



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem

Faculté des Science de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Option : *Microbiologie Fondamentale et Appliquée*

Thème

Etude de quelques germes responsables des infections nosocomiales au niveau des services de la maternité et de la médecine interne (CHU D'ORAN).

Présenté par :

Mlle. BOURAS Nihad

Mlle. BELARBI Aicha Yasmine

Soutenue devant le jury :

Mr CHADLI R. Professeur Université de Mostaganem Président

Mr BEKADA A. Professeur Université de Mostaganem Examineur

Mr BAHRI F. Professeur Université de Mostaganem Encadreur

Année universitaire 2015-2016

Remerciements

Au terme de ce modeste travail, nous voudrions exprimer notre gratitude et notre reconnaissance a toutes les personnes qui de prés ou de loin, ont contribué a sa réalisation, par leur encouragements, leur aide et leur soutient.

Nos vifs remerciements vont aussi a :

Mr.BAHRI Fouad, qui a eu l'amabilité de nous encadrer,
nous orienteret nous encourager ;

Mr.CHADLI Rabeh, pour l'honneur qu'il nous fait en
acceptant de presider le jury de notre soutenance ;

Mr.BEKKADA Ahmed Mohamed Ali, qui a accepter de
faire partis du jury afin de juger ce travail.



Dédicace :

Je dédie ce mémoire à :

A mes chers parents : ma mère Chaïb Kheira et mon père Bouras Mansour pour leur patience, leur amour, leur soutien et leurs encouragements Que l'éternel leur accorde une bonne santé et une longue vie.

*A mon cher frère Nadir et mes sœur Norhane et Sérine.
A ma grand Méré chérie Yamina pour son affection dont j'ai bénéficié que dieu la garde et l'accorde sa bénédiction.*

A Tout la Famille Bouras et la famille Chaïb

A mes amis et mes camarades.

Une spéciale dédicace pour madame Safer pour son attention, son amour et son soutien moral pendant mon séjour à Oran Sans oublier tous les professeurs que ce soit du primaire, du moyen, du secondaire ou de l'enseignement supérieur.

Nihed

Liste des abréviations

IN : Infection nosocomiale

S.aureus : Staphylococcus aureus.

GN: Gélose nutritive.

GS: Gélose au sang.

BCP : Pourpre de bromocresol.

TSI: Triple Sugar-Iron Agar

ECB: Etude cyto bactériologique.

EUI : urée-indole

MH : Muller Hinton

M : Malade

+ : Presence.

_ : Absence.

Liste des figures

Figure 01: Transmission endogène.....

Figure 02: Transmission exogènes.....

Figure 03: pourcentage des patients infectés en fonction de la nature du micro-organisme.....

Figure 04 : Les cultures en milieu liquide (bouillon nutritif) après 24 heures d'incubation.....

Figure 05: Aspects des colonies après isolement sur GN après 24h.....

Figure 06 : Aspects des colonies après isolement sur GS après 24h.....

Figure 07: Aspects des colonies après isolement sur BCP après 24h.....

Figure 08: Aspect des colonies après isolement sur Hektoen Après 24h.....

Figure 09: Aspect des colonies après isolement sur GS, BCP, Hektoen après 24h.

Figure 10: L'observation microscopique des colonies avec coloration de Gram.....

Figure 11: Galerie Api Staphylococcus aureus.....

Figure 12: Résultats des tests TSI après 24h.....

Figure 13: Résultats des tests urée-indole après 24h.....

- Figure 14:** Galerie Api 20NE identifiant (*Pseudomonas aeruginosa*).....
- Figure 15:** Galerie Api 20 E identifiant (*Serratia* spp).....
- Figure 16:** Galerie Api 20E identifiant (*Escherichia coli*).....
- Figure 17:** Galerie Api 20E identifiant (*Klebsiella pneumoniae*).....
- Figure 18:** Antibiogramme d'*Acinetobacter baumani*.....
- Figure 19:** Antibiogramme de *Staphylococcus aureus*.....
- Figure 20:** Antibiogramme d'*E.coli*.....

Liste de figure
 Liste de tableaux
 Résumé
 Introduction

Chapitre 1

Généralité sur les infections nosocomiales (IN)

1- Définition.....		01
2-Historique.....		02
3-Facteurs de risque infectieux.....		03
4-Epidémiologie.....		04
5-Microorganismes en cause.....		06
6-Origine des germes.....		06
7- Bactéries multiresistantes aux antibiotiques.....		07
8-Modes de contamination.....		10
	-Auto infection	
	-Hetero- infection	
	-Xeni- infection	
	-Exo- infection	
9-Sujets prédisposés au IN.....		11
10-Consequences des IN.....		12.

Chapitre II

Principales infections nosocomiales

1-L'Infections urinaire	14
1-1-Signes cliniques	15
1-2-Agents étiologiques	15
1-3-La prevention	15
1-4-Traitement	16
2-Les infections post-operatoires	16
2-1-Signes cliniques	16
2-2-Agents étiologiques	16
2-3-Prévention	17
2-4-Traitement	17
3-Les Infections respiratoires	17
3-1-Signes cliniques	18
3-2-Agents étiologiques	18
3-3-Prevention	19
3-4-Traitement	19
4-Les autres localisations infectieuses	19

5-La bactériémies nosocomiale.....	20
5-1-Les signes cliniques.....	20
5-2- Facteurs et agents étiologiques	20
5-3-La prevention des bacteriemies	21

Chapitre III

Prévention des infections nosocomiales

1-Mesures generales de prévention.....	23
1-1- L'antisepsie.....	23
1-2- L'asepsie.....	24
1-3- La decontamination.....	24
1-4- La désinfection.....	25
1-5- La sterilisation.....	27
1-6- Stockage, conditionnement et présentation du matériels	27
1-7- L'antibioprophylaxie.....	27
2-Principes généraux de prévention pour les hôpitaux	28
2-1- Les bâtiments.....	28
2-2-Le personnel.....	28
2-2-1-Le lavage des mains.....	28
2-2-2-La porte des gants.....	28
2-2-3-La tenue professionnelle	29

2-3- Le déchet	29
3- Principes de prévention en milieu chirurgical.....	29
3-1- Le Bloc opératoire.....	30
3-2- Le Personnel soignant du bloc opératoire	30
3-3- Les barrières	30
3-4- Le patient	30
3-5- Le lavage des mains	31

Résumé

L'hôpital est un lieu où l'on traite mais c'est également un lieu où l'on peut contracter des maladies infectieuses : ce sont les infections nosocomiales, elles sont responsables de l'allongement de la durée du séjour.

La fréquence globale des infections nosocomiales est les infections urinaires, les infections des plaies postopératoires, les infections respiratoires, les infections sur cathéters intraveineux, les infections bactérienne et septicémies et autres infections.

Les principaux agents contaminants sont : *Eschericia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Acenitobacter*, *Alcaligence*, *Bacillus*.

La mise en place d'un programme de prévention et de surveillance des infections nosocomiales a été considérée, depuis deux décennies, comme un élément essentiel d'une politique de lutte contre les infections nosocomiales.

L'objectif principal de l'étude est la recherche des germes pathogènes opportunistes du milieu hospitalier (CHU Oran), au niveau de la maternité et service de médecine interne.

Dans ces services on a trouvé les germes suivants : *Eschericia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus Sp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Acenitobacter*, *Alcaligence*, *Bacillus*. Le germe le plus trouvée dans les deux services c'est *Staphylococcus aureus*.

Les infections nosocomiales étaient dues à des problèmes de manque d'asepsie et d'absence d'antisepsie car les microbiologiques était pas encore connus.

Mot clés : Infections nosocomial, maternité, médecine interne ; germe microbienne.

Summary

The hospital is a place where we treat but it is also a place where we can contract infectious diseases that are nosocomial infections they are responsible for extending the length of stay

The overall incidence of nosocomial infections is urinary tract infections, postoperative wound infections .respiratory infections and infections of intravenous catheters bacterial infections and sepsis and other infections.

The major contaminants are *Eschericia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Acenitobacter*, *Alcaligence*, and *Bacillus*.

The implementation of a program of prevention and control of nosocomial infections was seen for two decades, as a major policy fight against nosocomial infections element.

The main objective of the research study is opportunistic pathogenic germs (Chu Oran) at maternity ward and intern medicine ward.

In these services has found the following organisms ; *Eschericia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus Sp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Acenitobacter*, *Alcaligence*, *Bacillus*.

Nosocomial infections were due to problems with lack of asepsis ad antisepsis because of lack of microbiological was not yet known.

Keyword: nosocomial infections, maternity, intern medicine, microbial germ.

Introduction

Approximativement 5% des patients hospitalisés développeront une infection durant leurs hospitalisation; ces infections, acquises à l'hôpital, sont qualifiées de nosocomiales. Celles qui sont la conséquence d'un acte médical, que ce soit à l'intérieur ou à l'extérieur de l'hôpital, sont dénommées iatrogènes. Les infections nosocomiales entraînent souvent une augmentation de la durée de l'hospitalisation et sont extrêmement coûteuse en termes de morbidité et même de mortalité.

Un certain nombre de facteurs acquises à l'optimal. Les plus importants sont ceux qui consistent en une effraction du système de défense de l'hôte. Les procédures invasives, souvent apparemment bénignes, représentent une nouvelle porte d'entrée pour les micro-organismes, qu'ils appartiennent à la flore du patient ou à l'environnement.

En première approche, l'incidence des infections nosocomiales est corrélées à la sévérité de la maladie sous-jacente- ainsi les patients qui ont un risque élevé de décès durant leurs hospitalisation, ont aussi un risque élevé de développer une infection nosocomiales. A l'inverse, les patients qui sont admis pour une maladie moins sévère ont un risque plus faible d'acquérir une infection à l'hôpital. Ceci sous-estime la nécessité d'une prise en charge améliorée des patients sévèrement immunodéprimés.

Ce travail est divisé en deux parties :

Partie théorique qui regroupe trois chapitres (Généralités sur les infections nosocomiales ; Modèles des infections nosocomiales ; La prévention)

Partie pratique regroupe l'objectif ; matériels et méthodes ; résultats et discussion et conclusion.

Partie theorique

Chapitre I
Généralités sur les infections
nosocomiales (IN)

Les infections nosocomiales

1- Définition

Une infection est dite nosocomiale si elle apparaît au cours ou à la suite d'une hospitalisation (ou d'un soin ambulatoire) et si elle n'était ni présente, ni en incubation à l'admission à l'hôpital. Ce critère est applicable à toute infection. Cette définition inclut les infections des patients comme celles des soignants. Elle ne préjuge ni de l'origine endogène ou exogène du micro-organisme responsable, ni du caractère Evitable de cette infection.(1)

Lorsque la situation précise à l'admission n'est pas connue, un délai d'au moins 48 heures après l'admission (ou un délai supérieur à la période d'incubation lorsque celle-ci est connue) est communément accepté pour distinguer une infection d'acquisition nosocomiale d'une infection communautaire. Toutefois, il est recommandé d'apprécier, dans chaque cas douteux, la plausibilité du lien causal entre hospitalisation et infection.

Pour les infections de site opératoire, on considère comme nosocomiale les infections survenues dans les 30 jours suivant l'intervention ou, s'il y a mise en place d'une prothèse ou d'un implant, dans l'année qui suit l'intervention. Cette durée est également admise pour le suivi d'un accouchement.

La pratique des soins à domicile peut aussi engendrer des infections. Ces infections sont considérées comme liées aux soins lorsqu'elles ne sont pas relatives à un séjour hospitalier ou un autre organisme de soins et développées au moins 48 heures après l'admission à la structure de soins à domicile.(2)

2- Historique (3)

Les infections dites « nosocomiales » (du grec nosos : maladie et komein : prendre soin de ...) existent depuis que l'on a regroupé géographiquement les malades pour tenter de leur porter assistance. Pendant de nombreux siècles, les notions d'infection communautaire et d'infection nosocomiale n'ont pas nécessité de discriminations sémantiques. Les premiers hôpitaux étaient organisés en salles communes et il existait une grande promiscuité dans les établissements de soin ce qui augmentait la probabilité pour les malades de contracter une infection nosocomiale. Dans ces premiers hôpitaux, ce sont les germes communautaires qui décimaient les malades hospitalisés: variole, choléra, tuberculose, typhoïde, peste etc.... Cette situation va perdurer jusqu'au début du 19^{ème} siècle où des progrès médicaux et architecturaux vont permettre de limiter le développement des infections hospitalières.

Sur le plan médical, en 1846, l'obstétricien Hongrois Semmelweis observe que les fièvres puerpérales sont 4 fois moins fréquentes si les accouchements sont effectués par des sages-femmes, plutôt que par des étudiants en médecine. Il émet alors l'hypothèse que ces derniers qui pratiquent également des autopsies pendant leur journée de travail contaminent les parturientes par le biais de leurs mains. En imposant de façon systématique un lavage des mains aux étudiants, il réussit à faire passer la mortalité par fièvre puerpérale de 11,4% à moins de 1%. Quelques années plus tard, Joseph Lister dans un essai historique jette les bases de l'asepsie chirurgicale pendant que Louis Pasteur et Robert Koch ouvrent l'ère de la microbiologie moderne. Tout cela va non seulement permettre de mieux comprendre la sémiologie, le mode de transmission, l'incubation, et la durée de contagiosité des principales bactéries pathogènes mais aussi de mettre en œuvre les mesures de prévention adaptées : isolement, asepsie, antisepsie, stérilisation, désinfection, vaccination et antibioprophylaxie. Avec la découverte des antibiotiques, le monde médical va croire pendant quelques années à l'utopie d'un monde sans infection mais la découverte de staphylocoques résistant à la pénicilline va vite sonner le glas de cette utopie.

Sur le plan architectural, au sein de chaque établissement médical des structures vont être construites pour permettre l'isolement des malades atteints de maladies infectieuses à forte contagiosité. C'est ainsi qu'en 1854 le premier hôpital pavillonnaire Lariboisière est construit à Paris. Quelques années plus tard, en 1945 des sanatoriums sont construits pour abriter les tuberculeux. Les hôpitaux modernes arrivent ensuite et sont de plus en plus organisés chacun se dotant de structures ou de programmes de prévention et de lutte contre les infections nosocomiales.

Semmelweis est aujourd'hui considéré comme l'inventeur de la lutte contre les infections nosocomiales. Son procédé de recueil systématique, d'analyse de données et d'institution des mesures de contrôle est encore utilisé de nos jours. De plus, sa découverte que les mains des soignants étaient le vecteur de transmission des germes d'un patient à un autre est toujours d'actualité. Malheureusement, comme au siècle dernier, les médecins contemporains ont encore besoin qu'on leur rappelle la nécessité de se laver les mains.

3- Facteurs de risque infectieux (4)

Les infections nosocomiales ont une plus grande probabilité de survenue dans un certain nombre de circonstances parfaitement définies.

Au premier rang de ces facteurs de risque infectieux figure l'affaiblissement des défenses immunitaires (immunodépression). Cet affaiblissement peut être lié à des facteurs d'ordre physiologique, tels que l'âge (nouveau-né, vieillards), la grossesse ou la mal nutrition, ou encore des affections qui peuvent amoindrir le système immunitaire (hémopathies, cancers, diabète, situation de stress après traumatismes graves, interventions chirurgicales, comas...). Cependant, ce sont de plus en plus certains traitements immunosuppresseurs utilisés aujourd'hui couramment qui vont altérer profondément les réponses immunitaires de l'hôte (chimiothérapie, radiothérapie,...). Ces agressions du système immunitaire peuvent atteindre la fonction phagocytaire, l'immunité humorale et l'immunité cellulaire T. Cependant il faut mettre l'accent sur l'exceptionnelle gravité des infections nosocomiales induites chez les sujets neutropéniques (leucocytes sanguins $<1000\text{mm}^3$), souvent à la suite d'une chimiothérapie anti leucémique.

Un deuxième facteur de risque fréquemment rencontré est lié aux agressions de la barrière anatomique cutanéomuqueuse. Il peut s'agir d'interventions chirurgicales et de multiples procédés iatrogènes lésant le revêtement cutanéomuqueux (endoscopie respiratoires, digestives ou uro-génito-urinaire, sonde et cathares....) et permettant l'inoculation directe des bactéries dans la circulation sanguine. A cela, il faut ajouter que les chimiothérapies peuvent altérer ou détruire les muqueuses (respiratoires et digestives), et que la nutrition si souvent observée en milieu hospitalier dans les situations de stress est à l'origine d'une atrophie muqueuse favorisant les infections.

L'état de la flore microbienne chez les personnes hospitalisées est également un important facteur de risque. Cette flore est souvent profondément altérée chez les patients pour de nombreuses raisons, incluant la malnutrition, la stase obstructive ou neurologique, le diabète, les toxicomanies (héroïne, alcool). Cependant, c'est surtout l'utilisation intensive d'antibiotiques à large spectre sur les populations hospitalisées. Qui est à l'origine de la sélection de bactéries souvent résistantes à de nombreux antibiotiques et devenues ainsi inaccessibles aux traitements antibiotiques habituels. Ainsi les malades acquièrent-ils une flore nouvelle par sélection d'espèces bactériennes résistantes à partir de leur flore endogène, ou à partir de leur environnement par l'intermédiaire des soins infirmiers qui leur sont prodigués.

4- Epidémiologie(5)

Les infections nosocomiales sont un problème de santé publique préoccupant. Leur prévalence en Algérie a atteint 15 % dont 50 à 60 % sont transmissibles par les mains, selon le professeur Soukhiel, chef de service au CHU de Beni-Messous. Sur 100 personnes hospitalisées, 14 contractent des infections urinaires, septicémies, pneumo-pathologies et dermatoses.

Les Cinq principaux sites des infections nosocomiales représentent 70% de l'ensemble des infections nosocomiales avec par ordre d'importance: les infections urinaires (35%), les infections respiratoires basses (12%), les infections du site opératoire (11%), les bactériémies (6%) et les infections par cathéter (4%).

Les principaux micro-organismes responsables sont les bacilles gram négatif (53%) et les cocci gram positif (33%) : *Escherichia Coli* (21%), *Staphylococcus Aureus*(16%), *Pseudomonas Aeruginosa* (11%), *Enterococcuspp*(8%). Ces quatre espèces représentent 56% des micro- organismes retrouvés dans les infections nosocomiales.

5- Micro-organismes en cause (6)

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

5-1-Bactéries

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

- Les *bactéries commensales* présentes dans la flore normale des sujets en bonne santé. Elles jouent un rôle protecteur significatif en empêchant la colonisation par des micro-organismes pathogènes. Certaines bactéries commensales peuvent provoquer une infection si les défenses immunitaires de l'hôte sont affaiblies. Par exemple, les staphylocoques cutanés coagulase-négatifs provoquent des infections sur cathéter vasculaire et les *Escherichia coli* présentes dans l'intestin sont la cause la plus courante d'infections urinaires.
- Les *bactéries pathogènes* ont une virulence plus élevée et provoquent des infections (sporadiques ou épidémiques) quel que soit l'état immunitaire de l'hôte. Par exemple :

- Les bacilles anaérobies à Gram positif (par exemple *Clostridium*) provoquent la gangrène.
- Bactéries à Gram positif : *Staphylococcus aureus* (bactérie cutanée qui colonise la peau et le nez du personnel hospitalier et des patients) provoque une grande variété d'infections pulmonaires, osseuses, cardiaques et sanguines et résiste fréquemment aux antibiotiques. Les streptocoques bêta-hémolytiques sont également des agents pathogènes importants.
- Bactéries à Gram négatif : les entérobactéries (par exemple *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Serratiamarcescens*) peuvent coloniser certains sites lorsque les défenses immunitaires de l'hôte sont affaiblies (site d'insertion d'un cathéter, d'une canule, sonde urinaire) et provoquer des infections graves (infection du site opératoire, infection pulmonaire, bactériémie, infection du péritoine). Elles peuvent également être hautement résistantes.
- Les micro-organismes à Gram négatif comme *Pseudomonas* spp. Sont souvent isolés dans l'eau et les milieux humides. Ils peuvent coloniser les voies digestives des patients hospitalisés.
- Plusieurs autres bactéries représentent un risque spécifiquement hospitalier. Par exemple, les diverses espèces de *Legionella* peuvent provoquer des pneumopathies (sporadiques ou endémiques) par inhalation d'aérosols impliquant de l'eau contaminée (climatisation, douches, aérosols à visée thérapeutique).

5-2-Virus

(7)

Il existe une possibilité de transmission nosocomiale pour de nombreux virus, notamment ceux des hépatites B et C (transfusions, dialyse, injections, endoscopie), le virus respiratoire syncytial, les rotavirus et les entérovirus (transmis par contact main-bouche et par voie féco-orale). D'autres virus comme le cytomégalovirus, le VIH, le virus Ebola, les virus grippaux, les virus de l'herpès et le virus varicelle-zona, sont également transmissibles.

5-3-

Parasites

et

champignons

(8)

Certains parasites (par exemple *Giardia lamblia*) se transmettent facilement chez l'adulte et l'enfant. De nombreux champignons et autres parasites sont des agents opportunistes et provoquent des infections en cas de traitement antibiotique prolongé et d'immunodépression sévère (*Candida albicans*, *Aspergillus* spp., *Cryptococcus neoformans*, *Cryptosporidium*). Ils sont une cause majeure d'infection généralisée chez les patients immunodéprimés. La contamination de l'environnement par des germes aéroportés comme *Aspergillus* spp.

Présent dans les poussières et le sol est également préoccupante, en particulier lors de la construction d'hôpitaux.

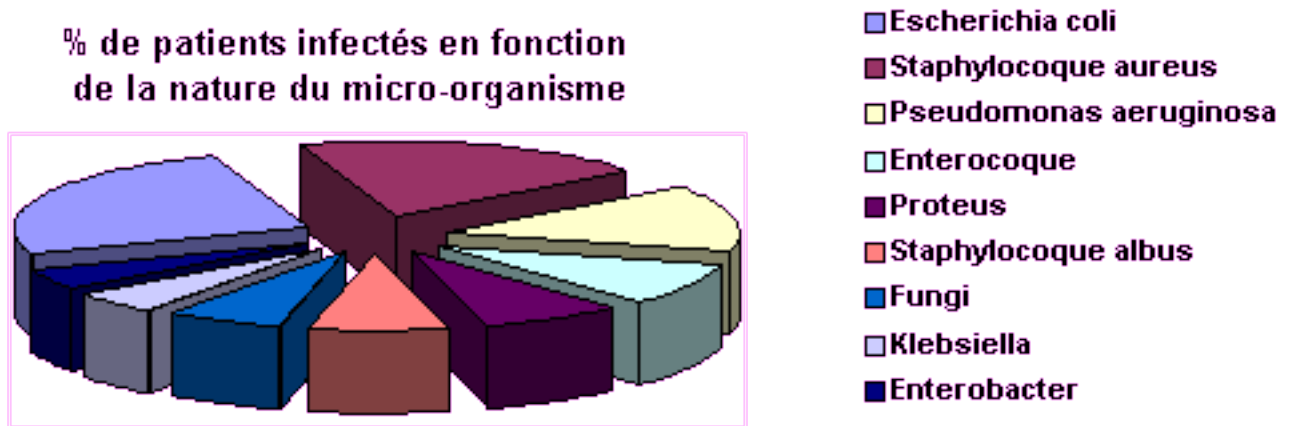


Figure N 01 : Pourcentage de patients infectés en fonction de la nature du micro-organisme.

6- Origine des germes (9)

6-1- La flore saprophyte du malade lui-même :

Elle subit au cours des premiers jours de l'hospitalisation des modifications qualitatives. Les bacilles gram négatif et plus accessoirement les levures (candida) remplacent les cocci gram positif ou les anaérobies. Ces flores saprophytes modifiées colonisent les sites préférentiels chez le malade entraînant une infection de l'appareil urinaire, des plaies opératoires, ou du parenchyme pulmonaire...

6-2- Le personnel soignant (médical et paramédical) :

La contamination peut se faire par le biais du personnel soignant qui transmet les germes d'un patient à l'autre avec ses instruments ou ses mains souillées.

6-3- L'environnement : (10)

Il est moins déterminant dans le cadre de programme de prophylaxie que les deux précédentes origines. Il peut être contaminé par le personnel ou par le patient. Il comprend les divers appareillages d'assistance respiratoire et de monitoring par voie intra vasculaire, les lavabos, les instruments (stéthoscope, tensiomètre ...), les liquides et les tubulures, la nourriture et l'air ambiente.

7-Bactérie multi résistante aux antibiotiques(11)

Les bactéries sont dites multi résistantes (BMR) lorsque, suite à des résistances naturelles ou acquises, elles ne sont plus sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotiques habituellement actifs en thérapeutique. Cette résistance étant sans lien avec une virulence accrue par rapport aux bactéries de la même espèce n'ayant pas de mécanismes de résistances .

Chez les patients porteurs de BMR, il convient de distinguer une infection d'une colonisation. On parle de colonisation en absence de signes cliniques ou biologiques d'infection. Une infection se définit par la présence de BMR dans un site anatomique habituellement stérile avec signes cliniques ou biologiques d'infection (e.g. infection de site opératoire, bactériémie)

8- Mode de contamination (12)

8-1- Auto-infection

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

Les complications infectieuses respiratoires liées au décubitus et ses conséquences sur le drainage des voies aériennes peuvent être des auto- infections.

Enfin certains malades immunodéprimés (aplasie médullaire, SIDA) peuvent avoir des bactériémies dues aux germes intestinaux qu'ils hébergent. Ces infections rigoureusement endogènes sont aussi des auto-infections.

8-2- Hétéro infection

On parle d'hétéro-infection lorsqu'un agent infectieux est transporté d'un malade à un autre provoquant une infection dite croisée ou hétéro-infection. L'agent infectieux est rarement transmis par contact direct ou par voie aérienne. Le plus souvent le vecteur est le personnel soignant par ses mains, et ou ses instruments de travail. On parle d'infection manu portée ou d'infection transmise par le matériel d'exploration ou de soin. C'est le mode de contamination majeure lors de nombreuses épidémies et probablement le plus sensible aux mesures prophylactiques.

8-3- Xéno-infection

Ce sont des infections qui sévissent sous forme endémique ou épidémique dans la population extrahospitalière. Les agents infectieux sont importés à l'hôpital par les malades, le personnel soignant, ou les visiteurs qui en sont atteints ou qui sont en phase d'incubation. Ils se transmettent

par voie aérienne, par contact direct ou indirect et trouvent à l'hôpital des victimes particulièrement réceptives et des conditions de transmission facilitées. Lorsque la maladie infectieuse est le seul motif d'hospitalisation, les mesures immédiates d'isolement peuvent être prises. Mais dans certains cas l'infection est indépendante du motif d'hospitalisation.

8-4- Exo-infection

Cette infection est liée à des avaries techniques (stérilisation inefficace, filtre à air non stérile, eau polluée). Les matériaux à usage paramédical ou domestique sont utilisés auprès des malades ; ils sont susceptibles d'être contaminés et peuvent ainsi provoquer des infections nosocomiales souvent épidémiques.

8-5- Patient réceptif

Certaines pathologies entraînent une légère immunodépression : les malades à risque sont : les brûlés, les grabataires avec des escarres étendues, les polytraumatisés et les porteurs de dispositifs invasifs (assistance respiratoire, sonde urinaire, cathéters divers), les insuffisants respiratoires, les vieillards et surtout les nouveaux nés prématurés. Ils sont donc exposés à une infection nosocomiale.

Patient ayant une flore commensale - Respiratoire

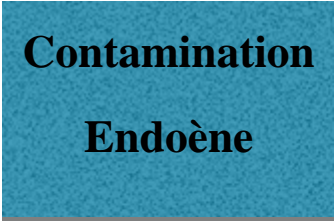
- Gastro-intestinale

- Urinaire

Modification de la flore par contact avec L'environnement

Acquisition de la flore hospitalière

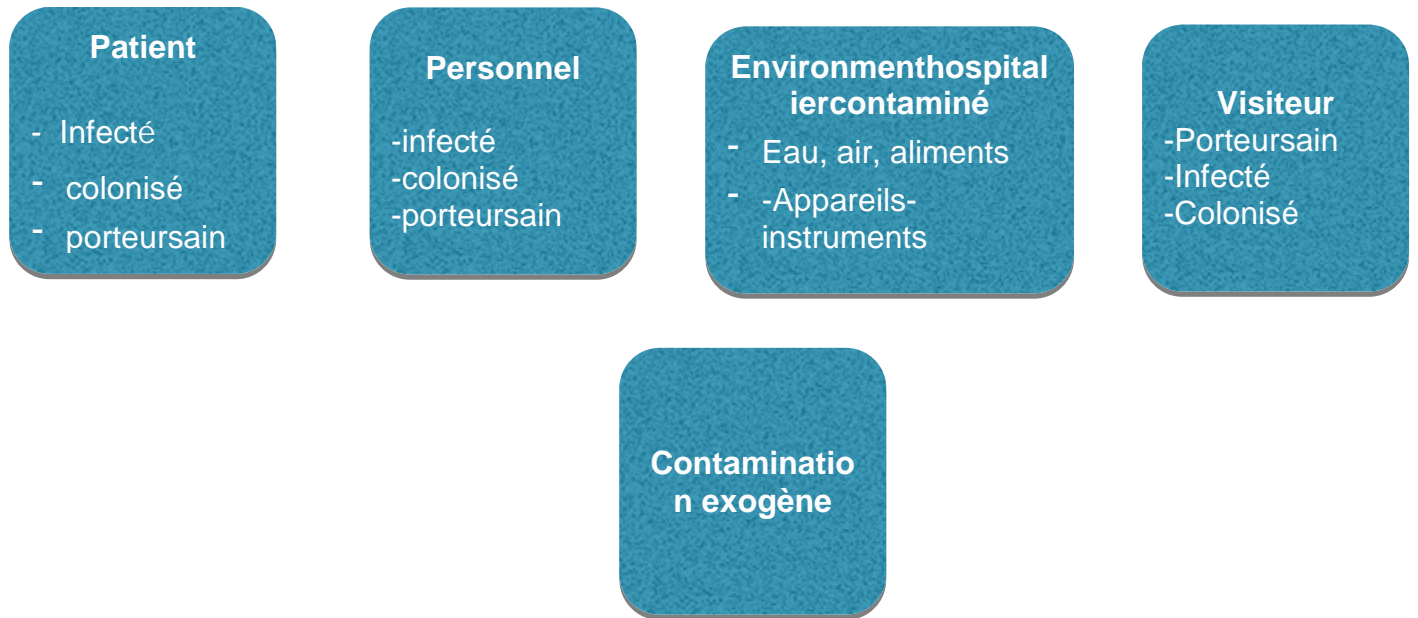
Actes inventifs



**Contamination
Endogène**

Malade infecté avec ses propres germes

Figure N°2 :Transmission endogène. (13)



Patient colonisé par une flore Hospitalière

Patient infecté

Figure N°3 : Transmission exogène. (14)

9- Sujets prédisposés aux infections nosocomiales (15)

Certains patients sont plus fragiles et vont être plus facilement sujets aux infections nosocomiales : les patients âgés et les nouveau-nés, les patients immunodéprimés (qui ont des maladies ou des traitements affectant leur système de défense comme une chimiothérapie), les grands brûlés, les patients diabétiques, les patients sous traitement antibiotique (ce qui peut déséquilibrer la flore bactérienne habituellement présente et sélectionner des bactéries résistantes...). Les gestes invasifs, comme la pose de perfusion, de sonde urinaire, la ventilation artificielle ou une intervention chirurgicale bien que nécessaire au traitement vont aussi être des facteurs favorisant les infections nosocomiales.

10- Conséquences de l'infection nosocomiale :(16)

10-1- Allongement de la durée d'hospitalisation post opératoire :

Nous avons trouvé une différence significative entre la durée d'hospitalisation des malades infectés et celle des malades non infectés. La durée moyenne d'hospitalisation des malades infectés a été supérieure à celle des malades non infectés. Cette durée de séjour supplémentaire liée à l'infection nosocomiale a été estimée à environ **10** jours.

Cette influence de l'infection nosocomiale sur la durée d'hospitalisation a été retrouvée par plusieurs auteurs.

10-2-Surcoût lié à l'infection : (17)

L'infection nosocomiale a majoré le coût de prise en charge des malades. Ces dépenses supplémentaires sont à la charge des patients et concernent les frais en rapport avec l'analyse bactériologique du prélèvement, l'antibiogramme, l'achat des antibiotiques et l'achat du matériel de pansement. Ces frais ont été calculés après un interrogatoire des parents qui nous ont montré la facture des examens complémentaires et les factures des ordonnances pour l'achat des antibiotiques et du matériel de pansement.

10-3- Morbidité et mortalité : (18)

Soit un taux global de **1,4%** de décès. L'infection n'a été la cause directe d'aucun décès. Les patients sont décédés suite à des complications liées aux pathologies pour lesquelles ils ont été opérés. Il y'a aucune différence entre le taux de mortalité des malades infectés et celui des non infectés. Certains auteurs estiment que le taux de décès postopératoire augmente en cas d'infection

nosocomiale

Selon Horan, la fréquence de la mortalité liée à l'infection nosocomiale varie suivant le siège de l'infection du site opératoire (plus élevée dans l'infection d'organe) et le risque de développement secondaire d'une septicémie à partir du foyer infectieux initial.

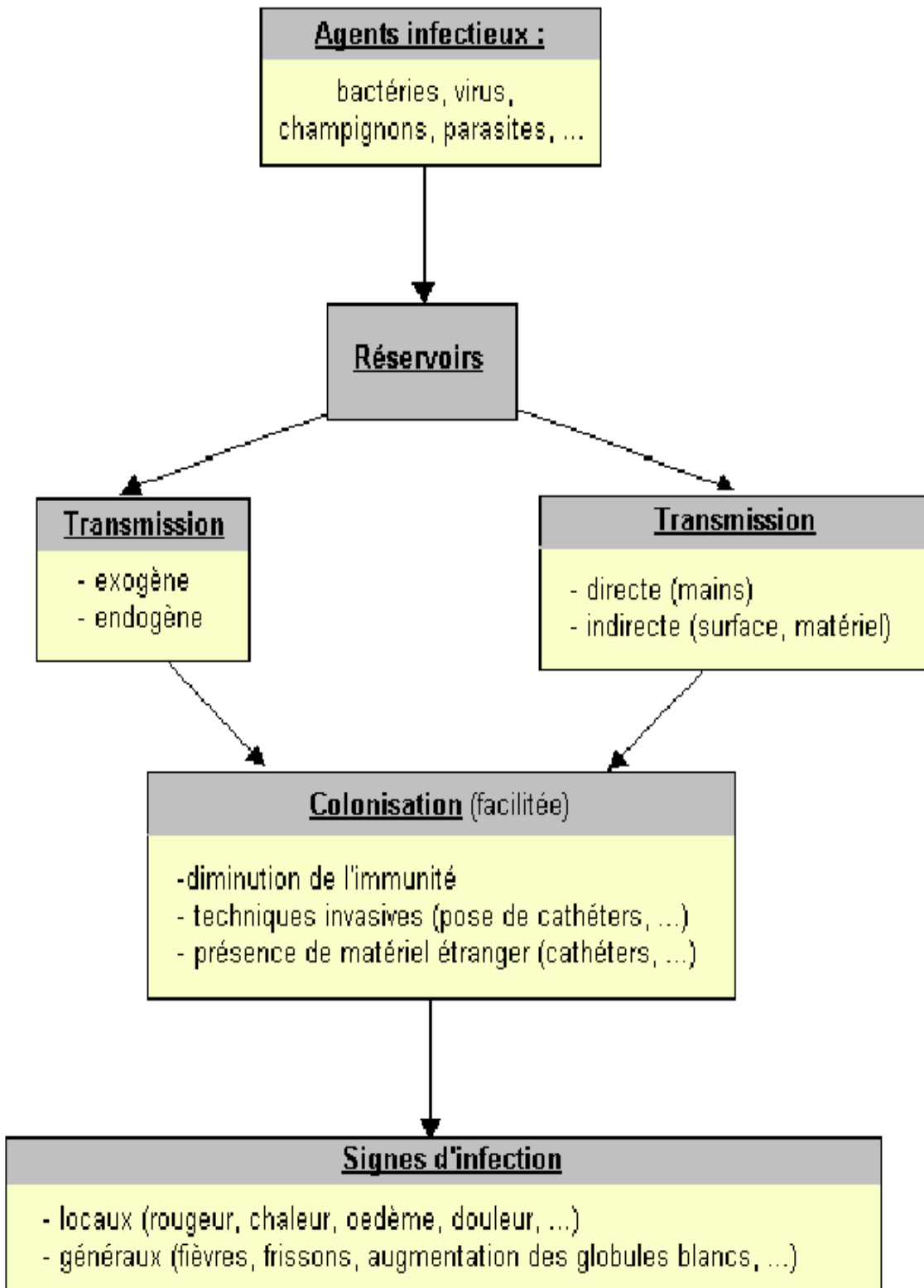


Figure N02 : Schéma général de la chaîne épidémiologique (19)

Chapitre II
Principales infections
nosocomiale

La fréquence globale des infections nosocomiales est mesurée par l'étude internationale et est de 5% à 10% des hospitalisés, elles sont variées, leur répartition est la suivante :

- -Infection urinaires 40%
- infections des plaies post-opératoires 25%
- infections respiratoires 15%
- infection sur catheters intrave 5%
- infections bactériémie et septicémie 5%
- Autre infection 10% (20)

Les portes d'entrées (21)

- Voie respiratoire : toux.
- Voie cutanéomuqueuse : mains, ongles, crevasses, voie urinaire...
- Voie entérique : tout ce qui touche au tube digestif.
- Voie parentérale : actes invasifs, ponctions, injections, prélèvements...

1-Les infections urinaires (22)

Les infections urinaires contractées à l'hôpital sont déclenchées dans près de 75% des cas par cathétérisme des voies urinaires ou par la mise en place d'une sonde à demeure. Dans le cas d'un cathétérisme isolé, les bactéries de l'urètre antérieur ou des mains de l'opérateur peuvent être induites dans la vessie. On estime qu'une telle bactériurie est provoquée chez près de 6% de personnes hospitalisées subissant une endoscopie ou un cathétérisme isolé, pour la mise en place des sondes à demeure, même lorsque le geste opératoire a été accompli rigoureusement, on estime que près de 25% des personnes vont présenter une infection urinaire dans les deux premières semaines suivant le sondage, avec un maximum de fréquence entre le 5 et le 11 jours.

1-1-Signes clinique (22)

Une fièvre 38°C: c'est un signe de gravité car elle témoigne le plus souvent des atteintes des routes appareil ou de la prostate. Les douleurs sont plus souvent localisées de l'air des voies urinaires, douleurs supra et rétro pubiennes ressenties pendant la miction ou

immédiatement après, accompagnées de brûlures mictionnelles.

Les douleurs peuvent n'être pas à l'évidence liée aux voies urinaires: douleurs de la région anale avec irradiations périnéale, douleurs abdominales, surtout chez l'enfant.

1-2-Agents étiologiques (22)

Dans la très grande majorité des cas, ces infections urinaires sont dues à des entérobactéries; E. coli, responsable de 80% des infections aiguës, d'autres germes peuvent être isolés, notamment dans les infections récidivantes: des Proteus, des klebsiella, des entérocoques (streptocoques du groupe D), des staphylocoques et certains bacilles Gram négatif, comme les Pseudomonas, les serratia. Ces germes sont retrouvés le plus souvent chez des malades hospitalisés.

1-3-La prévention d'une infection (23)

La mise en place d'une sonde à demeure doit être évitée ou faite avec beaucoup de précautions d'asepsie : le port de gant stérile, la toilette périnéale avec des antiseptiques bactéricides etc....

Le système de drainage de l'urine ne doit jamais être ouvert, il doit être stérile et éviter tout reflux. La vidange du sac doit se faire par le bas et tout prélèvement doit se faire au niveau de la bague après l'avoir désinfectée. Il faut une vérification régulière de la sonde et du méat, surveiller un décalage thermique. Le sac collecteur ne doit jamais reposer sur le sol. Faire boire abondamment le malade, faire un changement de l'ensemble sonde- système de drainage :

- en présence d'un écoulement défectueux ;
- - si le sac collecteur est détérioré ;
- - devant une infection urinaire confirmée.

1-4-Traitement des infections urinaires nosocomiales : (24)

1-4-1-La bactériurie asymptomatique :

Elle ne doit pas être traitée chez un malade sondé. Mais si elle a été découverte lors de l'ablation de la sonde, elle impose une uroculture 48 heures plus tard. La positivité de cette

uroculture indique une antibiothérapie. Quand elle survient chez un malade non sondé, l'antibiothérapie est d'emblée instituée.

1-4-2- La bactériurie symptomatique :

Chez les malades sondés ou à antécédent de sondage récent, une antibiothérapie bactéricide doit être prescrite et réévaluée en fonction de l'antibiogramme. Pour les infections simples il faut une monothérapie avec les antibiotiques à bonne élimination urinaire et diffusion prostatique tels que : les fluoroquinolones ou le cotrimoxazole. Il faut faire une association de Céphalosporine de 3^e génération ou fluoroquinolone et Aminoside en cas de signes de gravité d'infection.

2- Les infections post-opératoires (22)

Les infections bactériennes provoquées par acte opératoire représente près de 20% des infections nosocomiales et l'on admet qu'environ 7 % des plaies postopératoires s'infectent dans les jours qui suivent l'intervention. certaines interventions chirurgicales sont dites propres, car le risque infectieuses minimum du fait de l'absence d'exposition avec la microflore endogène respiratoire et digestive (chirurgie orthopédique, neurochirurgie, intervention pour hernies...) la durée de l'intervention augmentait la probabilité d'infections postopératoire, probablement par l'augmentation de la durée de l'exposition aux risques infectieux des manipulations et de l'air, mais aussi par la contamination à partir des tranches de section cutanée par la flore endogène profonde non détruite par les antiseptiques au moment de la désinfection initiale de la peau. Enfin la mise en place d'un corps étranger (prothèses cardiaques, vasculaire, orthopédiques) est un facteur important d'infections postopératoires.

2-1-signes cliniques (22)

Les signes cliniques d'une infection de la plaie opératoire apparaissent en général 4 à 8 jours après l'intervention. Il s'agit d'une inflammation locale avec douleur, rougeur, gonflement local de la peau et fièvre. Cette infection est en règle mono microbienne (*Staphylococcus aureus*, entérobactérie...)

L'apparition d'une infection précoce de la plaie dès le 2^eme jour doit faire craindre une contamination par un germe virulent tel que *Streptococcus pyogenes* (streptocoque A) ou *Clostridium perfringens*. Ces bactéries entraînent une infection locale diffusant rapidement et souvent accompagnée de signes généraux graves liés à la sécrétion de toxines.

2-2-Agents étiologiques (23)

Les germes responsables des infections postopératoires sont:

- -Escherichia coli 10%
- -Staphylococcus aureus 35%
- -Pseudomonas aeruginosa 10%
- -staphylocoque coagulase négatif 8%

2-3-prévention des infections post-opératoires (23)

La prévention repose sur des techniques rigoureuses de désinfection de la peau avec des antiseptiques iodés, de rasage méticuleux pratiqué immédiatement avec l'intervention et non plusieurs heures avant, d'asepsie opératoire irréprochable.

Le taux d'infections postopératoire varie considérablement d'un chirurgien à l'autre. Pour les interventions de longue durée, en particulier en orthopédie et en neurochirurgie, diminuer les risques infectieux d'origine aérienne par l'utilisation de flux laminaires ou des bulles stériles semble avantageux.

L'antibioprophylaxie apparaît désormais comme un acquis majeur permettant de diminuer de façon très significative le taux des infections postopératoires. Son principe est simple: détruire les rares bactéries qui contaminent les tissus au cours de l'intervention.

2-4-Traitement des infections des plaies opératoires (22,23) Le traitement est essentiellement chirurgical (drainage et nettoyage des abcès). L'antibiothérapie n'est qu'un complément. Elle est prescrite et réévaluée en fonction de l'antibiogramme.

3-Les infections respiratoires (22)

Ces infections sont surtout observées dans les unités de réanimation ou de soins intensifs. Représentant près de 15% des infections nosocomiales, les pneumonies nosocomiales se distinguent des localisations précédemment citées par la forte mortalité qu'elles entraînent. Cela est lié à plusieurs facteurs:

1- La nature des bactéries rencontrées (60% de bactéries à Gram négatif) dont certaines sont particulièrement résistantes aux antibiotiques et virulentes chez ses malades (Pseudomonas aeruginosa)

2- La localisation pulmonaire avec nécrose hémorragique qui rend plus difficile l'expression des défenses anti-infectieuses et l'action bactéricide des antibiotiques dans les foyers infectieux.

3- La grande fragilité des malades chez lesquels ces infections surviennent.

3-1-Signes cliniques (23)

Les pneumonies bactériennes observées en réanimation sont de diagnostic clinique et bactériologique difficile. L'apparition soudaine d'une toux productive, avec fièvre, infiltrat pulmonaire évoque le diagnostic. Isolement à plusieurs reprises d'une bactérie en culture pure ou prédominante dans le crachat associée à des hémocultures positives au même germe permet d'affirmer le diagnostic, dans les cas difficiles, des investigations plus sophistiquées (examen bactériologique quantitatif des crachats) ou plus agressives (ponction transtracheale.) permettent en général d'établir le diagnostic.

3-2-Les facteurs de risque (22)

Ils sont en rapport avec la ventilation et le patient lui-même donc accessibles à la prévention. Le facteur le plus important est l'orthèse endotrachéale, ensuite viennent l'âge de plus de 70 ans, l'insuffisance respiratoire chronique, l'état de choc, l'intervention chirurgicale récente sur la sphère abdominale ou thoracique, la durée de la ventilation, la trachéotomie et la réintubation. D'autres facteurs tels que : le mode d'intubation (orale ou nasale) et l'absence de prévention par gastro protecteur augmente la survenue de pneumopathie nosocomiale.

3-3-Agents étiologiques (22)

Les bactéries gram négatif : *Pseudomonas aeruginosa* (30 % des pneumopathies nosocomiales), le groupe *Klebsiella*, *Eschérichia*, *Serratia* (8 % des pneumopathies nosocomiales) et rarement *Haemophilus influenzae*.

Le *Staphylococcus aureus* (30 %), le *Staphylococcus épidermidis* (10 %) et le *Streptococcus pneumoniae* responsables de pneumopathies précoces.

Les anaérobies sont difficiles à mettre en évidence.

Les pneumopathies plurimicrobiennes : champignons, virus (30 à 40 %).

3-4-Prévention des infections respiratoires (22,23)

La prévention des infections respiratoires vise à éviter les contaminations par le matériel utilisé en réanimation. Il faut désinfecter soigneusement les couveuses, appareils de ventilation assistée, aspirateur. Il est bon également d'isoler un malade présentant une pneumopathie nosocomiale pour éviter la dissémination de l'infection.

L'antibioprophylaxie est contre indiquée. La vaccination peut être intéressante chez certain malade à haut risque.

3-5-Traitement des pneumonies nosocomiales (22,23)

Le choix de l'antibiothérapie empirique dépend du caractère précoce ou tardif, du terrain (insuffisance respiratoire chronique, mucoviscidose, immunodépression, neutropénie), de l'antibiothérapie antérieure et de l'écologie du service.

Le traitement des pneumonies nosocomiales est basé sur l'association de deux antibiotiques bactéricide/s (un ampicilline et une pénicilline actifs sur le germe en cause) par voie parentérale, à fortes doses, et pendant moins 30 jours.

4-Les autres localisations infectieuses (24)

De très nombreuses autres localisations infectieuses sont possibles 15% à 25% des infections nosocomiales. On peut citer notamment les infections du système nerveux central (méningites d'inoculation ou postopératoire, abcès cérébraux), de la peau (escarres infectées, abcès sous cutanés ou musculaires après injection), du tube digestif (diarrhées épidémiques à Salmonelles ou E. coli), des voies génitales après instrumentation ou interruption de grossesse, des régions buccale et périnatale. Toutes ces localisations peuvent être à l'origine de bactériémies avec une fréquence variable selon le degré de l'immunosuppression et la nature des germes en cause.

5-Les bactériémies nosocomiales (25)

Les bactériémies représentent 10% à 15% des infections nosocomiales. Les infections sont rarement d'apparence spontanée, surtout observées chez des malades en aplasie. Le point de départ de l'infection est probablement digestif, à la suite de lésions de la muqueuse digestive liées à la chimiothérapie ou d'infections buccales ou périnatales mineures. Cependant la

plupart des bactériémies nosocomiales sont secondaires à un foyer infectieux localisé, en particulier respiratoire, ou un cathétérisme vasculaire.

Les cathéters sont habituellement infectés par la flore cutanée à la suite d'une colonisation progressive provenant du site de pénétration cutanée.

Il est plus rare qu'il s'agisse d'une faute de manipulation ou de la perfusion d'une soude contaminé au moment de la pose du cathéter. Les risques d'infection sur cathéter sont augmentés par l'existence d'une affection cutanée préalable (brûlure, dermatose..), d'une flore cutanée opportuniste (bacilles à gram négatif), d'une infection à distance ou d'un état d'immunosuppression grave. De plus, la technique de la pose et la localisation du cathéter jouent un rôle important sur la fréquence des infections.

5-1-Les signes cliniques (25,26)

La symptomatologie d'une septicémie bactérienne associée d'une fièvre souvent élevée et hectique, ou au contraire une hypothermie profonde d'apparition brutale, une hypotension modérée.

5-2-Facteurs et agents étiologiques (25,26)

Les principaux facteurs et agents étiologiques sont regroupés dans le tableau suivant:

Tableau 01 : Origines, facteurs déterminants et agents étiologiques de la bactériémie ' (27)

Foyer d'origine	Facteurs déterminants	Agents étiologiques les plus fréquentes
Voie génito-urinaires	Sonde à demeure, instrument, obstruction	E. coli Klebsiella Enterobacter Serratia Proteus Pseudomonas aeruginosa
Voie gastro-intestinales	Obstruction Perforation Abscess	Bacteroides E. coli Enterobacter

Foyer d'origine	Facteurs déterminants	Agents étiologiques les plus fréquentes
	Néoplasie Diverticules	Serratia Salmonella, E. coli
Systeme vasculaire	Dissection veineuse Cathéters intravasculaire Stimulateurs cardiaques Intervention chirurgicale	Pseudomonas aeruginosa Herella Serratia Erwinia
Voies respiratoires	Tracheotomies Ventilation mécanique	Pseudomonas aeruginosa Serratia Klebsiella Enterobacter E. coli

5-3-La prévention des bactériémies nosocomiales (25,27)

La mise en place d'un cathéter vasculaire doit être considérée comme un acte chirurgical, nécessitant une désinfection soignée de la peau avec un antiseptique iodé et une technique rigoureuse de pose, évitant les hématomes et les traumatismes locaux. L'infection du cathéter nécessite quand cela est possible, l'ablation du matériel et la mise en œuvre d'une antibiothérapie adaptée. Chez le malade aplasique, l'indication de la mise en place d'un cathéter doit être posée avec beaucoup de prudence.

Certains vaccins ou sérums dirigés contre les bacilles à Gram négatif. Enfin chez les malades leucémiques, des décontaminations totales du tube digestif ont été préconisées au moment de l'induction de la chimiothérapie, associant plusieurs antibiotiques administrés par voie buccale, tels que vancomycet, terramycine, colimycine.

Tableau 02 : Distribution des bactéries opportunistes en fonction de l'infection nosocomiales
(28)

Bactéries	Urinaires	Post-opératoires	Respiratoires	Diverses	Bactériémies
E. coli	31,6	15,4	7,2	11,4	15,6
enterobacter sp	4,0	3,7	6,2	5,8	4,6
pseudomonas aeruginosa	10,2	5,2	8,2	12,2	5,6
Pseudomonas sp	2,1	1,2	1,9	2,4	1,3
staphylococcus aureus	1,6	14,7	10,6	47,9	14,8
streptococcus sp	13,2	9,8	1,3	11,4	5,1
Agents infectieux indéterminés	1,9	13,2	23,8	35,5	1,0

Chapitre III

La prévention des infections nosocomiales

La prévention des infections nosocomiales

1-Mesures générales de prévention :

1-1- L'antiseptie : (29)

C'est l'ensemble des méthodes et moyens destinés à prévenir l'infection en détruisant ou en inhibant la croissance des micro-organismes sur les tissus vivants ou les objets inanimés en utilisant des procédés physiques (filtre, rayonnement) ou chimiques (substances bactéricides, virucides ou fongicides). Les antiseptiques sont des substances chimiques permettant d'inhiber ou de tuer les micro-organismes des tissus vivants. Ils agissent par dénaturation des protéines ou blocage du métabolisme ou altération des membranes des micro-organismes.

1-1-1-Les principaux antiseptiques sont : (30)

-**Alcool éthylique à 70°** : Il est bactéricide sur un large spectre de bactéries Gram positif et Gram négatif, virucide et fongicide (durée minimum 1 à 3 minutes). Son action diminue la présence de

Matières organiques.

- **Les hypochlorites dilués** : L'eau de Javel est utilisée comme antiseptique et désinfectant. Le Dakin est moins irritant que l'eau de Javel. Temps d'action : 10 à 20 minutes. Elle doit être utilisée à une

Concentration de 0,1 à 0,5 %.

-**L'iode** : C'est un oxydant bactéricide dès la concentration de 0,1 %, fongicide à 1%. Il agit rapidement. Il est utilisé sous forme de solution alcoolique, de teinture d'iode et de polyvinyle iodée (Bétadine).

-**L'eau oxygénée**: A dix volumes, c'est un oxydant bactériostatique par dégagement d'oxygène ; mais il est peu actif sur les spores et les champignons et il dessèche la peau.

-**Les ammoniums quaternaires**: Ce sont des surfactants cationiques, tensioactifs utilisés pour leurs propriétés détergentes et moussantes, leur coût est élevé.

-**Les phénols** : L'hexachlorophène est de moins en moins utilisé (risque de démyélinisation). La solution de phénol à 5 % est le meilleur antiseptique contre les BK (Bacille de Koch).

-**Les acides organiques** : Ils sont bactériostatiques caustiques pour la peau et les muqueuses mais couvrent un large spectre de micro-organismes. L'acide lactique est utilisé dans les savons antiseptiques.

- **La Chlorhexidine** : Est surtout active sur les bactéries et employée comme antiseptique de la peau

Et des muqueuses dans des nombreuses préparations. (Cytéal, Eludril, Hibitane, Hibiscrub); son coût est élevé.

- **Le trichlocarban** : Il est utilisé pur ou dilué comme savon antiseptique (Septivon, Solubacter) mais est peu actif sur les bactéries Gram négatif.

1-2- Asepsie : (30)

Selon le dictionnaire médical Larousse 1981, l'asepsie est l'absence de tout germe microbien de tout élément susceptible de produire la putréfaction ou l'infection. Cette définition est élargie par le dictionnaire français de médecine et de biologie (Flammarion 1970) qui définit l'asepsie comme l'ensemble des moyens visant à empêcher la contamination d'objet, de substance, d'organisme ou de locaux.

La réalisation de l'asepsie: Elle nécessite un travail d'équipe et comporte la décontamination, la désinfection et la stérilisation.

1-3- La décontamination : (31)

C'est éliminer, tuer, ou inhiber les micro-organismes indésirables, et diminuer leur nombre sur le matériel utilisé.

1-4- La désinfection : (31)

Elle permet d'éliminer la plupart mais pas tous les micro-organismes à l'origine des maladies sur le matériel utilisé. La désinfection de haut niveau détruira tous les micro-organismes (y compris les bactéries végétatives, la tuberculose, les levures et les virus), à l'exception de certains endospores bactériennes. Les objets qui subissent une désinfection de haut niveau peuvent être utilisés sans danger pour toucher une peau lésée ou des membranes muqueuses intactes. La désinfection de haut niveau constitue la seule autre solution acceptable s'il n'est pas possible de stériliser ou si la stérilisation n'est pas appréciée.

La désinfection de haut niveau peut être réalisée par ébullition ou par trempage dans divers désinfectants chimiques (alcool, solution de chlore, formaldéhyde à 8%). Pour être efficaces, les procédures de désinfection doivent être suivies à la lettre. En pratique la désinfection du matériel préalablement décontaminé s'effectue par immersion dans un bac de

5 litres de solution désinfectante. Afin d'assurer le contact du désinfectant avec toutes les parties du matériel, les instruments articulés demeurent ouverts, les canaux et cavités sont soigneusement irrigués. Le bac doit être muni de couvercle afin d'éviter l'évaporation de la solution et les émanations de vapeurs toxiques. En fait, la solution se dilue au fur et à mesure de l'immersion de matériel ; donc son efficacité s'altère progressivement. Il est donc recommandé de procéder au renouvellement du bain de désinfectant au moins une fois par semaine, voire plus souvent si la quantité de matériel désinfecté est importante. Le temps d'immersion dans le bain désinfectant est variable en fonction de l'objectif fixé et du produit utilisé ; quinze minutes représentent le temps habituellement requis pour une désinfection standard. Après désinfection le matériel est rincé abondamment dans un bac d'eau stérile renouvelé fréquemment en fonction de l'importance du matériel immergé.

1-5- La stérilisation : (32)

C'est l'ensemble des méthodes permettant de tuer les micro-organismes vivants de nature bactérienne (végétative ou sporulé), virale ou parasitaire y compris les endospores portés par un objet. Pour une bonne stérilisation il faut les étapes suivantes : décontamination (10 à 20 minutes) ; nettoyage, désinfection (froid, chaud) ; séchage et enfin stérilisation proprement dite.

1-5-1-La stérilisation par la chaleur :

La stérilisation par la chaleur sèche (Poupinel) : cette technique consiste à exposer les objets à stériliser pendant une période supérieure à une heure à une température entre 160 °C et 200 °C. Elle s'emploie pour le matériel chirurgical, la verrerie et la porcelaine. Elle n'offre pas de garantie en raison du caractère isolant de l'air et de la différence de densité des objets et des parois du conditionnement.

1-5-2- La stérilisation par la chaleur humide (autoclave à vapeur d'eau) : (33)

L'autoclave, qui utilise la vapeur d'eau sous pression comme fluide stérilisant, est par contre un procédé de choix car la vapeur d'eau est un excellent fluide pour le transport des calories. Il existe une relation simple entre la vapeur d'eau et sa température. Un diagramme permet de contrôler les différentes phases du cycle.

Le temps d'exposition à la vapeur d'eau sous pression est variable selon la charge. Un autoclave rapide à faible contenance peut ainsi permettre de stériliser un instrument par une Exposition de 5 minutes à 134°C, de 3 minutes à 144°C (temps auquel il faut ajouter les opérations préalables de mise sous vide, de chauffage et les stades suivants de remise sous vide en vue du séchage et du refroidissement).

Cette méthode est utilisée pour le linge, les solutés liquides, la porcelaine, les instruments métalliques dans leur emballage définitif (ce dernier est poreux). Ce procédé à des inconvénients liés à ces limites (non résistance à la température des matériaux plastiques). Il est nécessaire que les instruments soient d'une propreté parfaite.

Pour contrôler la stérilisation :

- Il faut :
- Vérifier le fonctionnement correct de l'autoclave ;
- . Vérifier le diagramme d'enregistrement du temps, de la température et de la pression de la vapeur d'eau ;
- Avoir un cahier de stérilisation dont chaque charge doit être enregistrée. Dans ce cahier doivent figurer : les paramètres adaptés, les résultats de contrôle. Les contrôles Chimiques par les scellés montrent que la température maximale a été atteinte sans indication du temps d'exposition.
- Validation biologique en utilisant les bandelettes porteuses de spores.

1-5-3- La stérilisation par les rayonnements ionisants (34)

La stérilisation par les rayonnements ionisants a pour principe de soumettre les micro-organismes contaminants à l'action bactéricide d'un rayonnement gamma, ou d'un faisceau d'électrons accélérés. Ce procédé sans rémanence et stérilisant à froid est sûr, contrôlable et reproductible. Il permet de stériliser un article dans son emballage unitaire définitif. Elle est utilisée pour le caoutchouc et le métal mais elle a des limites. En effet l'irradiation modifie la structure moléculaire de tous les polymères synthétiques et naturels.

1-5-4-La stérilisation par filtration : (35)

Elle est réservée aux liquides et aux gaz ne supportant pas la chaleur ; ce n'est pas une méthode fiable, d'où l'intérêt d'ajouter aux liquides et aux gaz filtré un antiseptique

1-5-5- La stérilisation par l'oxyde d'éthylène : (35)

Ce procédé utilise un gaz toxique très hydrosoluble, qui à chaleur modérée, produit une alkylation des macromolécules bactériennes. Il a l'avantage de pouvoir être utilisé pour les matériaux thermolabiles, mais il doit être soumis à des règles d'emploi très strictes du fait de sa toxicité. Il est impératif d'observer après stérilisation une période de désorption dans une armoire spéciale à 55°C, à renouvellement d'air trois fois par minutes pendant au moins 3 jours. Ce temps peut atteindre 15 jours ou 30 jours pour que certains matériaux (caoutchouc, latex) atteignent la teneur maximale de deux pour mille en oxyde d'éthylène.

1-6- Stockage, conditionnement et présentation du matériel : (36)

Le stockage et le conditionnement doivent éviter la recontamination du matériel : champs, étui, ou boîte stérile. Le lieu de stockage doit être régulièrement décontaminé. Une bonne présentation du matériel lors de son utilisation permet d'éviter leur contamination. Elle est particulièrement importante dans les implants prothétiques.

1-7- L'antibioprophylaxie : (35,36)

C'est l'administration d'antibiotique avant la contamination bactérienne potentielle liée à l'acte opératoire. Elle a pour objectif la réduction de la fréquence des infections chirurgicales superficielles au niveau des sites opératoires. Elle est réservée aux interventions associées à une fréquence élevée d'infection postopératoire ainsi qu'aux interventions dont les complications septiques, bien que rares, ont des conséquences vitales ou fonctionnelles graves. Elle est indiquée uniquement dans certains gestes chirurgicaux des classes I (propre) et classe II (propre contaminée) ; selon la classification d'ALTEMEIER. Les actes chirurgicaux des classes III (contaminée), IV (sale) relèvent d'une antibiothérapie curative adaptée.

L'antibioprophylaxie doit tenir compte : (37)

- de l'écologie microbienne locale;
- du rapport coût/efficacité;
- de la bonne diffusion de l'antibiotique au site opératoire;

L'administration d'antibiotique doit être de courte durée si possible poursuivie pendant 24 heures mais jamais au-delà de 48 heures: éviter les antibiotiques à large spectre car ils ne représentent qu'un élément adjuvant des mesures de prévention.

2- Principes généraux de prévention pour les hôpitaux (38)

2-1- Les bâtiments : Ils doivent être dans les normes par leurs surfaces, leur aération ; ils doivent être nettoyés matin et soir avec des désinfectants à la serpillière sans balayage préalable.

Le sol de la salle d'opération est nettoyé après chaque opération avec de l'eau de Javel diluée, l'ensemble du bloc lavé à grande eau à la fin de chaque semaine. (39)

2-2-Le personnel : Il faut insister sur la formation et l'éducation du personnel socio-sanitaire dans le respect strict des règles d'hygiène et de fonctionnement des services. (39)

2-2-1- Le lavage des mains : La cause la plus fréquente d'infection à l'intérieur d'un hôpital est le passage par les mains, le lavage soigneux des mains peuvent donc réduire cette dissémination. Si elle était parfaitement respectée, cette mesure du lavage méticuleux des mains serait probablement celle qui aurait les effets les plus bénéfiques. L'objectif est de revenir la transmission manu portée et d'éliminer la flore transitoire. (39)

2-2-2- La porte des gants: Il est nécessaire lors de tout contact avec un liquide biologique (sang, urine ...) afin de prévenir le risque infectieux et de protéger le personnel soignant. Le port de gant n'exclut pas le lavage des mains avant et après leur utilisation. Ils doivent être changés entre chaque patient et entre chaque soin.

Ainsi la prévention concerne aussi le personnel, en particulier pour les risques liés au sang: port des gants obligatoire lors des prélèvements sanguins, protocoles de soin du personnel lors des piqûres accidentelles. (40)

2-2-3- La tenue professionnelle: La tenue de ville et de travail doivent s'y trouver nettement séparés, cette dernière doit être changée quotidiennement et à chaque fois qu'elle

est souillée. Les ongles doivent être courts et sans vernis. Les mains et poignets doivent être nus et les cheveux longs attachés. Toutes ces mesures sont destinées à réduire le risque de transmission des germes car ses endroits favorisent leur accueil. Pour la prise des repas, la tenue est remplacée par la tenue de ville afin de la protéger des souillures et limiter les voies de transmission des micro-organismes dont elle est porteuse. (41)

2-3- Le déchet : A l'hôpital, les circuits propres et sales doivent être clairement individualisés et distincts.

Tous les objets piquants et tranchants doivent être jetés dans des conteneurs spéciaux. Les déchets d'activité de soins à risque infectieux sont éliminés dans des récipients spéciaux et suivent une filière spécifique de ramassage et de transport visant à une incinération ou à un enfouissement.

L'emballage, le ramassage, le transport et les modalités d'incinération font l'objet d'une réglementation très précise. (42)

3- Principes de prévention en milieu chirurgical :

3-1- Le Bloc opératoire : (43)

C'est le lieu principal des activités et le point de départ de la plupart des infections postopératoires. L'architecture du bloc doit permettre la séparation entre les interventions septiques et les interventions aseptiques et doit comporter : les salles d'intervention ; une salle de stérilisation

Contiguë et communiquant avec les salles d'intervention ; un vestiaire ; une salle de réveil ; une salle de préparation du chirurgien ; une salle de préparation du malade ; une toilette interne à distance des salles d'opération permettant au personnel de satisfaire ses besoins sans sortir du bloc opératoire.

Le bloc doit avoir un système de remplacement de l'air vicié ; les murs et le sol doivent être lavables et les portes coulissantes ; la salle d'intervention doit comporter deux portes (une pour l'entrée et l'autre pour la sortie du malade) et deux fenêtres (une pour le matériel stérile et l'autre pour le matériel sale) ; la température ne doit pas dépasser 20°C ; la salle d'opération doit être nettoyée après chaque intervention et lavée à grande eau après chaque programme opératoire avec une solution désinfectante. Pour la collecte des déchets, les objets coupants et piquants sont placés dans un récipient avec couvercle et contenant une solution de décontamination puis enfouis. Les pièces opératoires doivent être mises dans des emballages

impermeables et conduites à l'incinération. Les autres déchets doivent être conditionnés dans des emballages imperméables et conduits à l'incinération. (44)

3-2- Le Personnel soignant du bloc opératoire : (44,45)

La plupart des infections viennent du chirurgien et des matériaux de travail. Le nombre de personne au bloc doit être limité au strict nécessaire. Les mouvements du personnel de la salle d'opération vers l'extérieur doivent être limités. Le personnel doit se débarrasser de sa tenue de ville dans les vestiaires au profit de celle réservée exclusivement au bloc. Le personnel porteur d'une infection susceptible d'être transmise à l'opéré doit s'abstenir d'entrer en salle d'opération jusqu'à ce qu'il ne représente plus un risque pour le malade. Tout le personnel rentrant au bloc doit être muni d'un bonnet cachant largement les cheveux d'une bavette en tissu imperméable prenant le nez, la bouche et le menton, et de chaussures ou couvre-chaussures réservées uniquement au bloc opératoire.

3-3- Les barrières : (46)

C'est l'ensemble des dispositifs entre les chirurgiens, le patient et la plaie opératoire afin d'éviter les contaminations. Elles comprennent : les blouses opératoires avec bavette, les bonnets, les tabliers imperméables, les gants stériles, les masques et lunettes, les champs opératoires stériles, les bottes imperméables. Les barrières doivent respecter les normes établies.

3-4- Le patient : (47)

La flore saprophyte du patient est pour beaucoup dans la survenue des infections nosocomiales. Le malade doit arriver au bloc vêtu d'une tenue à cet effet, il doit se laver avec un savon antiseptique. Toutes les tares, affections ou infections susceptibles d'entraîner une Infection de la plaie doivent être corrigées ou traitées auparavant. Il faut éviter les rasages la veille de l'intervention. Ils favorisent la survenue des infections ; préférer plutôt l'épilation. Toute intervention sur le tube digestif (programmée) doit être précédée d'une préparation de l'organe à l'intervention.

3-5- Le lavage des mains : (48)

Il est fait dans un lavabo chirurgical débitant de préférence de l'eau stérile avec un savon Antiseptique. Le lavage durera 3 à 5 minutes. Il doit comporter 4 temps :

1^{er} temps : Eau simple de la main jusqu'au coude.

2^e temps : Eau savonneuse de la main jusqu'au coude.

3^e temps : Brossage (ongles) puis l'eau savonneuse jusqu'à la moitié de l'avant-bras.

4^e temps : savonnage de la main au poignet suivi de rinçage.

Pendant chacun de ces temps l'eau doit couler de la main vers le coude.

Partie pratique

1-Objectifs de travail :

1-Recherche des germes pathogènes opportunistes du milieu hospitalier (service de la maternité et service de la médecine interne). Ces contaminations issues du milieu hospitalier sont appelées les infections nosocomiales.

2 -Isoler les germes responsables des infections nosocomiales.

3-Identifier et caractériser les germes isolés.

2-Lieu d'expérimentation :

Notre étude a été réalisée au niveau de la maternité et de la médecine interne du CHU d'Oran.

3-Matériels et méthodes :

3-1 Matériels :

Le matériel utilisé est celui de la microbiologie classique à savoir le bec benzène ; les pipettes pasteur ; les tubes à essai stériles ; les écouvillons ; les milieux de culture (gélose au sang) gélose nutritif ; pourpre de bromocrésol ; gélose Hektoen ; gélose Mueller Hinton ; bouillon nutritif ; les boîtes de Pétri ; eau distillée ; eau physiologique ; les Apis système ; seringues ; l'anse de platine ; pastilles d'antibiotiques ; autoclaves ; bains maries ; les étuves et le microscope optique.

3-2 méthodes :

3-2-1 Prélèvements :

Technique :

- Sortir l'écouvillon de son enveloppe.
- Appliquer ce dernier, par mouvement de rotation, sur le point à contrôler.
- Remettre l'écouvillon dans son enveloppe.
- Noter le point prélevé sur le tube.

*Au niveau de la Maternité :

- -01 : table nouveau née / 02-Drap / 03-main de infirmière / 04-Lit
- -05 : tenue de bloc /-06 : Chariot / -07 : sol de bloc d'accouchement
- -08 : poignet de la porte / -09 : Blouse de l'infirmier / -10 : Table d'accouchement.

*Au niveau de la médecine interne :

Suivie de 5 malades hospitalisés d'une durée qui dépasse une semaine

- Malade 01 ECB de pus.
- Malade 02 ECB de pus pied diabétique.
- Malade 03 ECB de pus abcès palmaire.
- Malade 04 ECB pus.
- Malade 05 ECB pus.

3-2-2- L'enrichissement :

Principe :

Enrichir, c'est augmenter la représentation (proportion) d'un sous-groupe de micro-organismes dans un ensemble plus vaste.

Technique :

Tromper les écouvillons dans les bouillons nutritifs qu'on incube à 37 °c/24h. (annexe1e)



Figure n°04 : Les cultures en milieu liquide (bouillon nutritif) après 24h d'incubation.

3-2-3- Isolement :

A partir des résultats positifs des différents enrichissements sur bouillon nutritif, on procède à l'aide d'une pipette pasteur en verre stries parallèles sur des boîtes de Pétri contenant les milieux de culture

3-2-4- Identification :

Elle débute par l'étude des aspects macroscopiques et microscopiques (examen direct à l'état frais et examen indirect par l'emploi des colorants).

3-2-4-1- Examen macroscopiques :

Après incubation, l'isolement permet l'observation à l'œil nu des colonies bien isolées dont l'aspect, les dimensions, le contour, l'opacité, et ainsi la saveur, sont autant de caractères précieux qui permettent une première approche de l'identification

La forme, la taille ; petite (de 1 à 2mm), moyenne (de 2mm à 5mm), grande (plus que 5mm)
 Ponctiforme (inférieur à 1mm, ne peut se voir qu'avec une loupe), Le relief ; bombée, plate, concentrique (elle est ni plate ni bombée, elle a un point au centre), ombilicée (très rare, une colonie qui apparaît plate mais elle a des bordures surélevées) L'aspect ; l'étude de la surface de la colonie qui peut être :

- Lisse S (smooth) : elle est ronde avec des bordures régulières, elle a une surface brillante, ce sont des bactéries pathogènes.
- Rigoureuse R (Rough) : elle a des bordures irrégulières, opaque (la colonie n'est pas transparente, elle ne laisse pas traverser la lumière)
- Irisant : elle reflète des reflets métalliques (elle est rare)

La nature de la crème bactérienne ; crémeuse, visqueuse, (brillante), filamenteuses (sous forme de filaments) .La couleur ; elle peut prendre toutes les couleurs imaginables : beige, verte, blanche, jaune

Le pigment peut être diffusable : le pigment colore la colonie et le milieu de culture, ou non diffusable : le pigment colore seulement la colonie.

3-2-4-2- Examen microscopique

A- A l'état frais

Le but de l'examen à l'état frais consiste à l'observation microscopique des bactéries vivantes. Cette méthode permet de mettre en évidence :

- L'existence ou pas de germes.
- La morphologie des bactéries qui l'une des principales étapes de l'identification bactérienne.
- La mobilité : une bactérie mobile doit se déplacer dans le champ microscopique avec un mouvement qui lui est propre. Cette mobilité ne doit pas être confondue ni avec le mouvement BROWNIEN ni avec le mouvement SINUSOIDAL.
- Le mode d'assemblage c'est-à-dire comment elles sont disposées ; libre ou liées

Il est également possible d'apprécier la quantité approximative des bactéries par champ microscopique et en déduire les paramètres observés. Ce renseignement peut être

important, en particulier lorsqu'un isolement doit être effectué à partir du produit examiné.

Technique :

On prépare avant tout une lame stérilisée on met au-dessus une goutte d'eau physiologique à l'aide d'une pipette, on prend une anse flambée, on prélève des bactéries qu'on étale sur la lame, on recouvre avec une lamelle stérilisée, le liquide ne doit pas déborder. Après prélèvement on observe au microscope (grossissement $\times 1000$)

D'après les résultats qu'on a obtenus, on peut déduire que l'examen microscopique à l'état frais permet de mettre en évidence les caractéristiques des bactéries observées : La forme, la mobilité, le mode d'assemblage, et permet aussi l'identification et l'orientation bactérienne.

B -Les frottis

B-1 coloration de gram (annexe 2)

Principe :

La coloration de gram est la méthode de coloration la plus utilisée en bactériologie médicale ; elle permet de colorer les bactéries et de les distinguer à l'examen direct par leur aptitude à fixer le violet de gentiane (Gram +) ou la fuchsine (Gram -) l'intérêt de cette coloration nécessite tout d'abord la fixation de la bactérie sur une lame

- -Étalement : avec une anse de platine stérilisée à la flamme du bec, étaler en un film mince et régulier une goutte de bouillon
- -stériliser l'anse de platine à la flamme du bec
- -séchage du frottis : laisser sécher la lame en la mettant dans l'air chaud de la veilleuse du bec bunsen

Technique :

• La coloration primaire :

- Recouvrir de violet de gentiane en versant le colorant en bout de lame et en faisant glisser le long de la lame. Laisser agir 30 secondes à une minute. Rincer à l'eau distillée pour éliminer l'excédent de colorant.
- La fixation au lugol : pencher la lame et éliminer le violet de gentiane en faisant couler sur la lame la solution de lugol. Laisser agir 30 secondes
- Rincer à l'eau distillée pour éliminer l'excédent de lugol.

- La décoloration à l'alcool : verser quelques gouttes d'alcool sur le frottis tenu verticalement jusqu'à ce que l'alcool s'écoule non teinté (environ 5 secondes) .Rincer avec un jet de pissette d'eau distiller .Nettoyer le dessous de la lame à l'alcool puis à l'eau.

La coloration secondaire :

- Recolorer par la fuchsine en versant le colorant en bout de lame et en le faisant glisser le long de la lame .Ne pas verser la fuchsine sur le frottis pour éviter une coloration trop intense. Laisser agir de 10 secondes à 20 secondes. Rincer avec un jet de pissette d'eau distillée Laisser sécher.
- Observer avec une goutte d'huile à immersion objectif (grossissement $\times 100$).

3-2-4-3 Tests Biochimiques :

A-Métabolisme glucidique

A-1 Test sur milieu TSI (annexe1) :

TSI (Triple Sugar Iron.) permet l'identification des entérobactéries par la mise en évidence rapide de la fermentation du lactose, du glucose (avec ou sans production de gaz), du saccharose et de la production de sulfure d'hydrogéné.

Principe :

- Les fermentations sucrées se traduisent par une acidification qui fait virer au jaune le rouge de phénol (indicateur PH).
- Pour faciliter la détection des germes qui fermentent uniquement le glucose, la concentration de ce sucre a été abaissée au $\frac{1}{10}$ ème de celle du lactose ou du saccharose, de telle façon que la faible quantité d'acide produite sur la pente pendant la fermentation s'oxyde rapidement, ce qui entraîne un retour rapide à la coloration rouge ou bien à une réalcalinisation plus prononcée. Par contre, la réaction acide (couleur jaune) est maintenue en profondeur dans le culot du tube.
- Les germes qui fermentent le lactose ou le saccharose font virer au jaune la pente du tube.
- Les microorganismes ne fermentent aucun des trois sucres ne modifient pas la couleur du milieu.
 - o La production de sulfure d'hydrogène se manifeste dans le culot par l'apparition d'une coloration noire de sulfure de fer qui est due à la réduction du thiosulfate en présence de citrate ferrique.

- La production de gaz (hydrogène, dioxyde de Carbone) résultant des fermentations sucrées se traduit ou bien par l'apparition de bulles ou bien par la fragmentation de la gélose.

Technique :

En partant d'une colonie, inoculer le culot en piquant avec un fil droit au centre puis inoculer la pente en effectuant une strie sinueuse. Incuber à 37°C jusqu'au lendemain.

Lecture :

L'utilisation de l'un des sucres contenue dans le milieu se traduit par une acidification (virage au jaune du rouge de phénol). Une alcalinisation se révèle par une coloration rouge foncé. La production de sulfure d'hydrogène à partir du thiosulfate est mise en évidence par la formation d'une coloration noire. TSI fournit quatre renseignements principaux :

- Fermentation du glucose : culot rouge : lactose et saccharose non fermentés.
- Pente inclinée jaune : lactose et / ou saccharose fermenté (s).
- Production du gaz : apparition de gaz dans le culot.
- Formation d' H₂S : formation d'une coloration noire entre le culot et la pente ou le long de la pique.

B- Mise en évidence de la production d'INDOLE :

B-1-Test sur Urée-Indole (UI) (annexe 1k)

Principe :

Milieu liquide, dénommé aussi milieu de Ferguson, destiné au diagnostic rapide des entérobactéries permettant la recherche de l'uréase, de l'indole. L'indole est le produit de l'hydrolyse du tryptophane par une enzyme, le tryptophane. Il est mis en évidence grâce à la coloration rouge caractéristique qu'il donne avec le réactif de Kovacs.

Technique :

Ensemencer abondamment un milieu urée-indole avec quelques colonies de la souche à étudier, Incuber 24 heures à 37°C.

Lecture :

Après l'incubation: sur le milieu restant, ajouter 3 gouttes de réactif de Kovacs,

-**Apparition** anneau rouge : présence d'indole issu de la dégradation du Trp par le tryptophane ; souche indole +

- Absence d'anneau rouge : absence d'indole issu de la dégradation du Trp par le tryptophane ; souche indole –

C-Métabolisme des enzymes respiratoires :

C-1-Recherche de catalase (annexe1a) :

Principe :

Démontrer la présence de l'enzyme catalase.

Technique :

A l'aide d'une anse de platine, transférer à partir d'une gélose au sang, une partie d'une colonie si les colonies sont moyennes et plus d'une colonie si les colonies sont petite (sans gélose au sang contient de la catalase et donne une réaction positive), sur une lame de verre propre ; ajouter une goutte de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂ . 30%) sur la colonie placée sur lame.

Lecture :

- Réaction positive : effervescence (bulles de gaz) immédiate dans le peroxyde.
- Réaction négative : absence d'effervescence dans le peroxyde.

C-2- Recherche d'oxydase :

Principe :

Ce test permet de déterminer si un microorganisme possède le système enzymatique (cytochrome c) lui permettant d'utiliser l'oxygène libre (O₂) comme accepteur final d'électron dans la chaîne respiratoire.

Technique :

Dégager le carré de carton imprégné du réactif de son emballage (papier en aluminium) ; A partir d'une colonie, à l'aide d'un bâtonnet en bois, transférer par rotation l'inoculum sur un coin d'un des quadrants (quatre test par quadrant). Attendre 20 secondes avant de déterminer s'il y a ou non changement de couleur. Toute réaction après 20 secondes ne doit pas être considérée.

Lecture :

- Réaction positive : couleur pourpre
- Réaction négative : pas de couleur pourpre

3-2-4-4- API système d'identification :

A-Système d'identification des Staphylocoques (API staph) :

Principe :

Api Staph comporte 20 micros tubes contenant des substrats déshydratés. Les micros tubes sont inoculés avec une suspension bactérienne réalisée en Api staph Médium qui reconstitue les tests.

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages coloré spontanés ou révéler par l'addition de réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du tableau d'identification.

B-Système d'identification des entérobactéries (API 20 E) :

Principe :

- Api 20E comporte 20 micros tubes contenant des substrats déshydratés. Les micros tubes sont inoculés avec une suspension bactérienne réalisée en Api 20E Médium qui reconstitue les tests.
- Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages coloré spontanés ou révéler par l'addition de réactifs.
- La lecture de cette réaction se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du tableau d'identification.

C-Système d'identification des bacilles a gram négatif (API 20 NE) :

Principe :

Api 20 NE comporte 20 micros tubes contenant des substrats déshydratés. Les micros tubes sont inoculés avec une suspension bactérienne réalisée en Api 20 NE Médium qui reconstitue les tests.

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages coloré spontanés ou révéler par l'addition de réactifs.

La lecture de cette réaction se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du tableau d'identification.

3-3-L'antibiogramme :

Principe :

Pour réaliser l'antibiogramme par la méthode des disques, la culture bactérienne estensemencée à la surface d'une gélose spécialement étudiée, la gélose de Mueller-Hinton, éventuellement additionnée de sang. Des disques pré-imprégnés d'une dose connue d'antibiotique sont déposés à la surface de la gélose. L'antibiotique diffuse à partir du disque en créant un gradient de concentration. La détermination du diamètre de la zone d'inhibition permet une estimation de la concentration minimale inhibitrice. Les caractères de sensibilité ou de résistance de la souche bactérienne en seront déduits.

Quelque définitions :

Deux notions sont à connaître avant de faire un antibiogramme :

- La CMI ou Concentration Minimale Inhibitrice. Il s'agit de la concentration de l'antibiotique la plus faible pour laquelle la croissance bactérienne est inhibée (pas de croissance de la population ; 100% de survivants)
- La CMB ou Concentration Minimale Bactéricide. C'est la concentration de l'antibiotique la plus faible permettant de détruire 99.99% des bactéries présentes au départ (soit une bactérie survivante sur 10000). Si $CMB < 5 CMI$ l'antibiotique est très efficace. Au contraire si $CMB > 10 CMI$, on le considère peu efficace.

Technique :

En pratique, on réalise à partir de l'isolement (souche pure) un ensemencement en tapis sur le milieu. On dispose ensuite les disques d'antibiotiques et on place à l'incubateur. Au bout de 24 h, on lit les différents diamètres d'inhibition et on peut conclure en comparant ceux-ci aux abaques de lecture.

Lecture :

La mesure de la CMI permet de déterminer si une souche est sensible ou résistante à l'antibiotique testé. Pour chaque antibiotique, on a pu mesurer les concentrations sériques obtenues chez le patient (humain) dans le cadre d'une posologie normale. On distingue alors :

- la souche est dite résistante : la *CMI* ne peut être atteinte par un traitement réalisé à l'aide de cet antibiotique sans être toxique pour l'animal.
- la souche est dite sensible : la *CMI* peut être atteinte par un traitement usuel réalisé à l'aide de cet antibiotique.
- La souche est dite intermédiaire : la *CMI* ne peut être atteinte qu'en augmentant les doses.

4-Résultats et discussion :

4-1- Observations macroscopiques :

4-1-1-Au niveau de la maternité :

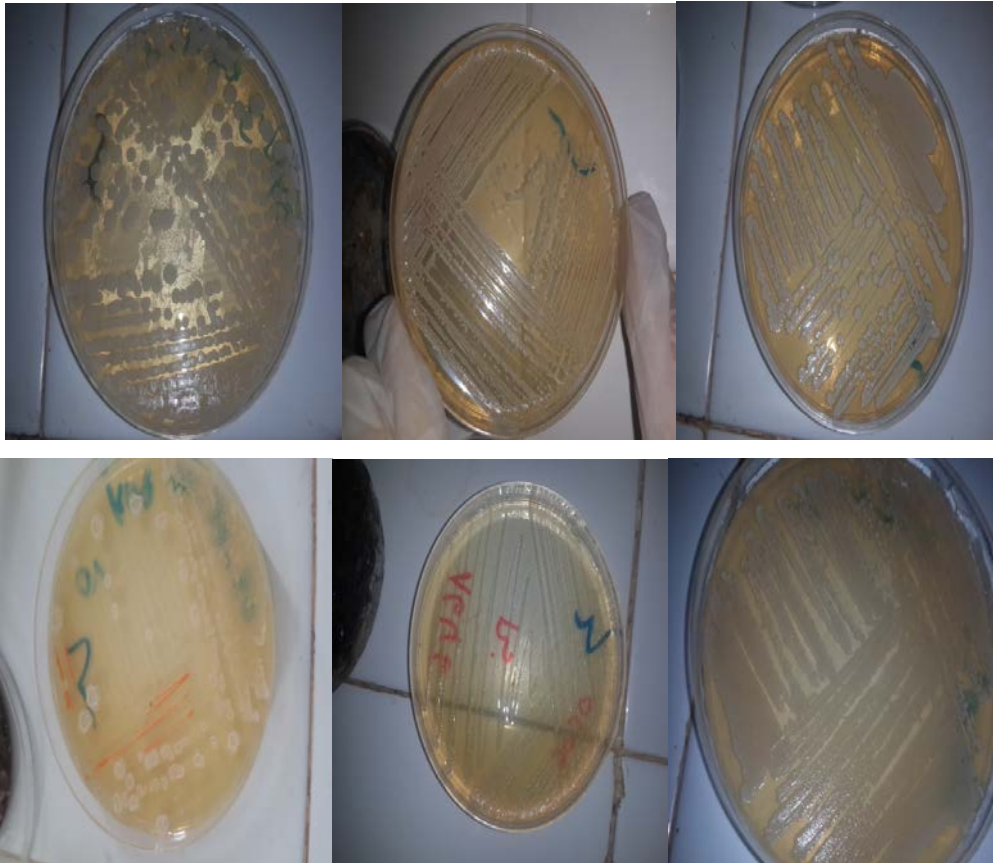


Figure N°05 : Aspect des colonies après isolement sur GN à partir de service de la maternité après 24h.

Observation :

La culture positive donc la présence des germes.

Colonies blanches et beiges crémeuses et sèches, lisses de différente taille (grande, moyenne, petite).

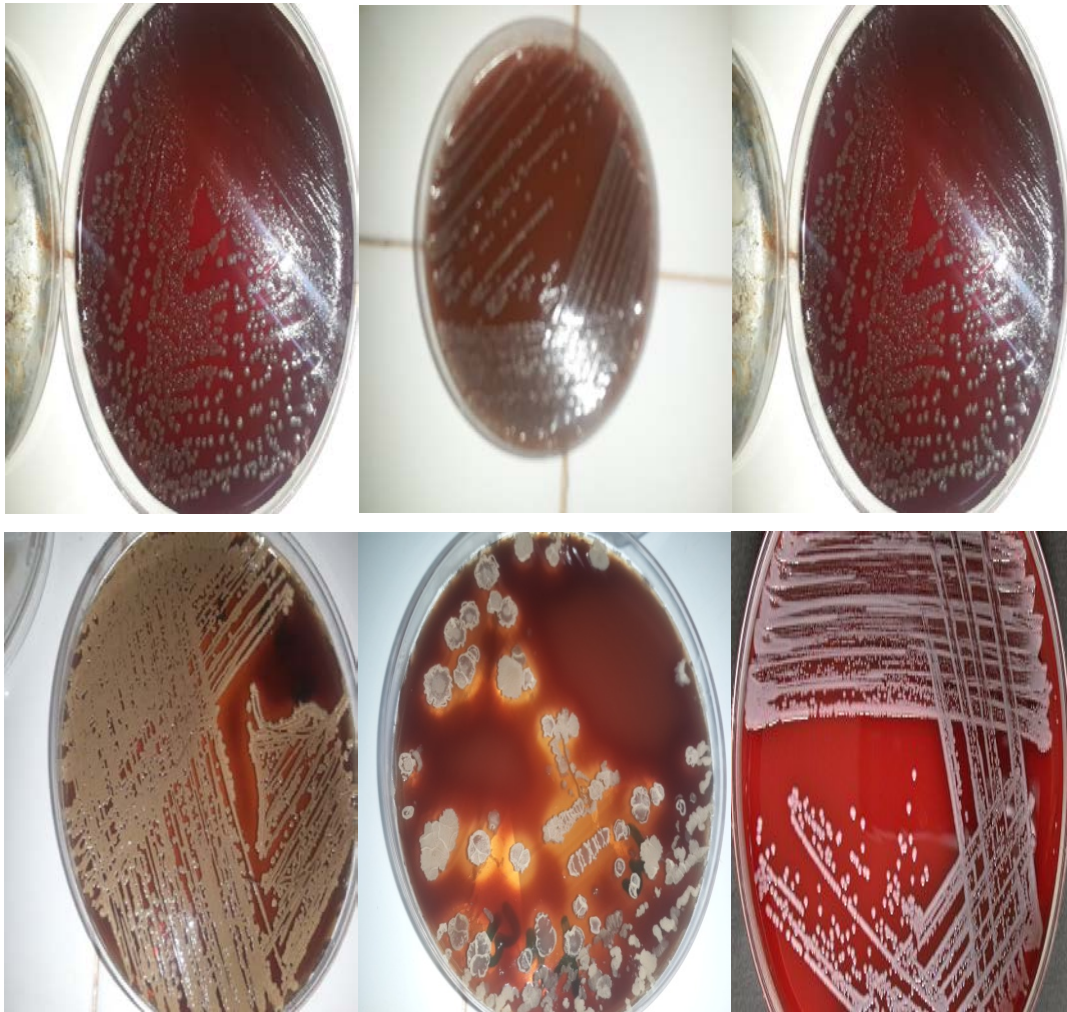


Figure N°06 : Aspect de colonie après isolement sur GS à partir des prélèvements au niveau de services de la maternité.

Observation

Présence de colonies grise et beige de différentes formes (ronde et en étoile) de différentes taille grande, petite et moyenne.

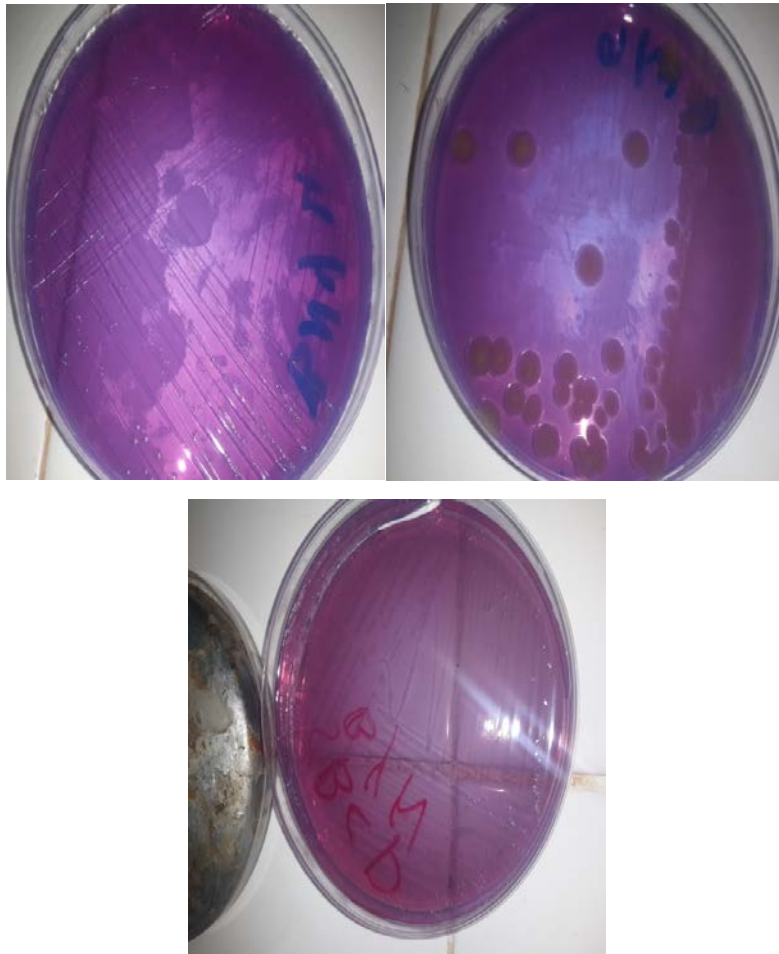


Figure N°07: Aspect des colonies après isolement sur BCP à partir des prélèvements au niveau de service de la maternité après 24h.

Observation

On observe des colonies sous forme de gel en raison de présence de germe *Klebsiella* (Identifié dans le system API 20^E).

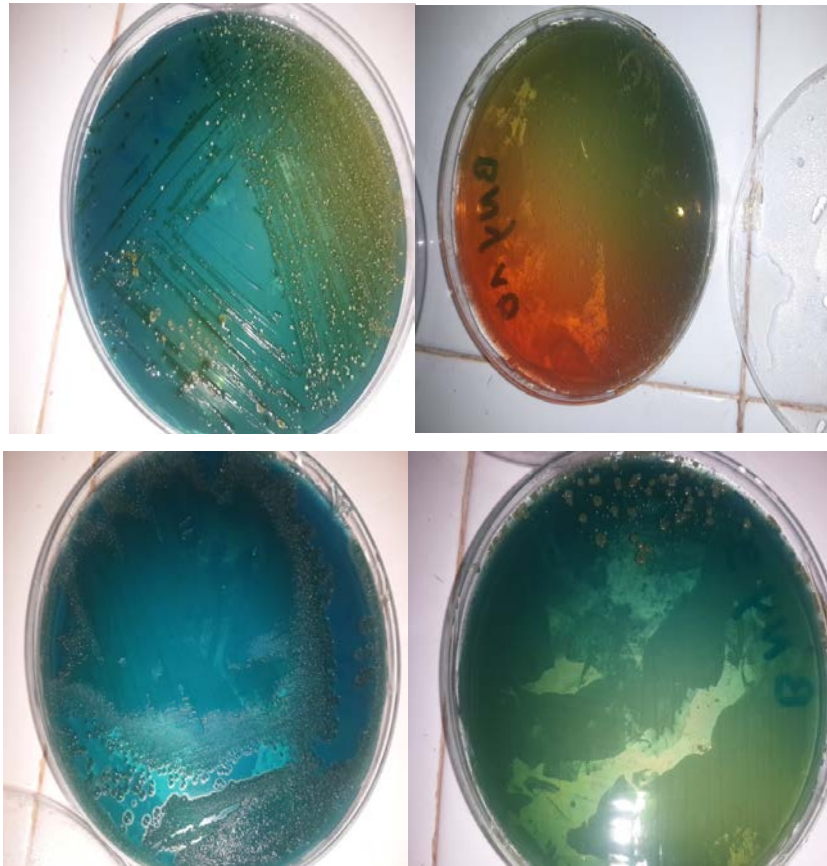


Figure N°08: aspect de colonie après isolement sur Hektoen à partir des prélèvements au niveau de services de la maternité.

Observation

Présence de colonies vertes et blanches rondes de différentes tailles grandes, petites et moyennes Et virage de couleur du milieu ver l'orange.

4-1-2- Au niveau du service de la médecine interne :



Figure N°09: Aspect de colonie après isolement sur GS, BCP, Hektoen à partir des prélèvements au niveau de services de médecine interne.

Observation

Culture positive : présence de plusieurs colonies de différente couleur (verte, bige, transparente).

4-2-Observation microscopique :

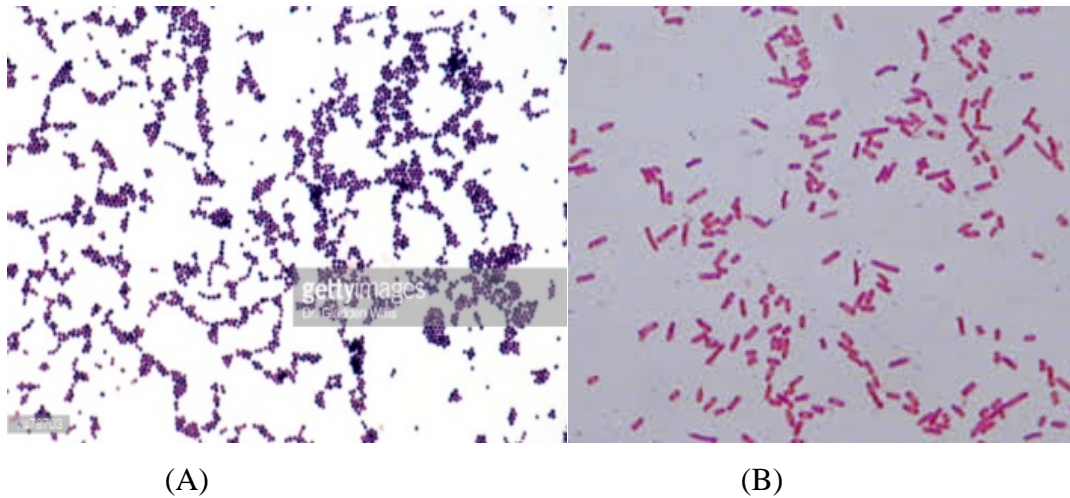


Figure N°10 : L'observation microscopique des colonies avec la coloration de gram (1000X) à l'aide d'huile de vaseline (A correspond le prélèvement (07) et B correspond le prélèvement (M 03).

4-3-Identification :

Tableau n°03 : les caractères du prélèvement 07.

Coloration de gram	Catalase	oxydase	Dans
Cocci gram +	+	-	+

A partir de ces donnée et à l'aide de technique d'identification par la galerie API STAPH confirmant qu'ils s'agissent : *staphylococcus aureus*.

Les résultats de la galerie confirme qu'il s'agit de



Figure N°11 : Galerie API STAPH identifiants *staphylococcus aureus*.



Figure N°12 : Les résultats de tests TSI à partir des prélèvements au niveau de service de la maternité.

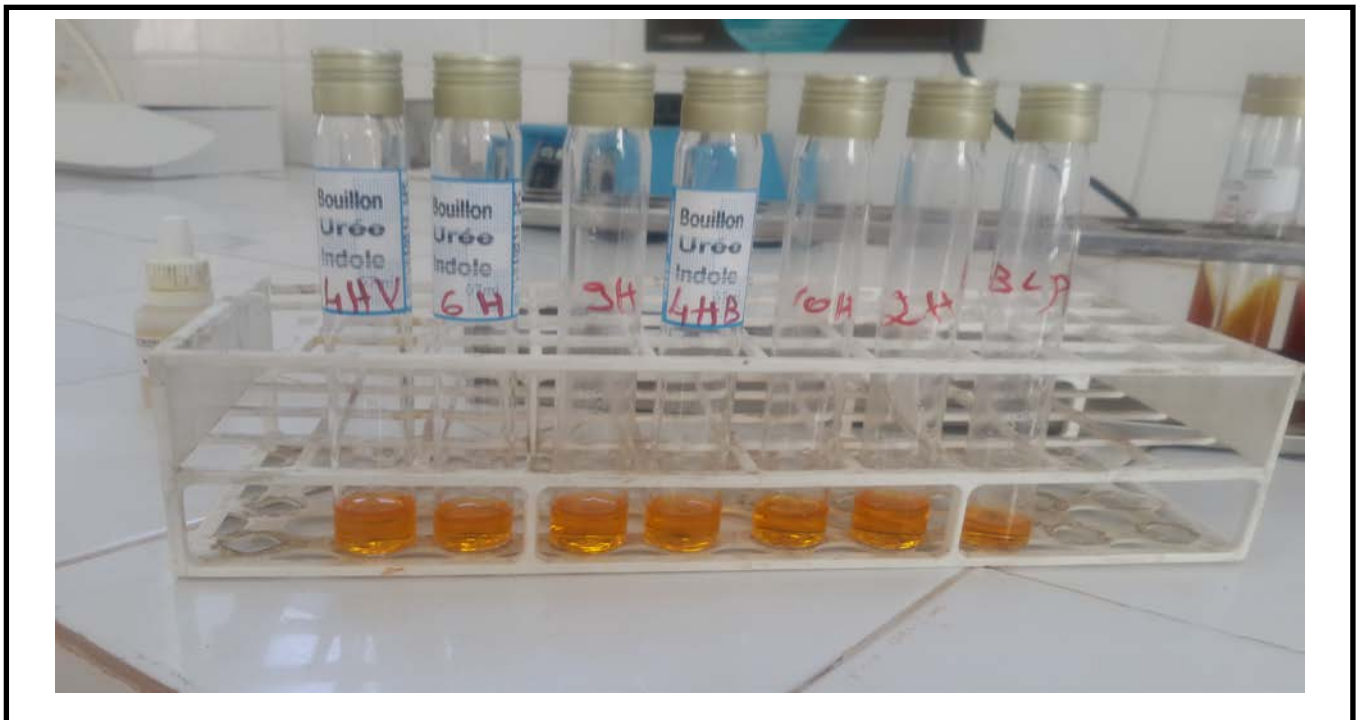


Figure N°13: Les résultats de tests urée indole à partir des prélèvements au niveau de service de la maternité après 24h d'incubation et l'ajout du kovacs.



Figure N°14 : Le changement de couleur correspond le germe *Pseudomonas aeruginosa* selon le catalogue API 20 NE (prélèvement M 01 au niveau de service de médecine interne).



Figure N°15 : Le changement de couleur correspond le germe *Serratia spp* selon le catalogue API 20 E (prélèvement M 02 au niveau de service de médecine interne).

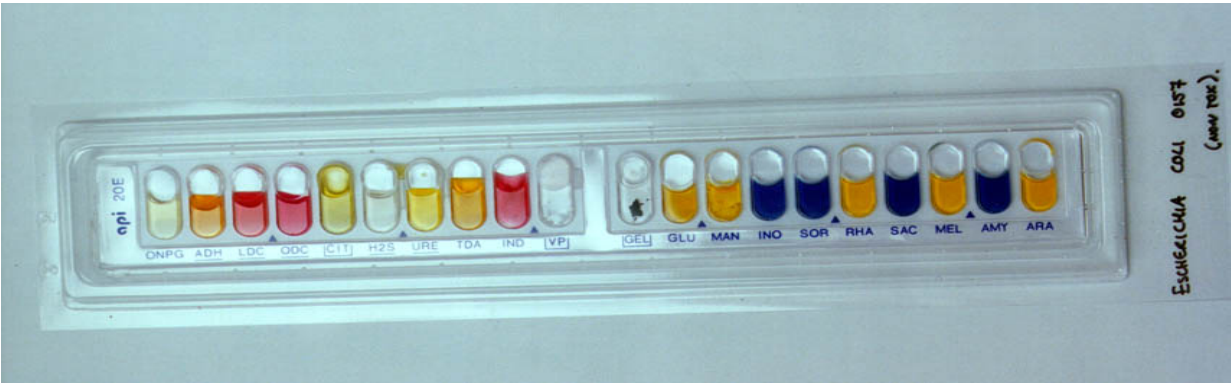


Figure n°16 : Le changement de couleur correspond le germe *Escherichia coli* selon le catalogue API 20 E (prélèvement 9 au niveau de service de la maternité).



Figure n°17 : Le changement de couleur correspond le germe *klebsiella pneumoniae* selon le catalogue API 20 E (prélèvement 2 au niveau de service de la maternité)

NB : La détermination des espèces a été réalisée à l'aide de la galerie biochimique d'identification API STAPH, API 20 E, API 20 NE.

Les germes identifiés sont regroupé dans le tableau suivant :

Tableau N°04 : Récapitulatif des espèces bactériennes isolées au niveau du service : maternité et médecine interne

Les services	Les sites du prélèvement	Les bactéries identifiées
Service de la maternité	Tube 1 : table de nouveau née	- <i>Bacillus</i> - <i>E. coli</i>
	Tube 2 : Drap	- <i>Klebsiella pneumoniae</i>
	Tube 3 : main de l'infirmière	- <i>staphylococcus aureus</i>
	Tube 4 : Lit	- <i>staphylococcus sp</i>
	Tube 5 : Tenue de bloc	<i>Serratia sp</i>
	Tube 6 : chariot	- <i>Escherichia coli</i> - <i>staphylococcus aureus</i>
	Tube 7 : sol de bloc d'accouchement	<i>staphylococcus aureus</i>

	Tube 8 : poignet de la porte	<i>E. coli</i>
	Tube 9 : Blouse de l'infirmier	- <i>Escherichia coli</i> - <i>Alcaligense Sp</i>
	Tube 10 : Table d'accouchement (bloc opératoire)	<i>Serratia rubideae</i> <i>staphylococcus aureus</i>
Service de médecine interne	Tube 11 : M 01 ECB de pus	- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	Tube 12 : M 02 ECB de pus pied diabétique	- <i>Pseudomonas aeruginosa</i> - <i>Serratia spp</i>
	Tube 13 : M 03 ECB de pus abcès palmaire	- <i>Proteus mirabilis</i> - <i>Acinetobacter baumannii</i>
	Tube 14 : M 04 ECB pus	- <i>Staphylococcus aureus</i>
	Tube 15 : M 05 ECB pus	- <i>Klebsiella pneumoniae</i>

4-4-L 'antibiogramme :

Prélèvement M03 : *Acinetobacter baumannii*



Figure N°18 : l'antibiogramme d'*acinetobacter baumannii*

Tableau n°05 : montre l'effet de certains antibiotiques sur *acinetobacter baumannii*

L'antibiotique	La sensibilité (diamètre de la zone d'inhibition)
Amikacine	14 ---- Résistante
Gentamicine	<6 ----Résistante
Colistine	13----- Sensible
Ceftazidime	<6-----Résistante
Tobramycine	15-----sensible
Doxycycline	18----sensible

Prélèvement N 03 Mains de l'infirmier (*staphylococcus aureus*)



Tableau N°06 : L'effet de certains antibiotiques sur *staphylococcus aureus*.

L'antibiotique	La sensibilité (diamètre)
Pénicilline G	<28 -----sensible
Céfoxitine	<16-----sensible
Péfloxacine	< 16 -----résistante
Tétracycline	<19-----sensible
Oxacilline	< 20-----résistante

Prélèvement N 01 : Table de nouveau-né (*E. coli*) :



Figure N°19 : l'antibiogramme d'*E. coli*

Tableau N°07 : montre l'effet de certains antibiotiques sur *E. coli*.

L'antibiotique	La sensibilité (diamètre)
Amoxicilline	15-----résistante
Colistine	20-----sensible
Spiramycine	6-----résistante
Gentamicine	14-----sensible
Tétracycline	5-----résistante

Discussion général

Globalement ; à l'issue de cette expérimentation, les microorganismes pouvant être à l'origine d'infections nosocomiales rencontrés dans les services de maternité et médecine interne sont principalement représentés par les *Staphylococcus sp* et *E. coli* et degrés moindre par *Serrattia*, *Klebsiella*, *bacillus*. Et les *Pseudomonas*.

Les espèces dominantes de notre étude appartiennent au genre *staphylococcus sp*. Les *Staphylococcus sp* notamment *Staphylococcus aureus* est l'espèce la plus fréquemment rencontré au niveau de différents services .elle fait partie des espèces dominantes dans les infections nosocomiales à côté de *Escherichia coli*, *klebsiella*, *Alcaligence*, *Bacillus*, et les *Psceudomonas*.

Les contaminations causées par différentes espèces microbiennes ont concerné presque totalement la majorité des sites de prélèvements et ont été observées aussi bien chez les patients que les différents matériels et instrument analysés.

Les conséquences des infections nosocomiales sont nombreuses ; à côté de la mortalité et la morbidité, on distingue une augmentation de la durée de séjour hospitalier, un surcout et une sélection des germes multi résistants ; C'est la raison pour laquelle un certain nombre de recommandations à titre de prévention doivent être présent en considération et dont on les résume comme suit :

- Il faut insister sur la formation et l'éducation du personnel socio-sanitaire dans le respect strict des règles d'hygiène et de fonctionnement des services.
- A l'hôpital, les circuits propres et sales doivent être clairement individualisés et distincts.
- Les déchets d'activité de soins à risque infectieux sont éliminés dans récipients spéciaux et suivent une filière spécifique de ramassage et de transport visant à une incinération ou à un enfouissement.

Conclusion

Initialement, Les infections nosocomiales étaient dues à des problèmes d'asepsie et d'antisepsie.

Une infection nosocomiale fait partie des infections associées aux soins, contractée au cours ou au décours d'une hospitalisation. Elle est donc absente au moment de l'admission du patient dans l'établissement et se déclare au minimum 48 heures après l'admission.

Le malade s'infecte avec ses propres germes à la faveur d'un acte invasif (porte d'entrée) et/ou en raison d'une fragilité particulière.

Pour prévenir les infections nosocomiales chez les patients, il est indispensable d'observer les " bonnes " pratiques d'hygiène : lavage des mains, utilisation d'un antiseptique moussant puis d'un antiseptique dermique pour la réfection d'un pansement, désinfection du matériel (endoscope), hygiène et entretien de l'environnement (sol).

ANNEXE 1

(La composition des milieux de cultures en g/L d'eau distillée)

a-catalase :

Réactif pour mise en évidence.

(MOSSEL ; DET Netten. V .P ; 1990)

Eau oxygénée 10 volumes.

b-Fuchsine de Ziehl :

(GUIRAUD. J. P. 1998)

Fuchsine basique	1g
Alcool éthylique à 90°C.....	10ml
Phénol.....	5g
Eau distillée	100ml

c-Lugol :

(biométrieux ; 1997).

Iode.....	1g
Iodure de potassium.....	2g
Eau distillée.....	300ml

Ce réactif peut être préparé à double concentration.

d-Violet de gentiane :

(Bugnicourt .M ; 1995).

Violet de gentiane	1g
Ethanol à 90°C.....	10ml
Phénol.....	5g
Eau distillée.....	100ml

e-Bouillon nutritif :

Nutrientbroth(Guiraud ; 1998).

Peptone.....	10g
Extrait de viande	5g
Chlorure de sodium.....	5g
Extrait de levure	2.5g

Autoclave 20 minutes à 120°C

Annexe

F-Gélose nutritif ordinaire :

Nutrient agar (Sturma. J; 1986).

Peptone.....	10g
Extrait de viande	5g
Chlorure de sodium.....	5g
Extrait de levure	2.5g
Agar	18g

Ph 7

Autoclave 20 minutes à 120°C.

G-Gélose B.C.P:

Extrait de viande de bœuf	3g
Bio-polytone.....	5g
Lactose.....	10g
Agar.....	10g
Bromocrésol pourpre.....	25mg

Ph 7

Principe : La gélose BCP est employée pour l'isolement des coliformes .Ces derniers en fermentant le lactose, provoquant le virage de l'indicateur.

h-Gélose au sang :

Milieu de base

Culture des pneumocoques, Streptocoques et germes exigeants.

Bio-trypcase.....	16.5g
Bio-thione.....	3g
Nacl.....	5g
Agar.....	11.9g

Principe :

Le milieu de base pour gélose au sang convient très bien à la culture des germes exigeants. Il peut être utilisé pour la mise en évidence des germes hémolytiques.

Annexe

i-Gélose Hektoen

Peptone.....	12g
Extrait de levure.....	3g
Nacl.....	5g
Sels biliaries.....	9g
Thiosulfate de sodium.....	5g
Citrate de fer ammoniacal	1,5g
Lactose.....	12g
Salicine.....	2g
Saccharose.....	12g
BBT.....	0.002g
Fuchsine acide.....	0.1g
Agar.....	14g

Principe :

La gélose Hektoen est un milieu sélectif pour les germes à gram négatif

J-TSI :

Triple Sugar Iron.: identifications de l'entérobactérie.

Bio-polyton.....	20g
Chlorure de sodium.....	5g
Lactose.....	10g
Saccharose	10g
Glucose.....	1g
Citrate de fer ammoniacal.....	0,2g
Thiosulfate de sodium.....	0,2g
Rouge de phenol.....	0.025g
Agar.....	13g

Principe :

Pour l'identification rapide des entérobactéries, ce milieu permet de mettre en évidence l'attaque du glucose, du lactose, du saccharose, et la production d'H₂S.

Annexe

K- Milieu Urée- indole (UI) :

Tryptophane.....	3g
Urée.....	20g
KH ₂ PO ₄	1g
Nacl.....	5g
Alcool à 95°c.....	10ml
Rouge de phénol.....	2,5ml

Annexe 2

Coloration de gram :

Carbonnelle et Kouyoumdjian

Elle se déroule en plusieurs étapes qui se succèdent et consistent :

- Fixer le frottis.
- Couvrir le frottis de la solution de violet de Gentiane. Laisser agir 1 minute.
- Rejeter le colorant. Laver à l'eau.
- Recouvrir la préparation de Lugol. Laisser agir 1 minute.
- Rejeter le Lugol. Laver à l'eau.
- Décolorer à l'alcool 95°C. La durée de décoloration doit être adaptée à l'épaisseur du frottis. Plus il est épais ; plus il a fixé le colorant au cours des deux premières étapes. L'action de l'alcool devra être plus longue dans cette éventualité que lorsque l'on traite un frottis.
- Rincer à l'eau courante et recouvrir la lame de la solution fuscine diluée ou de safranine. Laisser agir quelques secondes.
- Rejeter la fuchsine ou la safranine. Laver abondamment, égoutter, sécher entre deux feuilles de buvard très propres.

Résultats :

Un Gram bien fait doit montrer des bactéries Gram positif bien colorées en violet, et des bactéries Gram négatif franchement colorées en rose. Si des éléments cellulaires (polynucléaires ; cellules diverses) sont présents sur le frottis, on considère que la coloration est réussie quand les noyaux des cellules sont colorés en violet.

Annexe 3

Les règlements pour les visiteurs :

- ✓ Les personnes qui présentent une maladie des voies ou tout autre signe de maladies transmissibles ne devraient pas visiter des malades hospitalisés.
- ✓ L'âge minimum des enfants autorisés à rendre la visite à un malade est fixé 10-12ans par fois 15ans.
- ✓ Les visiteurs ne peuvent pas apporter d'aliments au malade, sauf lorsqu'ils ne sont pas autorisés à s'asseoir sur le lit.
- ✓ Les visiteurs (pas plus de 2 ou 3 par malade) ne peuvent pas interférer avec les activités du personnel hospitalier.

Références bibliographiques

- 1- Elizabeth.F, 2002. CDC definition for nosocomial infections, 1988 Am.J. Infect control. 1988; 16:128-40.
- 2- Guide technique à l'usage des professionnels de santé pour la prescription et la mise en place de l'isolement à l'hôpital CHU de saint Etienne laboratoire ASTA médica 2000.
- 3- Comité des ministres du conseil de l'Europe (25 octobre 1984).
- 4- Pécher J.C, 1973 .Les infections. Edise mln. C .254 Pages.
- 5- REANIS(Ed) Guide pour la prévention des infections nosocomiales, In :REANIS (Ed)Guide pour la prévention des infections .
- 6- Hugues G , Nicolez L, 1987. Les soins infirmiers, Les maladies infectieuses. Edition Foucher, Paris.140 Pages.
- 7- Vincent A. Saint G.1, Laprugne G, 2008. Infection associées aux soins (définition, fréquence et facteurs de risque).
- 8- Managing Hospital infection control for cost-Effectiveness A.H.A ed_Chicago R.wHaley (1986)
- 9- Bleichner G, Beaucaire G, 1994. Infections liés aux catheters veineux centraux en réanimations. Réan URG ; 3:331-330.4
- 10- LEHEURT.M, GOMILA. H, GIROT.S, RAFAOUI M.J ; 1995.Hygiène, édition Masson, Paris, PP :39-50.
- 11- Donnio . p.y ; Le deaut. P ; Shuttler C et Avril. J.L ; 1987.
- 12- Thompson et al, 1998. Infections nosocomiales bactériennes, fongique et parasitaires. In : hygiène hospitalière, presses université Lyon, p 441-450.
- 13- Pilet C.H,Bourdon J .L,Marchal N ,1972. Le laboratoire de bactériologie, Dion éditeurs, 8, Place de l'odéon, Paris 6°.
- 14- Lawlor MS, Hsu J, Rick PD,and Miller VL :Identification of *Klebsiella Pneumoniae* virulence determinants using an intranasal infection model Mol Microbial 2005,58:1054-1073.
- 15- Victoria Cano et al; Klebsiella pneumonia triggers a cytotoxic effect on airway epithelial cells; BMC microbiology 2009, 9:156doi:10.1186/1471-2180-9-156; on line : 2009/08/03.
- 16- Jean C, Laude G, 1998. Echantillons Biologiques, Phase pré analytique et prélèvement en biologie médicale. Editions scientifiques Elsevier (ISSN0926-9517, ISBN2-84299,0609.
- 17- Forcopi A, Michel M.S, 1985.Antibiothèque, association pour la formation continue en pathologie infectieuse.
- 18- Yala D, Merad A.S, Mohamedi D, Ouar KOrich M.N, 2001. Résistance bactérienne azux antibiotiques, médecine du Maghreb N91/2001.
- 19- Eyguem A, Alouf J, Montagnier L, 2000. Microbiologie clinique, Italie. ISBN : 88-299-1545-9.

- 20- Nérome S, Pomomeni P, Bouisson V, 2001. Hygiènes et soins infirmiers aux personnes atteintes de maladies infectieuses et aux personnes atteintes par le VIH dépôt Légal .
- 21- Fasquelle R, 1968. Bactériologie médicale.19-28, 71-75, 138-146.
- 22- Dossier « Bactéries multi résistantes », soins n°620-novembre 1997 (p5-p30).
- 23- Tomaz A : Multiple-Antibiotic-resistant bacteria. N.Eng. J.Med, (1994) ; 330 : 12471251 Excellente revue sur les problèmes présents et futurs liés à la résistance aux antibiotiques.
- 24- Leroy O, 1998. Peumonies nosocomiales. Lettre infect ; 6 :254-261.
- 25- Enquête Nationale de prévalence des infections nosocomiales 1996. Bull Epidémie Hebd 1997 ;36 ;161-163.
- 26- Paul S, 2004. Bactériologie pour ma médecine, la biologie et la biotechnologie. 6ème édition.4
- 27- Eberlin T, 1997. Les infections microbiennes. Tome I agent infectieux, édition Nathan 9. Rue Mechain. 75014 Paris .ISBN 2-09-190461-9.
- 28- Petit D, 1998. Bactériémies nosocomiales. In : les infections nosocomiales et leur prévention. Paris :Ellipses.
- 29- Vien J, Siota F, 1975. Hospitalisme microbien et littérature scientifique. Nouvelle presse médicale H.N°86 p 2603-20-605.
- 30- Laufman H, 1978. The control of operating 100m infection. Bull New York. Acad.Med P:465-483.
- 31- Benslimai A.2008. Infections nosocomiales, Faculté de médecine d'Alger, première post-graduation.
- 32- [PDF]S.Mans, Dr S.Canouet, « Pseudomonas aeruginosa :Une histoire d'eau »,sur www.cclin-sudouest.com, centre de coordination de la lutte contre les infections nosocomiales sud-ouest, 27 mars 2008.
- 33- Perlemuter L, Quevauville J, Ama B, Aubere I, 1995 : hygiène nouveaux catheters de l'infermière. 5ème édition P :7-23.
- 34- Brunner S, 1979 . Traités des soins infirmières en médecine chirurgie, édition du renouveau pédagogique E.C. 2603.
- 35- Aimco R, Pifferni S. Effectiveness of antibiotic prophylaxis in critically ill adults patients: Systematic review of randomized controlled trials. Br. Med.j,316:1275-1285.
- 36- Kollef M.H, 1999. The prevention of ventilator-associated pneumonia. N Engl Med;340:267-634
- 37- Van D, 2004. Cas control study of risk factor of creutzfeldt jakob disease in Europe during 1993-1995. Lancet 2004;351:1081-1085.
- 38- Timsit J, Bruneel F, Cheval C, 1999 Use of tunneled femoral catheters to prevent catheter-related infection. ANN intern Med ;91 (Suppl.3B):655-715.
- 39- T.W.F. A/CT, 2003. Médecine sociale, médecine légale éthique et néonatalogies. Ellipses édition, Marketring. ISBN2-7298-1306-3.
- 40- Panlilo A, Beck-Sague C, Seigel J,1992. Infection and Pseudo-infection due to povidone-iodine solution contaminated with Pseudomonas cepacia. CLIN infect Dis 14-1078-1083.
- 41- Pilet Professeur de Microbiologie et d'immunologie, Directeur de l'Ecole nationale vétérinaire d'Alfort.(Livre de bactériologie médicale et vétérinaire) (ISBN 2-7040-0352-1/1979 by Dion Editeurs).
- 42- Asagneau P, 1998. Epidémiologie des infections nosocomiales ; la revue de praticien ; édition scientifique et médicale, Elsevier Paris. Tome 48 n°14 P : 1525-1529. A

- 43- Bosserary A, Micoud M. infections nosocomiales Encycl. Med chir. (éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS Paris), maladies infectieuses,8-001-f-10.
- 44- Patrick B, Jean L.G, Mickel S, 1989. Les bactéries des infections humaines Flammarion.France
- 45- Article rédigé par Julie. Mise en ligne le 26 décembre 2003 (travail de santé publique réalisé en 2003)Hygiène hospitalière et infections nosocomiales
- 46- Nicole L, 1999.Hématologies et soins infirmiers groupes liaisons.ISBN 2-85030-479-4. Edition Lamarrel, avenue Edouard-Belin 92500 Rueil-Malmaison.
- 47- Clin, 1999. Définition standardisée des infections nosocomiales.Paris-Noed-2ème édition.
- 48- Cook D.J, Laine L.E, Guyatt G.H, Raffin T.A, Nosocomial pneumonia and the role of gastric pH, a meta-analysis,chest. 1991;100:7-13.