer le site opératoire, Par ailleurs, une antisepsie optimale ne permet pas d'éradiquer entièrement la flore cutanée. Environ 20% des bactéries vivent en dessous de la surface cutanée, le long des follicules pileux et dans les glandes sébacées **(Altemeier et *al.* 1984).** Lors de chirurgie contaminée, en plus du rôle de la flore cutanée de contigüité, les flores intestinales, respiratoire, génitale ou urinaire peuvent contaminer le site opéré.

### I.3.4-taux d'infection de site opératoire selon le type d'intervention :

Les bactéries de la flore commensale de la peau provoquent une part plus importante d'infections superficielles, alors que les bactéries du tractus digestif sont majoritairement à l'origine d'ISO profondes. Ces tendances ne sont en revanche pas forcement remarquées pour tous les types de chirurgie, notamment pour les chirurgies propres pour lesquels tout type de bactéries présent au niveau du site anatomique stérile pourra provoquer une infection profonde. Ce constat est retrouve lors de la surveillance des ISO en orthopédie dans les hôpitaux de la NHS au Royaume-Unis **(Eigohari et *al*. 2017)**

## I.4. Le pus :

### I.4.1.définition de pus :

Le pus est un liquide épais de couleur blanche ou jaunâtre qui peut s'accumuler puis éventuellement s'écouler au niveau des zones subissant une infection. Il est composé d'un mélange de globules blancs altérés, de débris de cellules mortes et de bactéries. Habituellement, l'action des cellules de l'organisme participe à l'élimination de cette substance liquide, mais lorsque le pus s'accumule localement dans une cavité ou un espace cloisonné, il peut former un abcèset détruire progressivement les tissus environnants

### I.4.2.principaux germes responsables de la formation de pus:

### I.4.2.1.Les bacillesà gram négatif :

#### I.4.2.1.1.Les entérobactéries:

Les *Entérobactéries* sont des bacilles à Gram négatif facultatifs, retrouvés partout dans le sol, dans l'eau, et surtout dans l'intestin de l'homme et des animaux. Elles comprennent un nombre très élevé de genres et d'espèces. Leur abondance dans l'intestin, leur mobilité, la rapidité de leur multiplication, l'acquisition fréquente de mécanismes de résistance aux antibiotiques expliquent qu'elles soient les bactéries les plus souvent impliquées en pathologie infectieuse humaine surtout en milieu hospitalier (**Verhaegen, 2004**).

Ce sont des bactéries mobiles avec ciliature péritriche ou immobiles, poussant sur milieux de culture ordinaires, aérobies - anaérobies facultatifs, fermentant le glucose avec ou sans production de gaz, réduisant les nitrates en nitrites, oxydase négatif **(Pierre et *al.*,2003).**

L'identification de ces espèces est de plus en plus facilitée au laboratoire par l'utilisation de nombreuses galeries d'identification dont les galeries classiques avec un nombre de caractères limités et les galeries API qui sont très performantes mais leur coût est élevé (**Gueye ., 2007).**

***Escherichia coli :***

*Escherichia cou* (colibacille) est une entérobactérie mobile capable de fermenter le lactose et de produire de l'indole (**Pierre et *al.*, 2003** ).Elle se développe en 24 h à 37 C° dans les milieux gélosés en donnant de colonies rondes, lisses , de 2 à 3 mm de diamètre , non pigmentées (**avril *et al.* , 1992**).

Hôte normal du tube digestif de l'homme et des animaux (10 7à 109 par gramme de selles) (**Cattoir, 2005)**. Elle provoque 40 à 50 % de toutes les infections nosocomiales (**Verhaegen**, **2004).**

**Pouvoir pathogène :**

Le colibacille est responsable d'infection intestinale et extra intestinale, ces souches sont classées dans des variétés pathogènes (**Joly et Reynauld , 2003).**

Leur facteur de pathogénicité se distingue dans la capsule qui est de nature polysaccharidique, les adhésines qui peuvent induire une adhésion à des globules rouges ou à des cellules épithéliales, et sa capacité de produire des toxines (**Nauciel** , **2000**).

Les souches *d'Escherichia* cou -responsables d'infection chez l'homme sont différentes de celles qui constituent l'espèce dominante de la flore intestinale aérobie des adultes et des enfants (**Delarras** , **2007).**

***Enterobacter :***

sont des bacilles à gram négatifs, anaérobies, facultatives généralement mobiles **(Delarras** , **2007)**. Il existe 9 espèces dont *E. cloacae, E. aerogenes*, *E. agglomerans*et *E. gergoviae*sont les plus importants.

**Pouvoir pathogène :**

Les *Enterobacter* sont responsables d'infections nosocomiales à l'hôpital (**Delarras**, **2007)** dont les deux principales espèces qui sont *E. aerogenes*et *E. cloacae*peuvent être isolés à partir d'infection nosocomiales urinaire ou de plaie (**Sougakoff et Trystam, 2003)**. L'utilisation de céphalosporines de troisième génération augmente le risque de colonisation par *entérobactercloacae.* (**Lachassinne et *al.*,2003**).

***Klebsiella :***

Espèce commensale des voies aériennes supérieures et du tube digestif (**Pierre et *al.*,2003).** Ce sont des Enterobacteriaceae toujours immobiles, généralement entourées d'une capsule polysaccharidique, plus ou moins volumineuse selon les espèces et selon les types antigéniques capsulaires. Elles peuvent avoir des origines très diverses:

on les isole chez l'homme et les animaux, du sol, des végétaux, des aliments. (**Verhaegen**, **2004)**.

*Le genre Kiebsiella* compte *5* espèces: *K. pneumoniae, K. oxytoca, K planticola, K lerrigena et K ornithinolytica***(Delarras, 2007).**

**Pouvoir pathogène :**

Les *Klebsiella*sont des germes opportunistes chez les malades fragilisés **(Delarras**, **2007)** qui peuvent être impliqués dans des infections nosocomiales généralement les infections urinaires, les pneumopathies et les septicémies **(Sougakoff et Trystam ,2003).**

Elles provoquent aussi des surinfections des bronches chez les bronchitiques chroniques mais elle est naturellement résistante à l'ampicilline par production de pénicillinase chromosomique (**Pierre et *al*., 2003).**

Les *kiebsiellaspp*sont rarement présentes sur la peau ou elles passent comme un membre transitoire de la flore de la dermique. (**Podschun et Ullmann, 1998**).

***Serratia :***

Les espèces de ce genre sont isolées des plantes (légumes, champignons, mousses), du tube digestif des rongeurs (40% des petits mammifères sauvages sont porteurs de *Serratiaspp*.), des insectes, de l'eau et du sol (**Euzéby, 2003).**

**Pouvoir pathogène :**

Le genre *Serrati a*comprend dix espèces *Serratia marcescens, Serratia liquefaciens, Serratiaproteomaculans, Serratiagrimesii, Serratiapolmuthica, Serratiarubidaea, Serratiaodorifera, Serratiaficaria, Serratiafonticola, et Serratiaentomophila*(**Sekhsokh et *al*.,2007).** La principale espèce pathogène du genre est *Serratiamarcescens*qui provoque habituellement des infections nosocomiales. Toutefois, des souches de *S. plymuthica, S. liquefaciens, S. rubidaea et S. odorifera*ont causé des maladies à travers des infections (**Basilio,**. **2009).**

*Proteus- Morganella- Providencia*

Les *Proteus*et *Morganella*hydrolysent rapidement l'urée contrairement aux *Providencia*qui ne possède pas d'uréase**(Amhis, 2004)**

***Proteus :***

Les *Proteus*spp sont des bacilles à Gram négatif, généralement très mobiles,

Polymorphes (**Lamnaouer**, **2002)**, elles sont isolées du sol, de l'eau, de l'intestin de l'homme et de nombreuses espèces animales.

(**Lamnaouer**, **2002)**

**Pouvoir pathogène :**

Actuellement, le genre *Proteus*rassemble cinq espèces (**Lamnaoue**r, **2002)** dont 3espèces importantes pour l'homme, *Proteus mirabilis*, *Proteusvulgaris*et *Proteuspenneri*(**Goubau et Pellegrims**, **2000)**. *Proteus mirabilis* est l'espèce la plus fréquemment isolée de prélèvements cliniques. (**Lamnaouer**, **2002).**

***Providencia :***

Les espèces du genre *Providencia*sont habituellement considérées comme commensaux dans le tube digestif **(Tribe et Rood**, **2002; O'Hara *et al* .,2000).**

**Pouvoir pathogène :**

Chez le genre *Providencia*Certaines espèces (*Providenciastuartii*et *Providencia alcalifaciens*) ont été associées à des infections nosocomiales et sont considérées comme des pathogènes opportunistes **(Tribe et Rood**, **2002; O'Hara *et al* .,2000).** Chez l'homme, ces bactéries sont la cause des infections urinaires (**Chander *et al* .,2006).**

**I.4.2.1.2 les bacilles à Gram négatif oxydatif :**

Les bacilles à Gram négatif non fermentant (BGNnF) sont des bactéries ubiquitaires retrouvés dans l'environnement, se développe entre 4 et 41 °C (**Husson et *al* .,2000)** , elles sont dites pathogènes opportunistes car bien que pouvant être isolées d'infection communautaires et plus souvent responsables d'infection nosocomiale (**Jarvis**, 1992).

Ces bactéries ont une résistance naturelle à de nombreux antibiotiques et peuvent acquérir de nombreuses autres résistances par pression de sélection antibiotique ou par échange de matériel génétique (**Berthelot et *al* ., *2005).***

Les genres *Pseudomonas* et *Acinetobacter*jouent un rôle important dans les infections nosocomiales et sont multi résistantes aux antibiotiques (résistance naturelle et acquise), ce qui rend le traitement difficile (**Morice, 2005).**

**I.4.2.1.2.1 les principaux genres :**

***a.Pseudornonas :***

Bacilles à Gram négatif, aérobies stricte, à métabolisme oxydatif, saprophytes de l'eau, des soles humides et des végétaux, mobiles par une ciliature polaire, rarement immobiles, non sporulés (**Talon et Bertrand**, **2004)** dont certains ont la capacité de se développer à une température de 42 C° et de secréter des protéases ainsi que des toxines (**Tanner et Chappuis**, **2005).** Elles sont caractérisées par leur résistance aux antiseptiques et aux antibiotiques (**Avril et *al.* ,1992).**

**Pouvoir pathogène :**

*Pseudomonas aeruginosa*est une bactérie pathogène opportuniste, on la trouve dans le tube digestive (**Fauchére , 2002)** dont elle produit plusieurs toxines cytotoxiques (**Nauciel , 2000).**elle peut aussi surinfecter des lésions cutanées , des plaies traumatiques ou postopératoire(**Cattoi**r **,2005).**

C'est une espèce répandue dans l'hôpital connue comme présente dans les incubateurs

humidifiés , éviers et conduits de ventilation (**kaufman et Fairchild** ,**2004)**. Ainsi que dans l'équipement de thérapie respiratoire, antiseptiques, savons et médicaments. (**Lister et *al.*,2009).**

C'est un agent pathogène opportuniste essentiellement responsable d'infections nosocomiales. Une enquête méditerranéenne de prévalence en 2010, le classe comme étant le troisième principal agent des infections nosocomiales, juste après *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* (**Amazian *et al.*, 2010).**

***b-Acinetobacter :***

Les Acinetobacter sont des bacilles immobiles, souvent groupés en diplobacilles courts, aérobies stricts, oxydase négatif, habituellement saprophytes. Ils jouent un rôle d'opportuniste mineur en milieu hospitalier (**Pierre et *al.*,2003).**

Ce sont des bactéries de l'environnement (eau, sol...) et commensales de la peau, elles

possèdent 17 espèces dont A. baumannii est l'espèce la plus fréquemment rencontrée dans ce type d'infection (**Cattoir**, **2003).**

**Pouvoir pathogène :**

*Acinitobacterbaumannii*est un pathogène opportuniste responsable d'infections pulmonaires, les infections de plaies et de tracus urinaire (**Jans et *al* .,2004).** Leur grande résistance aux antibiotiques rend le traitement de ces infections difficile. (**Levent et *al.*, 2011).** Les infections envahissantes à Acinetobacter chez les nouveaux nés se manifestent généralement sous forme de bactériémie, de méningite ou les deux ensembles (**Robinson et *al.*,2008).**

**I.4.2.2.Cocci à gram positif :**

**I.4.2.2.1. Staphylocoque :**

Les genres staphylocoques appartiennent à la famille des *Micrococcaceae,* coques Gram+, immobiles, non capsulés, disposées en amas

Les staphylocoque sont des germes retrouvés dans le sol, l'air et l'eau. Ce sont des commensaux de la peau et des muqueuses de l'homme. (**Avril,1988)**

Le *S.aureus*est retrouvé fréquemment dans les fosses nasales, sur la peau, l'intestin et on peut le retrouver aussi dans les aliments (**Nimmo et Coombs, 2008*)***. La présence de ce germe dans l'environnement est vrai semblablement due à une contamination par l'Homme ou les animaux (**Bergdol ,1970).**

**Staphylocoques à coagulase positive « *Staphylococcus aureus* » :**

Il se cultive facilement sur milieux ordinaires en aérobiose comme en anaérobiose sur tous les milieux usuels. Il pousse et fermente le mannitol sur milieu de Chapman, faisant virer le rouge de phénol au jaune (**Loulergue, Tourret 2003).**

**Pouvoir pathogène de *S. aureus :***

*S. aureus* est responsable de nombreux types d'infections chez l'homme et compte parmi les agents pathogènes les plus souvent isolés des infections nosocomiales et communautaires (**Vincenot et *al.*,2008**; **Kurlenda et Grinholc**, **2012; Otto**, **2012).**ellessont aussi responsable de méningites, des infections respiratoires et urinaires.

En plus des infections aiguës, *S. aureus* peut provoquer des infections chroniques.

**Les staphylocoques à coagulase négative :**

Les staphylocoques à coagulase négative (SCN) ont les mêmes caractères morphologiques que *S.aureus*. Elles sont dépourvues de protéines A et de coagulase. (**Vandepitte et *al* 2003**).

**I.4.2.2.2. Les streptocoques :**

La famille de *Streptococcaceae*regroupe un ensemble de cocci à Gram positif,

dépourvus de catalase et de cytochrome oxydase. Ils produisent de l'acide lactique par fermentation du glucose et sont anaérobies-aérotolérants (**Garmier et Denis**. **2011.)**

Les streptocoques sont le plus souvent impliqués en pathologie humaine et animale.

Certaines espèces très virulentes, comme *Streptococcus pyogènes* ou *Streptococcus pneumoniae*, sont des pathogènes «obligatoires » responsables chez l'homme

d'infections aiguës. D'autres espèces sont habituellement commensales mais deviennent des pathogènes «opportunistes » dans certaines circonstances (**Anne et *al*. 2007)**

**a.Streptocoques du groupes A :**

Bactérie strictement humaine commensale du pharynx surtout (**Jérome et *al.* 2009.** ),elle peut être aussi isolée chez des porteurs asymptomatiques au niveau du nasopharynx, de la peau, du vagin ou du rectum **(Garmier 2011. )**

**b.Streptocoques du groupes B :**

Le streptocoque du groupe B est un cocci à Gram positif, immobile et disposé en chainettes plus ou moins langues ou par paires (**Verani et *al*. 2010 .)** , aéro-tolérant (5 à 10% de Co2) et peut pousser sur milieu ordinaire (gélose nutritive).

**Pouvoir pathogène :**

Les souches de *S. agalactiae*sont responsables chez l'homme d'infections aigues et invasives.

Infections périnatales :

la contamination du nouveau-né se produit au moment de l'accouchement dans le cas d'une rupture prématurée des membranes ou lors de

manoeuvres obstétricales chez une mère porteuse de la bactérie.

L'enfant peut présenter :

une forme précoce grave, survenant avant le 10ème jour de la vie, avec détresse respiratoire, parfois septicémie et méningite (**Cabrol et *al.* 2013)**

Autres infections :

infection génitale, infections urinaires, septicémies, arthrite

septique, ostéomyélites, endophtalmie, pneumopathie,et endocardite aigue (**Anne et *al* . 2007. )**

**c.Streptocoques du groupes D :**

Ce groupe est caractérisé par la présence de l'antigène D, constitué par l'acide teichoïque de la paroi. Cet antigène D est également présent chez les entérocoques mais des études génétiques ont conduit à séparer le genre *Enterococcus*et *streptococcus.*

*S. bovis*est l'espèce la plus fréquemment isolée chez l'homme, elle est responsable d'infections localisées, de septicémies et d'endocardites. Les streptocoques du groupe D peuvent être responsables d'infections urinaires (**Schlegel et *al*. 2004.)**

Ils sont commensaux de l'intestin de l'homme et de certains animaux., isolés de produits laitiers ou d'autres produits agro-alimentaires (**Manachini et *al*. 2002.)**

**Pouvoir pathogène** :

Les infections à streptocoque du groupe D sont le plus souvent associées à une bactériémie, avec ou sans endocardite (**Boleij et *al*. 2011).**

D'autres infections moins courantes impliquant les streptocoques du groupe D comprennent les infections des voies urinaires, la méningite nosocomiale, la péritonite, l'arthrite septique et l'ostéomyélite (**Corredoira et *al*. 2012.)**

**I.5.Facteurs favorisant les ISO :**

Les facteurs de risques d'ISO identifies étaient : les facteurs lies a une diminution de la capacité adaptative des patients correspondant à l'ensemble des comorbidites, l'âge avance, les indices de risque (ASA et NNIS), un indice de masse corporelle élevé et la dépendance des patients. D'autres marqueurs importants incluaient l'accroissement de la durée de séjour préopératoire, la complexité de l'acte chirurgical intégrant une

prolongation de la durée d'intervention. La majeure partie de ces facteurs de risques est également retrouvée lors de l'analyse des données de surveillance ISO-RAISIN de 2007 à 2011.

Un site opératoire peu vascularisé ou présentant des dommages avec des tissus nécrotiques ou du matériel étranger est a haut risque d'infection pour une même quantité contaminante en micro-organismes. Les conditions au niveau du site opératoire sont également déterminées par les pathologies sous-jacentes qui nécessitent de la chirurgie (par exemple la sévérité du traumatisme) et par la technique opératoire (par exemple l'expérience du chirurgien). L'âge influe pour plusieurs raisons : l'amaigrissement de la barrière cutanée, la diminution des réponses immunitaires, l'exposition aux établissements de long séjour et la malnutrition. Le tabagisme retarde la phase primaire de cicatrisation par une 21 diminution de l'oxygénation des tissus. L'obésité est associée avec une faible oxygénation des tissus et une plus forte incidence de diabète. L'hyperglycémie durant le post-opératoire immédiat est un facteur de risque indépendant de développer une ISO, en raison de l'effet direct d'une élévation du glucose sur les mécanismes immuns. **(Gabriel, 2014)**

Les facteurs liés à la procédure incluent la qualité de la technique chirurgicale, la durée de l'intervention, la qualité de la préparation cutanée pré-opératoire et la stérilisation inadéquate des instruments chirurgicaux. Le risque individuel de survenue d'ISO peut être estime par de nombreux scores comme l'index de risque NNIS **(Birgand, 2014)**.

**I.6.Antibiogramme et Antibiorésistance :**

Les premiers ATB, substances naturelles, ont probablement été utilisés bien avant la découverte de leurs propriétés thérapeutiques au XXe siècle. L'utilisation des antibiotiques en thérapeutique humaine débutera avec la découverte de la pénicilline par Alexander Fleming en 1928, et la mise en évidence du pouvoir antibactérien in Vivo par Florey et Chain en 1938 (**Swartz ,2004**)qui signera l'entrée dans la médecine moderne. L'avènement des antibiotiques a constitué un formidable progrès thérapeutique, leur utilisation a permis de réduire considérablement la mortalité liée aux infections bactériennes souvent voire toujours fatales comme la tuberculose et les méningites bactériennes (**Lode,2010)** .Les ATB contribueront également à la réduction de la morbidité et la mortalité liées aux infections chez les patients fragilisés

sous chimiothérapies immunosuppressives ; ils permettront également la réalisation de certaines interventions chirurgicales comme les transplantations d'organes. L'antibiotique peut favoriser la prolifération de certaines espèces qui seront à l'origine d'infections secondaires (**Baxter et *al* 2008).** Depuis les années 1940, la consommation des ATB n'a cessé de croître, l'industrie pharmaceutique découvrant et développant de nouvelles molécules au cours du temps répondant ainsi aux attentes des cliniciens confrontés aux premières résistances. Cette révolution dans le domaine médical qui a permis des progrès considérables dans la lutte contre les maladies infectieuses a un prix. En effet, l'utilisation pas toujours raisonnée de ces molécules au cours du temps a engendré l'émergence de résistance chez les bactéries. Dès 1944, les premières souches de staphylocoques résistant à la pénicilline apparaissent **(Alexander et Redman, 1949).** Dans les années 50, une première prise de conscience de ce problème des résistances aboutit à des publications (**Weinstein et *al*.1957, Bush 2004)** qui n'auront malheureusement que peu d'écho dans le monde médical, l'industrie pharmaceutique palliant chaque émergence de résistance par la mise au point de molécules nouvelles rétablissant ainsi la balance thérapeutique (**Barber ,1961).**

### I.6.1.L'origine génétique de la résistance et modalité de transfert génétique :

La résistance bactérienne à un antibiotique est d'origine génétique. Les gènes de la résistance se trouvent soit dans le chromosome (résistance chromosomique) soit dans des éléments mobiles, comme les plasmides, élément transposables ou intégrons (résistance extrachromosomique). La résistance peut être soit naturelle, soit acquise (**Mandell et *al.*,2009).**

#### I.6.1.1.Résistance naturelle :

La résistance naturelle ou intrinsèque est un caractère d'espèce qui touche toutes lescellules de toutes les souches alors que la résistance acquise est un caractère qui ne concerne que quelques (ou parfois de nombreuses) souches d'une espèce donnée.

La résistance naturelle est stable, transmise à la descendance mais pas ou peu transmissible sur un mode horizontal. Inversement, la résistance acquise est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien. La résistance naturelle a pour support génétique le chromosome bactérien et elle permet de définir le spectre d'activité des antibiotiques (**Fauchère et Avril**, **2002).**Ses

mécanismes biochimiques sont nombreux et quelques uns d'entre eux sont cités ci-dessous.

Les bacilles à Gram négatif (et notamment les entérobactéries dont *K.p*et *Pseudomonas aeruginosa*) sont naturellement résistants, le plus souvent à bas niveau, aux antibiotiques hydrophobes et/ou de masse moléculaire élevée (pénicilline G, pénicilline M, macrolides, rifampicine, acide fusidique, novobiocine, vancomycine) puisque ces antibiotiques ne peuvent traverser la membrane externe de la paroi. *Klebsiellapneumoniae*est naturellement résistante à l'amoxicilline, ampicilline et à la ticarcilline, grâce à une β- lactamase chromosomique naturelle (**Pina *et al.*,2000).**

Les bactéries anaérobies sont naturellement résistantes aux aminosides car le passage des aminosides à travers la membrane cytoplasmique nécessite un système de transport actif absent chez les anaérobies. Pour les mêmes raisons, les bactéries aéroanaérobies facultatives sont moins sensibles aux aminosides lorsqu'elles sont placées dans un environnement pauvre en oxygène (**Paul**, **2005).**

Certaines espèces (*Klebsiella*spp.,*Enterobacter*spp., *Serratia*spp., *Citrobacter*spp., *Morganella*spp.,*Providencia*spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacteroidesfragilis*, *Bacillus cereus*, *Nocardia*spp., ...) produisent naturellement des β-lactamases(**Paul**, **2005).**

### I.6.1.2.Résistance acquise :

Elle existe grâce à l'acquisition d'un ou de plusieurs mécanismes de résistance quidéterminent un phénotype bien précis de résistance, différent du phénotype sauvage,caractérisant les souches n'ayant pas acquis ce mécanisme. Elle ne concerne qu'une population plus ou moins importante de souches d'une espèce.

Dès le début de l'antibiothérapie la résistance acquise a été observée mais sa fréquence était faible. Ultérieurement, la généralisation de l'utilisation des antibiotiques a conduit à une sélection des souches résistantes et on constate, quotidiennement, que de très nombreuses souches ne se comportent pas à l'égard des antibiotiques conformément à ce que les spectres d'activité permettraient de le supposer. Ce phénomène a atteint une telle ampleur que la seule identification bactérienne ne permet plus de prédire le comportement d'une souche isolée vis

à-vis des antibiotiques (**Ros, 1999; Meyer et *al.*,2004).**

**I.6.1.3.Les mécanismes de résistances bactériennes aux antibiotiques :**

Outre les résistances naturelles des bactéries, il existe un nombre important de mécanismes de résistance développé par les bactéries en réponse à la pression de sélection ATB. Ces résistances relèvent d'un mécanisme biochimique dont le support est génétique et elles peuvent être transmissibles à d'autres bactéries (**Andremont ,2002, Guillemot et Leclercq ,2005**)

Les modes de résistance connus actuellement qui résultent de la pression de sélection exercée par les ATB sont au nombre de quatre : L'inactivation enzymatique par la sécrétion d'une enzyme L'efflux actif La modification de la cible La diminution de la perméabilité (porines) à l'antibiotique Une même bactérie peut présenter plusieurs de ces mécanismes de résistance

1. L'inactivation enzymatique Par ce mécanisme, la bactérie acquiert la capacité d'inactiver l'action des ATB par la sécrétion d'enzymes avant même qu'ils n'aient pénétré au sein du microorganisme (**Babic et *al* 2006).** Les classes d'antibiotiques visées par ces enzymes sont les ßlactamines les macrolides-lincosamimides-streptogramines (MLS), les aminosides et les phénicolés.
2. Le mécanisme d'Efflux actif Ce sont des mécanismes de transport membranaire universellement répandus chez des organismes vivants. Ils ont un rôle clé dans la physiologie bactérienne : préserver l'équilibre physico-chimique du milieu intracellulaire en s'opposant à l'accumulation de substances naturelles ou synthétiques toxiques transport de substances nutritives et export de substances toxiques. On différencie les pompes à efflux par : spécificité ou non des molécules exportées structure : une à trois protéines type d'énergie nécessaire : ATP ou force proton-motrice mode expression : inductible ou constitutif

3. Modification de la cible

-Modification d'affinité de la cible : Ce mécanisme est en relation avec une modification d'affinité d'une ou plusieurs cibles de type PLP ou PBP (PenicillinBindingProtein) comme chez Streptococcus pneumoniae définissant une résistance de niveau variable : BNR (bas niveau de résistance) et HNR (haut niveau de résistance). La résistance des entérocoques aux pénicillines telle l'ampicilline peut être en relation avec une 21 hyperproduction de PLP d'affinité médiocre telle PLP5. Il

est principalement présent chez les bactéries Gram négatif **(. Guinote et al 2011, Bobba et al 2011).**

-Substitution de cible Ce mécanisme est de moindre importance dans le monde bactérien. Cependant, l'exemple majeur est la résistance intrinsèque ou méticillino-résistance de Staphylococcus aureus qui est liée d'une part, à la présence d'une nouvelle PLP de faible affinité, dénommée PLP2a et d'autre part à son hyperproduction.

-Altération des précurseurs de la paroi bactérienne Les glycopeptides (vancomycine, et teicoplanine) ont une affinité pour les précurseurs du peptidoglycane comportant le dipeptide D-alanyl-D-alanine. Les cibles potentielles sont donc soit intra cytoplasmiques soit situées au niveau de la paroi en formation. Ces cibles ne sont pas toutes atteintes, car elles ne sont pas toutes accessibles aux glycopeptides. Aucune cible n'est atteinte chez les bactéries à Gram négatif, car ces antibiotiques ne peuvent pas traverser la membrane externe. Ceci explique que les glycopeptides ont un spectre étroit limité aux bactéries à Gram positif (principalement streptocoques, entérocoques et staphylocoques). Chez les bactéries à Gram positif, ces antibiotiques diffusent librement à travers les mailles du peptidoglycane. En revanche, ils ne peuvent traverser la membrane cytoplasmique et leur action s'exerce sur la paroi en formation.Ce mode de résistance est codé par des gènes qui sont présents sur des transposons localisés sur le chromosome ou sur un plasmide autotransférable (**Lessard ,1999).**

- Altération de la synthèse des acides nucléiques Des mutations dans le gène gyrA peuvent modifier la sous unité A de l'ADN gyrase (une des cibles des quinolones) et diminuer l'affinité des quinolones pour leur cible ce qui provoque une résistance croisée, à des degrés divers, pour l'ensemble des quinolones. Ces modifications sont situées dans la sous-unité A au niveau d'un domaine d'environ 40 acides aminés et nommé « région déterminant la résistance aux quinolones » (ou QRDR : Quinolone Resistance-DeterminingRegion). Ces modifications, étudiées notamment chez *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Enterococcusfaecalis, Campylobacterjejuni*et des mycobactéries, confèrent une résistance qui atteint de 10 à 100 fois la CMI **(Eaves 2004, Kim et *al* 2010)**

-Altération des sites de liaison ribosomale. Des substitutions d'acides aminés dans la protéine S12 de la sous-unité 30 S du ribosome provoquent une résistance à la streptomycine. Ces mutations ont été caractérisées chez *Escherichia coli,*

*Haemophilusinfluenzae, Streptococcus pneumoniae, Enterococcusfaecalis, Mycobacteriumtuberculosis.* Chez *Mycobacteriumtuberculosis*, un autre type de mutation est impliqué dans la résistance à la streptomycine. Il s'agit d'une mutation dans le gène rrs, codant pour l'ARNr 16S, et qui a pour conséquence d'altérer la fixation de la streptomycine sur les ribosomes.

4 . Diminution de la perméabilité de la membrane Pour agir, les antibiotiques doivent pénétrer dans la cellule bactérienne. Beaucoup d'antibiotiques utilisent les systèmes de transport propres à la bactérie pour ses échanges avec l'extérieur pour entrer (**Marchou et *al*1987).** Pour résister, la bactérie contrecarre cette entrée de toxiques en diminuant la perméabilité de sa membrane par : Une altération des porines : ce mode de résistance n'affecte que les bactéries Gram négatif. Chez ces bactéries, la membrane externe 24 constitue une barrière de diffusion très efficace. L'antibiotique ne peut traverser cette barrière qu'en empruntant des structures particulières : les porines (protéines formant les pores de la membrane). Le passage des antibiotiques à travers les porines est d'autant plus facile que les molécules sont de petite taille, neutres et très hydropliles. Toute modification des porines rend le passage des molécules hydrophobes (comme la famille des béta-lactamines) encore plus difficile. L'absence de passage ou l'augmentation du temps de passage protège les bactéries et les rend résistantes. Une inhibition du transport actif Une inhibition de la pénétration à travers les peptidoglycanes recouvrant la membrane plasmique chez les bactéries Gram positives. La modification de la composition du lipopolysaccharide (LPS), soit dans le polysaccharide, soit dans le core, peut aussi être à l'origine d'une diminution de la perméabilité. Ce mécanisme n'est, cependant, pas très performant, car il suffit d'augmenter les doses d'antibiotiques pour faire face à cette baisse de la perméabilité membranaire. Néanmoins, ce système, lorsqu'il est associé à d'autres systèmes de résistance, peut protéger de façon efficace la bactérie même à des doses importantes d'antibiotiques (**Pagès, 2004).**

**I.6.1.4.Résistance croisée et Co-résistance :**

La résistance croisée résulte d'un seul mécanisme biochimique et concerne desantibiotiques appartenant à la même famille .La Co-résistance est liée à plusieurs mécanismes (plusieurs gènes de résistance impliqués) et concerne des antibiotiques appartenant à différentes familles.

**I.6.2.La résistance de *S.aureus*à la méthicilline (S.A.R.M) :**

Les β-lactamines sont des ATB qui inhibent la synthèse de la paroi bactérienne .les transpeptidase et carboxypeptidases, enzyme associées à la membrane cytoplasmique .fixent de façon covalente ces ATB par une analogie structure .Ces enzyme sont également dénommée protéines de liaison aux pénicilline (PLP).

Le mécanisme de résistance à la méthicilline est du à la modification de l'affinité des PLP pour l'antibiotique .(**Berche et *al* .,1991).**

**I.6.3.La β-lactamase à spectre élargi (BLSE)chez les entérobactéries :**

La majorité des souches productrice de β-lactamaseplasmidiquesà spectre élargi (classe III) appartiennent surtout à *klebsiellapneumoniae* .Cette résistance plasmidique pouvant donc s'étendre à d'autre Entérobactéries (**Mouton ,1997)**

**I.6.4.Antibiogramme :**

**I.6.4.1.Détection de la résistance aux antibiotiques –Antibiogramme**

Il est fondé sur l'inhibition de croissance d'une bactérie par un antibiotique.il consiste à mesurer sur une souche bactérienne responsable d'une infection , une concentration active d'antibiotique choisie pour des raisons pratiques comme la concentration minimale inhibitrice(CMI) afin de la classer dans 3 catégories cliniques sensible(S), intermédiaire (I), et résistante (R) La CMI est mesurée soit directement par les méthodes de dilution, soit extrapolée à partir d'une zone d'inhibition (méthode de diffusion) (**Ferney J.2007)**

**I.6.4.2.La méthode par diffusion ou méthode des disques**

Après incubation de 18h à 37, on observe une zone d'inhibition autour des disques d'antibiotiques. Le diamètre de cette zone d'inhibition est une fonction linéaire du logarithme de la concentration qui se trouve en bordures de la zone d'inhibition, elle-même en relation avec la CMI (**Ferney J.2007)**

**Conditions techniques :**

**Inoculum ;** dilution au 1/100 d'une suspension en solution saline ajustée au 0.5 Mc Farland, Milieu ; Mueller-Hinton et Durée et conditions d'incubation : 18-24h à 35-37°C. A chaque concentration critique correspond un diamètre critique. Le diamètre mesuré en mm ,peut donc être comparé directement avec les diamètres critiques supérieurs et inferieur délimitant les catégories sensibles, intermédiaires et résistantes (**Ferney J.2007)**

Pour certain antibiotique ou famille d'antibiotique, l'antibiogramme standard n'est pas suffisant et des tests complémentaires doivent être pratiqués, avant toute interprétation définitive comme la recherche de la résistance à l'oxacilline, Seul les disques de Céfoxicitine (30 µg) doit être testé dans l'antibiogramme standard. (**Ammari H 2014)**

## I. Matériel :

### I.1.Matériel biologique :

Dans le cadre de notre étude nous avons analysé un matériel biologique qui est le pus prélevé au nombre de 48 à partir des lésions suppurées.

### I.2.Matériel non biologique :

Il est représenté par les appareillages, les verreries, les réactifs, les milieux de culture, les disques (d'antibiotique, d'oxydase) (voir annexe).

## II. Méthodes :

### II.1.Période et lieu d'étude :

Notre travail a été effectué au niveau du laboratoire de microbiologie de l'Etablissement Public Hospitalier (EPH) Mohamed Boudiaf de Médéa durant la période allant de 18 janvier à 24 mai 2018.

### II.2. Objectif d'étude :

- **Objectif principal :**

  - L'étude de profil bactériologique des suppurations post opératoires réalisées au niveau des services de chirurgie de l'EPH -Médéa-

- **Objectif secondaire :**

  - L'identification des bactéries à partir des prélèvements de pus provenant des services de chirurgie
  - détermination la fréquence des infections postopératoires dans les services de chirurgie
  - détermination des fréquences des germes isolés
  - détermination du profil de sensibilité aux antibiotiques des germes le plus souvent en cause dans les infections postopératoires.

**II.3. Population d'étude :**

Cette d'étude a ciblé des malades hospitalisés souffrants de plaies infectées avec formation abondante de pus. Chirurgie générale, Chirurgie infantile, Postopératoire, Traumatologie (Chirurgie orthopédique)et service maternité(césarienne)

**II.4.Prélèvement :**

Le prélèvement a été réalisé à l'aide de seringue oude deux écouvillons stériles pour chaque patient :

- Un écouvillon pour la réalisation d'un examen direct.
- Un autre écouvillonpourl'isolement des bactéries à partir des pus prélevés.

**Technique :**

-lorsque la plaie est ouverte, on nettoie bien la zone de prélèvement à l'eau physiologique ensuite on presse légèrement sur les bords afin de faire sortir le pus ce dernier est prélevé à l'aide d'un écouvillon.
- lorsque il s'agit d'une plaie fermée, la désinfection se fait par l'alcool iodé puis on aspire à l'aide d'une seringue.

Pour les deux cas, il faut éviter que le prélèvement contienne de sang.

**II.5. Acheminement des prélèvements :**

L'acheminement au laboratoire doit être le plus rapide possible pour éviter la dessiccation d'écouvillon.

Une fiche de renseignement doit obligatoirement accompagner le prélèvement sur la quelle seront mentionnés le nom, le prénom, l'âge, le service d'origine .l'écouvillon doit comporter le nom, le prénom et le numéro du malade.

**II.6.Etude bactériologique :**

**II.6.1Examen macroscopique :**

Il faut noter la consistance, la couleur et l'odeur car ces renseignements peuvent orienter l'étude.

**II.6.2.Examen microscopique :**

**II.6.2.1.Examen à l'état frais :**

- **Principe :**

L'examen à l'état frais permet l'observation de la morphologie des bactéries vivantes leur mode de regroupement et leur mobilité, en absence de toute fixation ou coloration ainsi que la présence des leucocytes, des globules rouges et même des levures.

- **Technique :**
- Au début préparer une dilution d'un échantillon (on prend l'écouvillon) on ajoute quelques gouttes d'eau physiologie dans le tube est Fermer correctement. et agiter pour décharger les germes dans l'eau physiologie)
- Ensuite les déposer à l'aide d'une pipette pasteur sur une lame séché et stérile.
- Puis recouvrir la préparation par une lamelle et on peut faire l'examen microscope photonique au grossissement 40, avec éclairage relativement faible.

**Lecture :**

- granulocytes (cellules de pus) et les globules rouges.
- cellules épithéliales qui signent une éventuelle contamination par la flore commensale.
- La forme : bacille cocci et cocobacille.
- Le regroupement : paire, chainettes, amas ou isolés.

**II.6.2.2. Coloration simple au bleu de méthylène :**

**Principe :**

Cette coloration permet l'observation des bactéries et leur forme (cocci ou bacille).

- **Technique :**

❖ **Préparation de frottis :**

-Décharger l'écouvillon dans un petit volume d'eau physiologique puis déposer une goutte de la suspension sur une lame

-Laisser la lame se dessécher prés de bec benzène, la fixation en laisser passer deux à trois fois dans la flamme.

❖ **Coloration :**

- Recouvrir le frottis avec le bleu de méthylène .la concentration du colorant.
- Laisser agir 5à 10minutes selon la concentration du colorant.
- Rinces a l'eau de robinet et sécher la lame
- Ajoute une goutte de l'huile à immersion puis observer au microscope optique à (G×100)

**Lecture :**

- Les bactéries sont colorées en bleu sombre.
- La forme : bacille,cocci et cocobacille.
- Le mode regroupement : paire, chainettes, amas,diplocoquesou isolés.
- La taille : moyenne, fin et grosse.

**II.6.2.3.coloration de gram :**

- **Principe :**

C'est une coloration double qui permet de différencier les bactéries, non seulement d'après leur forme , mais également d'aprét leur affinités pour les colorant liées à la structure générale de la paroi

- **Technique :**
- Recouvrir la lame avec violet de gentiane Laisser agir 1 minute puis rincer àl'eau.
- Recouvrir la lame avec lugol Laisser agir 45 secondes puis rincer a l'eau.
- Immerge la lame dans bain d'alcool laisser agir 30secondes ensuit rincer.
- Recouvrir la lame par deuxième colorant, la fuschine Laisser agir 20 secondes puis rincer a l'eau.
- Après avoir sécher la lame, on ajoute une goutte de l'huile à immersion puis observer au microscope optique à (G×100).

**Lecture :**

- La couleur qui donne le type de Gram : des bactéries colorées en violet (Gram+) et celles en rose (Gram-).
- La forme : bacille cocci et cocobacille
- Le mode regroupement :paire ,chainettes ,amas, diplocoques ou isolés.
- La taille : moyenne, fin et grosse.

**II.6.3.culture et isolement :**

Ces deux étapes permettent de dénombrer et d'isoler les bactéries se trouvant dans le pus.

❖ **Mise en culture ou ensemencement :**

L'ensemencement des prélèvements se fait sur :

- **Gélose au sang :** c'est un milieu d'enrichissement (pour le germe qui présente d'exigence ainsi que l'étude de l'hémolyse).
- **Gélose nutritive :** c'est un milieu ordinaire(les germes qui ne présentent pas d'exigence).
- **Gélose Chapman :** pour l'isolement des staphylocoques.
- **Gélose Hektoen :** pour l'isolement des entérobactéries et autre BGN

Les géloses sont séchées avant l'emploi .On utilise la méthode des quadrants pour l'ensemencement des milieux solide :

- On fait l'étalement de la suspension en réalisant des stries serrées sur environ 1/2 de la boîte avec pipette pasteur
- On tourne la boîte d'environ 90°, et on fait l'étalement d'une partie des stries précédentes avec une pipette pasteur
- Faire un Z final vers le centre de la gélose

L'incubation des milieux de culture se fait en aérobiose pour la gélose Chapman, Gélose nutritif et la gélose Hektoenet en anaérobiose pour la géloseau sang pendant 24h à 48h à une température de 37°C.

**II.6.4.Identification :**

L'identification des bactéries isolées est réalisée selon quatre étapes.

**II.6.4.1.Identification macroscopique :**

Après la période d'incubation, on observe des modifications sur les milieux de culture .l'observation des colonies à l' œil nue est basée sur l'aspect des colonies la taille (petites, moyenne, grosses), la forme (plates bombées.)Et la couleur (blanchâtres, grisâtres..).L'abondance des colonies est signalée (rares, nombreuse, très nombreuse)

- **L'aspect des colonies bactériennes sur les milieux :**

- Gélose au sang : hémolyse (Hémolyse β :zone claire d'hémolyse totale de diamètre 3-4mm entourant les colonies ,Hémolyse α : zone floue et granuleuse ,verdâtre de 1à2mm de diamètre.
- Gélose Chapman : colonies jaunes(*staphylococcus aureus ou* staphylocoque doré) et colonies blanches(staphylocoque blanc ).
- Gélose Hektoen : colonies saumon(*E.coli*), colonies saumon à centre noir(citrobacter), colonie bleu-vert à centre noir(*Proteus mirabilis*), colonie bleu-vert ou verte(*Providencia).*

**II.6.4 .2.Identification microscopique :**

Elle est réalisée par la coloration de Gram, sur notre culture une colonie bien isolée sera prélevée et mise en suspension dans une goutte d'eau physiologique.la lecture est basé sur :

- La forme (ronde, bâtonnet) la taille, le mode de regroupement(en amas, en chainettes et en diplocoques)
- La couleur qui donne le type de Gram : des bactéries colorées en violet (Gram+) et celles en rose (Gram-)

**II.6.4 .3. ré-isolement:**

La présence de certaines bactéries à pouvoir pathogène spécifique dans un prélèvement, a une signification pathologique indiscutable, même si elles sont peu

représentées. Leur proportion peut être minime par rapport à celle de la flore commensale et leur présence ne peut être révélée par un isolement.
On l'utilise pour la culture de certaines bactéries particulièrement exigeantes et qui se cultivent mal sur les milieux de culture.

L' incubation se fait àune température désirée (37°C), afin d'obtenir une multiplication des microorganismes présents.

**II.6.4 .4.Identification biochimique :**

L'identification biochimique consiste à mettre en évidence quelque caractères importants qui permettront de classer le germe isolé .Ces tests permettent d'étudier l'équipement enzymatique des bactéries.

**II.6.4 .4 .1.Identification biochimique des coccià Gram positif :**

**II.6.4.4.1.1Test d'orientation (Test de catalase) :**

**Principe :**

La mise en évidence de cette enzyme est réalisée en présence d'eau oxygénée, par l'observation de dégagements gazeux.

Test de catalase nous assure la distinction entre les Staphylocoques et les Streptocoques.
Cette enzyme permet la réduction de la peroxydase

**Technique :**

Sur une lame propre et sèche, à la pipette pasteur boutonnée, on prélève une colonie du germe à étudier et on la dépose dans l'eau oxygénée.

**Lecture :**

Le dégagement de bulle de gaz indique la présence de la catalase sur la souche testée donc catalase positive c'est le cas de Staphylocoque, mais s'il rien qui se produit, la souche est dite catalase négative tel que les streptocoques.

**II.6.4 .4 .1.2.Identification des caractères biochimiques des Staphylocoques :**

**Test d'orientation (Recherche de la coagulase) :**

La staphylocoagulase est un enzyme qui a la propriété de coaguler le plasma par la transformation du fibrinogène en fibrine.

La production de coagulase permet de différencier les souches de *S.aureus (*staphylocoque dorés )des souches de *S.epidermidis*et*S.saprophyticus* (staphylocoque blancs).

**Technique :**

Cette coagulase libre est mise en évidence par l'ensemencement des deux tubes à hémolyse de la manière suivant :

-Témoin négative : contenant uniquement le plasma humain citrate ou sérum de lapin

-Tube à étudier : contenant 0,5 ml de plasma humain plus 0,5 ml de la suspension bactérienne (L'incubation se fait à une température de 37°C pendant 2h).

**Lecture :**

La coagulation doit apparaitre en un temps inférieur à 3h .la présence en masse du plasma est souvent totale et le caillot adhère aux parois du tube, staphylocoagulasepermet l'identification des *staphylococcus aureus.*Toutes les étapes de l'isolement et de l'identification sont groupées dans le diagramme suivant

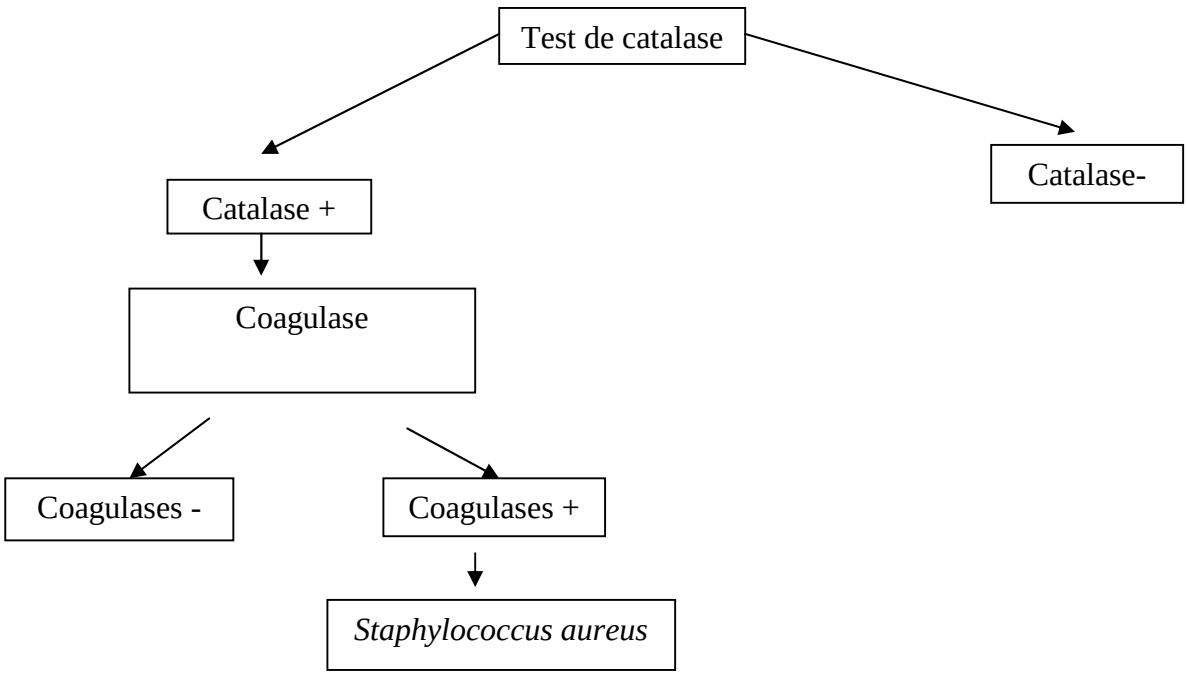



**Figure 1 :** Diagramme d'identification biochimique des cocci a Gram positif

**b. Galerie Api 20 STAPH :**

**b.1.Technique :**

**Préparation de la galerie**

Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

Sortir la galerie de son emballage individuel.

Placer la galerie dans la boîte d'incubation.

**Préparation de l'inoculum :**

A l'aide d'une pipette Pasteur, prélever deux colonies bien isolées sur milieu gélose. Utiliser préférentiellement des cultures jeunes (18-24 heures)

Bien décharger la pipette dans 10ml l'eau physiologique stérile.

Réaliser une suspension homogène d'eau distillée d'une culture pure .

**Inoculation de la galerie :**

A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, remplir les tubes de la galerie avec API 20 Staph Médium ensemencé. Pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant.

Créer une anaérobiose dans les tests ADH et URE en remplissant leur cupule d'huile de paraffine pour former un ménisque convexe.

Renfermer la boîte d'incubation.

Incuber à 36°C ± 2°C pendant 18-24 heures.

**Lecture :**

Après incubation, lire les réactions conformément au tableau de lecture en ajoutant 1 goutte de chacun des réactifs suivants.

-Test VP ; VP 1 et VP 2.

-Test N1T : N1T 1 et N1T 2.

-Test PAL : ZYM A et ZYM B.

Elle est réalisée à l'aide du Catalogue Analytique.

**II.6.4 .4 .2.Identification des caractères biochimiques des Streptocoques et des Entérocoques :**

Identification des caractères biochimique des Streptocoques et des Entérocoques s'effectue selon les méthodes suivantes :

**II.6.4 .4 .2.1.Test d'orientation (La recherche du pouvoir hémolytique) :**

On ensemence la souche à étudier sur une boite de gélose au sang par la méthode de stries et on la place à l'étuve a 37°C pendant 24h.

A la lecture on observe :

-Beta-hémolytique : anneau transparent autour des colonies.

-Alpha-hémolytique : anneau vert foncé, plus anneau vert clair.

**II.6.4 .4 .3.Identification des caractères biochimiques des bacilles gram négatif :**

**II.6.4 .4 .3. .1Test d'orientation d'oxydase :**

- **But :**

Test d'oxydase permet et mettre en évidence le cytochrome oxydase , enzyme intervenant dans divers couples d'oxydation , cette enzyme entre dans la chaines respiratoires aérobies et comporte le cytochrome C.

- **Principe :**

La recherche d'oxydase consiste en l'utilisation de disques imprégnés de l'oxalate de N-diméthyle paraphenylene diamine qui est oxydé par le cytochrome des bactéries oxydase positives se transforme en composé violet foncé.

- **Technique :**

Ce test consiste à : déposer sur une lame propre, un disque imprégné de solution d'oxydase et trempé préalablement dans de l'eau physiologique. A l'aide d'une pipette pasteur dépose sur le disque quelques colonies à étudier.

Après quelque secondes, on peut effectuer la

- **Lecture :**

-Oxydase positive : la couleur du disque vire au rose foncé, violet puis noir, au niveau du dépôt.

-Oxydase négative : aucun changement n'est observé, dans le cas des entérobactéries.

**II.6.4 .4 .4.Identification biochimique des entérobactéries :**

- ✓ **Galerie API20E**

Cette galerie est un système standardisé pour l'identification des entérobactéries et d'autre bactérie a gram, elle comporte 20micro tubes contenant des substrats sous forme déshydratée(20 test miniaturises) .les tests sont inocules avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux .les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanées ou révèles par l'addition de réactifs .la lecture de ces réaction se fait à l'aide d'un tableau de lecture , et l'identification est obtenue à l'aide d'un catalogue analytique.

- ➢ **Technique :**
- ➢ **Préparation de la galerie :**

Réunir fond et couvercle d'un biote d'incubation et repartir environ 5ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide .Retirer la galerie de son emballage individuel et le déposer dans la boite d'incubation

- ➢ **Préparation de l'inoculum :**

A partir d'une culture pure de 24 heures sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une pipette pasteur stérile quelque colonies bien isolées et parfaitement identiques.

Bien décharger la pipette dans 10ml l'eau physiologique stérile

Réaliser une suspension homogène d'eau distillée d'une culture pure.

- ➢ **Incubation de la galerie :**

Avec la suspension bactérienne ,remplir tubes et cupules des test :CIT ,VP,GEL ,avec et uniquement les tubes pour les autres tests, couvrir les cupules des tests :ADH,LDC,ODC,URE,H2S avec l'huile de vaseline stérile pour créer l'anaérobiose .

Refermer la boite d'incubation, et incuber à 37˚C pendant 24heures d'anaérobiose.

- **Lecture :**

La lecture de galerie doit se faire en se référant au tableau de la lecture :

Révéler les tests nécessitent l'addition de réactif (VP,TDA,IND).

Noter sur la ficher les résultats de toute la réaction.

L'identification est obtenue à l'aide d'un tableau analytique dans lequel chaque espèce est représentée par un profile.

**II.6.4 .5 .Antibiogramme :**

Les tests les plus utilisés en pratique courante sont les test qualitatifs de diffusion en milieu gélose (méthode des disques),plusieurs antibiotiques pouvant être testés en même temps ,et la simplicité des résultats fournis au cliniciens , ces résultat ont été traduits par des termes clairs de catégories « sensible , » « intermédiaires, » résistantes, ».

- **Technique :**

La méthode que nous avons utilisée est l'ensemencement par écouvillonnage

- **Milieu :**

Gélose Mueller Hinton, coulée en boites de pétries pour les bactéries non exigeantes.

Gélose au sang, pour les bactéries exigeantes

Les géloses sont près séchées avant l'emploi.

- **Inoculum :**

A partir d'une culture pure de 24 heures sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une pipette pasteur stérile 2 colonies de diamètre 3mm bien isolées et parfaitement identique.

Bien décharger la pipette dans 10ml l'eau physiologique stérile.

Bien homogénéiser la suspension bactérienne.

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

- **Ensemencement :**

Tremper par un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.

Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée ,de haut de bas ,en stries serrées ,nous répétons l'opération deux fois ,en tournant la boite , d'un angle de 60˚à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sue lui-même , à la fin de l'ensemencement passer l'écouvillon sur la périphérie de la boite

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

Il est préférable de ne pas mettre plus de six disques sur une boite de 90 mm de diamètre.

Les disque doivent être espacés de 24 mm, centre a centre.

Puis tester la liste de l'antibiotique selon la bactérie isoléeselonla tableau

Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide d'une pince bactériologique flambée, soit à l'aide d'un distributeur.

Incuber les boites dans l'étuve à 37˚C pendant 18à24 heures.

- **Lecture :**

Mesure avec précision des diamètres à l'aide d'une règle.

Comparer ces résultats aux valeurs critiques.

Classer les bactéries isolées dans l'une des catégories : sensibles, intermédiaires ou résistantes.

**Tableau 1 :** La table de lecture de l'antibiotique.

| **Germes** | | **Antibiotiques** | **Abréviation** | **Zone d'inhibition (mm)** |
|---|---|---|---|---|
| **Cocci a Gram** | **Streptocoque** | AmpicillineErythromycinePénicillineTétracycline Vancomycine | AM<br>E<br>P<br>TE<br>VA | 17<br>22<br>29<br>18<br>16 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **Staphylocoque** | Acfucidique | FA | 22 |
| | | Amikacine | AN | 30 |
| | | Clindamycine | CM | 22 |
| | | Erythromycine | E | 22 |
| | | Fosfomycine | FOS | 14 |
| | | Gentamicine | GM | 16 |
| | | Pénicilline | P | 29 |
| | | Oxacilline | OXA | 20 |
| | | Tétracycline | TE | 18 |
| | | Vankomycine | VA | 16 |
| **Bacilles à Gram négatif** | **Entérobactéries** | Amoxicilline | AMX | 21 |
| | | Augmentin | AMC | 18 |
| | | Amikacine | AN | 30 |
| | | Céfazoline | CZ | 18 |
| | | Céfotaxine | CTX | 27 |
| | | Céfoxitine | FOX | 14 |
| | | Colistine | CS | 14 |
| | | Furane | FT | 17 |
| | | Gentamicine | GM | 16 |
| | | Pefloxacine | PEF | 22 |
| | **Pseudomonas** | Amikacine | AN | 30 |
| | | Céftazidine | CAZ | 22 |
| | | Gentamicine | GM | 16 |
| | | Pefloxacine | PEF | 16 |
| | | Pipracilline | PIP | 18 |

- **Recherche de β-lactamase à spectre élargi (BLSE) chez les entérobactéries :**
- **Test de synergie :**

La BLSE peut être synthétisée par la plus part des entérobactéries et traduit le plus souvent à l'antibiogramme par une image de synergie (bouchon de champagne) entre un disque de céphalosporine de troisième génération (CéfotaximeCTX)et un disque d'amoxicilline +acide clavulanique(acide clavulanique a la propriété d'inhiber l'activité de la BLSE ) Amoxicilline et l'Acide clavulanique ( AMC).

Mais cette image peut être disque atypique ou bien même faire de la BLSE sera suspectée uniquement devant une diminution du diamètre d'inhibition autour des Céfotaxime(CTX) ≤27mm, Cétriaxone (CRO)≤25mm,ceftazidime(CAZ)≤25mm, Aztréonam (ATM)≤27mm. Dans ce cas il faut pratique le test de confirmation de la BLSE.

- **Test de confirmation :**

Une gélose de Mueller Hinton préalablement séché, en ensemence à l'aide d'un écouvillon stérile une suspension bactérienne de la souche à tester

-Appliquer le disque d'Amoxicilline et l'Acide clavulanique (AMC) et le disque deCéfotaxime (CTX) , distant l'un de l'autre de 25 mm.

-Laisser diffuser l'antibiotique pendant 1 heure sur la paillasse.

-Oter le disque Amoxicilline et l'Acide clavulanique (AMC) et le remplacer par un disque deCéfotaxime (CTX).

-Incuber la boite à 35˚C pendant 24 heures.

- **Lecture :**

-Mesure les diamètres d'inhibitions autour des disques testés.

-La présence d'une BLSE se traduit par des diamètres d'inhibition autour des disques de céphalosporine précédés des Amoxicilline et l'Acide clavulanique (AMC), supérieur à ceux appliqués en absence d' Amoxicilline et l'Acide clavulanique (AMC).

Toutes les étapes de l'isolement et de l'identification sont groupées dans le diagramme suivant :

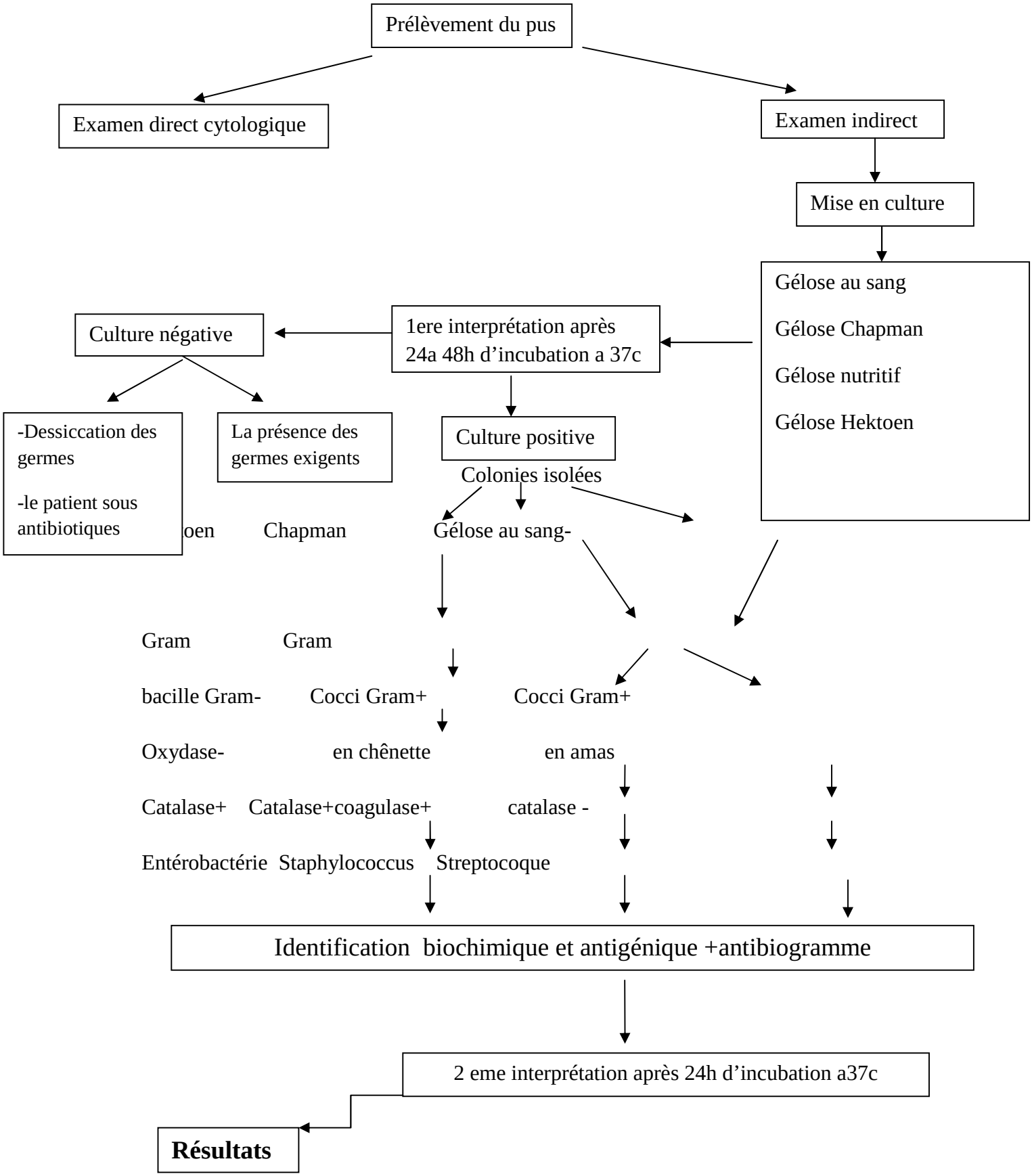



**Figure 2:**Diagramme d'interprétation de l'examen bactériologique des prélèvementsdu pus.

## III. Résultats et discussions :

Nous avons effectué un stage au sein de laboratoire de microbiologie de l'Etablissement Public Hospitalier (EPH) Mohamed Boudiaf de Médéa durant la période allant de 18 janvier à 24 mai 2018.

Cette étude est basée sur des prélèvements du pus des plaies chirurgicales collectés à partir de différents services (Chirurgie générale, Chirurgie infantile, Postopératoire, Traumatologie (Chirurgie orthopédique)et service maternité).

Au cours de ce stage ,46 prélèvements (pus) ont été effectués.

## III.1.Répartition des prélèvements en fonction de l'âge:

L'âge des patients variait entre 18 mois et 80ans.

**Tableau 1 :** Répartition des prélèvements en fonction de l'âge.

| Age (ans) | Positif | Négatif | Total |
|---|---|---|---|
| [0-15[ | 3 | 1 | 4 |
| [16-30[ | 4 | 9 | 13 |
| [31-45[ | 18 | 5 | 23 |
| [46-60[ | 1 | 2 | 3 |
| [61-75[ | 2 | 0 | 2 |
| [76-90[ | 0 | 1 | 1 |
| Total | 28 | 18 | 46 |

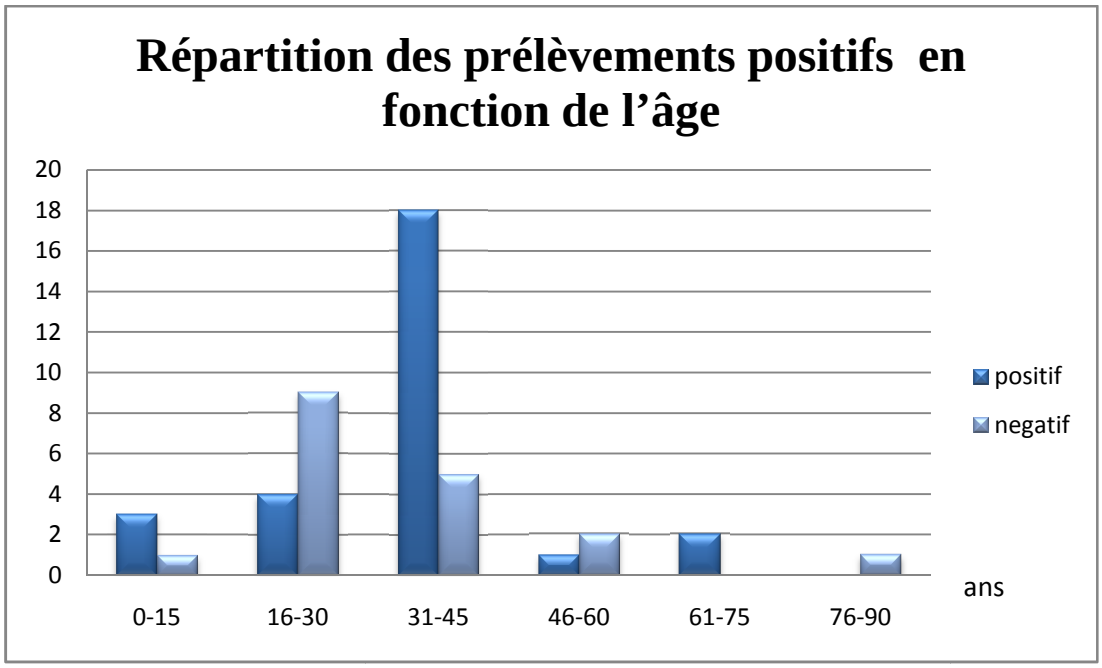



**Figure 3** : Répartition des prélèvements en fonction de l'âge.

Sur un effectif de 28 patients à prélèvement positif, nous constatons que :

Malgré la diversité de la tranche d'âge, les sujets dont leurs âges compris entre (31 et 45ans) semble être les plus exposés au risque de l'infection, suivi des sujets âgés de 16 à 30ans, nos résultats sont en accord ceux de l'étude de **Nadaysasa** et *al*. **(1992)** qui ont trouvé que la plupart des infections surviennent entre 30 et 50 ans, cela est dû à la proportion des opérés qui est plus importante dans cette tranche d'âge. L'état immunitaire est également déterminant à la survenue de l'infection, et donc l'âge élevé augmente le risque infectieux du fait de l'affaiblissement de l'état immunitaire.

En outre, l'étude effectuée à l'hôpital de Boufarik par **Karrouche et Saidji en 2010** a montré que les sujets les plus exposés à ces infections sont les patients entre (14 et 60ans), cela, est dû à différents raison :

- L'utilisation d'antibiotiques à large spectre, qui à l'origine de la sélection de bactéries souvent résistantes qui rendra la population hospitalisée inaccessibles au traitement antibiotique habituels.
- L'affaiblissement du système immunitaire, qui favorise l'invasion des germes pathogènes par une simple ouverture des tissus cutanéo-muqueux

- L'utilisation des traitements immunosuppresseurs (les corticoïdes, …etc.)qui provoquent l'altération des réponses immunitaires de l'hôte. De plus, le role des syndromes d'immunodépression (le cancer,…etc.) dans les infections.

## III.2.Répartition des prélèvements en fonction de sexe:

Les prélèvent sont réalisée chez les deux sexes, avec une légère prédominance féminine avec un taux de 65%.

**Tableau 2**:La répartition des prélèvements selon le sexe.

| | Homme | | Femme | | Total | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | n | % | n | % | N | % |
| Effectif | 16 | 35 | 30 | 65 | 46 | 100 |
| Cas Positif | 9 | 20 | 19 | 41 | 28 | 61 |
| Cas Négatif | 7 | 15 | 11 | 24 | 18 | 39 |

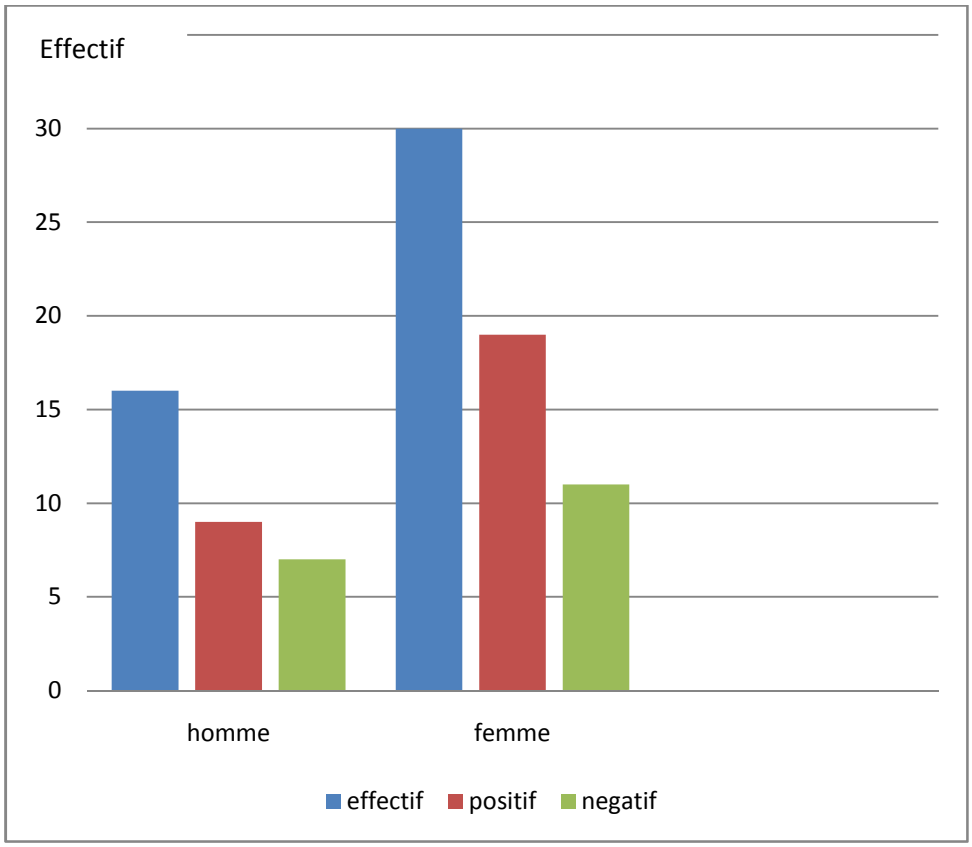



**Figure 4** : La répartition des prélèvements selon le sexe

La prévalence des cultures positives est de 41%chez les femmes et de 20%chez les hommes (Tableau 2 et Figure4)

Dans notre étude on trouve que la prévalence des sujets hospitalisés à plaies infectés est de 35% chez les hommes contre65% chez les femmes, cette augmentation chez les femmes peut s'expliquer par le fait que certains services concernés par cette étude sont exclusivement réservés aux femmes, ce qui est différent des résultats trouvés par **Sidibe en (2014)** indiquant que le sexe masculin a fait plus d'infection que le sexe féminin. Cependant, l'étude réalisée **Kitzis et Andreassian en (1993)** a montré que le sexe n'a plus d'influence sur le taux d'infection de plaie opératoire.

## III.3. résultats de l'analyse des prélèvements :

### III.3.1. Evaluation du pourcentage de positivité des prélèvements :

Sur 46 prélèvements analysés, 28 sont révélés positifs avec un pourcentage de 61% et18 prélèvements sont négatifs avec un pourcentage de 39% (Tableau 3et Figure 5)

**Tableau 3**: Evaluation du pourcentage de positivité des prélèvements.

| Prélèvement | Cas positifs | Cas négatifs | Total |
|---|---|---|---|
| Effectif | 28 | 18 | 46 |
| Prévalences % | 61% | 39% | 100% |

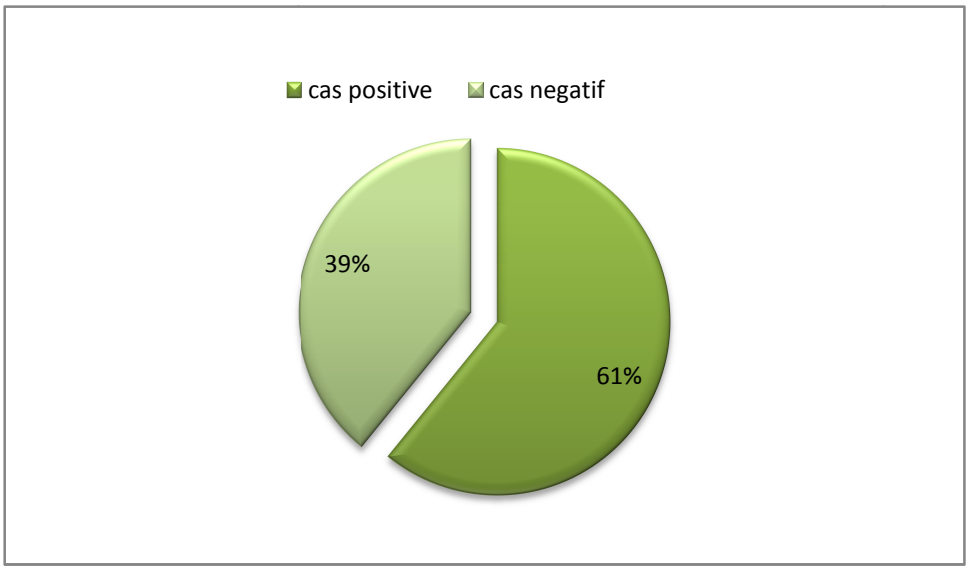



**Figure 5:** Évaluation du pourcentage de positivité des prélèvements.

Sur les 46 prélèvements effectués sur des malades hospitalisés qui ont contracté une infection durant leurs séjours, 61% des prélèvements sont donné des cultures positives, qui représentent une fréquence de plus de la moitié des cas. Ces résultats ne sont pas comparables avec ceux de l'étude de **Karrouche et Saidji en (2010)** effectuée au niveau de l'hôpital de Boufarik ,dont l'objectif était l'isolement des germes responsables des infections postopératoires, et qui a indiqué que sur les 42 prélèvements réalisés sur des malades hospitalisés, 80.95% ont donné des cultures positives.

La fréquence des cultures positives était inférieure à la fréquence des germes identifiés, ce qui explique la présence des cultures poly-microbiennes.

De nombreux prélèvement demeurent indéterminés en raison des cas négatifs de la culture avec un pourcentage de 39% des cas. Ceci peut être expliqué comme suit :

- Il peut s'agir d'un germe exigent.
- Cas des patients sous antibiothérapie.
- Conditions des prélèvements incorrects.

## III.3.2.Répartition des résultats selon les milieux de culture (culture positif) :

Les résultats des milieux de culture (culture positive) sont illustrés dans le tableau 4 :

**Tableau 4 :** culture positif.

| | **Culture positif** | **Culture négatif** |
|---|---|---|
| Gélose au sang | **3** | **25** |
| Gélose Chapman | **15(doré et blanche)** | **13** |
| Gélose Hektoen | **23** | **5** |
| Gélose nutritif | **28** | **0** |



**Figure 6:** les milieux de culture (les cultures positives).

La culture des prélèvements sur des milieux sélectifs et non sélectifs nous a permis d'isoler 15 souches du genre *Staphylococcus* sur milieu Chapman, 23 bacilles à Gram négatif sur milieu Hektoen et 03 souches exigeantes sur Gélose au sang.

## III. 3.3. Répartition des prélèvements selon la coloration de Gram:

Les souches isolées à partir des différents milieux de culture ont subi des examens microscopiques après coloration de Gram, les résultats de la coloration de Gram sont illustrés dans le tableau 5:

**Tableau 5 :** coloration de gram (après culture)

| **Cocci gram +** | **Bacille gram-** |
|---|---|
| **9** | **26** |

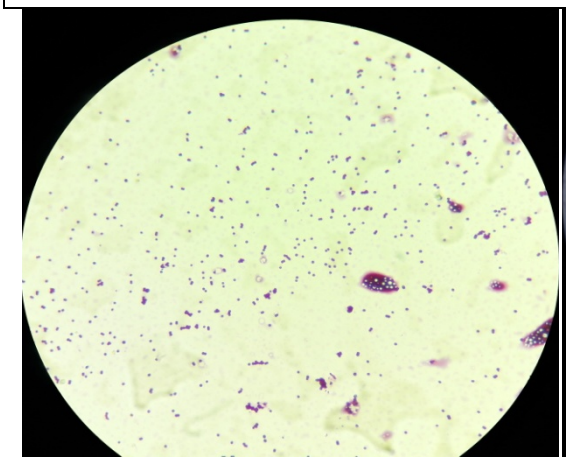


**Figure 7:** les coccis à gram positif**.**

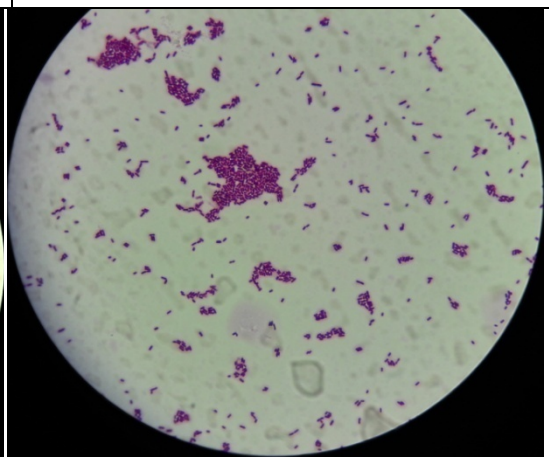


**Figure 8 :** les bacilles à gram négatifs.

Ces résultats montrent que sur les 37 isolats, 26 sont des bacilles à Gram négatif et 9 sont des cocci à Gram positif .En effet, il y a plus d'isolement des bacilles Gram- que des cocci Gram+.

## III.3.4. Répartition des prélèvements selon test de coagulase :

Parmi les souches isolées, les staphylocoques isolés sur milieu Chapman ont subi un test coagulase pour différencier entre les staphylocoques à coagulase + (staphylocoque doré) et les staphylocoques à coagulase – (staphylocoque blanc), les résultats de test de coagulase sont illustrés dans le tableau 6:

**Tableau 6**:Les résultats de test de coagulase.

| Coagulase+ (staphylocoque doré) | Coagulase- (staphylocoque blanc) |
|---|---|
| **6** | **9** |

Les souches à Coagulases- (staphylocoque blanc) sont les plus dominants avec un taux de 60 %( 9) suivi par les souches à Coagulase+ (staphylocoque doré) avec un pourcentage de 40% (6).

## III.3.5. Résultats des germes identifiés :

Après isolement des souches et étude des caractères biochimiques d'orientation (catalase, coagulase) nous avons procédé à l'étude de profil biochimique des isolats par les galeries miniaturisées API 20 E pour les bacilles Gram négatif isolées à partir de milieu Hektoenet les galeries miniaturisées API Staph pour les staphylocoques isolés à partir de milieu Chapman.

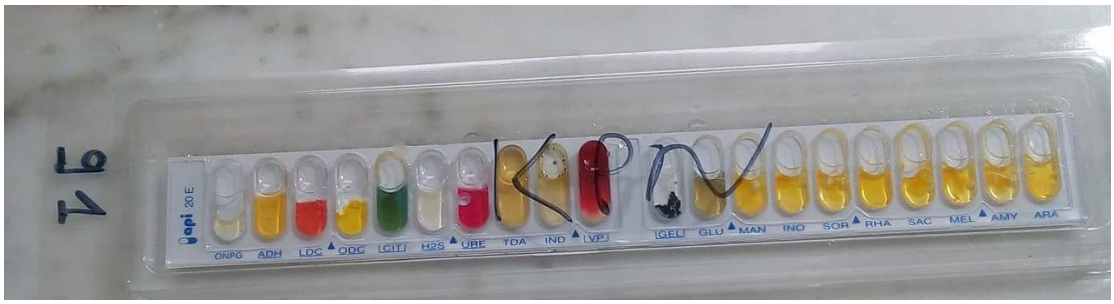



**Figure 9 :** résultat de galerie API 20E pour *klebsiella pneumoniae.*




**Figure 10 :** résultat de galerie API 20E pour *E.coli.*

Les résultats de pourcentage des germes identifiés sont illustrés dans la figure suivante (figure 11) :

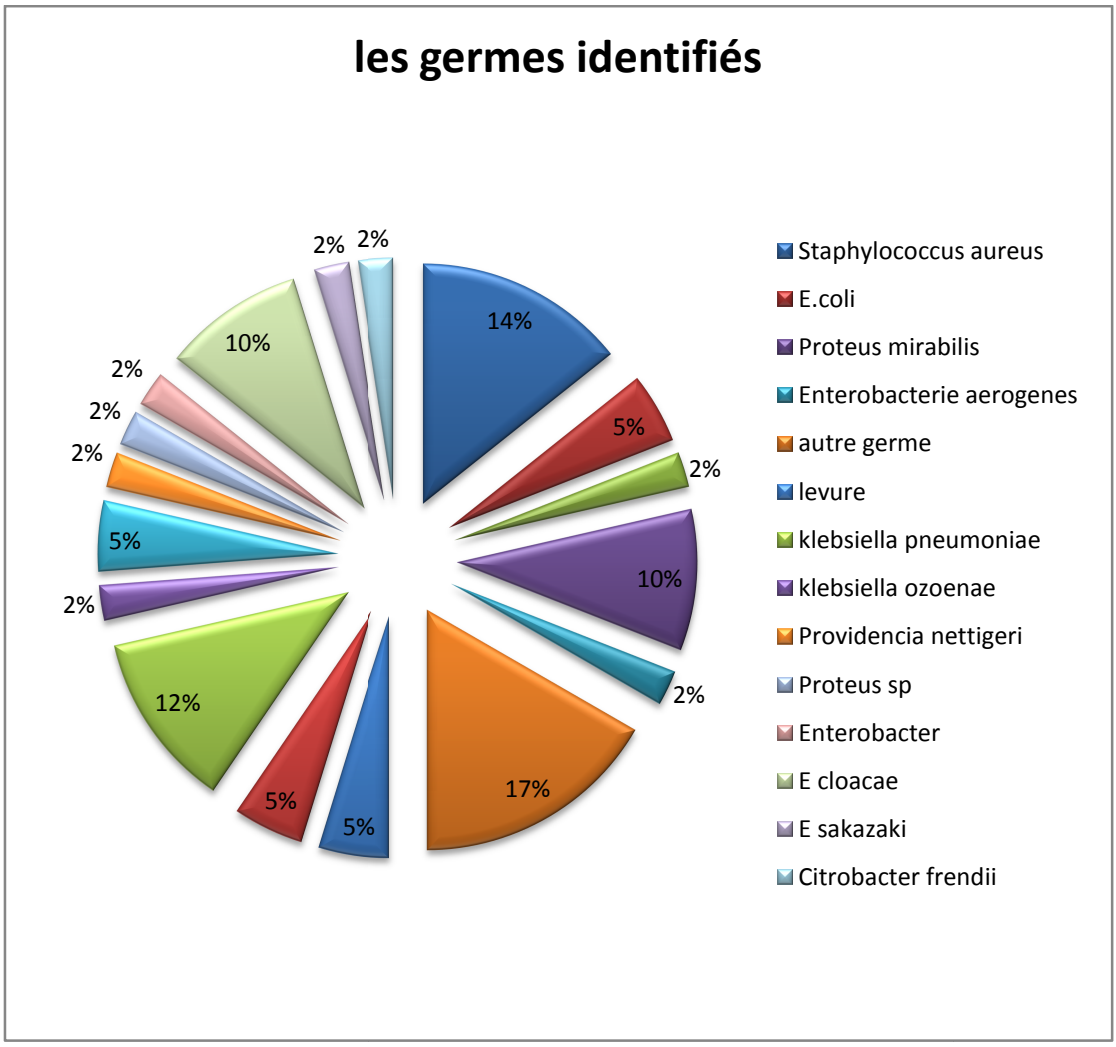



**Figure 11 :** Fréquence des germes infectieux identifiés.

L'analyse des prélèvements nous a permis d'identifier 37 souches responsables des infections, réparties entre les bactéries (95%) et les levures (5%).

Les bactéries représentent le plus grand taux avec (95%) repartie entre les différentes espèces. Les *Staphylococcus aureus* sont les plus dominantes avec une fréquence de 16% suivi par *klebsiella pneumoniae* (14%).

Cette différence dans la distribution des espèces bactériennes semble être liée à l'écologie microbienne de l'hôpital et surtout des services concernés. La forte prédominance des entérobactéries peut s'expliquer par la fréquence plus élevée des cas de laparotomie pendant notre période d'étude. En effet, dans le cadre d'une chirurgie digestive où les tractus sont ouverts, ce sont les bactéries des flores endogènes qui infectent plus facilement le site opératoire (**Farthouat**et *al.* **2009 ; Dhidah** et *al.*

**1998**). La nature poly microbiennes des cultures est peut être due aux fautes d'asepsie à un moment donné de l'acte opératoire, des soins postopératoires, ou du prélèvement lui-même.

## III.4.Répartition des souches en fonction des morphotypes (cocci et bacilles) :

Sur 35 germes isolés, nous avons pu les répartir en deux catégories les bacilles à Gram négatif et cocci à Gram positif

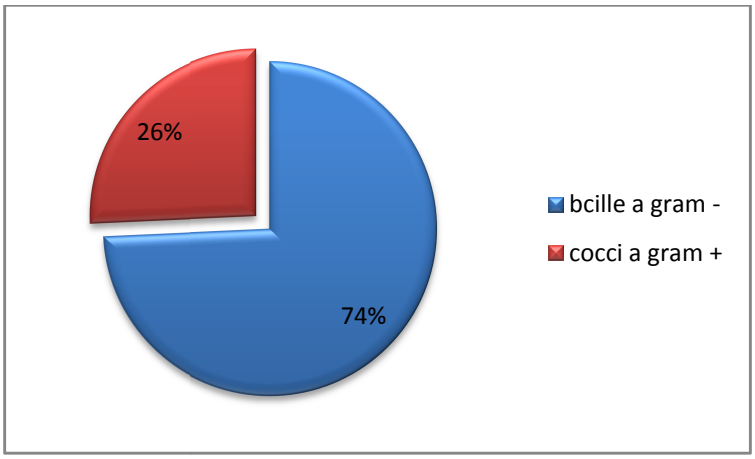



**Figure 12** : Répartition des souches en fonction des morphotypes (cocci et bacilles)

Les infections aux BGN sont les plus répondus par rapport les infections aux CGP, dont nous avons isolé 74% des germes BGN, et 26% des germes de CGP.

Les BGN sont représentés par les entérobactéries à savoir (*Escherichia coli, Proteus, Klebseilla, Enterobacter*), cela rejoint la plupart des études publiées qui montrent que ces microorganismes sont les germes les plus rencontrés dans les ISO, Citant les études réalisées par **Guetarni** en (**2014)** en Algérie**, Karrouche et Saidji en (2010)** à Boufarik et **Al-Hajje**et *al*.en**(2012)**au Liban.

La forte prédominance des entérobactéries peut s'expliquer par la fréquence élevée des cas de laparotomie **(Ouédraogo et** *al*. **2011).**

## III.5.Répartition des bacilles à gram négatif :

La figure 13 regroupe les bacilles à Gram négatif identifiés :

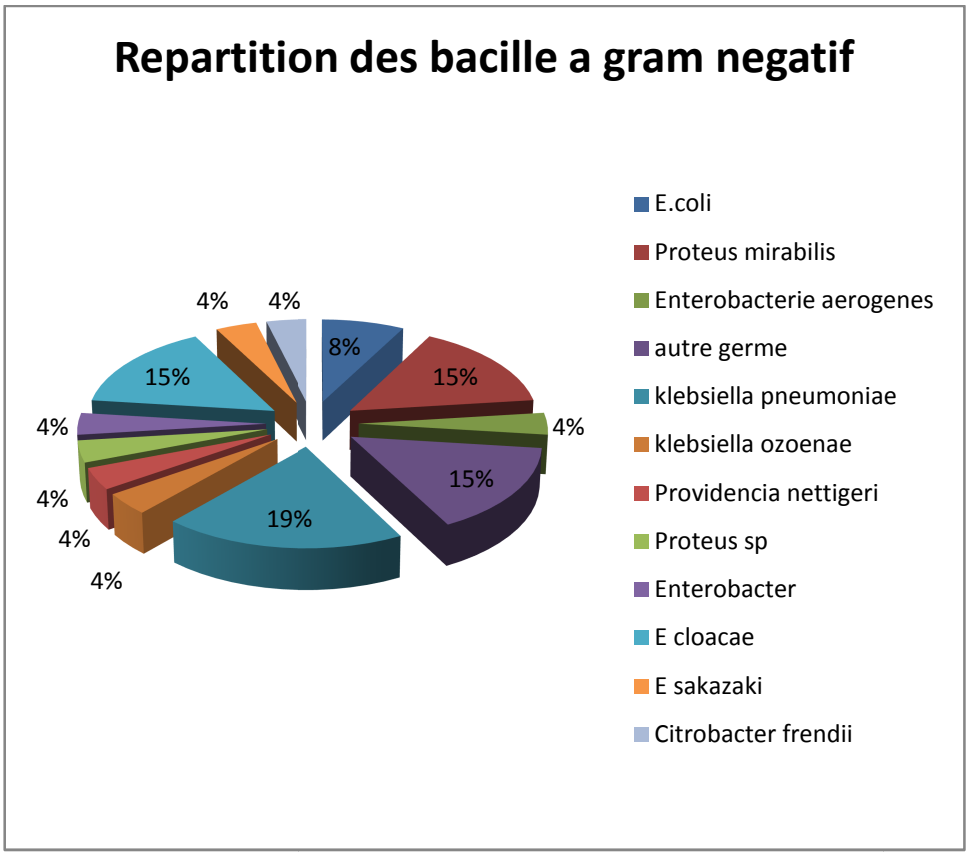



**Figure 13:** Répartition les bacilles a Gram négatif.

Dans la présente étude, les bacilles à Gram négatif constituent le groupe des germes le plus dominant (74%), avec une prévalence de la souche *klebsiella pneumoniae* qui représente 19% des BGN suivi d'*E.coli* avec (8%). Ces résultats sont en contradiction avec ceux réalisés par **Karrouche et Saidji en (2010), Guetarni** en **(2014)** et **Al-Hajje** et *al*. En **(2012)** qui ont trouvés qu'*E.coli* est l'espèce la plus dominante. suivi de *P.mirabilis* et *E.cloacae* avec un pourcentage de (15%).

Les autres espèces d'entérobactéries (*P.nettiger*, *Citrobacter frendii*,… etc.) ont été isolées avec des prévalences faibles.

Cette différence dans la distribution des espèces bactériennes semble être liée à l'écologie microbienne de l'hôpital et surtout des services concernés (**Ouédraogo et *al*. 2011)**.

## III.6.Répartition des cocci à Gram positif :

La figure 14 regroupe les germes à gram positif identifiés :

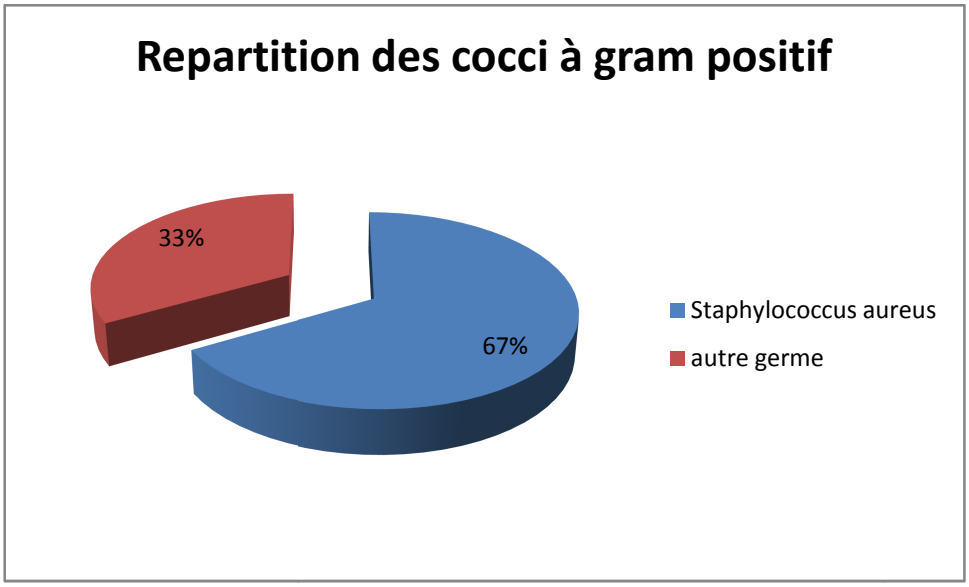



**Figure 14:** Répartition des coccis à Gram positif.

Les CGP occupent une place primordiale dans les infections des sites opératoires. Nos résultats révèlent que les staphylocoques sont les plus fréquents (67% des CGP totaux) dont l'espèce la plus dominante est *S.aureus* avec une prévalence de (86%), ces données sont en accord avec celles trouvées par **Ouédraogo** et *al*. En (**2011)** à Burkina-Faso qui montrent que les *S. aureus* constitue la première cause d'ISO, contrairement à ce qui a été rapporté par **Guetarni** en **2014** citant que *S. aureus* a été isolé avec une faible fréquence ; cela peut s'expliquer par le fait que les infections sont souvent d'origine endogène.

Les fosses nasales sont le réservoir naturel des staphylocoques dorés, retrouvés chez environ 25% de la population et des personnes hospitalisées. La relation entre le portage nasal et l'infection des site opératoire par *S. aureus* en chirurgie propre (cardiaque ou orthopédique) est clairement établie, plusieurs études l'ont prouvé (**Von Eiff,** et *al.*, **2001** ;**Kluytmans** et *al.***, 1997** ;**Herwaldt, 2003**).

D'après la littérature, La majorité des infections hospitalières à *S. aureus* survient chez des patients préalablement porteurs nasaux (**Von Eiff,** et *al*. **2001**, **Kluytmans,** et *al*.**1997**).

Les chirurgies orthopédiques et traumatologiques se trouvent parmi les services hospitaliers les plus menacés par le staphylocoque doré. C'est donc au niveau de ces services qu'un dépistage à *S. aureus* devrait être utile et systématique, d'une part parce que *S. aureus* est plus fréquemment responsable d'ISO, d'autre part parce que la relation portage nasal-ISO y est la mieux démontrée (**Lucet, 2005**).

## III.7.Etude de la résistance aux antibiotiques :

L'antibiorésistance des 35 souches qui regroupent les bacilles à Gram négatif et les coccis à Gram positif a été étudiée vis-à-vis des différents antibiotiques.

Le taux de résistance observés est variable selon les antibiotiques testés

Il est à noter que nous sommes basés sur cette partie sur la résistance des souches isolées les plus fréquents :

### III.7.1.Le taux de résistance de *Staphylococcus aureus :*

La figure 15 met en évidences le taux de résistance de la bactérie *Staphylococcus aureus* aux différents antibiotiques :

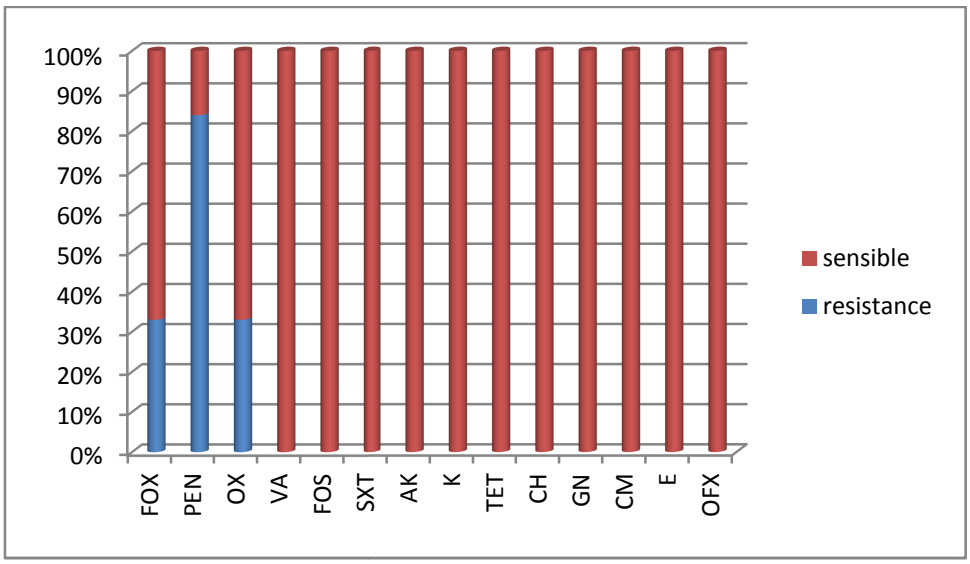



**Figure 15 :** Le taux de résistance de *Staphylococcus aureus.*

Les résultats montrent que *S.aureus* représentent une forte résistance (84%) à la pénicilline (PEN).

## III.7.2.Le taux de résistance de *klebsiella pneumoniae* :

La figure 16 met en évidences le taux de résistance de la bactérie *klebsiella pneumoniae* aux différents antibiotiques :

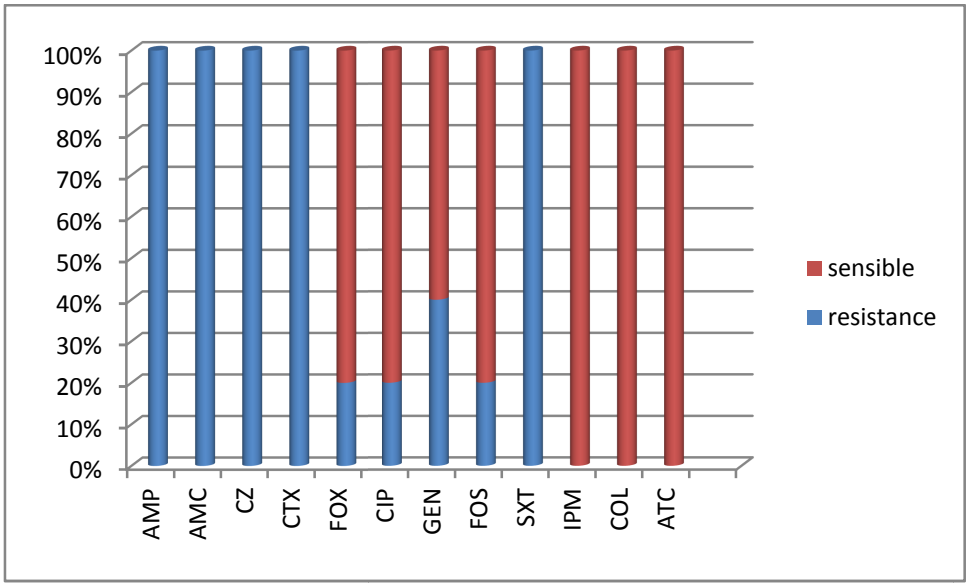



**Figure 16**: Le taux de résistance de *klebsiella pneumoniae*.

*Klebseilla.pneumomiae* présente une résistance maximum(100)vis-à-vis l'Ampicilline (AMP), l'Amoxicillin+Acide clavulanique (AMC), le Céfotaxime (CTX) et le Céfazoline (CZ).

## III.7.3.Le taux de résistance d'*E cloacae* :

La figure 17 met en évidences le taux de résistance de la bactérie *d'E cloacae*aux différents antibiotiques :

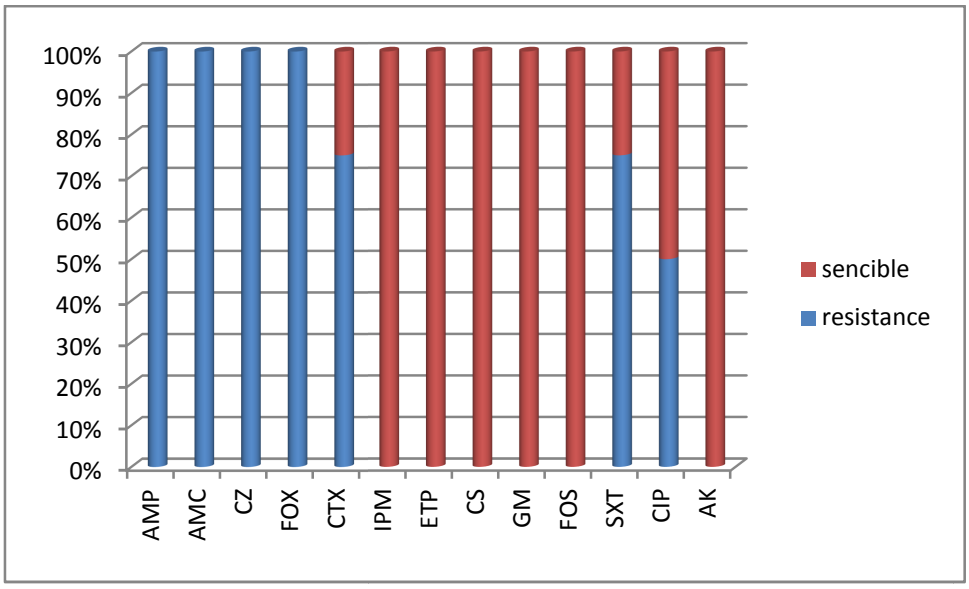



**Figure 17 :** Le taux de résistance d'*E cloacae* .

La souche *E.cloacae* présente une résistance maximum (100 %)vis-à-vis l'Ampicilline(AMP) et la céfazoline(CZ).

## III.7.4.Le taux de résistance de *Proteus mirabilis* :

La figure 18 met en évidences le taux de résistance de la bactérie *Proteus mirabilis*aux différents antibiotiques :

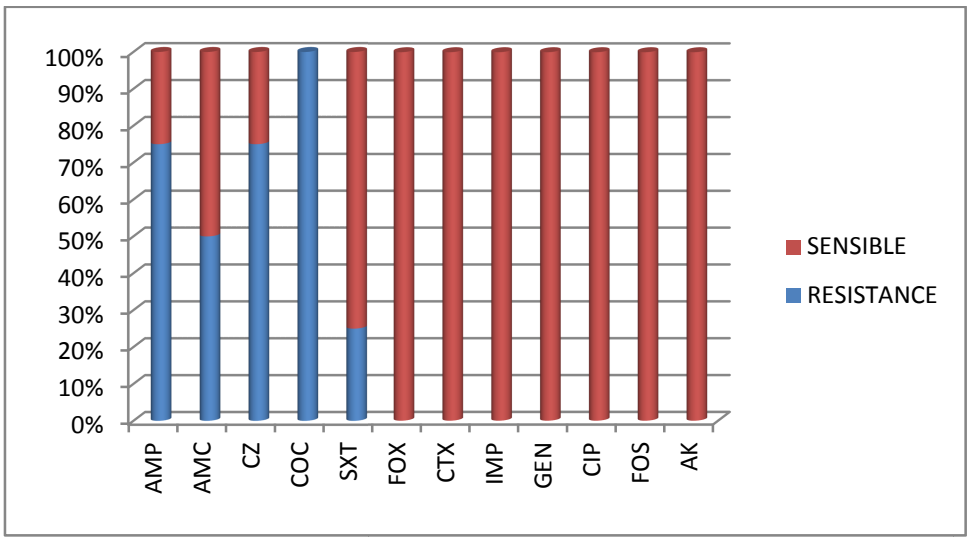



**Figure 18:** Le taux de résistance de *Proteus mirabilis* :

La souche *Proteus mirabilis* présente une résistance maximum (100 %)vis-à-vis l'Ampicilline(AMP) et la céfazoline(CZ).

En ce qui concerne l'évolution de la résistance aux ATB des principaux germes, nous sommes intéressés dans cette partie des isolats les plus répondus : *S.aureus, Klebseilla.pneumomiae, P.mirabilis E.cloaceae.*

Les antibiogrammes nous ont permis de remarquer que :

- L'étude de profil de résistance des *S.aureus* isolés montre une résistance quasi-totale à la pénicilline 84%, Ceci est en accord avec les résultats de (**Ouédraogo** et *al*. **2011).**

- L'étude de profil de résistance des *Klebseilla.pneumomiae* a montré une résistance totale chez la majorité des souches à l'Ampicilline (AMP), l'Amoxicillin+Acide clavulanique (AMC), la Céfotaxime (CTX) et la Céfazoline (CZ). nos résultats sont similaires à ceux rapportés par d'autres travaux **(Karrouche et Saidji, 2010).** En outre, Une résistance modérée pour la gentamicine a été révélé avec un pourcentage de 40%, cette valeur s'avère peut supérieure (23.8%) à celle retrouvée par **Hassaine en 2013** à Tlemcen.

- Les résultats de la sensibilité des souches de *P.mirabilis* montrent une résistance totale à l'COC

- La souche*E.cloaceae*, présente un taux de résistance maximum à l'AMP et le CZ (100%), ce qui est en accord avec les résultats de l'étude réalisée par **Karrouche et Saidji(2010)**à l'hôpital de Boufarik.

## Conclusion

La peau saine est physiologiquement colonisée par une flore double : résidente et transitaire, la flore transitaire est la flore pathogène qui colonise les patients infectés ou non (Staphylococcus, Streptocoques, Entérobactéries, Pseudomonas) provenant des réservoirs muqueux de chaque patient ou de l'environnement hospitalier (comme dans le cas des interventions chirurgicales).

Une infection du site chirurgical ou opératoire (ISO) se situe dans une ou toutes les couches de tissus touchées par l'intervention : on différencie des infections de plaie chirurgicale superficielles et profondes et des infections d'organe ou de cavité**.**

Au terme de cette étude, nous avons isolé les germes responsables des ISO à partir de 46 prélèvements de pus réalisés au niveau des services de chirurgie de l'EPH de Médéa. Par la suite, ces isolats ont subi des tests d'antibiorésistance.

Nous avons dans un premier temps identifié 37 souches en se basant sur les critères macroscopiques, microscopiques et biochimiques des souches.Dans un second temps, nous avons étudié leur résistance à des molécules d'antibiotiques par la technique de diffusion de disque.

Les résultats obtenus permettent de conclure que certains germes isolées sont responsable des ISO à savoir *S. aureus* et les entérobactéries comme *E.coli*

L'étude de la sensibilité à des molécules d'antibiotique montre que: 84% des *Staphylococcus aureus* isolées sont résistantes à la pénicilline , les souches de *klebseilla pneumoniae* présentaient une résistance à l'Ampicilline (AMP), à l'Amoxicillin+Acide clavulanique (AMC), à la Céfotaxime (CTX) et à la Céfazoline (CZ), les souches de *P.mirabilis* avaient une résistance quasi-totale à l'Ampicilline (AMP) et le Céfazoline CZ, et une résistance modéré à l'Amoxicillin+Acide clavulanique (AMC), de plus, les souches d'*E.cloaceae,* présentaient un taux de résistance maximum à l'AMP et le CZ (100%).

De ce fait, les standards élevés d’asepsie en vigueur lors d’interventions chirurgicales et la pratique scrupuleuse d’une antibioprophylaxie diminuegrandement les risques infectieux postopératoires.

## Liste des références:

***A***

**Allen R. O'Brien B. 2009**; Rev Obstet Gynecol. 2(4):212-221 doi: 10.3909/ riog0084] 0212.

**Altemeier W. Burke J. Pruitt B. Sandusky W** 1984: Manual on control of infection in surgical patients. 2nd ed. Philadelphia: JB Lippincott; Analyse d'une série de 2218 interventions.

**Astagneau P. L'Heriteau F. Daniel F. Parneix P. Venier A., Malavaud S.** : **2009**: Reducing surgical site infection incidence through a network: results from the French ISO-RAISIN surveillance system. J Hosp Infect. Jun;72(2):127–34.

**Avril. J., 1988 :-** Dictionnaire pratique de bactériologie clinique. Ellipses, Paris.

**Avril J-L, Dabernat H, Denis F, Monteil H, 1992 :** Bactériologie Clinique Ellipses 2ème édition, paris .

**Andremont A .2002 :** Pression de sélection antibiotiques, flores commensales et évolutions de la résistance. J PédiatrPuericulture; 15(3): 160-65.

**Alexander HE, 1949:** Redman W. Mechanism of emergence of resistance to streptomycin of H. pertussis and H. parapertussis during treatment with this antibiotic. Pediatrics. Oct; 4(4):461-7.

**Anne B, Laurent S, et Julien L, 2007**. streptococcaceae :
streptococcus, abiotrophia, granulicatella, enterococcus et autres genres apparentes. précis de bactériologie clinique, N◦ 45, p : 845-884.

**Amhis, W. 2004 :** « Le genre *Proteus*, épidémiologie, bactériologie, résistance aux antibiotiques et biologie moléculaire». Thèse de DESM.

**Ammari H, Oukorich M 2014:,**Etat de la résistance aux antibiotiques d'autres espèces bactériennes et surveillance des bactéries multi-résistantes (BMR) : SARM, entérobactéries BLSE, *Acinetobacter spp. et P.aeruginosa* résistants à l'imipénème, à la céftazidime et à la ciprofloxacine, 2014.

***B***

**Babic M, Hujer AM, Bonomo RA. 2006**: What's new in antibiotic resistance? Focus on beta-lactamases. Drug ResistUpdat. 2006 Jun; 9(3):142-56.

**Basilio, J.A. 2009:** *Serratia*. eMedicine Specialties. Infectious Diseases. Bacterial Infections. Sur le lien : http://emedicine.medscape.com/article/228495-overview.

**Bergdoll M S. 1970:** Enterotoxins In Microbial Toxins, New York, NY: Academic Press. Ed. Montie, T.C., Kadis, S. & Ajl, S.J, Vol. 3 ,265-326

**Boleij A 2011**: clinical importance of *streptococcus gallolyticus* infection among colorectal cancer patient :systemic review and meta analysis clin.Infect Dis.N°53 ,P:870-878.

**Baxter R, Ray GT, Fireman BH. 2008:** Case-control study of antibiotic use and subsequent Clostridium difficile-associated diarrhea in hospitalized patients.Infect Control HospEpidemiol; 29: 44-50.

**Bush K, 2004:** Antibacterial drug discovery in the 21st century. ClinMicrobiol Infect. Nov; 10 Suppl 4:10-7.

**Barber M . 1961:**Methicillin-resistant staphylococci.JClinPathol. Jul;14:385-93.

**Bobba S, Ponnaluri VK, Mukherji M, Gutheil WG. 2011 :** Microtiter Plate-Based Assay for Inhibitors of Penicillin-Binding Protein 2a from Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus.Antimicrob Agents Chemother. Jun; 55(6):2783-7.

**Berche P ,Gaillard J-L ,Simonet .M 1991**: Bactériologie édition Flammarion .268-277.

**Barie P. Eachempati S. 2005:** Surgical site infections. *Surg Clin North Am*,

**Birgand G**. : Infections du site opératoire : approches originales du diagnostic et de la prévention, Santé publique et épidémiologie. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2014. Français.

**Borer A. Gilad J. Meydan N. Riesenberg K. Schlaeffer F. Alkan M. Schlaeffer P. 2001:** Impact of active monitoring of infection control practices on deep sterna infection after open-heart surgery. Ann Thorac Surg, **72**(2):515-520.

**Babic M, Hujer AM, Bonomo RA. 2006** :What's new in antibiotic resistance? Focus on beta-lactamases. Drug ResistUpdat. Jun; 9(3):142-56.

**Bercion R, Gaudeuille A, Mapouka PA, Behounde T, Guetahoun Y.2007 :**. Infections du site opératoire dans le service de chirurgie orthopédique de l'hôpital communautaire de Bangui, République centrafricaine. *Bull Soc Pathol Exot* 2007 ; 100 : 197-200.

**Berthelot P, Grattard F, Mallaval F-O, Ros A, Lucht F, Pozzetto B. 2005 :** Épidémiologie des infections nosocomiales à *Pseudomonas aeruginosa, Burkholderia cepacia* et *Stenotrophomonas maltophilia*. *Ed Elsevier*. Pathologie Biologie. 53: 341-348.

***C***

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

**Corredoira,S 2012 :**.Association between bacterimia due to streptococcus gallolyticus sub sp and colorectal neoplasia :a meta analysis.colorectal 10 :55 :491-496.

**Cabrol D . 2013**. : Protocoles cliniques en obstétrique. 4 eme édition. MASSON.P :296.

**Chander, Y., Goyal, S.M. et Gupta, S.C., 2006 :** Antimicrobial resistance of *Providencia* spp. isolated from animal manure. The Veterinary Journal. 172: 188-191.

**Cattoir,V 2005 :** les bacilles a gram négatif ,laboratoire de Bacteriologie –Virologie-Hygiéne ,cours de DCEM1.Faculté de médecine de créteil.

***D***

**Delarras C 2007 :.**Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire, Ed : TEC et DOC.

**Deepak J, 2015:** Senior Demonstrator, Department of Microbiology and Immunology, Veer Chandra Singh Garhwali Government Medical Sciences and

Research Institute, Srinagar Garhwal - 246174, Uttarakhand, India, Received 2015 Jun 23; Revisions requestedJul 7; Accepted 2015 Aug 6.

**Di Benedetto C. Bruno A. et Bernasconi E. 2013 :** infection du site churigical: facteurs de risque, prévention, diagnostics, traitement. Rev Med Suisse; 9 :1832-9.

**Dia N.M, 2008 :** Médecine et maladies infectieuses 38 (2008). 85(6):1115- 1135, viii-ix.

**Dhidah L, Dhidah M, Miladi M, Kacem N, Troudi M,1998 :**. Place de la plaie opératoire dans les infections nosocomiales. êtude de prévalence au CHU Sahloul. *Tunis Med* 1998 ; 11 : 401-7.

***E***

**Euzéby, J.P. 2003 :**Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire. *Serratia*. Sur le liens : http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/

**Eaves DJ, Randall L, Gray DT, Buckley A, Woodward MJ, White AP, Piddock LJ. 2004**:Prevalence of mutations within the quinolone resistance-determining region of gyrA, gyrB, parC, and parE and association with antibiotic resistance in quinolone-resistant Salmonella enteric. Antimicrob Agents Chemother. Oct; 48.

**Elgohari S. Wloch C. Saei A., Charlettand A. Johnson A. et al2014.:**
**Gabriel M.** : BIRGAND THESE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE Thèse soutenue a Paris, le 25 juin 2014.

*F*

**Fauchére J L 2002 :** Bactériologie médicale et générale .Edition ,Ellipses.

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

**Farthouat P, Ogougbemy M, Millon A, Sow A., Fall O, Dieng D *et al* 2009 :**. Infections du site opératoire (ISO) en chirurgie viscérale. Etude prospective à l'hôpital principal de Dakar. *Med Afr Noire* 2009 ; 56 : 143-8.

**Ferney J, Renaud F, Leclerq R, et Riegeln P, 2007**. Le précis de la bactériologie clinique. Edition ESKA **,2007.** 609-612-745- 746- 795- 800, 801-798- 811- 814.

***G***

**Gueye O., 2007** :utilisation des méthodes biométrique dans l'identification de quelque bacille a gram négatif .Thèse de pharm :n 36.

**Goubau, P., et Pellegrims, E. 2000 :** Repères en microbiologie. Garant, 3Ed. pp.116-117.

**F.Garmier, F.Denis. 2011.** : Cocci à Gram positif. Bactériologie médicale, N°32, P : 287-330

**Guillemot D, Leclercq R. 2005** :Impact de l'exposition des populations sur le risque bactérienne. Med Mal Infect. ; 35(Suppl. 3) ; 212-20.

**Guinote IB, Matos RG, Freire P, Arraiano CM. 2011**:BolA affects cell growth, and binds to the promoters of penicillin-binding proteins 5 and 6 and regulates their expression.JMicrobiolBiotechnol. Mar; 21(3):243-51.

**Gastmeier P. 2009:** National Reference Center, for Surveillance of Nosocomial Infections. KISS Hospital Infection Surveillance System; OP-KISS component, January 2005 to December. www.nrz-hygiene.de. 2010;

**Guetarni N. 2014:** les infections de site opératoire (ISO) au CHU d'Oran ; thèse pour l'obtention du doctorat en Science Médicales,

**Gravadour C., Cuffel P., Daury R., Lavialle V, 1973 :**. L'évaluation du risque opératoire. Nouv. Presse Méd. 1973, 2587-2590.

***H***

**Hygis N. 1998**: Hygiène hospitalière, P665 (80-278).

**Herwaldt LA 2003 :** *S.aureus* nasal carriage and surgical-site infections. Surgery. 2003; 134: S2-9.

***J***

**Joly Y, Reynauld K 2003 :** *Acinetobacter baumannii* : étude de la sensibilité des souches isolées à l'hôpital-militaire d'instruction Mohamed V ,Rabat .Maroc ..

**Jans B, Glupezynski Y ,Suetens C ,Cleemput E. 2004** : Enquête épidémiologique relative à *Acinetobacter baumannii,* press mes .

***K***

**D .kaufman , K.D Fairchild , 2004 :**Clinical Microbiology of Bacterial and Fungal SEPSIS in Very –Low –Birth –Weight Infants .Clinical Microbiology Review .

**Kurlenda, J. et M. Grinholc. 2012** : Alternative therapies in *Staphylococcus aureus* diseases. *Acta Biochim. Pol.* 59:171-184.

**Kim MS, Jun LJ, Shin SB, Park MA, Jung SH, Kim K, Moon KH, Jeong HD. 2010**: Mutations in the gyrB, parC, and parE genes of quinolone-resistant isolates and mutants of Edwardsiellatarda .J MicrobiolBiotechnol. Dec; 20.

**Kerrouche F. Saidji S**. **2010**: les suppurations poste opératoires à l'EPH de Boufarik, Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention de diplôme superieur option Microbiologie.

**Kurmann A. Peter M. Tschan F. Muhlemann K. Candinas D. Beldi G. 2011**: Adverse effect of noise in the operating theatre on surgical-site infection. *Br J Surg*, 98(7):1021-1025.

**Kurlenda, J. et M. Grinholc. 2012** : Alternative therapies in *Staphylococcus aureus* diseases. *Acta Biochim. Pol.* 59:171-184.

**Kluytmans J, Van Belkum A, Vernurgh H,1997 :**. Nasal carriage of *S. aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. ClinMicrobiol Rev 1997; 10:505–20

***L***

**Lachassinne E, Letamendia-Richard E, Gudelus J , 2003** :Epidémiologie des infection .

**Lamnaouer, D. 2002 :** Détermination des propriétés biologiques (activités pharmacologiques et toxicologiques) des plantes médicinales et aromatiques du PNT. Programme de l'UICN en Afrique du Nord: Phase III. Etat d'avancement. p 3-7.

**Lister G, Mobley H ,Kartali D ,2009 :** Ampc β-lactamases .clinical microbiology .

**Levent T, Lambiotte F, Ourtou J 2011 :**Prévention des risques infectieux en réanimation .ILIS équipe opérationnelle en hygiène .CHSA .

**Loulergue P, Tourret S,2003 :** Staphylocoque doré résistant à la méthicilline d'origine communautaire.

**Lode H. 2010:** Safety and tolerability of commonly prescribed oral antibiotics for the treatment of respiratory tract infections. Am J Med; 123: S26-38.

**Lessard IA, Walsh CT. VanX, 1999:** a bacterial D-alanyl-D-alanine dipeptidase: resistance, immunity, or survival function ? Proc NatlAcadSci U S A. Sep 28; 96(20):11028-32

**Lucet J.C**, **2005 :** Dépistage préopératoire de staphylocoque doré. XVI congrès national de la SFHH. Juin 2005.

**Lortaa-jacob A., Guiziou et Ramadier J.O,1985 :** Fractures infectées de jambe, intérêt de la greffe spongieuse à ciel ouvert appuyée sur le péroné. Rev. Chir. Orthop. 1985, 10, 515-526.

***M***

**Manachini P.L. 2002**: comparision between streptococcus macidonicus and S.waius strains and reclassification of S.waius.Int.Evol.Microbiol, N°53, P: 631-645.

**Mandell, G.L. (2009**). Principales and parctice of infectious diseases. 6eme ed.

**Marchou B, Bellido F, Charnas R, Lucain C, Pechère JC. 1987 :**Contribution of betalactamase hydrolysis and outer membrane permeability to ceftriaxone resistance in Enterobacter cloacae.Antimicrob Agents Chemother. Oct; 31(10):1589- 95.

**Makary M. 2013:** The power of video recording: taking quality to the next level. *JAMA* 2013, 309(15):1591-1592.

**Mayhall C. 2003:** Surgical site infection. Hopsital epidemiology and infection control. 4th ed.London: Wolters Kluwer, Lippincott Williams & Wilkins Emerging Infectious Diseases •Vol. 9, No. 2, February.

**Meyer, A., Deïania, J.,Bernard, A., (2004).** Résistance aux agents antimicrobiens. In Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés. 2ème ed. Doin. Biosciences et techniques collection dirigée par Fagarella J et Calos A.

**Mouton 1997, :**.Antibiotique .antivirus .anti –infectieux..p257 (30-33).

***N***

**Nauciel C, 2000** :.Bactériologie médical paris Masson ;47,128,152,148 .

**Nimmo G,Coombs G.2008** : *Staphylococcus aureus.* Official journal of the australian society for microbiology. ,. 26: 113-114.

**Ndayisaba G., Bazira L., Gahongano G., Hitimana A., Karayuba R.** : Bilan des complications infectieuses en chirurgie générale.

**Negi V., Shekhar P., et al. 1992:** Bacteriological Profile of Surgical Site Infections and Their Antibiogram: A Study from Resource Constrained Rural Setting of Uttarakhand State, India Vikrant, Received 2015 Jun 23; Revisions requested 2015 Jul 7; Accepted 2015 Aug 6. Pub. Médecine d'Afrique noire :, 39, n°8 et 9 :271-273

***O***

**O'Hara, C.M., Brenner, F.W. et Miller, M., 2000:** Classification and identification, and clinical significance of *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella*. Clinical Microbiology Reviews. 13: 534-546.

**Otto, M. 2012:** MRSA virulence and spread. *Cell. Microbiol.* 14: 1513-1521.

***P***

**Pagès JM. 2004 :** Porines bactériennes et sensibilité aux antibiotiques.MedSci (Paris). Mar; 20(3):346-51.

**Paul, S. 2005 :** Bactériologie.6ed.Dunod.Paris. 515 p.

**Pasteur. 1987:** Milieux et réactifs de laboratoire. Microbiologie – Immunologie. 3ème édition. Diagn. Past. Paris: 728p.

**Pierre A, Marie C ., 2003:**bacteriologie –niveau DCEM1 .Faculté de medcine

**Pina, P. 2000**: Sensibilité des Entérobactéries aux antibiotiques en Unités de soins intensifs. J Path Biol. 48: 485-489.

**Podschum J, Ulmam W, Freney J :1998 :,**Précis de biologie clinique Edition ESKA 200.apport de la biologie moléculaire au diagnostique bactériologique Rev.Fr.Lab .335 ;37-41.

***R***

**Ros A. 1999:** La résistance bactérienne ou le naufrage des antibiotiques. VIIIème assemblée annuelle des CLIN du sud-est. Lyon. 28 octobre.

**Reanis G. 1994** : Guide pour la prévention des infections nosocomiales en réanimation ", 1994.

***S***

**Schlegel L 2004**: New group D streptococcal species, Indian.J.Med.Res.N°119, P: 252-256

**Sougakoff W, Trystam D., 2003 :** Résistance aux β-lactamines Faculté de Médcine Université Paris -VI,

**Swartz MN. 2004:** Bacterial meningitis-a view of the past 90 years. N Engl J Med; 351:1826-8.

**Société Française de Microbiologie. 2007** : Recommandation. http://www.sfm.asso.fr consulté 20/05/2011**.**

**Sidiber R.** 2014 : Présentée et soutenue publiquement le 2014 devant la Faculté de Pharmacie.

**Simon F, Kraemer P, De Pina JJ, Demortière E, Rapp C ,2007 :** Le risque nosocomial en Afrique Intertropicale. Partie 2 : Les infections des patients. *Med Trop* 2007 ; 67 : 197-203.

**Sekhsokh Y, Arsalante L El Ouenass M, Doubali T ,Bajjou T ,et Lahlou A I ,2007 :** Bactériémie à *Serratia rubidaea* ,Médecine et maladie infectieuse ;37 :287-289.

**Suetens C., Hopkins S., Kolman J., Högberg L. 2012:** ECDC. Point prevalence survey of healthcare-associated infections and antimicrobial use in European acute carehospitals 2011_2012

***T***

**Tanner F, Chappuis C. 2005 :** Pseudomonas et infection hospitalières .Médecine et maladie infectieuses ;13 :390-392

**Tribe, G.W. et Rood, M.J., 2002**: *Providencia alcalifaciens* in diarrhoeic dogs and cats.

**Troillet N. et Zanetti G.** : Article sur les suppurations poste opératoires www.rev med0ch/RMS/2002RMS 2388

***V***

**Vandepitte J ,Verhaegen ,Engback K, J,Rohner P,Piot P,Heuck C.2003** : Basic laboratory procedures in clinical bacteriology. Second Edition. Geneva : World Health Organization,.

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

**Verhaegen R, 2004**: Bacteriode : the good the bad and nitty-gritty –Clinical Microbiology ,Review

**Vincenot, F., M. Saleh et G. Prévost. 2008**. Les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*. *Rev. Fr. Labo.* 407: 61-69.

**Verani JR 2010:** Prevention of perinatal group B streptococcul disease- revised guidelines from CDC.MMWR Recomm Rep, P: 59:1-3.

**Von Eiff C, Becker K, Machka K, Stammer H, Peters G**,**2001 :** Nasal carriage as a source of *Staphylococcus aureus* bacteremia. New Engl J Med 2001; 344(1):11-648.

***W***

**Weinstein L, Chang TW, Hudson JB, Hartl W. 1957:** The concurrent use of sulfonamides and antibiotics in the treatment of infections: in vivo and in vitro studies of the effect of sulfonamide-antibiotic combinations on the emergence of drug resistance.Ann N Y Acad Sci. Oct 12; 69(3):408-16.

**Weigelt J.A,1985 :** Risk of wound infections in trauma patients. Am. J. Surg. 1985, 150, 782- 784.

**Wilson J. Ramboer I. Suetens C.**: HELICS-SSI working group. Hospitals in Europe Link for Infection Control through Surveillance (HELICS). Inter-country comparison

of rates of surgical site infection--opportunities and limitations. J Hosp Infect. 2007 Jun;65 Suppl 2:165–70.

## *Z*

**Zarb P. Ansari F. Muller A. Vankerckhoven V. Davey P. Goossens H.**: Drug utilization 75% (DU75%) in 17 European hospitals (2000-2005): results from the ESAC-2 Hospital Care Sub Project. Curr Clin Pharmacol. 2011 Feb;6(1):62-70.

# Annexe 2

**Tableau :** Répartition des prélèvements en fonction de sexe, l'âge et service :

| Chirurgie générale | | Traumatologie (Chirurgie orthopédique). | | service maternité(césarienne) | | Post opératoire | | Chirurgie infantile | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Sexe | Age (ans) | sexe | Age(ans) | Sexe | Ag(ans)e | Sexe | Age (ans) | Sexe | Age (ans) |
| Masculin | 25 | Masculin | 17 | Féminin | 34 | Féminin | 15 | Féminin | 18 mois |
| Masculin | 40 | Masculin | 39 | Féminin | 24 | Masculin | 40 | Masculin | 1 |
| Masculin | 63 | Masculin | 18 | Féminin | 36 | Masculin | 30 | Masculin | 2 |
| Masculin | 28 | Masculin | 43 | Féminin | 27 | Masculin | 60 | | |
| Féminin | 33 | Masculin | 80 | Féminin | 40 | | | | |
| Féminin | 31 | Masculin | 40 | Féminin | 35 | | | | |
| Féminin | 33 | Masculin | 21 | Féminin | 32 | | | | |
| Féminin | 48 | Féminin | 40 | Féminin | 26 | | | | |
| Féminin | 33 | Féminin | 40 | Féminin | 27 | | | | |
| Féminin | 58 | | | Féminin | 25 | | | | |
| Féminin | 33 | | | Féminin | 42 | | | | |
| Féminin | 57 | | | Féminin | 31 | | | | |
| Féminin | 40 | | | Féminin | 32 | | | | |
| Féminin | 22 | | | Féminin | 43 | | | | |
| Féminin | 34 | | | | | | | | |
| Féminin | 24 | | | | | | | | |

# Annexe 1

**Matériel non biologique**

| Appareillage | Verrerie et autres | Milieux de cultures | Réactifs | Solutions |
|---|---|---|---|---|
| Agitateur ; Bain marie ;Bec Bunsen ;Distributeur des disques d'antibiotiques , Microscope optique ,Une jarre | Boites de Pétri stériles, Eau de javel, Ecouvillons, Lame et Lamelle, Paires de gans, Pipetes Pasteur stériles, Portoirs, Tubes sec stériles | - Gélose nutritif.<br>-Gélose Chapman.<br>-Gélose Hektoen.<br>- Gélose au sang<br>-Gélose Muller Hinton (MH) | -Fuschine.<br>-Lugol.<br>-Réactif de Kovacs.<br>-Réactif de Tryptophane désaminase (TDA).<br>-Réactif de VogesProskaver 1et 2(VP1 et VP2).<br>-Voilet de gentiane<br>-le plasma humain | -Disque imprégnés de N-Ndiméthyl-parapényléne-diamine (oxydase<br>-Alcool 90° .<br>-Eau distillé stériles .<br>-Eau oxygénée.<br>-Eau physiologique.<br>-L'huile de vaseline.<br>-L'huile de paraffine |