CONTRIBUTION A L'ETUDE QUALITATIVE DE QUELQUES GROUPES DE BACTERIES ISOLEES DU BLOC OPERATOIRE DE L'ETABLISSEMENT PUBLIC MOHAMED BOUDIAF DE OUARGLA : PROFIL ET SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES

Mostefa MERAH
Laboratoire de Bioressources Sahariennes : Préservation et Valorisation
Université Kasdi Merbah-Ouargla, Ouargla 30000, Algérie
e-mail : mm.mostefa@yahoo.fr

RÉSUMÉ : Cette étude a été réalisée au niveau du bloc opératoire de l'Hôpital «**Mohamed Boudiaf de Ouargla**» dans un but d'étudier les différents types de bactéries nosocomiales isolées du bloc opératoire et d'évaluer le profil de leur sensibilité aux antibiotiques. Nous avons révélé l'existence d'une grande variété de bactéries nosocomiales non seulement dans les lieux septiques mais également dans les lieux aseptiques : Les *Staphylocoques* représentent la grande majorité des bactéries isolées du bloc opératoire (77%). Les *Entérobactéries* sont placées en deuxième position (12%). Enfin les *Pseudomonas* sont placées en troisième position représentent (11%). Toutes les souches à Gram+ isolées ont une résistance totale à la pénicilline et des résistances variables aux autres antibiotiques testés. Alors que la plupart des souches à Gram- présentent une résistance totale à l'amoxicilline et à la colistine et des résistances variables aux autres antibiotiques testés.

MOTS-CLÉS : Hôpital de Ouargla, bactéries nosocomiales, profil de sensibilité, bloc opératoire, antibiotiques.

الملخص : هذه الدراسة أنجزت بقسم العمليات الجراحية بمستشفى محمد بوضياف بورقلة و هي تهدف إلى دراسة الميكروبات المسببة للأمراض الإستشفائية والتي تم عزلها من قسم العمليات الجراحية بهذا المستشفى وتحديد مجال حساسيتها للمضادات الحيوية. لقد أثبتنا بهذه الدراسة وجود تنوع كبير من البكتيريا ليس على مستوى الأماكن الغير معقمة فحسب بل وفي الأماكن المعقمة أيضا. القسم الأكبر من البكتيريا التي تم عزلها ينتمي إلى عائلة *Staphylococques* بنسبة (77%) يليه عائلة *Enetérobactéries* بنسبة (12%) وأخيرا عائلة *Pseudomonas* بنسبة (11%). كل السلالات التي عزلت والتي تنتمي إلى البكتيريا +Gram تبدي مقاومة كاملة للبنيسيلين وهي تقاوم بدرجات مختلفة بقية المضادات الحيوية المدروسة بينما معظم السلالات التي عزلت والتي تنتمي إلى البكتيريا -Gram تبدي مقاومة كاملة الأموكسيسيلين والكوليستين وهي تقاوم بدرجات مختلفة بقية المضادات الحيوية المدروسة.

الكلمات الدالة : مستشفى ورقلة، البكتيريا المسببة للأمراض الاستشفائية، مجال حساسية البكتيريا، قسم العمليات الجراجية، المضادات الحيوية

1. Introduction

L'hygiène hospitalière est un problème fréquent qui est rencontré dans tous les services hospitaliers. Au fil des années, la résistance des micro-organismes n'a cessé de croître entraînant un risque nosocomial grandissant [1, 2].

L'environnement hospitalier est constitué de l'ensemble des éléments d'hygiène de l'environnement hospitalier, liquides, solides et gazeux qui sont susceptibles d'être en contact avec les patients, les visiteurs et le personnel d'une structure d'hospitalisation [3].

Les principaux germes pouvant être trouvés dans l'environnement sont :

- les saprophytes qui viennent naturellement dans le milieu extérieur comme *Pseudomonas, Acétobacters, Légionella, Bacillus*… ;
- les commensaux de l'être humain, qui sont des "Parasites" facultatifs et appartiennent à la flore cutanée, digestive ou respiratoire, comme par exemple : *E. coli, Entéroccocus, Staphylococcus* ;

les pathogènes spontanés humains, tel : *Salmonella, Yersinia, Listeria* [4].

Les locaux hospitaliers sont classés selon le risque infectieux, en quatre zones :

- zones à risques minimes : zone administrative, couloirs, bureaux … ;
- zones à risques moyens : long séjour, maternité, psychiatrie… ;
- zone à risques sévères : chambres où se trouvent les malades immunodéprimés, atteints d'un cancer ou d'une cirrhose ;

- zone à très hauts risques : chambres des malades qui ont, du fait de leur maladie, peu de défenses immunitaires, c'est le cas des services des grands brûlés, de greffes, le bloc opératoire, la néonatalogie [5].

L'infection nosocomiale se défini comme une maladie infectieuse causée par un micro-organisme acquis lors d'un séjour dans une structure de soin, dans un délai arbitraire de 48 heures [2, 3]. Les bactéries fréquemment mises en causes dans les infections nosocomiales sont : *Staphylocoques aureus* ; *Staphylocoques coagulase ; Entérocoques ; Escherichia Coli ; Klebsiella ; Enterobacter ; Proteus ; Pseudomonas* [1].

Les antibiotiques comme les désinfectants, ont un effet soit **- cide**, soit **– statique**.

Les agents **bactériostatiques** inhibent la croissance réversiblement **;** si l'agent est éliminé, les bactéries récupèrent et se multiplient à nouveau. Un agent **bactéricide** tue l'organisme cible mais son activité dépend de la concentration, dans certains cas aux faibles concentrations, il peut être uniquement bactériostatique. L'effet d'un agent varie également selon l'espèce cible **;** un agent peut être bactéricide pour une espèce et bactériostatique pour une autre [6]. La résistance à un antibiotique donné peut être **naturelle ou acquise** [7]. L'acquisition de la résistance aux antibiotiques peut être obtenue par des **mutations** dans le chromosome ou par **acquisition des gènes** [7].

Le mécanisme biochimique de la résistance à un antibiotique peut se produire par : inactivation de l'antibiotique ; modification de la cible de l'antibiotique ; diminution de la perméabilité de l'antibiotique ; excrétion de l'antibiotique par un mécanisme d'efflux ; hyperproduction de la cible de l'antibiotique ; la synthèse par la bactérie de protéines de séquestration, qui peuvent fixer de façon irréversible l'antibiotique l'empêchant de gagner sa cible [8-10].

La stratégie de l'organisation mondiale de le santé (OMS) pour la maîtrise de la résistance aux antibiotiques [11] est basée sur l'utilisation appropriée et économiquement rationnelle des antimicrobiens, l'amélioration des pratiques pour éviter la propagation des infections, les mesures d'hygiène, la mise en place de système de détection des germes résistants, la surveillance des quantités d'antimicrobiens utilisées et de leur modalités d'utilisation et évaluer l'impact de ces mesures [12, 13].

2. Matériels et méthodes

2.1 – Matériels utilisés

2.1.1 - Instruments et appareillage : Boite de Pétri ; pipettes Pasteur ; anse de platine ; bec bunsen ; lames et lamelles ; tubes en verre ; écouvillons ; pince ; compresses stériles ; distributeur des disques d'antibiotiques ; étuve ; microscope optique.

2.1.2 - Réactifs : Eau physiologique stérile ; violet de gentiane ; lugol ; alcool 90 C° ; fuschine basique ; huile à immersion ; huile de vaseline ; kovacs ; bleu de méthylène ; disques d'ONPG (Ortho-Nitro-Phénol-Galactosidase) ; disques imprégnés d'antibiotiques. Les disques d'antibiotiques utilisés sont de type « Bio-Rad suscebilité DISK».

2.1.3 - Milieux de culture : Gélose nutritive ; gélose au sang ; milieu de bouillant gélose témoin (BGT) ; monnitol- mobilité ; milieu de citrate de sémone ; eau peptonée exempt d'indole ; milieu ODC (Ornithine Décarboxylase) ; milieu LDC (Lysine Décarboxylase) ; milieu ADH (Arginine Dihydrolase) ; milieu urée-tryptophane (Urée-Indole) ; bouillon cœur-cerveau (Staphylo-Coagulase) B.H.I.B ; milieu de KIA.

2.1.4 - Antibiotiques : Les antibiotiques utilisés pour la réalisation d'antibiogramme sont résumés dans le tableau 01 avec leurs abréviations.

Tableau 01 : Antibiotiques utilisés dans les réalisations d'antibiogramme

Antibiotiques pour les bactéries Gram positif	Antibiotiques pour les Bactéries Gram négatif
Pénicilline : P	Amoxycilline : AMX
Ampicilline : AM	Céfalozoline : CZ
Oxacilline : OX	Céfotaxine : CTX
Céfotaxine : CTX	Gentamycine : GM
Céfixime : CFM	Tétracycline : TE
Tétracycline : TE	Acide nalidixique : NA
Erythromycine : E	Colistine : CS
Spiramycine : SP	Acide pipemidique : PI
Céfaloxine : CN	Triméthoprime+Sulfamide : SXT
Vancomycine : VA	Ofaloxaciline : OFX
Acide fusidique : AF	
Acide pipemidique : PI	

2.2 - Méthodes d'étude

2.2.1 – Lieux de prélèvement

Les prélèvements des échantillons sont effectués dans le bloc opératoire de l'hôpital de Ouargla à partir de tous les instruments des salles d'opération aseptiques qui composent le bloc opératoire et des salles septiques (salle de stérilisation, salle d'opération non stérile, salle de réveil, l'entré des malades, l'entré du personnel).

Sont utilisés dans les prélèvements : le poignet de porte, la porte, la boite à brosse, la brosse, les interrupteurs, les masques, la table opératoire, les flacons, le sol, les mur, les appareils, les tuyaux, la boite de savon, la boite opératoire (les instruments), la poubelle, l'air, les robinets, le pince à servir, l'autoclave, le bouton de l'autoclave, le poignet de chariot de linge, le lit, l'armoire, la bassine.

2.2.2 - Méthodes de prélèvement

Pour les prélèvements de l'air nous avons utilisé des boites contenant la géloses nutritive en les laissant ouvertes en contacte avec l'air pendant 3 minutes pour permettre la mise en place des germes existants dans le milieu d'isolement. Les prélèvements des instruments sont effectués en passant un écouvillon stérile sur les instruments. L'enrichissement du nombre de germes est réalisé en mettant chaque écouvillon dans un tube contenant le Bouillant Glucose Tampon.

2.2.3 – Méthodes d'identification des souches

L'identification des souches isolées est faite par des tests de coloration de Gram et coloration au bleu de méthylène suivis d'une observation au microscope. Les ***Streptococcus*** sont réisolés sur une gélose au sang frais alors que les ***Staphylococcus*** sont réisolés sur un milieu de Chapman.

Le test de coagulase permet d'identifier les ***Staphylococcus aureus*** (présence d'un culot) des ***Staphylococcus saprophyticus*** (absence du culot).

2.2.4 - Antibiogramme

La sensibilité aux antibiotiques est déterminée en utilisant l'antibiogramme sur des disques d'antibiotiques (BIO-RAD), il existe des disques spécifiques des bactéries à Gram positif et des disques spécifiques des bactéries à Gram négatif. Les disques d'antibiotiques sont appliqués sur une boite de Pétri contenant une préparation de souche isolée. Les boîtes sont incubées 24 h à 37C°. Le profil de sensibilité aux antibiotiques des bactéries peut être déterminé par les diamètres des zones d'inhibition des colonies incubées sur boites en contact avec les disques des antibiotiques. Les diamètres d'inhibition sont mesurés directement par une règle ou un **pied de colis**.

- Une bactérie est considérée résistante si le diamètre d'inhibition est inférieur au diamètre de la concentration critique. Elle est considérée sensible si le diamètre d'inhibition est supérieur au diamètre de la concentration critique. Mais, dans ce travail les concentrations critiques ne sont pas indiquées sur la notice et le seuil de sensibilité est donné par la maison fournisseur, il varie selon l'espèce et selon le gel utilisé dans la boite d'incubation. Les pourcentages sont calculés par rapport au nombre de bactéries de la même espèce testées sur les disques d'antibiotiques. Les bactéries dont le nombre est faible sont éliminées.

3. Résultats et discussion

3.1 - Résultats

Au total 207 prélèvements ont été réalisés, 135 cas effectués au niveau des salles d'opérations aseptiques, 72 cas sont des prélèvements effectués au niveau des salles septiques.

Sur 207 prélèvements 146 bactéries ont été isolées.

Le tableau 02 illustre les résultats des prélèvements effectués sur des lieux aseptiques et des lieux septiques. On remarque une prédominance des bactéries à Gram positifs.

Tableau 02 : Répartition des germes selon la coloration de Gram et sur des lieux septiques et aseptiques.

Souches		Pourcentage
Lieux septiques	Cocci Gram positif	70 %
	Bacille Gram negative	30 %
Lieux aseptiques	Cocci Gram positive	80 %
	Bacille Gram negative	20 %

La répartition des espèces bactériennes isolées des lieux septiques et aseptiques est illustrée dans le tableau 03 et les graphes 01 et 02.

On observe une prédominance des bactéries appartiennent à la famille ***Micrococcaceae*** (77%), succédée par les bactéries appartiennent à la famille de ***Entérobactériaceae*** (12%), enfin la famille de ***Pseudomonadaceaes*** (11%). 65% des bactéries sont isolées des lieux septiques, 35% sont isolées des lieux aseptiques.

Tableau 03 : Répartition des espèces bactériennes isolées des lieux septiques et aseptiques. Les pourcentages sont calculés sur 146 bactéries isolées.

Famille de bactéries	Espèces Isolées	Nombre dans les lieux septiques	Nombre dans les lieux aseptiques	Nombre total	%
Micrococcaceae (Gram positive)	*S. épidermidis*	28 (19%)	18 (12%)	46 (31.5%)	77
	S. saprophiticus	29 (20%)	10 (07%)	39 (27%)	
	S. aureus	16 (11%)	03 (02%)	19 (13%)	
	Streptocoque	03 (02%)	05 (3.4%)	08 (05.5%)	
Entérobactériaceae (Gram positive)	*Escherichia Coli*	01(0.07%)	06 (04%)	07 (04.8%)	12
	Citrobacter frendii	04(02.7%)	00	04 (02.7%)	
	Klebsiella	03 (02%)	00	03 (02%)	
	Proteus	01(0.07%)	02 (1.4%)	03 (02%)	
	Acinetobacter sp	00	01(0.07%)	01 (0.7%)	
Pseudomonadaceaes (Gram positive)	*Pseudomonas sp*	10 (07%)	06 (04%)	16 (11%)	11

Les résultats des antibiogrammes des bactéries **Gram+** sont illustrés dans le tableau 04.

Tableau 04 : Antibiogrammes des bactéries Gram positives.
Les chiffres représentent les diamètres des halos d'inhibition en mm.

	Antibiotiques											
% de résistance	P	AM	OX	CN	CTX	TE	E	SP	PI	FA	CFM	VA
Staphylo. epidermidis	100	22	28	00	05,5	22	39	00	00	5,5	00	00
Staphylo. saprophiticus	100	39	04	00	00	04	04	00	00	00	00	13
Staphylo. aureus	100	50	50	00	00	00	31	00	00	00	00	00

Les résultats des antibiogrammes des bactéries **Gram-** sont illustrés dans le tableau 05.

Tableau 05 : Antibiogrammes des bactéries Gram négatives.
Les chiffres représentent les diamètres des halos d'inhibition en mm.

	Antibiotiques									
% de résistance	CS	CZ	CTX	NA	OFX	SXT	PI	AMX	GM	TE
Pseudomonas sp	00	100	12,5	00	00	100	25	100	00	
Citrobacter. frundii	50	50	100	00	00	00	50	00	100	00
Proteus	100	100	00	00	00	100	00	100	00	100

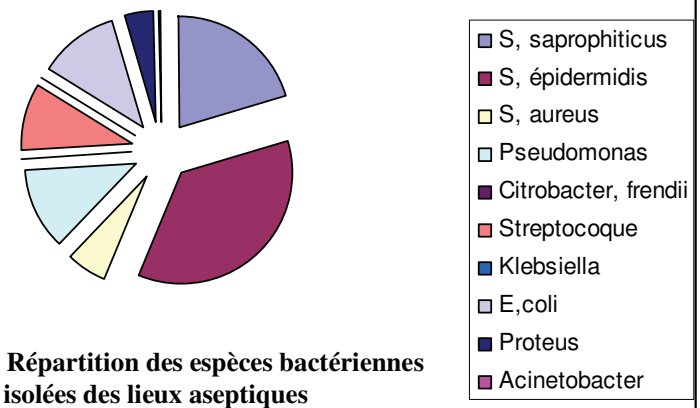

Figure 1 : Répartition des espèces bactériennes isolées des lieux aseptiques

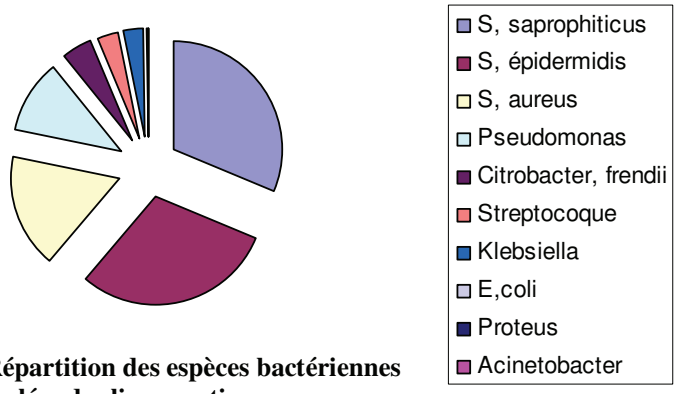

Figure 2 : Répartition des espèces bactériennes isolées des lieux septiques

3.2 -Discussion

La **prédominance** des souches cocci Gram positives appartenant à la famille de ***Micrococcaceae*** (77%) peut s'expliquer par le fait que les ***Staphyloccocus***, existent dans l'environnement mobilier (l'air, eau, sol), matériel, peau, cheveux et elles vivent très fréquemment à l'état commensal sur la peau et les muqueuses des organismes humains. Les ***Streptocoques sp*** sont retrouvés aussi bien dans l'eau que dans l'air ou le sol, ils vivent à l'état commensal de l'homme. Ils sont responsables de nombreuses infections dans la nature. Des résultats similaires ont été obtenus par une étude effectuée au niveau du secteur sanitaire de Ghardaïa [14].

La **moins dominance** des souches bacille à Gram négative (23%) appartenant aux familles ***Entérobactériaceae*** (12%) et ***Pseudomonadaceaes*** (11%) peut s'expliquer par le fait que ces deux dernières familles sont moins fréquentes que la première. Les ***Pseudomonas*** sont des bactéries de l'environnement, elles sont rencontrées dans l'eau, le sol de l'environnement hospitalier. La souche ***E.coli*** vit très fréquemment à l'état commensal dans le tube digestif d'organisme humain.

Le **profil de résistance** aux antibiotiques des différents germes isolés montre que toutes les souches à **Gram positif** présentent une résistance totale à la pénicilline et des résistances variables aux autres antibiotiques testés. Alors que la plupart des souches à **Gram négatif** présentent une résistance totale à l'amoxicilline et des résistances variables aux autres antibiotiques testés.

Généralement, les bactéries à Gram positif sont plus résistantes aux antibiotiques que les bactéries à Gram négatif.

Il est clair que la résistance des bactéries aux antibiotiques ne cesse de croître, en fait, nous pouvons remarquer que presque la moitié des souches testées sont multirésistantes et que l'efficacité de la plupart des antibiotiques testés est relativement faible.

4. Conclusion et recommandations

L'obtention des germes nosocomiaux dans les lieux aseptiques et avec une fréquence très élevée (Tableau.03) nous a permis de tirer deux points importants :

*- la résistance aux antibiotiques des micro-organismes n'a cessé de croître de manière est ce que l'utilisation de certains antibiotiques est devenue très limité (cas des de pénicilline et d'amoxicilline montrés dans ce travail).

*- le système et les méthodes de stérilisation des instruments et du matériel médico-chirurgical sont remis en cause. Ceci peut s'expliquer par le fait que les règles imposées et les conditions de travail dans le bloc opératoire ne sont pas respectées.

Ainsi, des recommandations et des suggestions suivantes doivent être tenues en compte par surtout les responsables des services de l'hôpital :

*- les médecins sont invités pour une utilisation appropriée et économiquement rationnelle des antibiotiques dans les traitements médicaux afin de limiter la propagation des nouveaux germes nosocomiaux résistants à ces antibiotiques.
*- les agents gérant le bloc opératoire et la stérilisation des instruments et du matériel médico-chirurgical doivent être qualifiés et bénéficier des stages de formation périodiques.
*- ce genre de travail est indispensable dans le domaine médical, qui normalement doit se faire périodiquement pour éviter le danger préalable pour les personnels soignant et les malades admis.
*- l'épidémiologie bactérienne et la résistance aux antibiotiques qui sont les plus prescrits doivent être établés tous les cinq ans car les bactéries et leur antibiorésistance évoluent avec les prescriptions locales.

La règle générale : On doit respecter **par tous pour la sécurité de tous**.

Références bibliographiques

[1] GILLES BRUCKER; Infections nosocomiales et environnement hospitalier, (1998).
[2] Prévalence des infections nosocomiales à l'Hôpital Ben Amor Djilani d'El-Oued ; Mémoire de D.E.S. en Microbiologie ; Université Kasdi Merbah - Ouargla, (2006).
[3] RAMADAN M. et JAOIDE L. ; 'Infection nosocomiale', (2008).
[4] ALAIN R.; Hygiène et soins infermiers, (2004).
[5] JEAN FIGARELLA, GUY LEYRAL et MICHELE TERRET ; Microbiologie générale et appliquée, Editions Jacques - Lanore. Paris, (2001).
[6] JOFFIN JN. et LEYRAL G. ; Microbiologie - technique -1- dictionnaire des techniques, 3ème éditions, BIOMERIEUX, (2001).
[7] CANU A. et PETER F. ; Le préparateur sur pharmacie, Dossier 4, Microbiologie- immunologie, Edition TEC et DOC ; Paris, (2001).
[8] FAUCHERE L. et AVRIL J.; Microbiologie générale et médicale, (2002).
[9] JEHL F., CHOMATAT M., WEBER M. et GERARD A.; De l'antibiogramme à la deuxième édition BIOMERIEUX, (2003).
[10] PRESCOT et. KLEIN H.; Microbiologie, De bock université, 2ème édition, Paris, 2003.
[11] Résolutions OMS, (1998).
[12] www.infectio-lille.com. Bloc opératoire. Site consulté le : 25/01/2008.
[13] www.bloc-opératoire.com. Bloc opératoire. Site consulté le : 25/01/2008.
[14] Profil de la résistance de Staphylococcus aureus aux antibiotiques au secteur sanitaire de Ghardaïa ; Mémoire de D.E.S en Microbiologie ; Université Kasdi Merbah – Ouargla, (2006).