

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biochimie-Microbiologie



Mémoire de fin d'études
En vue d'obtention du Diplôme de Master
Spécialité : Sciences Biologiques
Option : Biochimie Appliquée

Thème

**Étude sur les infections nosocomiales chez les nouveaux nés
au niveau du CHU de Tizi-Ouzou**

Présenté par : HADJALI Kenza

IMAHLOUBENE Lyza

Devant le jury composé de :

Présidente : AICHE-IRATNI Ghenima (Maître de conférences classe A à l'UMMTO).

Examineur : MSELAA Amine (Maître de conférences classe B à l'UMMTO).

Promoteur : Dr.MOUALEKIdir (Maître de conférences classe A à l'UMMTO).

Co-promoteur : Professeur CHALAH Sid Ahmed (Chef de service de néonatalogie au CHU de Tizi-Ouzou)

Année universitaire : 2022/2023

Remerciements

En premier lieu nous tenons à remercier Allah, notre créateur, de nous avoir donné le courage, la force, la patience et la détermination d'accomplir ce modeste travail.

Ce mémoire n'aurait pas pu être réalisé sans la contribution de nombreuses personnes que nous tenons à remercier par ces quelques lignes.

Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu voir le jour sans l'aide et l'encadrement du Docteur MOUALEK.I, maître de conférences classe A à l'université Mouloud Mammeri de TiziOuzou, on le remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

*Monsieur, votre sens de devoir, vos qualités humaines et professionnelles sont pour nous un modèle à suivre.
Merci beaucoup.*

Nos remerciements les plus sincères s'adressent en particulier au professeur CHALAH, chef de service de néonatalogie au niveau du CHU de Tizi-Ouzou, ainsi qu'à tout le personnel de cet établissement pour toutes les données fournies, leur accueil chaleureux et pour leur disponibilité.

Mes vifs remerciements vont aux membres de jury pour avoir accepté de juger ce présent travail.

Afin de n'oublier personne, nos remerciements s'adressent à tous ceux qui nous ont aidé à la réalisation de ce modeste mémoire.

Dédicaces

Avant tout, je remercie le Bon Dieu de m'avoir donné la volonté et la patience pour mener à bien ce travail.

Avec joie, fierté et honneur que je dédie ce modeste travail :

*A ma très chère maman « **Tassadit** » qui m'a encouragé durant toutes mes études, et qui sans elle, ma réussite n'aura pas eu lieu.*

*A mon très cher papa « **Belkacem** » qui est toujours disponible pour nous, et prêt à nous aider, je lui confirme mon attachement et mon profond respect.*

*A mes frères et sœur : **Lynda, Yacine et Amine.***

*A toute la famille **HADJALI***

*A mes amis et camarades : **Sarah, Imane, Ramdane** qui me redonnent à chaque instant et sans cesse du courage.*

A toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

*A ma binôme **Lyza** pour son soutien, son encouragement et avec qui j'ai partagé pleins de bons moments durant la réalisation de ce mémoire.*

Kenza

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

*Mes très chers parents, **Rabah** et **Ouiza** qui ont toujours été là pour moi, particulièrement à ma mère qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse.*

A toi papa qui a toujours su me guider vers la bonne voie, aucun mot ne pourrait exprimer mon respect, ma considération pour les sacrifices que vous avez consentis pour mon bien-être.

Que DIEU vous accorde santé et une longue vie.

*A mes très chers frères et sœur : **Katia**, **Massinissa** et **Ghiles**, et ma très chère cousine **Chahinez** pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.*

*A mon fiancé **Djilali** pour son soutien et son encouragement, sa compréhension tout au long de ce travail, je lui présente mon respect et ma gratitude.*

Merci d'être toujours là pour moi.

*A ma binôme **Kenza** pour son soutien, son encouragement et avec qui j'ai partagé pleins de bons moments durant la réalisation de ce mémoire.*

Lyza

Sommaire

Sommaire

Introduction.....	1
1- Synthèse bibliographique	
1-1- Infections nosocomiales	3
1-1-1- Définition.....	3
1-1-2- Origines des infections nosocomiales	3
1-1-2-1- Origine endogène	3
1-1-2-2- Origine exogène	3
1-1-3- Mécanisme de transmission.....	4
1-1-3-1- Auto-infection	4
1-1-3-2- L'hétéro-infection	4
1-1-3-3- Xéno-infection	4
1-1-3-4- Exo-infection.....	5
1-1-4- Les agents pathogènes responsables des infections nosocomiales	5
1-1-4-1- Les bactéries	6
A) Les bactéries Gram positives	6
B) Les bactéries gram négatives	6
1-1-4-2- Les virus	7
1-1-4-3- Les champignons	7
1-1-4-4- Les parasites	8
1-1-5- Facteurs favorisant les infections nosocomiales	8
1-1-6- Les différents sites d'infection nosocomiale	10
A. Infection urinaire	10
B. Infection du site opératoire	11
C. Infection respiratoire basse (pneumonie)	11

D. Bactériémie : Septicémie primaire	12
E. Méningite	12
1-1-7- Les mesures préventives	13
1-2-Protéine C réactive (CRP)	14
1-2-1- Historique	14
1-2-2- Définition et structure	14
1-2-3- La synthèse de la CRP.....	16
1-2-4- Mode d'action	17
1-2-4-1- La reconnaissance et l'élimination des agents pathogènes externes et des cellules endommagées	18
1-2-4-2- L'activation de la voie classique du complément	18
1-2-5- L'utilité de la mesure de la CRP dans les infections nosocomiales néonatales.....	19

2- Matériel et méthodes

2- Matériel et méthodes	20
2-1- Période et lieu de l'étude	20
2-2- Population échantillonnée	20
2-3- Dosage de la protéine C-réactive	20
2-3-1- Prélèvement sanguin	20
2-3-2 Mode opératoire.....	21
2-3-3- Appareillage	21
2-3-3-1- Présentation de l'appareil	21
2-3-3-2- Principe de mesure de l'automate	22
2-3-3-3- Calibration de l'automate	23
2-3-3-4- Contrôle	23
2-3-3-5- Composition et concentrations des réactifs.....	23
2-3-3-6- Matériel auxiliaire nécessaire	24

2-4- Hémoculture	25
2-4-1- Prélèvement	25
2-4-2-Principe	25
2-4-3- Détection de la croissance bactérienne	25
2-5- Etude Cytobactériologique des Urines (ECBU)	27
2-5-1- Prélèvement urinaires avec collecteur	27
2-5-2- Les étapes de la réalisation de l'ECBU	28
2-5-2-1- Examen macroscopique des urines.....	29
2-5-2-2- Examen cytologique (microscopique)	29
2-5-2-3- Examen bactériologique	30
2-6- Identification	31
2-6-1- Identification macroscopique via un milieu sélectif	31
2-6-2- Identification microscopique	32
2-6-3- Identification biochimique	33
2-6-3-1- Tests d'orientation	33
A. Test d'Oxydase	33
B. Test de catalase	34
C. Recherche de la coagulase	34
2-6-3-2- Galerie classique	34
A. Recherche de l'uréase.....	34
B. Milieu Clark et Lubs.....	35
C. Citrate de Simmons	35
D. Triple SugarIron Agar (TSI)	36
2-6-3-3- Identification biochimique à l'aide des API	36
2-6-4- Identification automatisée avec VITEK 2 compact	39
2-7- Etude de la résistance des germes isolés aux antibiotiques.....	42

2-7-1- Antibiogramme par diffusion des disques	42
--	----

3- Résultats et discussion

3- Résultats et discussion	45
3-1- Répartition des infections nosocomiales établie selon l'augmentation de la CRP après 48 heures de séjour à l'hôpital	45
3-2- Répartition des patients infectés selon le sexe.....	46
3-3- Répartition des infections nosocomiales selon l'âge gestationnel.....	47
3-4- Répartition des patients infectés selon le mode de sortie	49
3-5- Antibiothérapie utilisée pendant le séjour	50
3-6- Répartition des infections nosocomiales selon le poids de naissance	52
3-7- Répartition des micro-organismes identifiés chez les nourrissons affectés.....	54
3-7-1-Bactéries	54
3-7-2-Champignons	55
3-8- Répartition des patients infectés selon la durée d'hospitalisation	56
Conclusion et perspectives	57

Références bibliographiques

Liste des abréviations

IN	Infection nosocomiale
CRP	Protéine C réactive
ECBU	Examen Cytobactériologique des Urines
SCN	<i>Staphylococcus Coagulase Négative</i>
VRS	Virus respiratoire syncytial
VIH	Le virus de l'immunodéficience humaine
HTLV	Human T Lymphotropic Virus
TTV	Torque Teno Virus
SA	Semaines d'aménorrhée
PC	Phosphocholine
FC	Fragment constant
IgG	Immunoglobuline G
IL6	Interleukine 6
MAC	Complexe d'Attaque Membranaire
GSF	Gélose à Sang Frais
GSC	Gélose à Sang Cuit
RM	Test au Rouge de Méthyl
VP	Test de Voges-Proskauer
TSI	Triple SugarIron Agar
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
ATB	Antibiotique
FPN	Faible poids de naissance
IMC	Indice de masse corporelle

Liste des figures

Figure	Titre	Page
1	Chaine épidémiologique des infections nosocomiales.	5
2	Les différentes voies de contamination du cathéter.	09
3	Localisation des infections nosocomiales les plus courantes.	10
4	Streptocoques du groupe B dans du liquide céphalorachidien.	12
5	Structure et morphologie de la Protéine C Réactive humaine.	15
6	Schéma représentant la structure de la CRP.	15
7	La stimulation et la synthèse des protéines de la phase aiguë inflammatoire.	16
8	Les principales fonctions de la CRP dans le système immunitaire inné.	18
9	Centrifugeuse ROTOFIX 32A.	21
10	Automate COBAS integra 400 plus.	21
11	Cassette de réactifs.	24
12	Schéma récapitulatif de la détection de la croissance bactérienne.	26
13	Les 3 étapes de la gestion des flacons d'hémocultures destinés au Bact/Alert 3D.	27
14	Poche à urine stérile	27
15	Schéma récapitulatif des étapes de l'ECBU de routine.	29
16	Observation de l'urine déposée sur la cellule de Malassez sous microscope.	30
17	Schéma récapitulatif des étapes de la coloration de gram.	33
18	API 20 E.	37
19	API schématisée.	37
20	Méthode de lecture des API.	38
21	Carte utilisée pour l'antibiogramme.	39

22	Carte utilisée pour l'identification des bactéries.	39
23	Schéma récapitulatif du protocole d'identification automatisée avec VITEK 2 compact.	41
24	Antibiogramme par diffusion sur disques.	43
25	Détermination de la concentration minimale inhibitrice(CMI).	44
26	Répartition des infections nosocomiales établie selon l'augmentation de la CRP.	45
27	Répartition des infections nosocomiales selon le sexe.	46
28	Répartition des patients infectés selon l'âge gestationnel.	47
29	Répartition des infections nosocomiales selon le niveau de prématurité.	47
30	Répartition des patients infectés selon le mode de sortie.	49
31	Antibiothérapie utilisée pendant le séjour.	51
32	Répartition des patients infectés en fonction du poids de naissance.	52
33	Répartition des micro-organismes identifiés chez les nourrissons affectés.	54
34	Répartition des patients infectés selon la durée d'hospitalisation.	56

Liste Des Tableaux

Tableau	Titre	page
I	Les micro-organismes responsables d'infections nosocomiales.	8
II	Comportement de la CRP dans différentes pathologies.	17
III	Les principaux paramètres utilisés par l'automate COBAS INTEGRA 400 plus.	22
IV	Paramètre de pipetage de l'automate Cobas INTEGRA 400 plus.	24

Résumé

Les infections nosocomiales (IN) chez les nouveau-nés constituent une préoccupation majeure au sein des services de soins intensifs et de néonatalogie. Ces infections peuvent entraîner des complications graves et augmenter la morbidité et la mortalité chez les nourrissons, en particulier chez les prématurés.

Notre étude vise à évaluer l'incidence des infections nosocomiales dans le service de néonatalogie du CHU de Tizi-Ouzou, à identifier les micro-organismes impliqués et à déterminer les principaux facteurs de risque associés à l'acquisition de ces infections. Nous utilisons des examens tels que la protéine C-réactive (CRP), examen cyto bactériologique des urines (ECBU) et les hémocultures afin de faciliter le diagnostic des infections et de comprendre les taux élevés d'échecs de traitement et la diversité des germes responsables.

Nos résultats montrent que le taux de prévalence des infections nosocomiales chez les nouveau-nés est de 8% dans une étude menée sur un groupe de nourrissons admis à l'hôpital. La méthode d'évaluation utilisée a été le dosage de la protéine C-réactive (CRP) avant et après un séjour de 48 heures en milieu hospitalier.

Les facteurs de risque les plus courants incluent sont l'âge gestationnel, le poids à la naissance, la durée du séjour hospitalier, l'utilisation de dispositifs invasifs, le contexte hospitalier et la consommation excessive d'antibiotiques à large spectre.

L'analyse microbiologique a permis d'identifier les souches suivantes : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas*, *Enterococcus*, *Candida albicans*, *Serratiamarcescens*, *Acinetobacterbaumannii*, *BLSE* et *Proteus mirabilis*. Les résultats épidémiologiques ont révélé que les entérobactéries à gram négatif sont les agents pathogènes les plus fréquemment impliqués dans les infections nosocomiales dont *Escherichia coli* est l'espèce la plus incriminée, Les bactéries à gram positif, en particulier *Staphylococcus* et *Streptococcus*, peuvent provoquer des maladies graves chez les nourrissons présentant une immunité déficiente ou nés prématurément.

Pour prévenir les infections nosocomiales, une antibiothérapie est rapidement mise en place en cas de suspicion d'infection. Les antibiotiques utilisés dépendent du type d'infection et de la sensibilité de l'agent pathogène aux antibiotiques. Cependant, l'utilisation abusive et non-réglémentée d'antibiotiques à large spectre a entraîné une résistance accrue des germes, ce qui est un problème préoccupant.

Mots clés : Infection nosocomiale, nouveau-né, prématuré, Protéine C Réactive (CRP), bactérie, antibiothérapie.

Summary

Nosocomial infections in newborns are a major concern in intensive care and neonatal units. These infections can lead to serious complications and increase morbidity and mortality in infants, especially premature babies.

Our study aims to assess the incidence of nosocomial infections in the neonatal department of the TiziOuzouhospital, to identify the microorganisms involved and to determine the main risk factors associated with the acquisition of these infections. We use tests such as C-reactive protein (CRP), cytobacteriological examination of the urine (CBEU) and blood cultures to help diagnose infections and understand the high rates of treatment failure and the diversity of germs responsible.

Our results show that the prevalence rate of nosocomial infections in newborns is 8% in a study of a group of infants admitted to hospital. The evaluation method used was the determination of the C-reactive protein (CRP) before and after a 48-hour hospital stay.

The most common risk factors include gestational age, birth weight, length of hospital stay, use of invasive devices, hospital context, and excessive use of broad-spectrum antibiotics.

Microbiological analysis identified the following strains: *Escherichia coli*, *Klebsiellapneumoniae*, *Streptococcus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas*, *Enterococcus*, *Candida albicans*, *Serratiamarcessens*, *Acinetobacterbaumani*, *BLSE* and *Proteus mirabilis*. Epidemiological results revealed that gram-negative enterobacteria are the pathogens most frequently involved in nosocomial infections of which *Escherichia coli* is the most incriminated species, Gram-positive bacteria, in particular *Staphylococcus* and *Streptococcus*, can cause serious diseases in infants with impaired immunity or born prematurely.

To prevent nosocomial infections, antibiotic therapy is quickly implemented in case of suspicion of infection. The antibiotics used depend on the type of infection and the sensitivity of the pathogen to antibiotics. However, the misuse and unregulated use of broad-spectrum antibiotics has led to increased germ resistance, which is a concern.

Keywords: Nosocomial infection, newborn, premature, Reactive C Protein (CRP), bacteria, antibiotic therapy.

Introduction

Introduction

Les infections nosocomiales (IN), autrement dites infections hospitalières, sont devenues un sujet d'actualité car elles représentent un problème majeur de santé publique responsable de l'accroissement de la morbidité, et de la mortalité, surtout dans des services à haut risque qui recrutent des patients extrêmement vulnérables à la colonisation et par conséquent à l'infection (HABZI *et al*, 2001).

Ces infections aggravent le pronostic des malades et prolongent ainsi leur durée de séjour ce qui génère un surcoût économique important à l'hospitalisation et freine le développement médical (TEBBAL, 2018).

Les taux d'incidence sont très variables selon les pays et le type des unités (CHEMSI *et al*, 2013), d'après l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé), un pourcentage compris entre 5% et 12% des patients hospitalisés dans le monde développent une infection nosocomiale. En Algérie, un taux de prévalence de 13% a été observé (AMAZIAN *et al*, 2010).

Les nouveau-nés sont parmi les plus sensibles aux infections nosocomiales en raison de l'immaturation de leur système immunitaire, ce risque est accentué par divers facteurs notamment la prématurité et l'agressivité de certains soins invasifs (MERZOUGUI *et al*, 2018).

En période néonatale, l'infection est considérée comme la cause majeure de l'inflammation, afin de diagnostiquer cette infection des marqueurs spécifiques et sensibles sont nécessaires pour prédire les valeurs négatives et positives, Ce diagnostic requiert également une technique de dosage rapide, fiable, et peu onéreuse pour permettre la mise en route d'une antibiothérapie le plus précocement possible (DURANTEAU *et al*, 2009).

Dans ce cadre la protéine C-réactive (CRP) est le marqueur biologique le plus couramment utilisé, car elle nécessite de très faibles quantités de prélèvement et peut être mesurée automatiquement (GENDREL *et al*, 1988).

Les objectifs de cette étude étaient :

- Estimer le taux de prévalence des infections nosocomiales des nouveau-nés hospitalisés au niveau du service de néonatalogie du CHU de Tizi-Ouzou pour une période d'une année allant du 1^{er} janvier jusqu'au 31 décembre 2022.
- Identifier les micro-organismes prédominants dans les infections nosocomiales.

- Évaluer la pertinence de la protéine C-réactive (CRP) comme indicateur diagnostique pour la détection précoce des infections nosocomiales.
- Sensibiliser l'ensemble du personnel hospitalier à la gravité de l'infection nosocomiale.

Synthèse

bibliographique

1- Synthèse bibliographique :

1-1- Infections nosocomiales :

1-1-1-Définition:

Une infection nosocomiale désigne une infection contractée au cours d'une hospitalisation, qui n'existait pas auparavant (KACET *et al*, 1999).

Il est recommandé de prévoir un intervalle de temps de 48 à 72 heures entre l'infection et l'admission s'il s'agit d'une infection bactérienne, tandis que l'incubation des infections virales peut nécessiter une période plus longue. Dans les 48 premières heures suivant la naissance, les infections materno-fœtales doivent être exclues. Ces recommandations garantissent une gestion efficace et rapide des infections et contribuent à prévenir la propagation de ces infections (LACHASSINNE *et al*, 2004).

En néonatalogie, qui est un service classé comme une unité de très haut risque, les nouveau-nés sont considérés comme des patients plus vulnérables aux IN corrélée surtout à l'âge gestationnel, plus sévères chez les prématurés dont la survie est largement associée à de longues périodes d'hospitalisation. D'après les études statistiques, 75% des cas d'infections nosocomiales se déclenchent après une durée de 6 jours d'hospitalisation (HABZI et BENOMAR, 2001).

Cette vulnérabilité est due à la fragilité du système immunitaire de cette population et la récurrence de multiples interventions médicales (KACET *et al*, 1999).

1-1-2- Origines des infections nosocomiales :

Les maladies nosocomiales peuvent avoir deux origines distinctes :

1-1-2-1- Origine endogène :

Où les germes font partie de la flore commensale du patient avant son hospitalisation, présente dans les voies respiratoires, la peau, la sphère gastro-intestinale ou génitale (DUCEL *et al*, 2008).

1-1-2-2- Origine exogène :

Où le patient est contaminé par des micro-organismes acquis pendant son séjour à l'hôpital. Les agents infectieux peuvent provenir de la flore résidente ou transitoire des

professionnels de santé, des visiteurs, des dispositifs médicaux, ainsi que de l'environnement et des locaux hospitaliers (DUCEL *et al*,2008).

1-1-3- Mécanisme de transmission

1-1-3-1- Auto-infection :

Les micro-organismes bactériens qui se trouvent dans la microflore normale des individus en parfaite santé, ont une fonction protectrice importante en bloquant la colonisation des micro-organismes pathogènes. Cependant, elles peuvent également causer des infections si les défenses immunitaires de l'hôte sont affaiblies. Par exemple, les Staphylocoques cutanés coagulas-négatifs peuvent entraîner des infections au niveau des cathéters vasculaires, tandis que *Escherichia coli* présente dans l'intestin est fréquemment lié aux infections urinaires(BLAVOUS, 2018).

1-1-3-2- L'hétéro-infection :

Désigne la transmission d'un agent pathogène d'un individu infecté à un individu sain. Cette transmission se fait généralement par voie indirecte, c'est-à-dire par l'intermédiaire d'un vecteur tel que le personnel médical ou le matériel médical en contact avec le malade. Ce mode de transmission, appelé infection manu portée, est fréquent lors de différentes épidémies et est particulièrement sensible aux mesures de prévention (BEN JABALLAH *et al*, 2006).

L'environnement qui est un réservoir de micro-organismes peuvent impacter de manière significative les individus fragiles, que ce soit par l'intermédiaire de l'air, de l'eau ou des aliments (KAHLOUCHE, 2018).

1-1-3-3- Xéno-infection :

Les xéno-infections sont des infections répandues dans la population en dehors de l'hôpital, de manière endémique ou épidémique. Les agents pathogènes sont introduits à l'hôpital par les patients, le personnel médical ou les visiteurs qui sont atteints ou qui sont en phase d'incubation. La transmission des germes se fait par voie aérienne, par contact direct ou indirect (CABASSON *et al*, 2007).

1-1-4-1- Les bactéries :

A) Les bactéries Gram positives :

Incluant *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*, ainsi que les entérocoques, sont des agents majeurs causant les infections nosocomiales. Ces micro-organismes colonisent rapidement les surfaces cutanées et muqueuses des patients (REBIAHI *et al*, 2014).

Les bactéries Gram positives, en particulier *Staphylococcus aureus*, présentent une virulence élevée et sont associées à une vaste gamme d'infections pulmonaires, osseuses, cardiaques et sanguines (ABBA et ABOUSSAD,2012).

Les *Streptocoques alpha-hémolytiques*, faisant partie de la flore rhinopharyngée, ont également un rôle significatif en tant qu'agents pathogènes (REBIAHI *et al*, 2014).

En outre, Les infections cutanées et postopératoires ainsi que les bactériémies et les pneumopathies sont principalement causées par les *staphylocoques dorés*. Il est à noter que ces bactéries sont rarement résistantes à la méthicilline (LACHASSINNE *et al*, 2004).

Néanmoins, des germes Gram + connus pour causer des infections materno-fœtales telles que le *streptocoque B* ou encore *Listeria* peuvent entraîner des infections nosocomiales à travers la transmission manu portée ou via un équipement contaminé (AMAZIAN *et al*, 2010).

De même, les bacilles anaérobies à Gram positif (*Clostridium*) peuvent causer la gangrène (DUCEL *et al*, 2008).

B) Les bactéries gram négatives :

Les micro-organismes à virulence élevée tels que les entérobactéries (*Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Serratiamarcescens*) sont capables de coloniser des sites lorsque l'immunité de l'hôte est affaiblie, entraînant ainsi des infections graves telles que des infections postopératoires, des infections pulmonaires et des bactériémies (BEN JABALLAH *et al*, 2006).

En milieu hospitalier, les souches de *Staphylococcus coagulase négative* (SCN) sont associées à une grande proportion d'infections liées aux cathéters et de bactériémies nosocomiales. *Pseudomonas aeruginosa* est observée avec une légère augmentation de la fréquence d'isolement dans les unités de soins intensifs (CABASSON *et al*, 2007).

D'autres bactéries à Gram négatif, tel que *Pseudomonas spp*, fréquemment isolées dans l'eau et les milieux humides, peuvent coloniser les voies digestives des patients hospitalisés (CABASSON *et al*, 2007).

Klebsiellapneumoniae est une bactérie qui cause diverses infections, telles que les infections urinaires, respiratoires et sanguines, et est classée au 7ème rang des infections nosocomiales en termes de fréquence (ABBA et ABOUSSAD, 2012).

Enfin, plusieurs autres bactéries représentent un risque spécifique pour les patients hospitalisés. Parmi celles-ci, diverses espèces de *Legionella* peuvent provoquer des pneumopathies par inhalation d'aérosols contenant de l'eau contaminée, tels que des systèmes de climatisation, des douches et des aérosols à visée thérapeutique (ABBA et ABOUSSAD, 2012).

1-1-4-2- Les virus :

Sont des agents infectieux responsables de nombreuses maladies courantes dans la communauté. Parmi eux, le virus respiratoire syncytial (VRS) est le plus fréquent et peut être à l'origine d'infections respiratoires sévères surtout chez les nourrissons et les enfants. D'autres virus tels que le rotavirus, le coronavirus, l'entérovirus, et le virus de la grippe peuvent également causer des infections respiratoires et gastro-intestinales (GAGNEUR *et al*, 2002).

Ces virus sont principalement transmis par contact avec des surfaces contaminées ou par l'intermédiaire de personnes infectées telles que les parents ou le personnel soignant. Pour le VRS, les particules virales peuvent se propager par des gouttelettes projetées par une personne infectée lorsqu'elle tousse ou éternue, ou encore par contact direct avec des surfaces contaminées. D'autres virus tels que le cytomégalovirus, le VIH (Le virus de l'immunodéficience humaine), le HTLV 1 et 2 (Human T Lymphotropic Virus) et le virus TTV (Torque Teno Virus), peuvent infecter les nouveau-nés lors d'une transfusion sanguine ou de l'allaitement maternel (PEIGUE-LAFEUILLE *et al*, 2000). Le Rotavirus est le principal agent responsable de diarrhées chez le nouveau-né (PEIGUE-LAFEUILLE *et al*, 2000).

1-1-4-3- Les champignons :

Les infections fongiques systémiques gagnent de plus en plus d'intérêt avec comme chef de file le *Candida albicans*. Peut être considéré comme spécifique d'une atteinte

pulmonaire ; d'authentiques détresses respiratoires peuvent être le signe d'appel d'une septicémie sur cathéters (AMZIAN *et al*, 2010).

1-1-4-4- Les parasites :

Ces agents pathogènes peuvent également être associés à une transmission nosocomiale. Les entités les plus communément observées incluent le plasmodium lors de transfusions sanguines, *Sarcoptes scabiei* qui est responsable de la gale et *Pneumocystiscariniï* qui est un agent opportuniste responsable de la pneumopathie nosocomiale chez les nourrissons prématurés et les patients immunodéprimés (TEBBAL, 2018).

Tableau I : Les micro-organismes responsables d'infections nosocomiales (HABZI et BENOMAR, 2001).

Bactérie gram+	Bactérie gram-	Virus	Levure
- <i>Staphylocoques aureus</i>	- <i>E.coli</i>	-VRS	- <i>Candida albicans</i>
- <i>Epidermidis</i>	- <i>Pseudomonas</i>	- <i>Rotavirus</i>	
- <i>Entérocoques</i>	- <i>Klebsiella</i>	- <i>Cytomégaloïvirus</i>	
- <i>Streptocoque B</i>	- <i>Entérobactéries</i>	- <i>Adénovirus</i>	
	- <i>Salmonella</i>	- <i>Rhinovirus</i>	
	- <i>Campylobacter</i>	- <i>Enterovirus</i>	
	- <i>Legionella</i>		

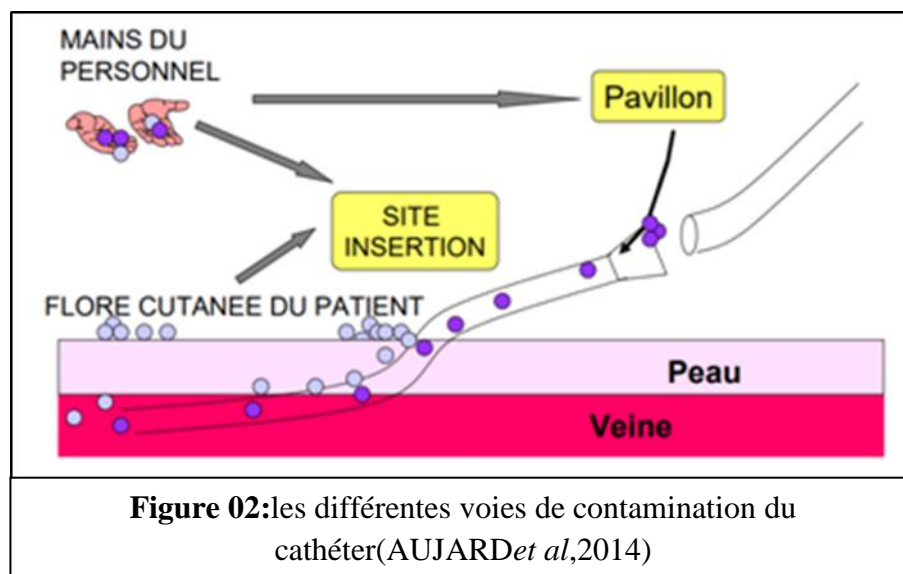
1-1-5- Facteurs favorisant les infections nosocomiales :

Il existe de nombreux facteurs favorisant le développement des infections nosocomiales :

- L'incidence des infections nosocomiales est fortement corrélée à l'âge gestationnel de naissance, avec un risque accru pour les nourrissons les plus immatures. Chez les nouveau-nés nés avant 28 semaines, l'incidence des infections nosocomiales peut atteindre jusqu'à 90% pour toutes les infections confondues (MERZOUGI *et al*, 2018). La prématurité est définie comme une naissance avant 37 semaines d'âge gestationnel, et elle peut être classée en 3 catégories en fonction du nombre de semaines avant la naissance : la prématurité modérée (32 à 36 semaines d'aménorrhée (SA), la grande

prématurité (moins de 32 SA) et la très grande prématurité (moins de 28 SA) (JARREAU, 2013).

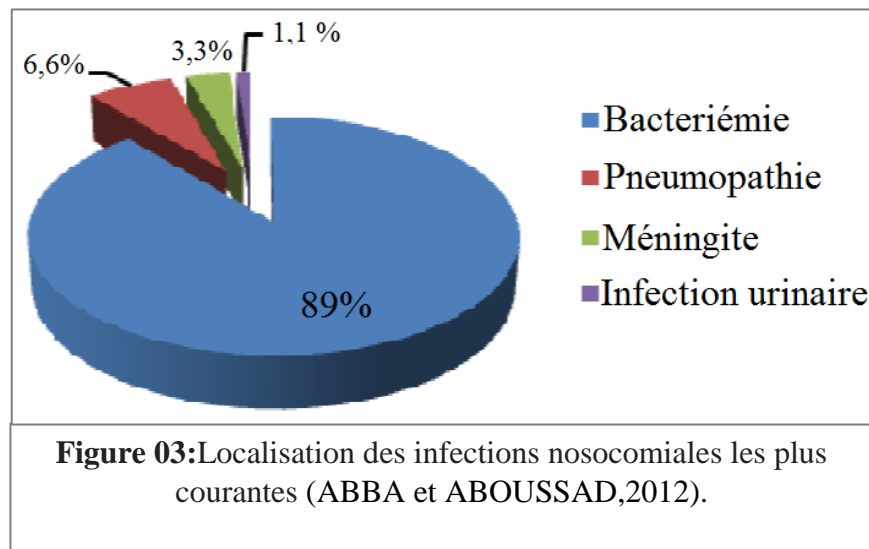
- Le poids de naissance a un impact significatif avec des proportions respectives de 46%, 25% et 9% chez les nouveau-nés dont le poids de naissance est inférieur à 1 000g, compris entre 1 000g et 2 500g et supérieur à 2 500g. Les nouveau-nés ayant un faible poids de naissance sont généralement enclins à la neutropénie. En outre, la fonction opsonisante vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* est fortement diminuée chez les prématurés (LACHASSINNE *et al*, 2004).
- La prolongation de la durée de séjour hospitalier est considérée comme un facteur de risque significatif, car elle contribue à la survenue de 75% des infections nosocomiales au-delà du 6^{ème} jour d'hospitalisation (LACHASSINNE *et al*, 2004).
- Les procédures invasives: Les infections nosocomiales sont souvent associées à l'utilisation de dispositifs invasifs, tels que les cathéters veineux, les sondes urinaires, les ventilateurs et les sondes d'intubation. Ces dispositifs peuvent favoriser la colonisation et la multiplication des bactéries, augmentant ainsi le risque d'infection (LACHASSINNE *et al*, 2004).



- L'antibiothérapie : L'utilisation excessive et inappropriée d'antibiotiques, déséquilibrent la flore des patients et entraînent des résistances aux médicaments (EL MEKES *et al*, 2020). Exemple Les entérocoques, qui sont à l'origine d'infections nosocomiales, ont développé une résistance à plusieurs antibiotiques, y compris la vancomycine (REBIAHI *et al*, 2014).

- Les pratiques d'hygiène inadéquates, telles que l'insuffisance du lavage des mains et le manque de stérilité des surfaces, peuvent conduire à une augmentation des maladies infectieuses (AMAZIAN *et al*, 2010).
- La méthode de pasteurisation, développée par Louis Pasteur, a joué un rôle clé dans l'amélioration de l'hygiène alimentaire en éliminant les microorganismes pathogènes présents dans les aliments. Parallèlement, Pasteur a encouragé les professionnels de la santé à adopter des pratiques stériles et isoler des patients contagieux dans des pavillons séparés pour éviter la transmission de maladies infectieuses. (LACHASSINNE *et al*, 2004).

1-1-6- Les différents sites d'infection nosocomiale : les germes nosocomiaux peuvent entraîner des infections dans plusieurs localisations chez les nourrissons



A) Infection urinaire :

Les cathéters urinaires et les sondes à demeure sont des facteurs de risque majeurs pour les infections urinaires nosocomiales. Lorsque des bactéries de l'urètre antérieur ou des mains du personnel médical sont directement introduites dans la vessie lors d'un cathétérisme ou d'un sondage, elles peuvent entraîner une bactériurie chez environ 6% des patients hospitalisés. Le risque d'infection urinaire augmente considérablement avec l'utilisation d'une sonde à demeure, avec environ 25% des patients présentant une infection urinaire dans les deux premières semaines suivant l'opération (CHEMSI *et al*, 2013). Pour réduire ce risque, il est crucial de discuter le besoin de sondage urinaire pour chaque patient et de limiter l'exposition autant que possible en utilisant des pratiques d'hygiène strictes par un personnel formé (DURANTEAU *et al*, 2009).

B) Infection du site opératoire :

Les infections survenant après une intervention chirurgicale constituent un sujet de préoccupation primordial dans les établissements de santé. Selon les estimations, environ 20% des IN découlent d'un processus opératoire. Ces infections peuvent être classifiées en 2 catégories, à savoir les infections de la plaie opératoire et les infections profondes affectant les organes (CHEMSI *et al*, 2012).

Les interventions chirurgicales qui sont considérées comme étant propre ont un faible risque d'infection, car elles ne sont pas exposées à la microflore endogène digestive et respiratoire. Par conséquent, les infections postopératoires sont rares (<2%) dans ces interventions et sont fréquemment liées à des germes de l'environnement transmis par les manipulations ou l'air. À l'inverse, les interventions chirurgicales qui exposent directement le patient à leur microflore digestive, respiratoire ou génitale, ont un taux d'infection postopératoire situé entre 10 et 20% en l'absence de traitement préventif par antibiotiques (BAVOUS, 2018).

Les infections du site opératoire sont considérées comme nosocomiales lorsqu'elles apparaissent dans les 30 jours suivant l'opération ou dans l'année suivant la pose d'un implant ou d'une prothèse (BOUGUENOUN, 2017).

C) Infection respiratoire basse (pneumonie) :

Les infections respiratoires basses, notamment la pneumonie, sont fréquemment associées à l'utilisation de la ventilation mécanique dans les unités de soins intensifs, ce qui en fait un véritable fléau dans ces environnements (AUJARD *et al*, 2014). Approximativement 15% des infections nosocomiales surviennent dans ces unités, et les pneumonies nosocomiales se distinguent des autres infections par leur forte mortalité. Plusieurs facteurs contribuent à cette situation, y compris la résistance aux antibiotiques et la virulence de certaines bactéries, la nécrose hémorragique qui accompagne la localisation pulmonaire, ainsi que la fragilité des patients atteints (TEBBAL, 2018). Et l'espèce principalement responsable est *Staphylococcus aureus*. Les symptômes cliniques ne sont pas spécifiques, mais toute détérioration des échanges gazeux ou modification des images radiologiques doit évoquer le diagnostic de pneumonie nosocomiale. Un diagnostic bactériologique est indispensable chez tout nouveau-né suspect de cette infection (AMAZIAN *et al*, 2010).

D) Bactériémie : Septicémie primaire :

Les infections nosocomiales, comme les septicémies, sont une réalité courante en milieu hospitalier et peuvent se manifester par des symptômes non spécifiques. Une confirmation de l'infection chez les nouveau-nés avec des cathéters veineux centraux et une évaluation de l'efficacité thérapeutique peuvent être obtenues à travers des hémocultures quantitatives. Les septicémies à *Staphylococcus aureus*, *épidermidis* et *Klebsiella* sont fréquentes, soumises à un taux de résistance élevé et possèdent un potentiel épidémiologique (MAOULAININE *et al*, 2014).

Les bactériémies ont un taux de mortalité élevé, généralement dues à une lésion de la muqueuse digestive, une infection buccale ou périnéale mineure ou à un cathétérisme vasculaire infecté par la flore opportuniste cutanée. Il est important de noter que la technique de pose et la localisation du cathéter ont un impact significatif sur la prévention des infections (TEBBAL, 2018).

E) Méningite :

La méningite bactérienne néonatale est une infection du système nerveux central qui survient principalement lors d'un sepsis néonatal (DUCEL *et al*, 2008). Les agents pathogènes les plus courants sont Streptocoque du groupe B, *Escherichia coli* et *Listeria monocytogenes*. Le risque de méningite est élevé lorsque le nombre d'unités formant des colonies dans l'hémoculture est élevé. En outre, des lésions du cuir chevelu peuvent favoriser la thrombophlébite des veines diploïques et la contamination directe du système nerveux central à partir d'un foyer auriculaire contigu (PEIGUE-LAFEUILLE *et al*, 2000). Le *Streptococcus agalactiae*, normalement présent dans la flore microbienne intestinale, est le principal agent responsable de la méningite néonatale. Les chercheurs ont identifié une protéine clé à la surface de cette bactérie, qui permet sa colonisation et son franchissement des barrières hémato-encéphalique et intestinale de l'hôte. Cette découverte pourrait inspirer la création de nouveaux outils diagnostiques et vaccinaux pour la prévention de la méningite à Streptocoque du groupe B (ABBA et ABOUSSAD, 2012).

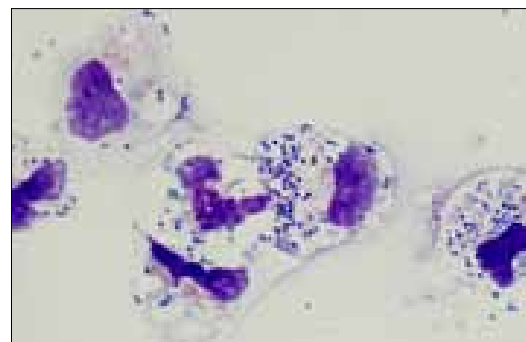


Figure 04: Streptocoques du groupe B dans du liquide céphalorachidien (DAUTRY, 2011).

1-1-7- Les mesures préventives:

- La prévention de la prématurité en prenant en charge la grossesse et l'accouchement, de plus il est primordial de promouvoir l'alimentation au lait maternel pour réduire le risque d'infection chez les nourrissons (BAVOUS, 2018).
- Une hygiène stricte tout au long de la prise en charge des nouveau-nés est indispensable, notamment le maintien d'une hygiène des mains rigoureuse avant et après chaque contact avec un patient, ainsi qu'entre les différentes activités sur le même patient. Les solutions hydro-alcooliques sont recommandées, mais leur utilisation correcte est essentielle pour éviter les erreurs (HORNG *et al*, 2016).
- Les précautions standard sont importantes pour prévenir la transmission des infections, elles comprennent l'utilisation de gants, masques et blouses lors de tout contact avec des fluides corporels ou des muqueuses, ainsi que la désinfection du matériel contaminé (GIROU *et al*, 2003).
- L'isolement des patients est indispensable pour les patients atteints d'une infection transmissible, en particulier les pathogènes multirésistants. L'isolement protecteur peut également être utilisé pour les patients immunodéprimés (BOUVET et BRUCKER, 1998).
- La gestion des antibiotiques est essentielle pour éviter la sélection de bactéries résistantes. Les antibiotiques ne doivent être prescrits qu'en cas de confirmation d'une infection bactérienne et doivent être utilisés à une dose appropriée et pour la durée appropriée, le choix thérapeutique devrait être basé sur une lecture interprétative de l'antibiogramme dans des conditions critiques (GUIBERT et BOITHIAS, 1999).
- La mise en œuvre d'un plan d'action visant à réduire la prévalence des infections nosocomiales en sensibilisant l'ensemble des personnels de santé, y compris les médecins, les infirmiers, les hygiénistes voir même la communauté, vis-à-vis de l'hygiène hospitalière et aux risques et impacts des infections nosocomiales (REPOND, 2012).

1-2-Protéine C réactive (CRP) :

1-2-1- Historique :

La Protéine C réactive ou CRP, a été découverte et mise en évidence aux Etats-Unis par William Tillet et Thomas Francis en 1930 lors de l'étude du sérum d'un patient souffrant de pneumopathie à pneumocoque; Ces chercheurs ont constaté une précipitation entre les polysaccharides C de la membrane du pneumocoque et la CRP, il a été démontré ultérieurement que cette réaction n'était pas spécifique des infections à pneumocoque et elle résultait de la liaison entre la CRP et les polysaccharides C en présence de calcium (HAJEK *et al*, 2011), cette protéine se fixe de manière spécifique à la phosphorylcholine présente dans de nombreuses bactéries et polysaccharides fongiques, ainsi qu'à la majorité des membranes cellulaires biologiques (HANRIOT, 2008).

1-2-2- Définition et structure :

La protéine C-réactive est une glycoprotéine circulante de phase aiguë de la réponse inflammatoire, elle est considérée comme un biomarqueur clinique essentiel pour la surveillance des patients en raison de sa sensibilité, son aptitude à refléter les capacités individuelles de l'hôte à induire une réponse inflammatoire suite à un stimulus qui peut être provoqué par des agressions, notamment d'origine septique (GALL *et al*, 2011).

Son unité internationale de mesure est le milligramme par litre (mg/L), et sa concentration dans le plasma doit être inférieure à 6mg/L selon la norme habituelle utilisée dans les laboratoires (PACCALIN, 2021).

Le locus du gène CRP est identifié sur le bras long de la région chromosomique 1, possède un seul intron et deux exons (DUPUY *et al*, 2003), cette protéine hautement conservée fait partie de la famille des pentraxine (GENDREL, 1998), avec une forme pentamérique cyclique d'une masse moléculaire de 120 kDa, elle se compose de cinq sous-unités identiques comportant chacune 206 acides aminés et un poids moléculaire d'environ 23 kDa, ces sous-unités fortement liées forment un anneau de 102 Å organisées autour d'un pore central de 30 Å en suivant la même orientation, cette configuration lui confère une stabilité et une résistance à la protéolyse (FEBRE-JAMES, 2019).

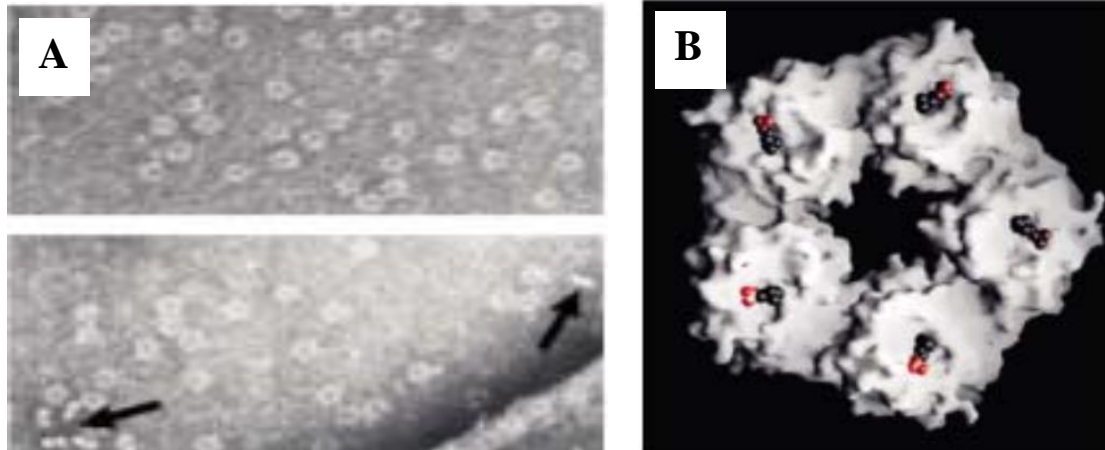


Figure 5: Structure et morphologie de la Protéine C Réactive humaine (PEPYS et HIRSCHFIELD, 2003)

A : Photographie en microscopie électronique de la forme pentamérique

B : Modèle dans l'espace de la molécule de CRP avec une molécule de phosphocholine localisée dans le site de fixation du ligand de chaque protomère typique.

En outre, elle est constituée d'une face dite "de reconnaissance", qui s'implique dans la liaison calcium-dépendante avec le ligand, principalement la phosphocholine (PC), tandis que l'autre face, dite "effectrice" interagit avec les récepteurs Fc des IgG et le facteur de complément 1q (C1q) du système du complément (FEBRE-JAMES, 2019).

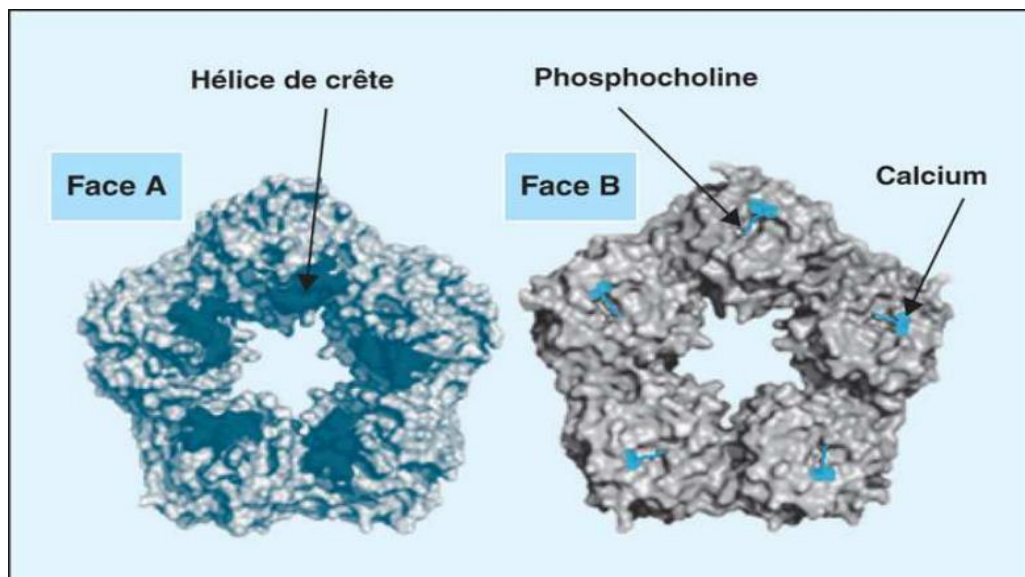


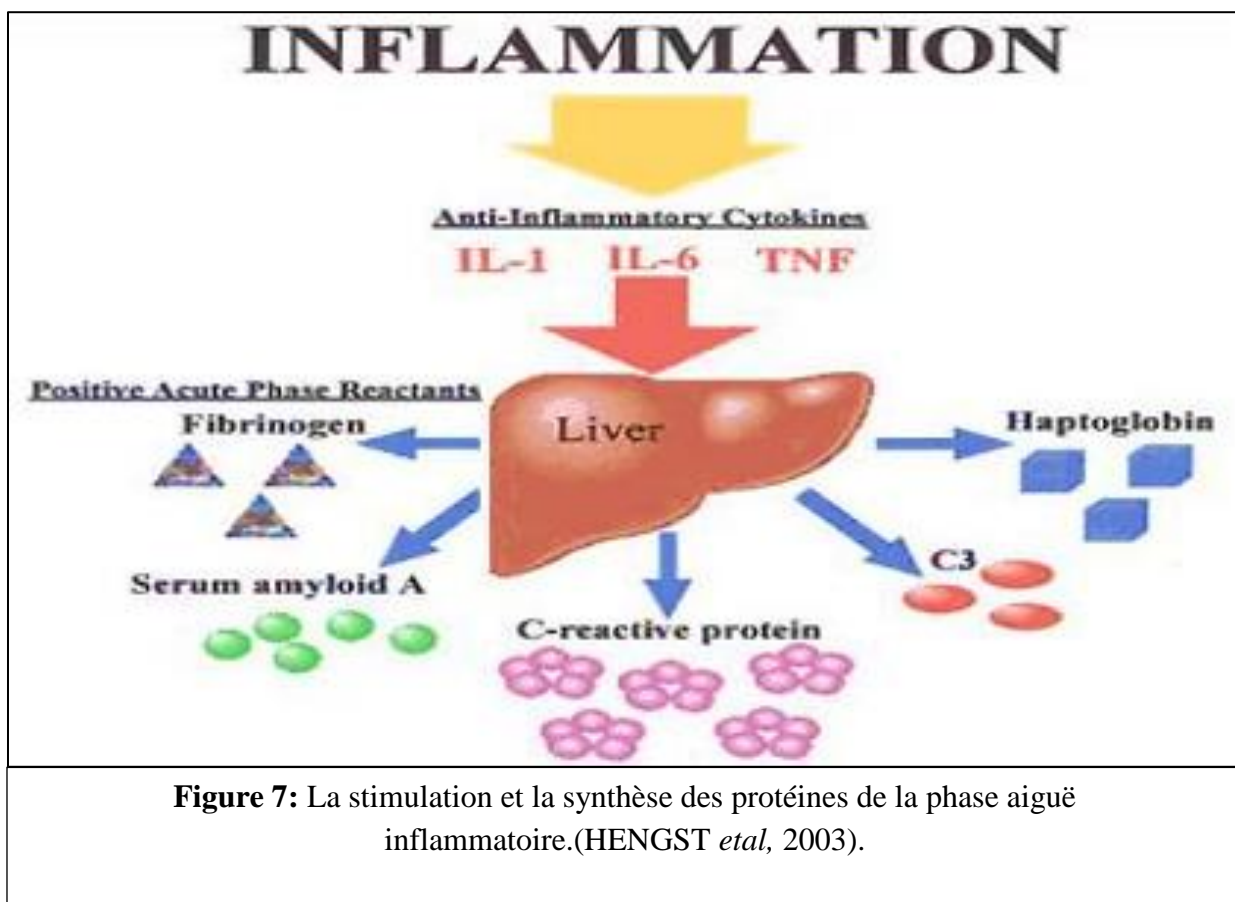
Figure 6: Schéma représentant la structure de la CRP (PEISAJOVICH *et al*, 2008)

Face A : Face effectrice **Face B :** Face de reconnaissance

1-2-3- La synthèse de la CRP:

La protéine C réactive comme la plupart des protéines de l'inflammation est synthétisée principalement par les hépatocytes et est habituellement présente à un état de trace dans le plasma (GENDREL, 1998).

Au tout début de la réponse inflammatoire, un nombre croissant d'hépatocytes sont recrutés de manière extrêmement rapide pour synthétiser la CRP, principalement en réponse à certaines cytokines pro-inflammatoires comme l'interleukine 6 (IL6) ce qui induit l'augmentation du taux de CRP dans un intervalle de temps allant de 4 à 6 heures atteignant son pic entre 24 à 48 heures (GENDREL, 1998) pour finalement retourner à des niveaux normaux lorsque l'inflammation prend fin, la demi-vie de cette protéine est d'environ 19 heures (LEMARIE et GIBOT, 2013).



TableauII: Comportement de la CRP dans différentes pathologies (PEPYS ET HIRSCHFIELD, 2003)

Concentrations élevées en CRP	Infections	Bactéries Mycobactéries Virus
	Complications allergiques ou infection	Fièvre rhumatismale Œdème érythémateux
	Maladies inflammatoire	Arthrite rhumatoïde Arthrite chronique juvénile Maladie de Reiter Maladie de Crohn Fièvre méditerranéenne familiale
	Nécrose	Infarctus du myocarde Embolie tumorale Pancréatite aigue
	Traumatisme	Chirurgie Brûlures Fracture
	Cancer	Lymphome Carcinome Sarcome
Concentrations plus faibles ou normales de la CRP	Lupus érythémateux Leucémies Colite ulcération	

1-2-4- Mode d'action :

L'augmentation du taux de la protéine C-réactive (CRP) dans le sang est un indicateur de l'intensité de la réponse inflammatoire, surtout lorsqu'elle est liée à un état infectieux (GALLetal, 2011).

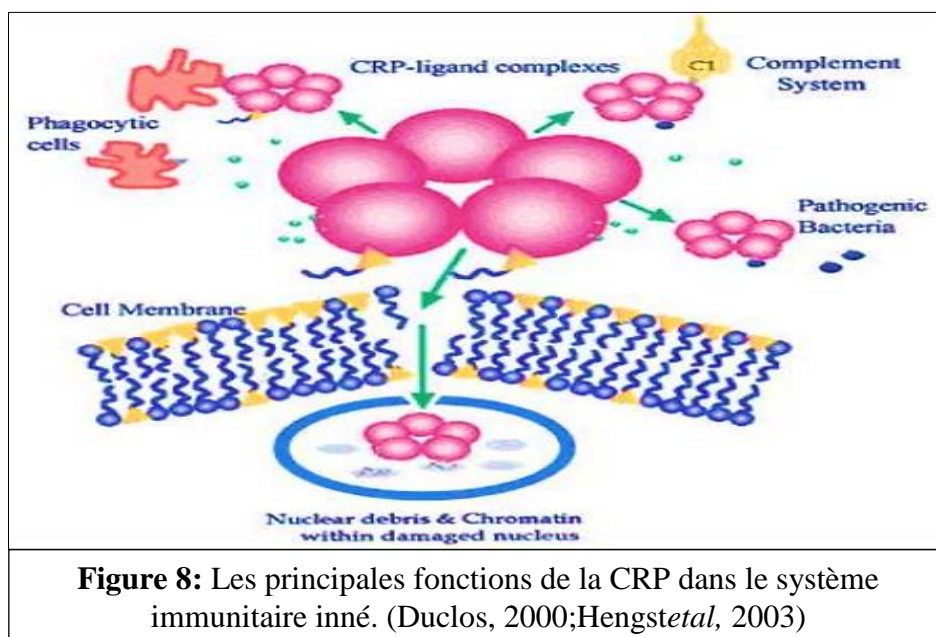
Elle présente des caractéristiques à la fois pro-inflammatoires et anti-inflammatoires et elle joue un rôle majeur dans l'immunité innée (MCFADYEN et al, 2020).

1-2-4-1- La reconnaissance et l'élimination des agents pathogènes externes et des cellules endommagées :

La CRP permet la reconnaissance et l'élimination des agents pathogènes et des cellules endommagées en engageant des liaisons calcium-dépendantes avec les phosphocholines qui se retrouvent dans les phosphatidylcholines et les sphingomyélines des membranes bactériennes et cellulaires, ce processus renforce l'opsonisation de ces cellules et facilite leur destruction. La face « de reconnaissance » de la CRP favorise la formation d'agrégats autour des agents pathogènes tandis que la face opposée « effectrice » se lie aux récepteurs Fc des IgG présents sur les membranes des cellules phagocytaires, telles que les macrophages et les neutrophiles, cette liaison conduit à l'élimination ultérieure de ces cellules (FEBRE-JAMES, 2019).

1-2-4-2-L'activation de la voie classique du complément :

La fixation des ligands sur la face de reconnaissance de la CRP provoque des changements conformationnelles ceci permet à cette protéine d'entrer en interaction directe avec le complexe de reconnaissance de C1q, ce qui entraîne une activation de la cascade du complément conduisant finalement à la formation du complexe d'attaque membranaire (MAC) et génère les anaphylatoxines C3a et C5a et les opsonines C3b et C4b, qui provoquent respectivement une lyse cellulaire, un recrutement accru de leucocytes et une phagocytose (BOULZE et GALLIX, 2016).



1-2-5- L'utilité de la mesure de la CRP dans les infections nosocomiales néonatales:

Chez les nouveau-nés les infections sont responsables de la plupart des inflammations, elles peuvent provenir de différentes origines, d'origine materno-fœtales (infections néonatales précoces) et d'origine externe (infection nosocomiale en fait partie)(GARNOTEL *etal*, 2006).

Au plan biologique, aucun marqueur n'a une spécificité et une sensibilité parfaite, cependant la protéine C réactive (CRP) semble être un marqueur performant pour apprécier le syndrome inflammatoire grâce à sa cinétique rapide (HAJEK *etal*, 2011; HABZI *etal*, 2001).

Ce test hautement sensible offre la possibilité de suivre de près les changements de l'état inflammatoire, en étant le premier à retourner à des niveaux normaux lorsque la réponse inflammatoire prend fin (HAJEK *etal*, 2011).

La diminution de la CRP au bout de 48 heures est un indicateur de l'efficacité d'un traitement antibiotique, il est très important que l'interprétation des résultats de la CRP soit faite en fonction des symptômes et des antécédents médicaux du patient par un professionnel qualifié de la santé, car toute prescription inopportune d'antibiotiques induit la prolongation du séjour hospitalier du nouveau-né, ce qui augmente le risque d'infections nosocomiales et l'émergence de micro-organismes multirésistants (NOURI-MERCHAOUI *etal*, 2009).

Matériel et méthodes

2- Matériel et méthodes :

2-1-Période et lieu de l'étude :

Notre travail a consisté en la réalisation d'une étude prospective et rétrospective réalisée au sein du CHU Nedir Mohamed de Tizi-Ouzou sur une période de 12 mois, allant de janvier à décembre 2022. Cette étude a été menée au niveau des services de néonatalogie, de biochimie et de microbiologie, au cours d'une période de stage s'étendant du 26 février au 25 avril 2023.

L'étude que nous avons effectuée a consisté en l'examen des dossiers des nouveau-nés hospitalisés contenant les informations suivantes : le nom, le prénom, le sexe, la date d'entrée et de sortie, le diagnostic d'entrée, les bilans effectués, les traitements utilisés, l'évolution de l'état physiologique.

Les tests de CRP ont été réalisés au niveau du service de biochimie, tandis que les analyses microbiologiques de l'ECBU et de l'hémoculture ont été effectuées dans le service de microbiologie.

2-2- Population échantillonnée :

Il s'agit des nouveau-nés hospitalisés ayant manifesté des symptômes infectieux et élévation de la CRP après 48h suivant leur admission au service de néonatalogie, au niveau du Centre Hospitalo-Universitaire de Tizi-Ouzou.

2-3-Dosage de la protéine C-réactive :

2-3-1- Prélèvement sanguin :

Les prélèvements sanguins sont effectués au service de néonatalogie tout en respectant les consignes d'asepsie par un personnel qualifié vu la fragilité de la population étudiée, en utilisant des tubes héparines, sur chaque tube une étiquette est collée pour inclure les informations du patient, puis ils sont acheminés vers le laboratoire de biochimie pour effectuer les analyses prescrites, notamment le dosage des taux de la CRP.

2-3-2 Mode opératoire : Le dosage de la protéine C réactive (CRP) a été réalisé avec l'automate COBAS INTEGRA 400 PLUS suivant ce protocole :

1. Dès réception des échantillons, une centrifugation immédiate est effectuée à 3460 tours par minute pendant 2 à 5 minutes puis le plasma est récupéré dans un tube sec à l'aide d'une pipette.
2. On vérifie que tous les réactifs et les consommables nécessaires sont insérés dans l'automate.
3. Les échantillons sont chargés dans l'automate Cobas en respectant plusieurs paramètres incluant le volume, des informations sur le patient, numéro de l'échantillon, l'identification du test ainsi que la date et l'heure du test.
4. L'analyse des échantillons par l'automate se déroule en plusieurs étapes et les résultats sont affichés en milligrammes par litre (mg/L) de CRP pour chaque échantillon testé, visualisables sur l'écran ou sur le rapport imprimé de l'automate.
5. L'interprétation se fait par comparaison des résultats de la CRP avec les valeurs normales de référence ou aux indications médicales pour déterminer la présence ou non d'une inflammation aiguë.

2-3-3- Appareillage



Figure 9: Centrifugeuse ROTOFIX 32A (photographie personnelle)



Figure 10: Automate COBAS integra 400 plus (photographie personnelle)

2-3-3-1- Présentation de l'appareil :

L'automate COBAS Integra 400 plus est un système d'analyseur de laboratoire conçu pour effectuer une large gamme de tests diagnostiques sur des échantillons biologiques tels

que le sang, l'urine et le liquide céphalo-rachidien. Il est utilisé pour quantifier des enzymes, des substrats, des protéines spécifiques, des médicaments et des drogues.

Le COBAS Intégra est un système de chimie liquide fonctionnant à partir de cassettes réactives, stockées dans un compartiment réfrigéré. Ce système présente de nombreux avantages, tels que la rapidité d'exécution pour les cas d'urgence ou la routine, ainsi que des capacités autonomes pour les maintenances et la dilution des échantillons ,etal AYADI) .(2019

2-3-3-2- Principe de mesure de l'automate

Le dosage par l'automate COBAS INTEGRA 400 plus repose sur l'intégration de plusieurs principes de mesure différents, notamment la photométrie d'absorption, la turbidimétrie, la polarimétrie de fluorescence, la potentiométrie directe et indirecte.

Le dispositif d'analyse CRPLX est un test de diagnostics in vitro qui vise à établir une mesure immunologique quantitative des taux de la protéine C réactive humaine dans le plasma et le sérum en mesurant l'agglutination résultante de CRP sur les particules de latex recouvertes d'anticorps anti-CRP. Nous utilisons un test turbidimétrique à une longueur d'onde spécifique de 552 nm.

Les dispositifs d'analyse COBAS INTEGRA sont dotés d'une fonction de calcul automatique permettant de déterminer la concentration en analytes de chaque échantillon)Fiche technique de l'automate(.

Tableau III : les principaux paramètres utilisés par l'automate COBAS INTEGRA 400 plus

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Cinétique
Mode réactionnel	R1-S-SR
Sens de la réaction	Augmentation
Longueur d'onde	552 nm
Unité	Mg/l

2-3-3-3- Calibration de l'automate :

La calibration de l'appareil est essentielle pour établir une courbe de mesure de l'absorbance en fonction des concentrations de calibrateur. Pour réaliser la calibration, l'automate effectue des dilutions successives en utilisant un calibrateur à concentration connue, ensuite chaque dilution sera analysée, et les résultats sont représentés sous forme d'un graphique où les concentrations sont sur l'axe des abscisses tandis que les absorbances se retrouvent sur l'axe des ordonnées. Les points de mesure sont ensuite liés pour produire une courbe de calibration.

Il est généralement recommandé de recalibrer l'automate à chaque nouveau lot de réactif afin d'optimiser les résultats de mesure (AYADI *et al*, 2019).

2-3-3-4- Contrôle :

La validation d'un automate implique une étape initiale avant sa mise en utilisation régulière. Il est également nécessaire de continuellement vérifier et confirmer ses performances pour assurer la qualité du processus analytique et des résultats obtenus lors de son fonctionnement quotidien.

Les pratiques de laboratoire recommandent la réalisation de contrôles normaux et pathologiques pour chaque test, au minimum une fois par jour, afin de surveiller le processus analytique. Dans les cas où le test est instable pendant moins de 24 heures ou en réponse à une modification du processus qui présente un potentiel d'impact, des contrôles plus fréquents devront être réalisés.

Si les valeurs obtenues se situent dans l'intervalle fourni par Roche pour COBAS, alors l'analyse peut être réalisée (AYADI *et al*, 2019).

2-3-3-5- Composition et concentrations des réactifs :

Cet automate requiert deux réactifs pour son fonctionnement, à savoir le Réactif 1 (R1) et le Réactif 2 (R2), adéquats pour la synthèse d'un complexe antigène-anticorps permettant la mesure de la CRP sérique. Le R1 est constitué d'un tampon TRIS avec sérum-albumine bovine et d'immunoglobulines de souris, stabilisé par de l'azide de sodium à une concentration de 0,09%. Quant au R2, il est composé de particules de latex revêtues d'anticorps anti-CRP de souris dans un tampon glycine stabilisé avec de l'azide de sodium (0,09%) (Fiche technique de l'automate).

Afin d'optimiser les performances de mesure, il est recommandé de bien homogénéiser toutes les cassettes non perforées pendant 1 minute sur un agitateur de cassettes avant leur chargement sur l'analyseur(Fiche technique de l'automate).



Figure 11 : Cassette de réactifs
(photographie personnelle)

Tableau IV : Paramètre de pipetage de l'automate CobasINTEGRA 400 plus

		Diluant (H ₂ O)
Réactif 1	82 µl	48 µl
Echantillon	2,5 µl	30 µl
Réactif 2	28 µl	14 µl
Volume total	205,5 µl	

2-3-3-6- Matériel auxiliaire nécessaire :

Une solution saline isotonique de NaCl à 9% est utilisée pour la post-dilution automatique des échantillons, ainsi que pour les séries de dilutions pour standards, elle est positionnée sur le rack de l'analyseur COBAS INTEGRA ; la stabilité de cette solution saline est assurée pendant 28 jours après son placement sur l'analyseur(Fiche technique de l'automate).

2-4- Hémoculture :

2-4-1- Prélèvement :

Le prélèvement sanguin pour l'hémoculture nécessite une collecte de 1 à 2 CC (1000 à 2000µl) de sang veineux chez le nourrisson, il doit être effectué avec une asepsie rigoureuse au niveau du site de ponction pour éviter la contamination des flacons par des germes cutanés ou environnementaux qui fausserait les résultats, le sang est ensuite inoculé dans des flacons d'hémocultures qui contiennent un bouillon d'enrichissement citraté, puis agité par deux ou trois retournements pour mélanger l'ensemble.

L'identification et la numérotation des prélèvements se font au lit du patient en faisant attention à ne pas coller l'étiquette sur le code-barres du flacon.

Les flacons ainsi que la feuille de prescription sur laquelle des informations du prélèvement sont mentionnées (la date et l'heure du prélèvement...) sont acheminés rapidement et dans des conditions stériles vers le laboratoire d'analyse microbiologique pour l'incubation et l'analyse.

2-4-2-Principe :

L'hémoculture est une technique diagnostique microbiologique qui consiste à la mise en culture du sang d'un patient dans l'objectif d'identifier la présence ou l'absence de microorganismes (bactéries aérobies ou anaérobies et levures).

Etant donné que le sang est initialement stérile la présence de tout agent pathogène peut entraîner une bactériémie ou une septicémie si la charge bactérienne est élevée (KOECK *etal*, 2001).

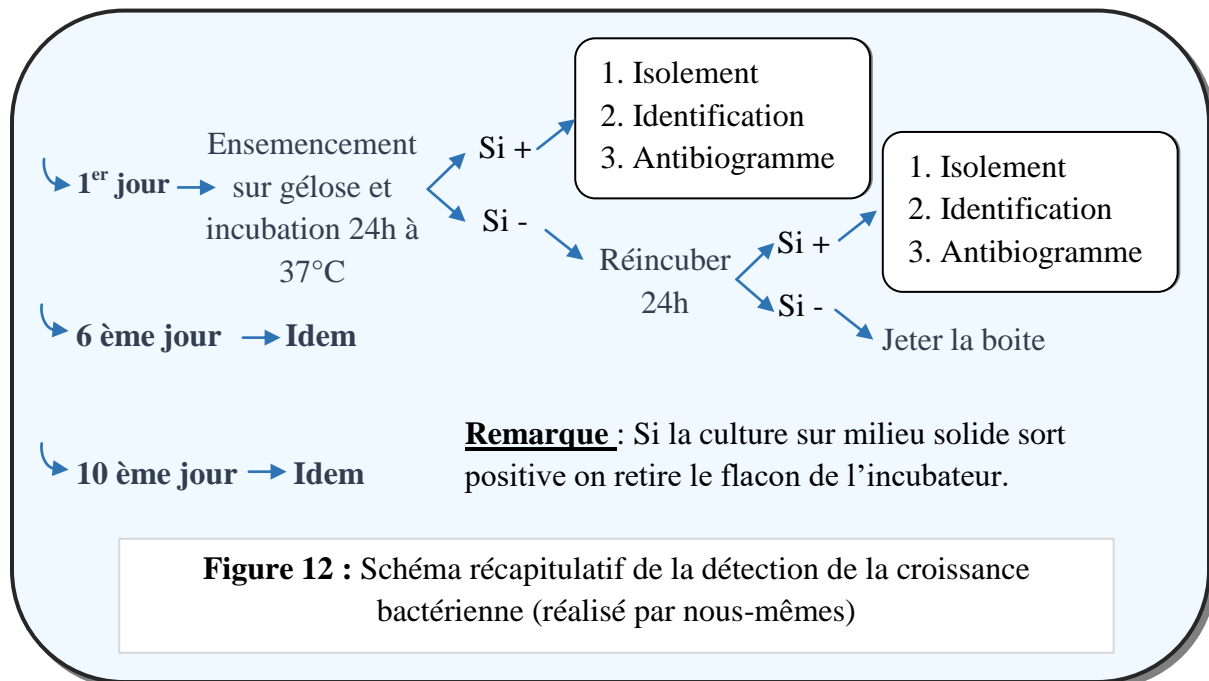
2-4-3- Détection de la croissance bactérienne :

Cette détection peut être réalisée selon deux méthodes : la méthode classique utilisant des dispositifs manuels, et la méthode automatisée à détection continue.

- **Méthode classique :**

Les flacons d'hémoculture sont incubés dans un incubateur classique à une température de 37°C pendant une période de 10 jours, à l'issue de laquelle une inspection visuelle régulière des flacons est effectuée par le technicien du laboratoire à la recherche des signes d'une

croissance des microorganismes (trouble du milieu de culture, production de gaz). De plus, des repiquages sur gélose solide (gélose à sang frais GSF et gélose à sang cuit GSC) et sont réalisés trois fois, soit 1 journée après l'admission de l'échantillon, 6 jours après, et 10 jours après.



- **Technique automatique avec le BACT/ALERT 3D :**

L'automate **BACT/ALERT 3D** présente des performances lui permettant la détection de la croissance bactérienne à l'intérieur des flacons d'hémocultures, il est muni d'une étuve qui assure de façon autonome une incubation à 37°C et une agitation continue tout au long de l'analyse qui dure 7 jours maximum.

Les cultures positives sont détectées en temps réel, signalées par une alarme sonore et l'emplacement du flacon en question s'affiche sur l'écran, cette alerte permet au technicien du laboratoire de les prendre en charge en procédant à l'isolement et à l'identification du microorganisme. En l'absence de toute alerte de l'automate pendant la période d'incubation de 7 jours, l'hémoculture est considérée comme négative.

La gestion des flacons sur l'appareil BACT/ALERT 3D est très simple et se fait en suivant trois étapes : **Sélectionner, Identifier, Charger :**

- Les **commandes tactiles** exclusives simplifient la gestion des flacons en permettant un contrôle sans texte.

- Le lecteur de code-barres accélère et facilite l'entrée des flacons en lisant l'étiquette d'**identification** ainsi que les numéros du système d'information de laboratoire.
- L'appareil est doté de dispositifs de détection dans chaque cellule qui permettent de reconnaître instantanément les mouvements des flacons et de **charger** des flacons n'importe où dans le système.



Sélectionnez Identifiez Chargez

Figure 13 : Les 3 étapes de la gestion des flacon d'hémocultures destinés au Bact/Alert 3D (réalisé par nous-mêmes).

Remarque :

- ✓ Tout échantillon détecté positif fait l'objet d'une mise en culture sur des milieux solides gélosés sélectifs et non sélectifs, en ensemencement en stries à l'aide d'une anse à platine dans des conditions aseptiques
- ✓ A la fin de la période d'incubation, les flacons sont obligatoirement retirés de l'incubateur pour laisser place aux nouveaux flacons.

2-5- Etude Cytobactériologique des Urines (ECBU)

2-5-1- Prélèvement urinaires avec collecteur

Le collecteur d'urine (poche adhésive) est la méthode utilisée pour collecter des échantillons d'urine chez les nourrissons, ils sont idéalement collectés le matin au réveil après un minimum de 4 heures depuis la dernière miction, afin de permettre une période suffisante de stagnation dans la vessie pour qu'en cas d'infection urinaire les bactéries soient assez nombreuses pour une mise en culture.



Figure 14 : Poche à urine stérile

La méthode de prélèvement est réalisée comme suit :

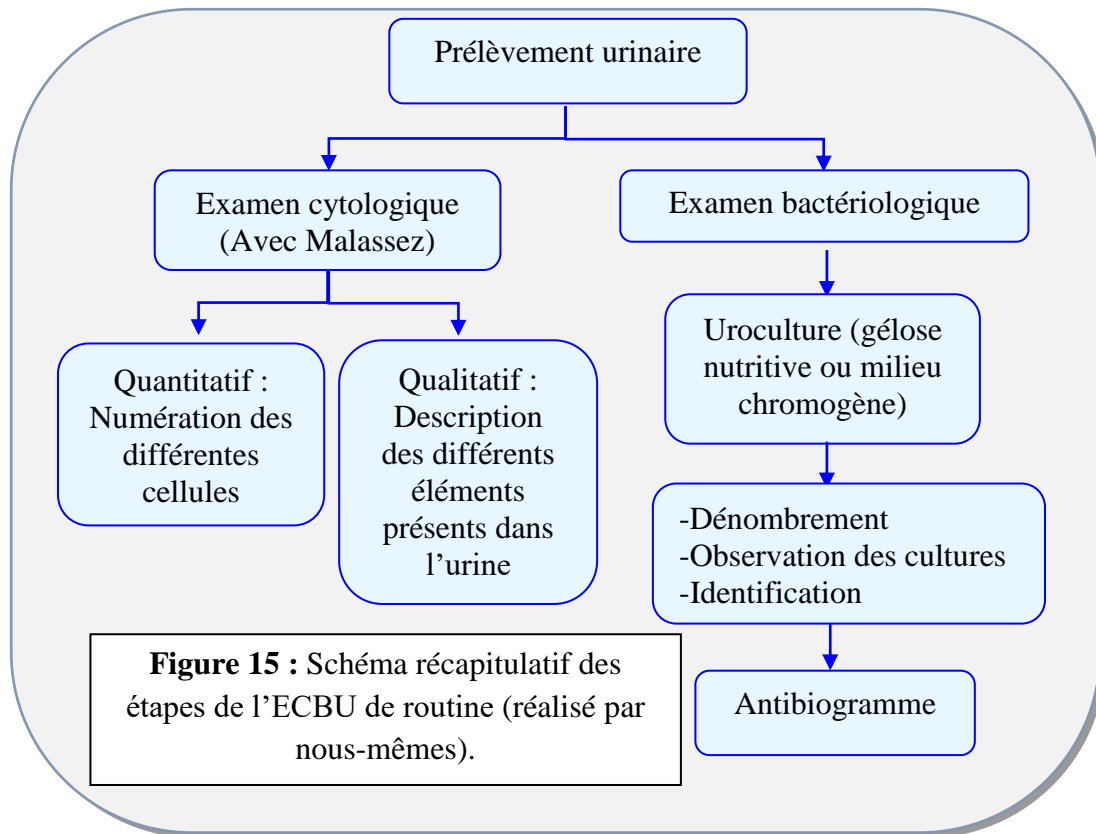
- 1- Un lavage soigneux des mains du manipulateur est indispensable avant toute manipulation du sachet collecteur stérile.
- 2- Procéder au lavage des organes génitaux externes et de toute la région périnéale d'une manière centrifuge avec une solution de Dakin.
- 3- Attendre 1 à 2 minutes pour assèchement de la peau, puis fixer le sachet collecteur au moyen de l'adhésif en évitant tout contact avec la face interne de l'ouverture.
- 4- Le collecteur ne doit pas être laissé plus de 20 minutes. Au-delà de ce temps, il doit être remplacé par un nouveau sachet en respectant la même procédure.
- 5- Refermer soigneusement le sachet contenant les urines immédiatement après la collecte, et le transmettre rapidement au personnel du laboratoire.

Remarque :

- ✓ À température ambiante, l'échantillon d'urine doit être acheminé au laboratoire dans un délai de 2 heures. Si cela n'est pas possible, le pot peut être conservé jusqu'à 10 heures au réfrigérateur. Cependant, il est fortement recommandé de soumettre l'échantillon dès que possible afin de permettre une identification rapide des agents pathogènes et la mise en place d'un traitement approprié pour prévenir les complications de santé.
- ✓ Lorsqu'un résultat positif est détecté, il est impératif d'effectuer un second prélèvement afin de confirmer le résultat et d'éviter les faux positifs causés par une contamination. Cette mesure préventive garantit la fiabilité et la validité des données obtenues.

2-5-2- Les étapes de la réalisation de l'ECBU :

Le schéma suivant résume la procédure d'ECBU de routine effectuée pour tous les prélèvements urinaires admis au laboratoire de microbiologie :



2-5-2-1- Examen macroscopique des urines

Ce procédé consiste à effectuer l'analyse visuelle des propriétés physiques de l'urine : l'aspect ; la couleur et la présence ou l'absence de pus ou de sang.

L'analyse est effectuée pour vérifier l'aspect de l'urine qui doit être claire et jaune. Si l'urine est trouble ou présente une couleur anormale, cela peut indiquer une présence de bactéries ou de cellules sanguines.

2-5-2-2- Examen cytologique (microscopique) :

- **Examen direct sur cellule de Malassez :** L'examen cytologique consiste à examiner une urine fraîchement prélevée en utilisant un microscope avec l'objectif (x40), l'échantillon se prépare suivant ces étapes :
 - L'urine est soigneusement homogénéisée en retournant le flacon d'urine correctement bouché.
 - Ensuite, une goutte d'urine est prélevée à l'aide d'une seringue propre et déposée entre une lame de Malassez et une lamelle de verre. La taille de la goutte doit être suffisante pour remplir l'espace sous la lamelle, mais pas trop pour éviter les débordements.

Il est important de réaliser ce test dans les deux heures suivant le prélèvement pour éviter l'altération des éléments cellulaires.

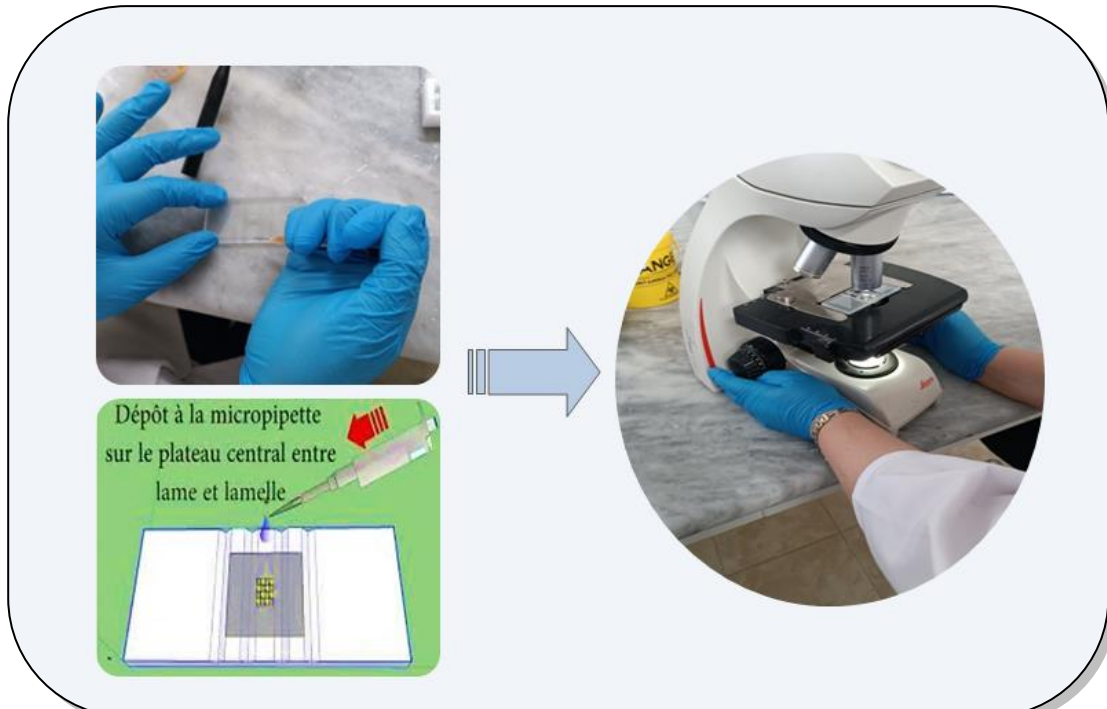


Figure 16 : Observation de l'urine déposée sur la cellule de Malassez sous microscope (réalisé par nous-mêmes)

Cet examen présente deux objectifs :

- ✓ **Quantitatif** : Correspond à la numération des différentes cellules présentes dans les urines.
- ✓ **Qualitatif** : Description des différents éléments (leucocytes, hématies, cellules épithéliales, cristaux, levures, flore bactérienne etc.) Les résultats sont exprimés par mm³.

2-5-2-3- Examen bactériologique :

- **L'uroculture** : La procédure de l'uroculture implique plusieurs étapes cruciales pour prévenir la contamination et assurer la réussite de l'analyse microbiologique :
 - Tout d'abord, on stérilise l'anse à boucle à l'aide d'une flamme du bec bunsen pour éviter la contamination croisée.
 - Une fois l'anse à boucle stérilisée, on prélève un échantillon d'urine à partir du flacon avec précaution pour éviter toute contamination ou altération de l'échantillon.

- On dépose l'échantillon prélevé sur une boîte de pétri contenant un milieu de culture approprié, tel que la gélose nutritive (GN) ou chromogène. Ceci permet de favoriser la croissance des bactéries présentes dans l'échantillon.
- Une fois l'échantillon déposé, on réalise un trait au milieu de la boîte de pétri suivi de stries perpendiculaires qui sont desserrées au fur et à mesure (c'est la méthode de l'anse calibrée). Cette technique assure une répartition uniforme de l'échantillon et permet de distinguer les colonies microbiennes.
- Une fois ces étapes terminées, la boîte de pétri est incubée pendant 24 heures à une température de 37°C.
- Ensuite, un diagnostic est réalisé à partir de l'observation des colonies microbiennes formées sur la boîte de pétri en utilisant diverses techniques microbiologiques.

Remarque :

- ✓ La gélose nutritive est un milieu de culture fréquemment utilisé pour le dénombrement des colonies. Chaque colonie représente une unité formant une colonie (UFC) par microlitre (μL), ce qui équivaut à une concentration de 1000 UFC/ml.

2-6- Identification :

2-6-1- Identification macroscopique via un milieu sélectif :

L'identification des souches bactériennes est réalisée en étudiant leurs caractéristiques morphologiques telles que la taille, l'aspect et la couleur des colonies. Cette méthode est mise en œuvre le deuxième jour suivant l'incubation à partir d'une colonie isolée.

Le BD CHROM agar Orientation Medium est un milieu de culture qui permet de différencier directement certaines espèces et de détecter certains groupes de microorganismes avec un nombre limité de tests de confirmation, il est constitué de substrats artificiels (chromogènes), qui libèrent des composés de diverses couleurs lors de la dégradation causée par des enzymes microbiennes spécifiques (MANICKAM et al, 2013).

2-6-2- Identification microscopique :

- **Etat frais :**

Pour l'observation microscopique à l'état frais, une goutte d'eau physiologique et une colonie isolée à partir du milieu d'ensemencement ont été déposées sur une lame à l'aide d'une pipette pasteur, puis recouvertes d'une lamelle et observées au microscope avec un grossissement de X40.

Si la présence de levures est suspectée, on procède à leur identification en ensementant l'inoculum à l'aide d'une anse à platine sur gélose sabouraud(milieu Candida) et incubé à 37°C pendant 48 heures.

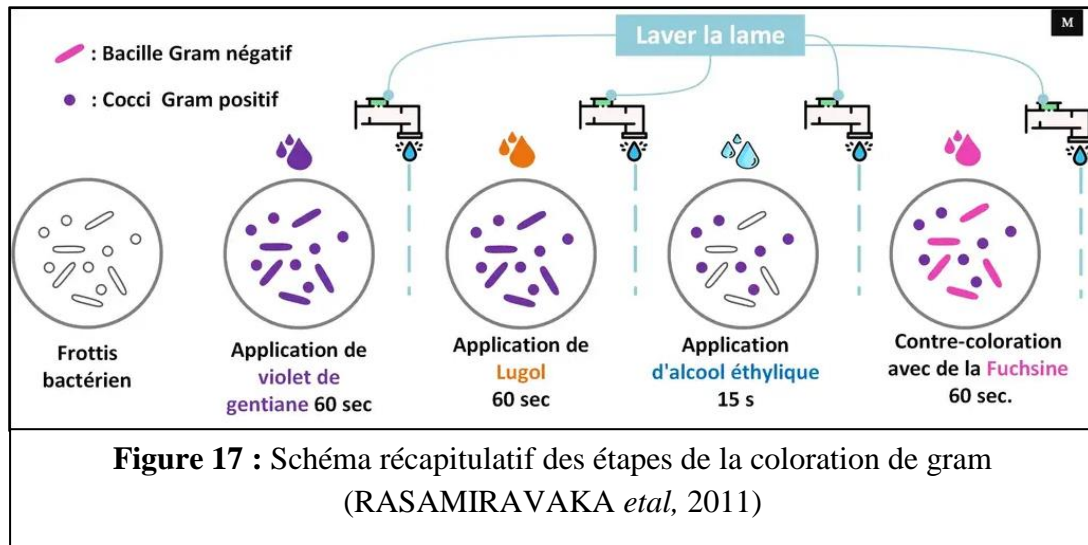
Test de filamentation: consiste en une observation des colonies sur la gélose Sabouraud chloramphénicol. Pour effectuer ce test on suit ces étapes :

- On prépare une suspension de 3 à 4 colonies observées sur la gélose Sabouraud Chloramphénicol dans un tube sec contenant 500µLde sérum humain.
 - On incube pendant 2 heures à une température de 37°C.
 - On observe une goutte entre une lame et lamelle au microscope.
 - Si les levures observées sont bourgeonnantes et présentent des filaments dont la longueur est 3 fois supérieure à celle de la levure, cela révèle la présence de *Candida albicans*. En revanche, si les levures ne sont pas bourgeonnantes, cela signifie qu'il s'agit de *Candida spp*.
- **Examen direct après coloration de Gram :**

La coloration de Gram se réalise suivant ces étapes (RASAMIRAVAKA *etal*, 2011) :

- Réaliser un frottis de bactéries sur une lame puis le sécher et le fixer en le faisant passer plusieurs fois dans la flamme du bec bunsen.
- Une solution de violet de Gentiane est ensuite appliquée sur la lame et laissée pendant 60 secondes.
- Après avoir éliminé le violet de Gentiane par rinçage avec de l'eau, une solution de Lugol est appliquée pendant 60 secondes.

- Rincer le Lugol, puis décolorer avec de l'alcool pendant environ 30 secondes avant d'être rincée à l'eau pour arrêter la décoloration.
- La lame est ensuite recouverte d'une solution de fuchsine diluée pendant 60 secondes, puis rincée à l'eau.
- Enfin, la lame est séchée à chaleur et observée au microscope (x100) en utilisant l'huile d'immersion.



2-6-3- Identification biochimique :

2-6-3-1- Tests d'orientation :

L'identification des bactéries se base sur leurs caractéristiques biochimiques, telles que la production de catalase, d'oxydase ou la fermentation de certains sucres.

A. Test d'Oxydase

Le test d'oxydase permet la détection de l'enzyme phénylène-diamine-oxydase des bactéries Gram (-) grâce à l'oxydation du réactif N-diméthylparaphénylène diamine (HASAN *etal*, 2014).

- **Réalisation du test** : Placer un disque d'Oxydase sur une lame, ensuite on dépose une colonie ou deux avec une pipette pasteur. Si il y'a :
 - ✓ La présence de la tâche violette indique une bactérie oxydase positive possédant le cytochrome oxydase

✓ L'absence de coloration indique une bactérie oxydase négative ne possédant pas l'enzyme respiratoire

B. Test de catalase

Le test de catalase permet la détection de la présence de l'enzyme catalase qui décompose l'eau oxygénée en eau et en oxygène, cette enzyme est présente chez la majorité des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatifs (HASAN *etal*, 2014).

- Réalisation du test

On dépose sur une lame une goutte d'eau oxygénée stabilisée ensuite on dépose une colonie avec une pipette pasteur.

✓ Le dégagement gazeux indique la présence de l'enzyme catalase, tandis que son absence indique le contraire.

C. Recherche de la coagulase

La coagulase est une enzyme connue pour sa capacité à coaguler le plasma sanguin, la mise en évidence staphylocoagulase permet la détection des Staphylocoques (HASAN *etal*, 2014).

- Réalisation du test

On mélange 1 ml de plasma sanguin avec une colonie bactérienne dans un tube à hémolyse stérile puis on incube à 37°C pendant 2h

✓ On considère que c'est positif si le plasma est coagulé, cela signifie que le fibrinogène est transformé en fibrine, donc il s'agit bien de *Staphylococcus aureus*.

✓ Si au contraire, il n'y a pas de coagulation, cela indique qu'il ne s'agit pas de *Staphylococcus aureus* mais de *Staphylococcus* à coagulase négative (SCN).

2-6-3-2- Galerie classique :

A. Recherche de l'uréase

L'utilisation du milieu Urée Indole permet de mettre en évidence la présence de l'enzyme uréase, de la tryptophane désaminase et de la production d'indole (RICHARD, 1979).

Le test consiste à ajouter une colonie bactérienne à 2 ml de milieu Urée Indole dans un tube stérile, suivi d'une incubation de 24 heures à 37 °C.

- ✓ Une réaction positive est indiquée par l'alcalinisation du milieu causée par la transformation de l'urée en carbonate d'ammonium par l'uréase, entraînant une coloration rouge violacé en présence de rouge de phénol.
- ✓ La présence d'indole est mise en évidence par l'ajout de réactif de Kovacs, provoquant une coloration rouge dans la partie supérieure du milieu en cas de réaction positive.
- ✓ La présence du tryptophane désaminase est déterminée par l'ajout de perchlorure de fer, qui induit une coloration brun rouge du milieu en cas de réaction positive.

B. Milieu Clark et Lubs

Ce milieu est utilisé pour identifier les bactéries de la famille des Enterobacteriaceae (bacilles Gram -, oxydase -) en étudiant la voie de fermentation de glucose (RICHARD, 1979).

- Réalisation du test :

Le Bouillon Clark et Lubs est inoculé par une colonie bactérienne, après incubation pendant 18h à 37°C, on divise le bouillon dans 2 tubes stériles puis dans chaque tube on effectue un des deux tests : test au RM en ajoutant une goutte de rouge de méthyl et test de Voges-Proskauer en ajoutant 2 gouttes de KOH à 10% et d'Alpha-naphtol, pour révéler la voie de fermentation :

- ✓ Voie des Acides mixtes (test au RM): la fermentation du glucose en acides mixtes induit l'acidification du milieu qui est révélée grâce au rouge de méthyl.
- ✓ Voie Butylène-Glycolique (test VP): la production d'acétoïne au cours de la fermentation butylène glycolique donne une coloration rouge en milieu très oxygéné.

C. Citrate de Simmons :

Ce milieu contient une seule source de carbone qui est le citrate, l'utilisation de ce substrat par les bactéries pouvant le cataboliser en milieu aérobie se traduira par une alcalinisation du milieu (BEKAL *et al*, 1998).

- **Réalisation du test :**

Le test de citrate de Simmons consiste à ensemencer à l'aide d'une anse une strie longitudinale d'une suspension de la culture solide en eau distillée stérile sur un milieu de gélose incliné en faisant attention à ne pas gratter la gélose pour ne pas apporter des substrats carbonés et incuber à 37°C pendant 24 heures et le bouchon ne doit pas être vissé à fond pour permettre les échanges gazeux.

- ✓ La lecture du test est réalisée en observant le virage de l'indicateur de pH au bleu, qui indique une alcalinisation du milieu et la présence de la souche citrate de Simmons +.
- ✓ En l'absence de virage, il n'y a pas eu alcalinisation et la souche est classée comme citrate de Simmons -.

D. Triple SugarIron Agar (TSI)

La gélose TSI est un milieu de culture utilisé dans l'identification des entérobactéries. Ce milieu permet d'évaluer leur capacité à fermenter le glucose, le lactose et le saccharose, ainsi que leur potentiel producteur de gaz et d'H₂S (BEKAL *et al*, 1998).

- **Réalisation du test**

Racler à l'aide d'une pipette Pasteur des colonies à partir de cultures pures, puis ensemencer la pente du milieu par des stries et le culot par piqûre centrale

La fermentation de l'un des glucides engendre l'acidification de la gélose, ce qui se traduit par un changement de couleur de l'orange rougeâtre d'origine vers le jaune, s'il n'y a pas de virage de couleur et la gélose reste rouge cela signifie que les glucides ne sont pas fermentés.

La formation de H₂S donne une coloration noire, alors que la production de gaz est identifiable par l'apparition de bulles ou de fissures

2-6-3-3- Identification biochimique à l'aide des API :

C'est une méthode couramment utilisée pour déterminer l'identité des micro-organismes. Cette technique se fonde sur les connaissances avancées du métabolisme et de la biochimie microbienne des micro-organismes, Elle implique l'utilisation de plaques en plastique miniaturisées contenant une série de petits tubes ou tubules dotés de cupules ouvertes à leur

extrémité supérieure et remplis, ou non, de liquide. Chaque tube contient un substrat spécifique déshydraté qui peut être dégradé par les bactéries. Cela permet de déterminer les enzymes présentes ou manquantes chez une bactérie, facilitant ainsi leur identification.

Chaque plaque est adaptée à un groupe spécifique d'espèces bactériennes, telles que les entérobactéries dans le cas de la galerie API 20E et les staphylocoques dans le cas de la galerie APIstaph.



Figure 18:API 20 E (photographie personnelle)

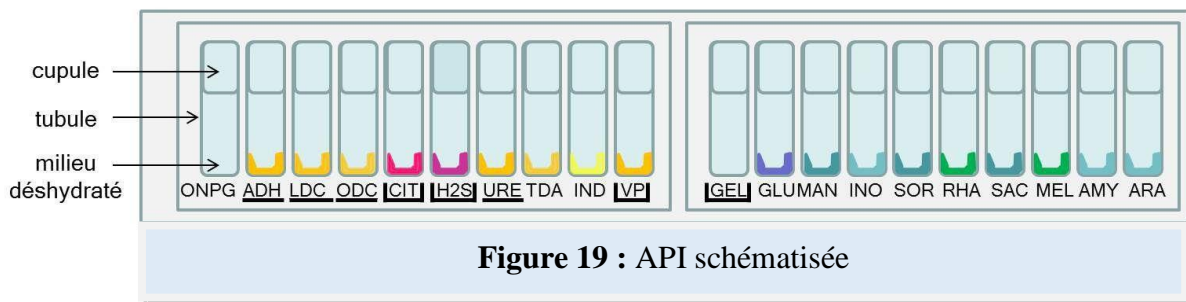


Figure 19 : API schématisée

Technique :

- A l'aide d'une pipette, prélever 1 à 4 colonies morphologiquement identiques puis préparée une suspension en utilisant de l'eau physiologique.
- Les microtubes sont ensuite inoculés avec la suspension à l'aide d'une seringue spécifique, afin d'éviter la formation de bulles d'air on pose la pointe de la seringue sur le côté de la cupule et on incline légèrement la boîte d'incubation vers l'avant.
- Les cupules des substrats encadrés, à savoir CIT, VP, etc., sont totalement remplies pour permettre des tests en aérobiose. En revanche, les cupules des substrats tels que ADH, LDC, etc., sont remplies à moitié et l'autre moitié sera remplie de l'huile de vaseline pour créer un environnement anaérobie et prévenir toute évaporation des composés volatiles dans le tube.

- Afin de prévenir la déshydratation lors de l'incubation à 37°C pendant 24 heures, il est recommandé de remplir partiellement la boîte d'incubation avec de l'eau.
- Les réactions produites pendant la période d'incubation des milieux à tester peuvent être identifiées grâce à différents indices. Ceux-ci peuvent se traduire par des virages colorés spontanés ou révélés par l'ajout de réactifs, la production de gaz, la formation de précipités ou la libération de composés spécifiques, qui signifient généralement que le test est positif.

Lecture :

Les résultats peuvent ensuite être comparés à un tableau de lecture des réactions pour obtenir un code numérique correspondant à un nom de bactérie.

L'identification se fait à l'aide d'un catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification, Cette méthode offre une probabilité d'identification supérieure à 90%.

Les tests sont regroupés par triplet de gauche à droite. Un test est considéré :

Négatif	Positif		
	1er du triplet	2ème du triplet	3ème du triplet
0	1	2	4

- La somme des chiffres obtenus à partir de chaque triplet est requise pour déterminer le code correspondant (seulement huit codes différents, allant de 0 à 7, sont possibles).
- Un code à sept chiffres peut alors être généré en lisant les codes de chaque triplet de manière séquentielle.
- Ce code peut ensuite être comparé aux codes stockés dans la base de données du fabricant, permettant ainsi l'identification précise de la bactérie en question.

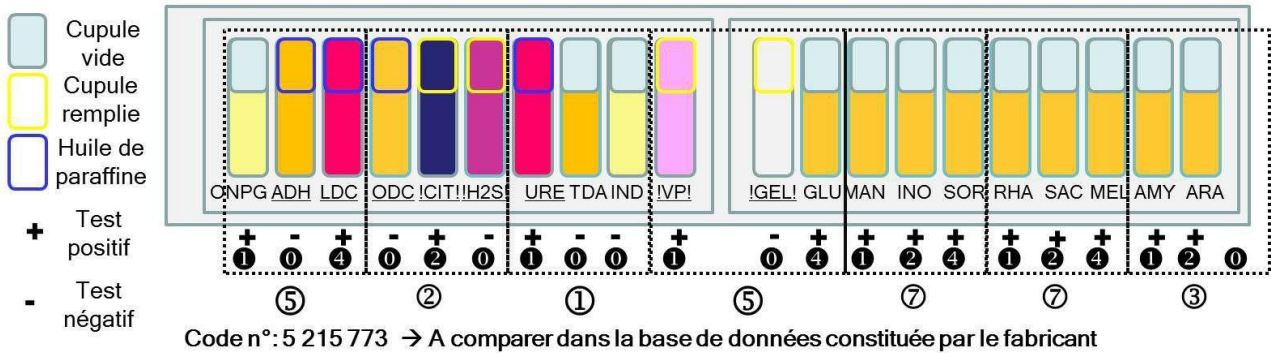


Figure 20: Méthode de lecture des API

2-6-4- Identification automatisée avec VITEK 2 compact :

L'automate VITEK® 2 Compact est conçu pour identifier les bactéries et déterminer leur sensibilité aux antibiotiques en utilisant le principe de la concentration minimale inhibitrice (CMI).

Il utilise des cartes pour l'identification des bactéries Gram négatif et positif, ainsi que des cartes pour la réalisation des tests d'antibiogramme, ces cartes font appel à des tests biochimiques conventionnels et des substrats pour mesurer l'utilisation des sources de carbone, l'activité enzymatique et la résistance.

Chaque carte AST contient 64 micro puits, dont un micro puit de contrôle qui ne contient que le milieu de culture, tandis que les autres contiennent des concentrations spécifiques d'antibiotiques préalablement définies ainsi que des milieux de culture (Fiche technique de l'automate).



Figure 21 : Carte utilisée pour l'antibiogramme (photographie personnelle)



Figure 22 : Carte utilisée pour l'identification des bactéries (photographie personnelle)

L'identification est basée sur les données et les connaissances du germe et des réactions typiques d'espèces pour un ensemble de tests biochimiques discriminatoires.

Protocole :

- La préparation de la suspension bactérienne est réalisée manuellement en utilisant deux tubes contenant chacun 3 ml de solution saline l'un pour l'identification et l'autre pour l'antibiogramme.
- Les colonies isolées sont sélectionnées à l'aide d'une pipette Pasteur et mises en suspension homogène dans les tubes précédents en les mélangeant au vortex.
- La suspension est standardisée en utilisant le Densicheck Plus, atteignant un volume de 0,4 à 0,7 Mac Farland pour les bactéries Gram négatives et positives.
- On utilise des pipettes manuelles fournies avec le dispositif pour pipeter 145 µl pour les bactéries Gram négatives ou 280 µl pour les bactéries Gram positives, il convient de transvaser la quantité requise dans un deuxième tube réservé pour l'antibiogramme.
- On place une carte d'identification et une carte d'antibiogramme sur la cassette, en introduisant des pailles de transfert pour prélever une portion de la suspension mère stockée dans des tubes distincts, et dans le tube (2) contenant la suspension mère diluée pour la réalisation de la carte d'antibiogramme.
- Procéder de façon similaire pour les autres échantillons avant de procéder à leur chargement dans le VITEK 2 Compact.
- Les informations relatives aux cartes (ID échantillons et code à barres) sont enregistrées dans le logiciel du système.
- La cassette est ensuite placée dans la chambre d'inoculation, lancer le remplissage à partir du bouton sur l'interface utilisateur de l'instrument.
- Après la fin du cycle de remplissage retirer la cassette puis l'insérer dans le lecteur-incubateur dans un délai de 10 minutes.
- Un signal lumineux indique la fin du chargement des cartes. Enlever la cassette vide du dispositif de lecture-incubation.
- Le lecteur-incubateur lit les codes à barres des cartes et de la cassette et envoie les informations au logiciel automatiquement.



Préparation de la suspension bactérienne



Standardiser la suspension



Placer les cartes sur la cassette en introduisant les pailles de transfert à l'intérieur des tubes



Les résultats seront envoyés automatiquement au logiciel et les cartes seront jetées



Insérer la cassette dans le lecteur-incubateur pendant 10 minutes, les cartes seront chargées à l'intérieur de l'automate et un signal indique la fin de cette étape pour retirer la cassette vide



Placer la cassette dans la chambre d'inoculation puis lancer le remplissage, après la fin du cycle de remplissage retirer la cassette

Figure 23 : schéma récapitulatif du protocole d'identification automatisée avec VITEK 2 compact (Réalisé par nous-mêmes)

2-7- Etude de la résistance des germes isolés aux antibiotiques

Une fois que l'isolement et l'identification des agents infectieux soient effectués, on procède à la recherche de leurs sensibilités vis-à-vis différentes familles d'antibiotiques pour permettre aux médecins d'adopter une antibiothérapie adéquate au patient. Cela se fait via deux méthodes :

- La méthode de l'antibiogramme automatisé avec l'appareil VITEK 2 Compact. (Décrite précédemment)
- La méthode de l'antibiogramme standard par diffusion des disques.

2-7-1- Antibiogramme par diffusion des disques :

➤ Méthodologie :

- On prépare la suspension bactérienne en raclant quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques à l'aide d'une anse de platine stérile à partir d'une culture pure sur milieu d'isolement approprié.
- On décharge l'anse dans de l'eau physiologique stérile à 0.9% puis on homogénéise afin de répartir les germes uniformément dans la solution.
- On trempe un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne, ensuite on le presse fermement contre la paroi interne du tube pour éliminer tout excès.
- On ensemence la surface de la gélose (généralement MULLER-HINTON) avec l'inoculum en faisant des stries serrées, on répète l'opération 2 fois tout en tournant la boîte de 60° à chaque fois pour s'assurer que la totalité du milieu gélosé est recouvert de l'inoculum, à la fin de la procédure on passe l'écouvillon sur les bords de la gélose.
- On place à l'aide d'une pince stérile les disques d'antibiotiques, qui sont sous forme de papier filtre imbibé d'un antibiotique donné avec une concentration standard, à la surface de la gélose tout en évitant leur déplacement après leur dépôt. (Il est conseillé de ne pas mettre plus de 6 disques d'ATB)

- Incuber à 37°C pendant 24h, directement dans l'incubateur pour les microorganismes aérobies et à l'intérieur d'une jarre munie d'une bougie allumée pour créer l'anaérobiose lorsqu'il s'agit des microorganismes anaérobies.

Remarque :

- ✓ L'ensemencement doit être réalisé en condition stériles à proximité d'un bec bunsen, idéalement juste après la préparation de l'inoculum au plus tard dans les 15 minutes qui le suivent.
- ✓ Si plusieurs boîtes pétries doivent être ensemencées par le même inoculum on recharge l'écouvillon à chaque fois.

➤ **Lecture de l'antibiogramme :**

Selon les résultats de la sensibilité des bactéries envers chaque antibiotique, des zones d'inhibition présentant différents diamètres mesurables apparaissent. Ces diamètres sont mesurés à l'aide d'un pied à coulisse et servent à classer les bactéries en trois groupes distincts, indiqués respectivement par les lettres "S", "R" et "I".

- « **S** » pour **SENSIBLE**.
- « **R** » pour **RÉSISTANT**.
- « **I** » pour sensibilité **INTERMÉDIAIRE**.

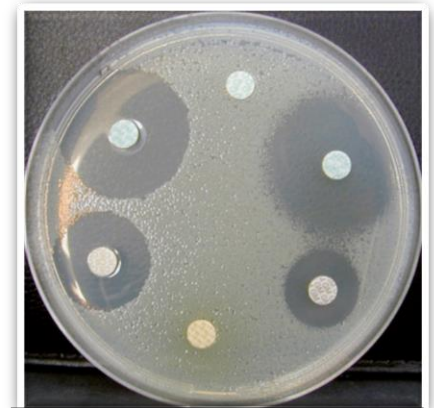


Figure 25 :Antibiogramme par diffusion sur disques photographie personnelle

Remarque :

- ✓ Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton simple, il est conseillé de prendre les mesures en transparence en observant à travers le fond de la boîte pétri fermée. En revanche, pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton au sang, il est préférable de réaliser les mesures de diamètre de zones d'inhibition avec la boîte pétrie ouverte et bien éclairée.
- ✓ Afin de choisir le meilleur antibiotique et sa dose adéquate pour traiter une infection bactérienne, la Concentration Minimale de l'antibiotique (CMI) est déterminée par la méthode de E-test.

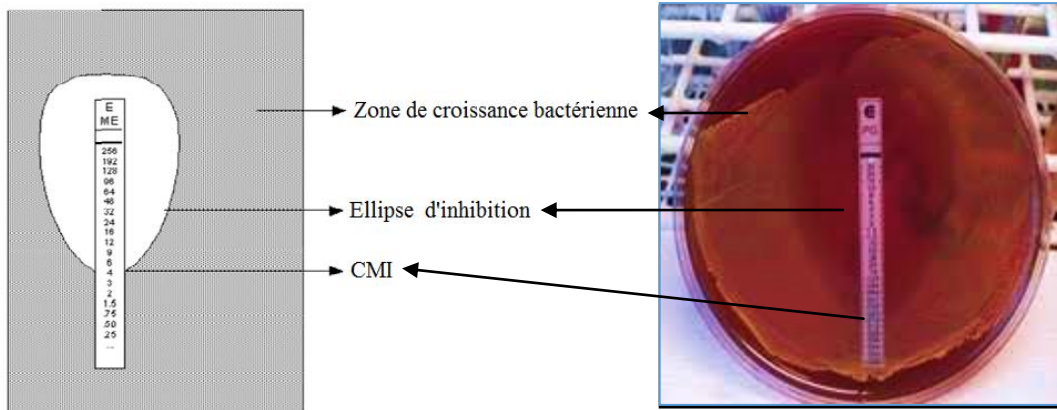


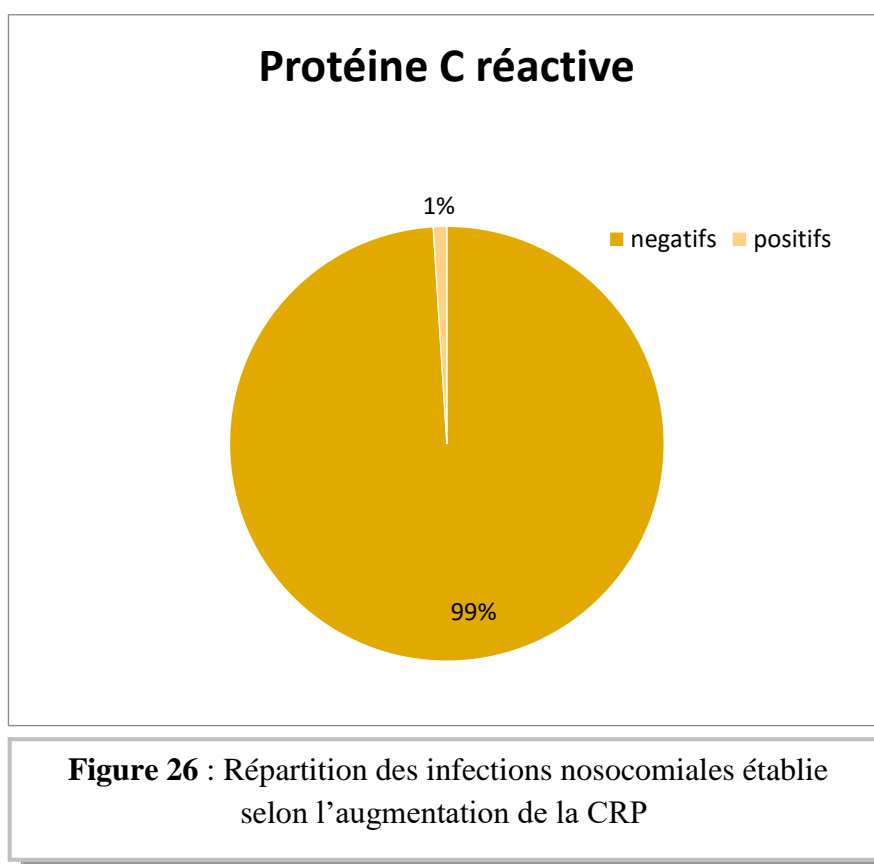
Figure 25 :Détermination de la concentration minimale inhibitrice(CMI) photographie personnelle

Résultats et discussion

3- Résultats et discussion :

3-1- Répartition des infections nosocomiales établie selon l'augmentation de la CRP après 48 heures de séjour à l'hôpital:

Sur l'ensemble des nourrissons admis et évalués par dosage CRP avant et après 48 heures de séjour hospitalier, 1% ont présenté des résultats positifs indiquant une infection nosocomiale, tandis que les 99% restants ont obtenu des résultats négatifs, ne révélant pas la présence d'une infection nosocomiale.



Le taux de prévalence des infections nosocomiales néonatales était de 1%, ce qui est similaire à celui observé dans d'autres enquêtes menées en France, où le taux d'incidence des infections nosocomiales varie entre 7,5% et 12,7% (LACHASSINNE *et al*, 2004).

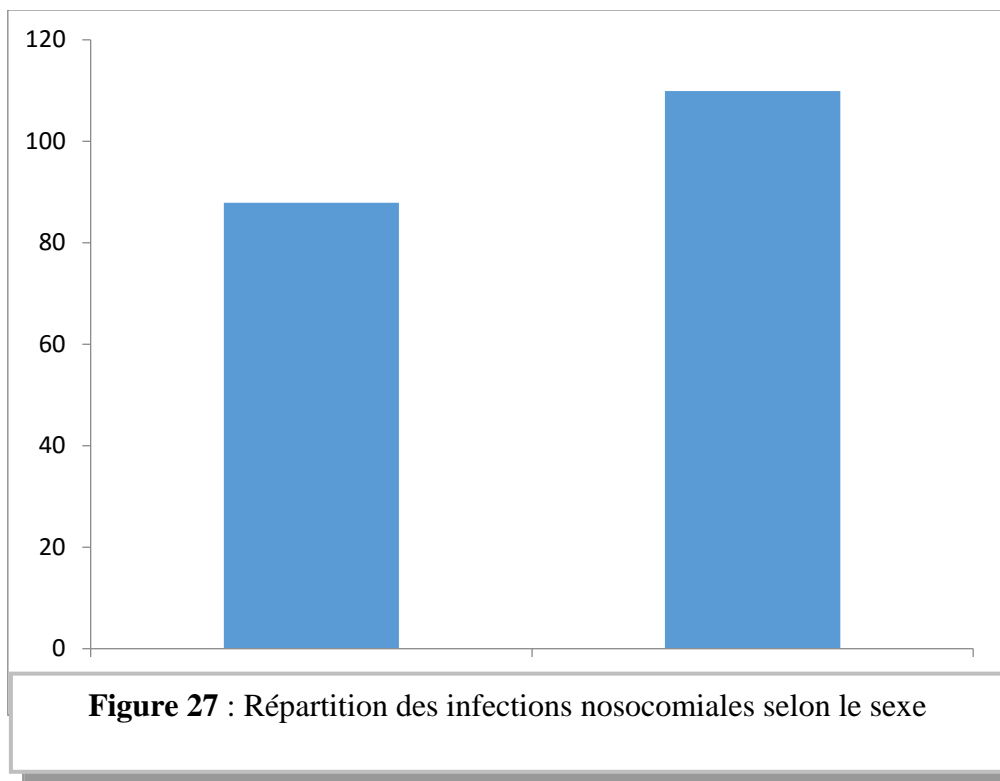
La présente étude a révélé une faible prévalence des infections nosocomiales dans le service de néonatalogie. Cette observation peut être attribuée à la mise en place de plusieurs mesures préventives.

Tout d'abord, le service de néonatalogie accorde une attention particulière à l'hygiène et à la prévention des infections, le personnel de néonatalogie est formé aux bonnes pratiques

d'hygiène et est fourni avec des équipements tels que des gants, des blouses, des masques et des désinfectants pour prévenir la transmission de germes. Des protocoles d'hygiène stricts sont mis en place et régulièrement respectés pour éviter la propagation des germes.

En outre, les patients infectés sont souvent isolés dans des chambres individuelles pour éviter la contamination des autres patients.

3-2- Répartition des patients infectés selon le sexe : Les données représentées dans la figure 27 évoquent une prédominance masculine dans la cohorte étudiée, avec un taux des individus identifiés de sexe masculin, en comparaison avec un taux pour les individus de sexe masculine, ce qui donne une sex-ratio masculin/féminin de 1,6.



Cette prédominance est confirmée par une étude menée au centre hospitalier Laquintinie de Douala, Cameroun où les nouveau-nés étaient les plus infectés dans 22% des cas, donnant une sex-ratio de 1,63 (KEMEZE *et al*, 2016).

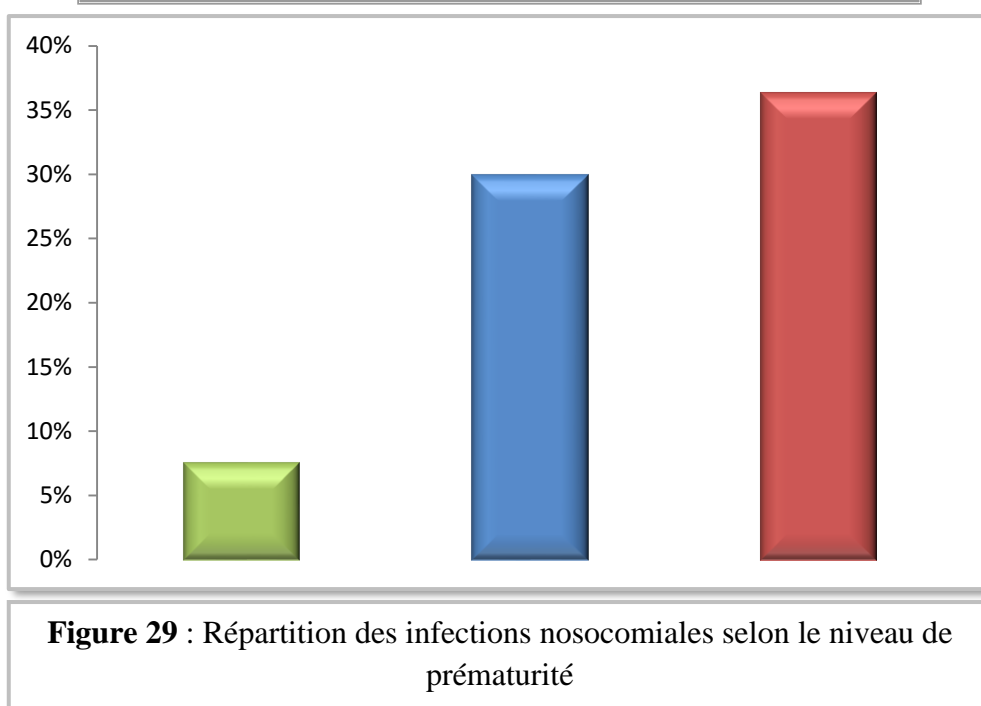
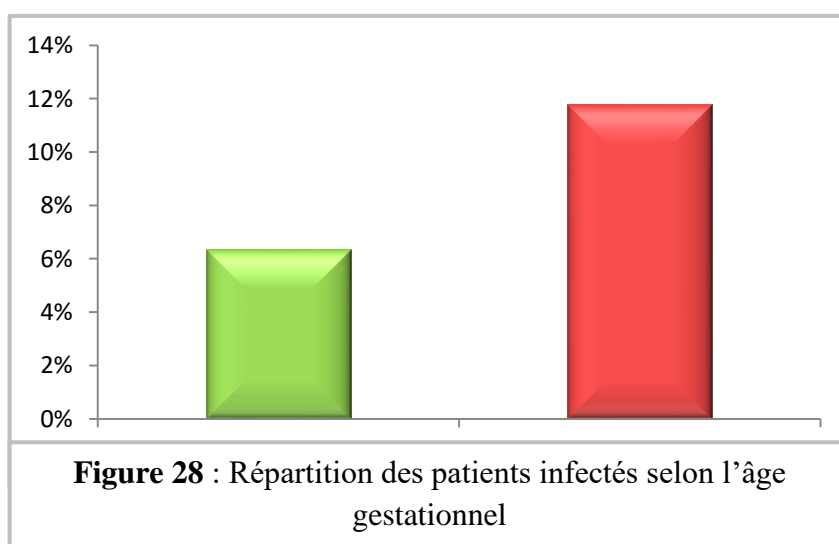
En revanche, la plupart des études suggèrent que le sexe n'a pas de lien significatif de la fréquence élevée d'infections nosocomiales, c'est le cas du Centre Hospitalier Universitaire de Fès en 2006 (SIBOUB, 2018).

Par ailleurs, (HABZI et BENOMAR,2001) ont conclu que seuls l'âge gestationnel et le poids de naissance étaient des facteurs de risque déterminants.

3-3- Répartition des infections nosocomiales selon l'âge gestationnel :

Sur le nombre total de nourrissons admis, il y avait deux groupes distincts. Le premier étant celui des sujets nés à terme étaient infectés et le deuxième ceux nés prématurément, avec un taux d'infection relatif.

Parmi les prématurés on distingue 3 groupes, ceux de très petite prématurité sont atteints d'une infection, ceux de moyenne prématurité sont infectés et ceux de grande prématurité sont infectés.



La répartition selon l'âge gestationnel montre que les nourrissons les plus atteints d'infections nosocomiales sont ceux de très grande prématurité, tandis que ceux nés à terme présentent un taux beaucoup plus faible.

Cette observation est cohérente avec les résultats de recherches antérieures, notamment une étude menée à Lille où l'incidence des infections nosocomiales augmentait de 3% chez les enfants nés à partir de 37 semaines d'âge gestationnel à 55% chez ceux nés avant 28 semaines (KACET *et al*, 1999).

L'analyse des données révèle une corrélation significative entre le risque d'infection nosocomiale et l'âge gestationnel, qui suggère que les nouveau-nés prématurés sont exposés à un risque accru d'infection en raison de la faiblesse de leur système immunitaire immature cela est dû :

- Au moment de la naissance, le système immunitaire demeure inactif, ce qui accorde une tolérance aux antigènes maternels et aux changements structuraux liés à la gestation prénatale (ESCANDE *et al*, 2003).
- Au stade néonatal, le système immunitaire est caractérisé par la présence de cellules immunitaires immatures ayant seulement atteint environ 50% de leur pleine fonctionnalité et en quantité limitée. En parallèle, l'immaturité des monocytes et des macrophages a un impact négatif sur la réparation tissulaire (COMPORE *et al*, 2010).
- En revanche, le taux de polynucléaires neutrophiles dans la circulation sanguine est similaire chez le nourrisson et chez l'adulte. Mais en raison de la capacité fonctionnelle limitée des nouveau-nés, leur moelle osseuse ne parvient pas à produire suffisamment de polynucléaires neutrophiles, ce qui entraîne des cas de neutropénie secondaire lorsqu'une infection se déclare (ESCANDE *et al*, 2003).
- Les nourrissons ne produisent pas d'anticorps endogènes, mais ils sont protégés au cours des 6 premiers mois de vie par les immunoglobulines IgG maternelles acquises transplacentairement au cours du troisième trimestre de la grossesse, et par l'allaitement maternel qui fournit des IgA qui prolongent cette protection notamment celle des muqueuses. Le risque d'infection est donc plus élevé chez les prématurés qui n'ont que partiellement bénéficié du passage transplacentaire des immunoglobulines maternelles (BLAVOUS, 2018).
- Les réactions immunitaires spécifiques dépendant des lymphocytes sont également altérées chez les nouveau-nés, en grande partie en raison d'une faible capacité des

cellules stromales de la moelle osseuse à soutenir la différenciation des plasmocytes, de sorte qu'après une première immunisation, les anticorps IgG décroissent rapidement. Par conséquent, l'efficacité du système immunitaire adaptatif est faible chez le nouveau-né (BLAVOUS, 2018).

3-4- Répartition des patients infectés selon le mode de sortie :

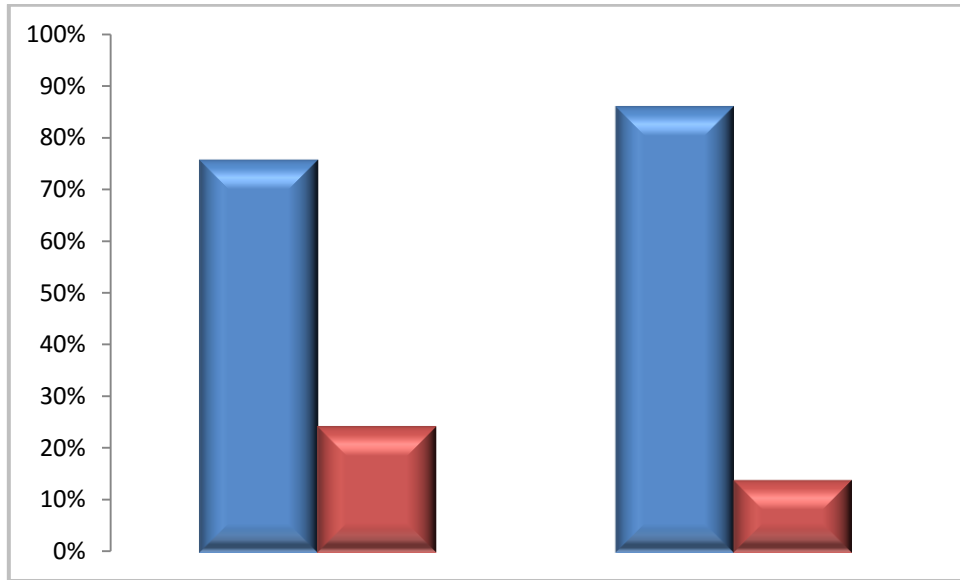


Figure 30 : Répartition des patients infectés selon le mode de sortie

D'après les données présentées dans la figure 30, on observe un taux de prévalence élevé chez les nourrissons de l'ordre, car lorsque confronté à une infection nosocomiale les nourrissons sont traités par des médicaments ciblant spécifiquement l'infection telle que les antibiotiques ou autres. Les antibiotiques ont un effet inhibiteur sur la croissance ou l'élimination des bactéries responsables de l'infection, tandis que les autres médicaments soutiennent le système immunitaire des nourrissons pour mieux lutter contre l'infection. Des traitements complémentaires tels que l'alimentation, l'hydratation, la ventilation et la gestion de la douleur accélèrent le processus de guérison.

La figure 30 montre également que le nombre de patients décédés étaient majoritairement des prématurés, cette prédominance est confirmée par une étude menée au CHU de Rouen (REMBLIERE, 2021) qui indique que plusieurs facteurs sont mis en cause :

- L'âge gestationnel est un indicateur crucial pour déterminer la survie d'un enfant, lorsque la grossesse est interrompue avant 32 semaines d'aménorrhée, cela peut entraîner une augmentation du risque de mortalité et de complications à long terme. La

prématurité suspend le développement intra-utérin de l'enfant, ce qui peut conduire à l'immaturité de ses organes tels que le cerveau, les poumons, le tube digestif, le canal artériel et le système immunitaire. Ces facteurs contribuent significativement à la morbidité du nourrisson prématuré.

- Le prématuré a une barrière cutanée immature et une perméabilité cinq fois supérieure à celle du nouveau-né à terme, ce qui entraîne une perte insensible d'eau accrue et une sensibilité élevée aux infections. La vitesse de maturation de l'épiderme du prématuré est inversement proportionnelle à l'âge gestationnel.
- Les multiples désinfections cutanées pour la mise en place de cathéters peuvent altérer la flore cutanée et risque d'être une porte d'entrée microbienne.

L'influence des infections nosocomiales sur la mortalité des nourrissons est multifactorielle, étant donné que même si elles ne sont pas la principale cause de mortalité, elles peuvent néanmoins aggraver l'état de santé du patient et contribuer à une augmentation du taux de mortalité.

L'estimation précise de l'impact des infections nosocomiales sur la mortalité est problématique, car la maladie sous-jacente qui a permis l'infection est responsable d'une part importante de cette mortalité globale (HABZI *et al*, 2001).

3-5- Antibiothérapie utilisée pendant le séjour :

Le graphique présenté en figure 31 représente les modalités de prise en charge médicamenteuse, par voie antibiotique, appliquées aux patients souffrant d'infections nosocomiales durant leur hospitalisation. L'analyse du profil antibiotique des nourrissons infectés a révélé une prévalence significative d'Amikacine (79%), de Claforan (70%), d'Amoxicilline (43%) et de vancomycine (38%), mais dans la majorité des cas, il s'agit d'association d'antibiotiques.

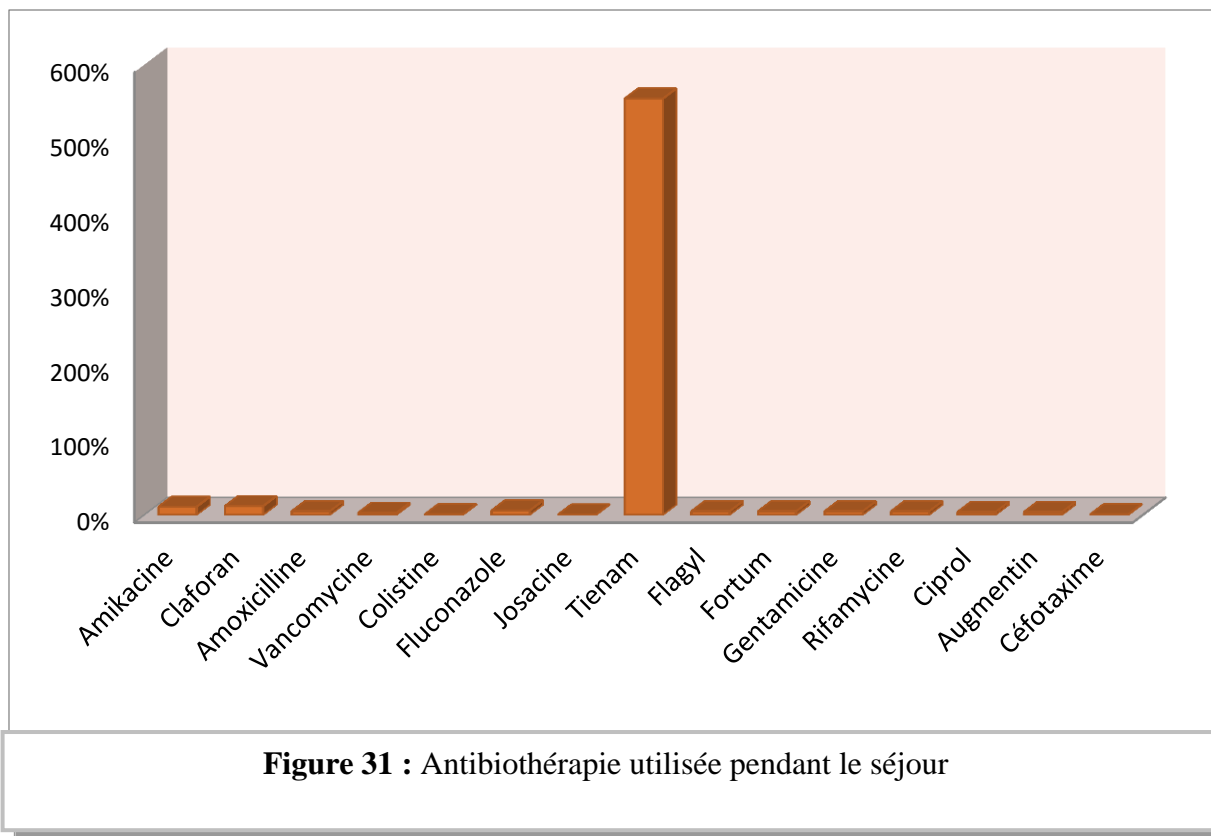


Figure 31 : Antibiothérapie utilisée pendant le séjour

Dès l'identification d'une potentielle infection nosocomiale, une antibiothérapie probabiliste est débutée et réévaluée dans les 48 heures, l'histogramme précédant détaille l'usage des divers antibiotiques au sein du service de néonatalogie.

Le choix de ces antibiotiques lors du traitement des infections nosocomiales a été basé sur une évaluation rigoureuse de plusieurs facteurs :

- Ces antibiotiques ont été choisis en fonction des caractéristiques de l'infection, notamment l'identification de l'agent pathogène suspecté et le site de l'infection, et surtout sur la sensibilité de l'agent pathogène aux antibiotiques.
- La sélection des antibiotiques, la dose et la durée de traitement ont été minutieusement étudiés et adaptés individuellement à chaque patient, en fonction de ses caractéristiques cliniques, son poids, son âge et l'évolution de son infection.
- En fin de compte, ce choix a également pu être influencé par la disponibilité des médicaments spécifiques dans le milieu hospitalier.

La problématique de la multirésistance des germes est de plus en plus préoccupante car celle-ci est caractérisée par la résistance simultanée d'un micro-organisme aux actions d'au moins deux antibiotiques appartenant à des classes différentes, auxquels une bactérie sauvage

de même espèce serait normalement sensible. Cette résistance accrue résulte d'une pression de sélection et d'un déséquilibre de l'écosystème bactérien, qui sont dus à un usage abusif et non-réglé d'antibiotiques à large spectre (HABZI *et al*, 2001).

3-6- Répartition des infections nosocomiales selon le poids de naissance :

Les constatations issues de notre étude révèlent une association évidente entre les poids de naissances réduits et l'incidence des infections nosocomiales, avec un pourcentage de 90% des nouveau-nés présentant des poids avec une prédominance significative des prématurés. Cette association est attribuée à l'immaturation des organes et des systèmes physiologiques chez les nourrissons, les rendant ainsi plus susceptibles à l'infection lorsqu'ils sont confrontés à des pathogènes hospitaliers.

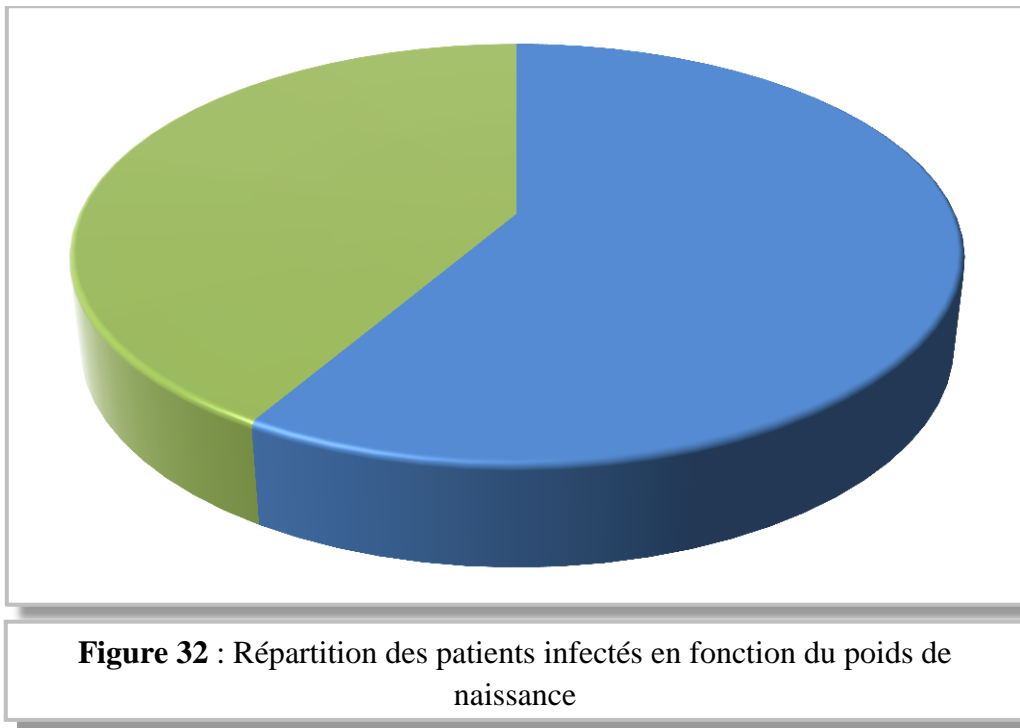


Figure 32 : Répartition des patients infectés en fonction du poids de naissance

Ces résultats sont en concordance avec des travaux effectués au Cameroun en 2011 à l'hôpital gynéco-obstétrique et pédiatrique de Yaoundé (CHIABI *et al*, 2011).

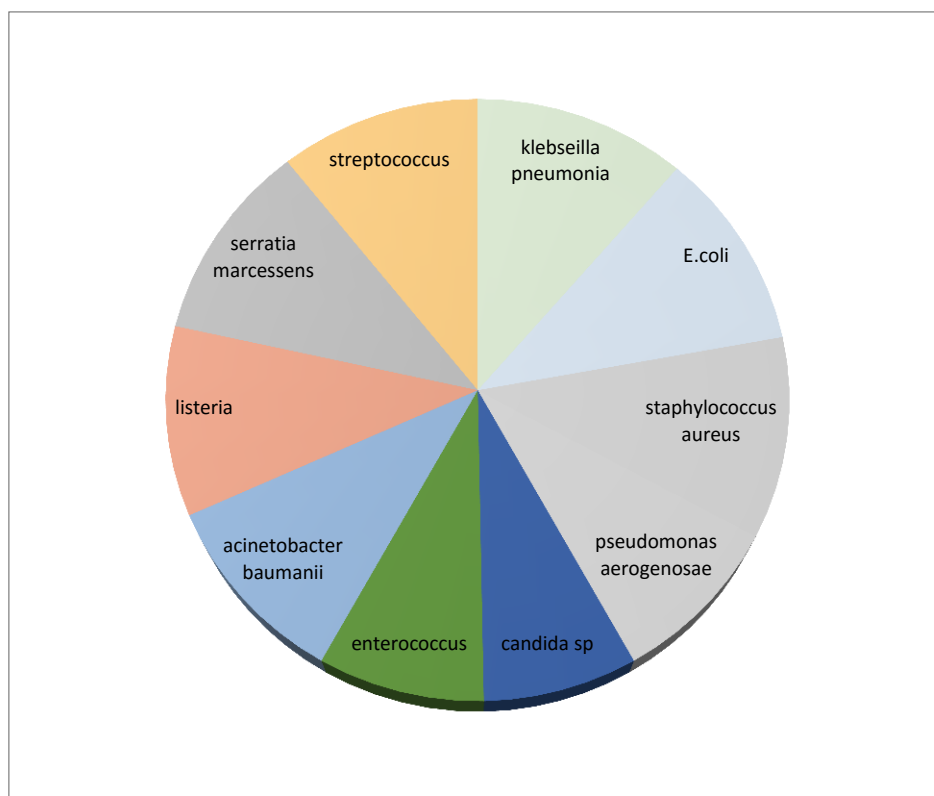
La mesure du poids de naissance est une évaluation initiale réalisée immédiatement après l'accouchement pour évaluer la santé et la maturité physique du nouveau-né, ainsi que pour identifier les individus présentant une fragilité particulière.

Les nourrissons présentant un Faible Poids de Naissance (FPN) sont sujets à un risque accru de développement d'un système immunitaire et d'une fonction respiratoire insuffisamment développés, augmentant ainsi leur vulnérabilité aux infections. Les antécédents de grossesse complexe associés au FPN peuvent également impacter négativement la fonction immunitaire du fœtus. C'est pour cela qu'ils nécessitent une surveillance plus étroite et une attention particulière à leur santé, notamment en ce qui concerne la prévention et le traitement des infections (PADONOU, 2014).

Les causes principales de réductions des poids de naissance sont liées à divers facteurs de risque maternels :

- Le nombre de fœtus par grossesses, en effet les grossesses multiples, telles que les jumeaux ou les triplés, sont généralement associées à des nourrissons plus petits que les grossesses simples en raison de la limitation de l'espace dans l'utérus et la probabilité de naissances prématurées (TRAORE *et al*, 2016).
- L'âge maternel est un paramètre associé à un risque accru de faible poids à la naissance. Les femmes qui ont plus de 35 ans sont plus susceptibles de présenter des complications gestationnelles, notamment le diabète gestationnel et l'hypertension artérielle, qui peuvent influencer de manière significative le bien-être fœtal et le poids à la naissance (MABIALA-BABELA *et al*, 2007).
- Des études ont indiqué que les femmes ayant un indice de masse corporelle (IMC) bas présentent un risque accru d'accoucher d'un bébé de faible poids par rapport aux femmes ayant un IMC normal ou élevé. Il convient de souligner l'importance d'une alimentation adéquate pour une grossesse saine et le développement optimal du fœtus (LENO *et al*, 2017).
- La fréquence des consultations prénatales a un impact sur le poids du nouveau-né, avec une probabilité plus élevée de naissance de nouveau-nés à faible poids chez les femmes ayant effectué moins de trois visites prénatales. Cette corrélation s'explique par la possibilité de dépister et de prendre en charge précocement les causes liées au faible poids de naissance, notamment les pathologies maternelles et fœtales pour lesquelles des interventions médicales appropriées sont disponibles (anémie, carences nutritionnelles, hypertension artérielle, paludisme, hémorragie génitale...) (TRAORE *et al*, 2016).

3-7- Répartition des micro-organismes identifiés chez les nourrissons affectés :



L'analyse des données révèle que les microorganismes identifiés chez les nourrissons affectés sont des bactéries et des champignons et aucun virus n'a été détecté.

3-7-1-Bactéries :

- Bactéries Gram négatif :

D'après la figure on constate que les Entérobactéries à gram négatif sont les bactéries les plus fréquemment impliquées dans les infections nosocomiales chez les nouveau-nés avec une prédominance d'*E.Coli* qui représente une prévalence 18%, tandis que *Klebsiella pneumoniae* et *Serratia marcessens* ont été détectées respectivement à des taux de 18% Bien que ces bactéries soient des commensaux de l'intestin humain, elles peuvent causer des infections urinaires, respiratoires et sanguines chez les nouveau-nés, cela est particulièrement courant chez les prématurés à l'hôpital, qui ont souvent des cathéters urinaires et des respirateurs.

En ce qui concerne *Acinetobacter baumannii* et *Proteus mirabilis*, la colonisation par ces deux germes est retardée car ils sont des germes moins fréquemment rencontrés dans les unités néonatales contrairement à d'autres bactéries comme le *Staphylococcus aureus* ou

Escherichia coli, qui sont plus courantes et ont une plus grande capacité de résistance aux antibiotiques.

- **Bactéries Gram positif :**

L'étude a identifié l'isolement des bactéries à Gram positif, *Staphylococcus* et *Streptococcus*, avec des taux de 18% respectivement. Bien que normalement présentes dans le corps humain, ces bactéries peuvent entraîner des maladies graves chez les nouveau-nés qui ont une immunité affaiblie ou qui sont nés prématurément. *Staphylococcus* est connue pour être une bactérie cutanée commensale, mais peut causer des infections cutanées, respiratoires et sanguines, notamment chez les nourrissons porteurs de cathéters. La transmission de *Staphylococcus* peut se faire par contact cutané direct ou indirect avec des surfaces contaminées. Les Streptocoques, quant à elles, peuvent être transmises directement ou indirectement, y compris par contact physique ou en inhalant des gouttes de fluides provenant d'une personne infectée.

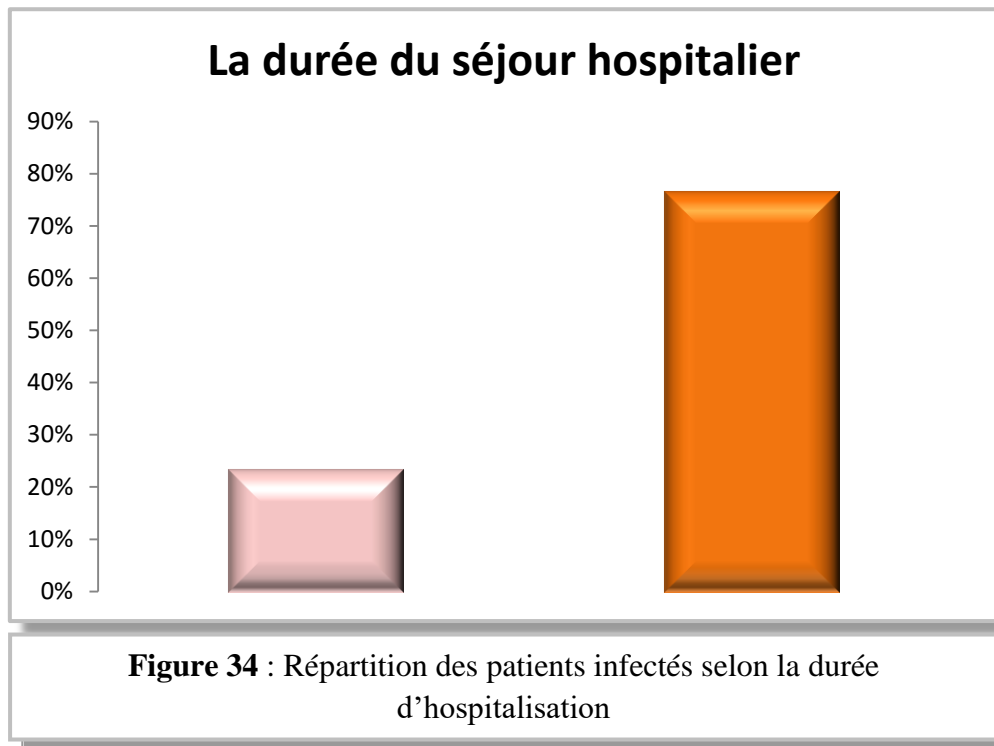
La présence de *Listeria monocytogenes* et d'Entérocoques dans les infections nosocomiales néonatales serait due à la contamination environnementale de ces bactéries dans les zones de soins intensifs néonataux. Les facteurs de risque incluent la prématurité, la présence de cathéters et la ventilation mécanique.

3-7-2-Champignons: Dans le cadre de notre recherche, les infections fongiques nosocomiales ont été identifiées comme étant moins fréquentes avec une incidence de 18%. De plus, il convient de noter que l'agent pathogène responsable de ces infections est exclusivement le *Candida sp.*

En effectuant une analyse comparative de nos résultats avec ceux issus d'études menées dans divers pays (tant développés qu'en voie de développement), on constate une diversité de micro-organismes détectés, indicatrice d'une diversité écosystémique bactérienne propre à chaque milieu étudié.

En effet, (HABZI *et al*, 2001) ont rapporté que le profil bactériologique de l'infection nosocomiale peut être influencé par divers facteurs, tels que les pratiques techniques et la prescription d'antibiotiques, varie considérablement entre les différents services hospitaliers, hôpitaux et pays.

3-8- Répartition des patients infectés selon la durée d'hospitalisation :



Selon les résultats de l'analyse de l'incidence en relation avec la durée du séjour, il a été observé que les patients ayant séjourné pendant ont présenté une incidence plus élevée d'infections nosocomiales. Les données obtenues à partir de notre étude ont mis en évidence une corrélation positive entre la durée du séjour hospitalier et le risque accru de contracter une infection nosocomiale.

Une étude menée dans des réseaux néonataux en Australie et en Nouvelle-Zélande indique que la durée de séjour est un important facteur de risque, avec une augmentation significative du taux d'infections après jours (BENABBAS *et al*, 2019).

Nos résultats sont cohérents avec d'autres recherches existantes, comme celles fournies par le CHUC. Les données obtenues indiquent que la plupart des nouveau-nés ont été infectés avant leur 10ème jour d'hospitalisation. En utilisant une régression logistique, nous avons pu identifier deux facteurs de risque significatifs pour les infections nosocomiales chez les nouveau-nés du CHUC : une durée d'hospitalisation, et une naissance prématurée. Ces résultats sont conformes à la plupart des études précédemment menées sur le sujet (CHEMSI *et al*, 2013).

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Les infections nosocomiales représentent un problème majeur de santé publique responsable de l'accroissement de la morbidité, et de la mortalité, principalement dans des services à haut risque accueillant des patients extrêmement vulnérables à l'infection.

Notre étude rétrospective sur une durée d'un an concernant les infections nosocomiales chez les nouveau-nés.

Ce travail concernant les infections nosocomiales chez les nouveau-nés révèle que la surveillance régulière des taux de CRP au cours du séjour hospitalier permet le diagnostic précoce de l'inflammation et de l'infection. En outre, la protéine C réactive constitue un indicateur biologique fiable permettant le suivi de l'efficacité du traitement anti-infectieux.

Les antibiotiques ne sont pas des remèdes miracles des infections nosocomiales, mais plutôt la prévention s'avère être une stratégie plus efficace pour réduire leur prévalence, cette approche requiert la mise en place de plusieurs mesures de précaution.

Enfin, lorsqu'un service hospitalier fait état de la présence de micro-organismes pathogènes chez un nombre considérable de patients dans une période donnée, un signalement d'infection nosocomiale doit être effectué auprès du service épidémiologique pour mener une enquête dans le but de localiser l'origine de l'infection, suivie de la mise en œuvre d'une mesure de fermeture du service concerné pour permettre la procédure de désinfection complète des surfaces, lits, et équipements médicaux...

En perspectives de ce travail, il serait intéressant de :

- Prolonger la période de stage pour réaliser une étude comparative de l'évolution de la prévalence des infections nosocomiales sur plusieurs années consécutives.
- Mener une autre étude sur les taux de prévalence des infections nosocomiales dans d'autres services hospitaliers et déterminer les individus les plus à risque de contracter ces maladies.

Références bibliographiques

A

Abba, F., & Aboussad, A. (2012). L'infection Nosocomiale chez le Nouveau-né. Thèse de doctorat *Faculté de Médecine et de Pharmacie. Marrakech*, 3.

Amar, G., Leke, A., Biendo, M., & Pluquet, M. (2012). Infectiologie pédiatrique. *Réanimation*, 22(S1)104-107.

Amazian, K., Rossello, J., Castella, A., Sekkat, S., Terzaki, S., Dhidah, L., Abdelmoumène, T., & Fabry, J. (2010). Prévalence des infections nosocomiales dans 27 hôpitaux de la région méditerranéenne. *La Revue de Santé de la Méditerranée orientale*, 16(10), 1070-1078.

Aujard, Y., Biran, V., & Doit, C. (2014). Spécificités des infections nosocomiales en néonatalogie. *Réanimation et Pédiatrie néonatales Microbiologie*.

AYADI, S., BERRAH, S., & CHAUCHE, S. (2019). Activité cholinestérasique: validation des intervalles de référence sur COBAS integra 400 plus.

B

Bekal, S., Diviès, C., & Prévost, H. (1998). Citrate lyases of lactic acid bacteria, 78(1), 3-10.

Ben Jaballah, N., Bouziri, A., Kchaou, W., Hamdi, A., Mnif, K., Belhadj, S., Khaldi, A., & Kazdaghi, K. (2006). Épidémiologie des infections bactériennes nosocomiales dans une unité de réanimation néonatale et pédiatrique tunisienne. *Medicine et Maladies Infectieuses*, 36 (7) 379- 385.

Benmammar, R. (2012). Intérêt du dosage de la CRP dans le dépistage des infections nosocomiales à l'unité de néonatalogie de l'EHS mère enfants de Tlemcen du 14 mai au 22 juin 2012 (Doctoral dissertation).

Bernard, B., Raisin, & Ctin. (2005). 18 Enquête de prévalence 2001 des infections nosocomiales : résultats sur la population des nouveau-nés. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction*, 34(3) 287.

Blavous, C. D. V. (2018). Étude épidémiologique des infections nosocomiales chez les grands prématurés de moins de 33 semaines d'aménorrhée, nés en 2015 au CHU de Rouen.

Bouguenoun, W. (2017). Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries incriminées dans les infections nosocomiales et leur dissémination dans l'environnement hospitalier de la région de Guelma (*Doctoral dissertation, Thèse de Doctorat en Biologie Moléculaire et Cellulaire. Université Badji Mokhtar-Annaba, Algérie*).

Boulze, E., & Gallix, S. (2016). Utilisation du dosage rapide de la protéine C réactive dans la prise en charge des fièvres aiguës de l'enfant en soins primaires : *revue de la littérature, Université Grenoble Alpes Faculté De Médecine De Grenoble*.

Bouvet, E., & Brucker, G. (1998). L'isolement en pratique hospitalière. *Médecine et maladies infectieuses*, 28(5), 485-491.

C

Cabasson, S., Godron, A., Bordes-Couecou, S., Hernandorena, X., & Jouvencel, P. (2007). Infection nosocomiale fatale chez un nouveau-né prématuré liée à une contamination par un tire-lait. *Archives de pédiatrie*, 14(3), 294-295.

Chems, M., Chahida, I., Lehlimi, M., Aalloula, O., Zerouali, K., Habzi, A., & Benomar, S. (2013). Incidence des infections bactériennes nosocomiales. Hôpital d'enfants Abderrahim Harouchi, CHU Ibn Rochd, Casablanca, Maroc. *Journal de pédiatrie et de puériculture*, 26(5), 11-18.

Chiabi, A., Miaffoc, L., Maha, E., Nguefacka, S., Mbuagbawd, I., Tsafacka, J., Tsafacka, W., Tafena, W., & Tchokoteua, P. F. (2011). Facteurs de risque et pronostic hospitalier des nouveau-nés de faible poids de naissance (poids de naissance inférieure à 2500 grammes) à l'hôpital gynéco-obstétrique et pédiatrique de Yaoundé, Cameroun. *Journal de pédiatrie et de puériculture*, 24(3), 125-132.

Comporé, T. S., Guèye Ba, M., Dionne, P., & Wade, B. (2010). Surveillance des infections nosocomiales : bilan de quatre années d'enquête de prévalence « un jour donné » dans le département Mère-Enfant de l'hôpital Principal de Dakar (Sénégal). *Revue de médecine périnatale*, 2(4)213-218.

D

Doit, C., Biran, V., & Aujard, Y. (2015). Infections nosocomiales en néonatalogie. *Nosocomial infections in neonatal units*, 91-106.

Ducel, G., Fabry, J., & Nicolle, L. (2008). Prévention des infections nosocomiales : *Guide pratique*, 71.

Dupuy, M.A., Terrier, N., Sénécal, L., Morena, M., Leray, H., Canaud, B., & Critol, J.P. (2003). La CRP est-elle plus qu'un marqueur de l'inflammation ? *Néphrologie*, 24 (7).

Duranteau, J., Amathieu, R., Guérin, C., Guiot, P., Guitton, C., Ichai, N., & Kermarrec, C. (2009). Prévention des infections nosocomiales en réanimation (transmission croisée et nouveau-né exclus). *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*, 28(10), 912-920.

E

Escande, B., Kuhn, P., Gaugler, J., & Messer, J. (2003). Neutropénie néonatale, infection nosocomiale précoce et granulocyte-colony stimulating factor. *Archives de pédiatrie* 10 (4), 93-95.

F

Febre-James, M. (2019). Effets régulateurs du ruxolitinib sur l'expression de marqueurs de l'inflammation et de protéines de détoxication des médicaments (*Doctoral dissertation, Université Rennes 1*).

G

Gagneur, A., Legrand, M.C., Picard, B., Baron, R., Talbot, P.j., Parscau, L., & Sizun, J. (2002). Infections nosocomiales à coronavirus humains chez le nouveau-né. *Archives de pédiatrie*, 9(1), 61-69.

Gall, C., Désidéri-Vaillant, C., & Nicolas, X. (2011). Significations d'une protéine C-réactive supérieure à 500 mg/l : à propos de 91 prélèvements dans un centre hospitalier breton. *Pathologie Biologie*, 59(6), 319-320.

Gendrel, D (1998). Infection urinaire et marqueurs biologiques : protéine C réactive, interleukines et procalcitonine, *Archive de pédiatre*, 5(3), 269-73.

Girou, E. (2003). Prévention des risques d'infection urinaire nosocomiale dans les collectivités (hospitalières et extra-hospitalières): l'isolement. *Médecine et maladies infectieuses*, 33(10), 529-533.

Guibert, M., &Boithias, C. (1999). Infections nosocomiales néonatales. *Médecine thérapeutique/Pédiatrie*, 2(2), 95-103.

H

Habzi, A., &Benomar, S.(2001). Les infections nosocomiales néonatales. *Journal de pédiatrie et de puériculture*, 14(7), 419-424.

Hajek, V., Pasquet, F., Karkowski, L., Lachenal, F., Gerôme, P., &Pavic, M. (2011). Profil étiologique et pronostique des valeurs extrêmes (≥ 500 mg/L) de protéine C-réactive : étude rétrospective de 168 valeurs chez 113 patients. *La Revue de médecine interne*, 32(11), 663-668.

HANRIOT, D (2008). Effets de la protéine c réactive sur la biologie du monocyte humain dans l'athérosclérose à travers une analyse du transcriptome. *Université Henri Poincaré-Nancy faculté de médecine (thèse de doctorat)*.

Hasan, A. A., Hassawi, D. S., Al-Daghistani, H. I., &Hawari, A. D. (2014). Identification moléculaire et biochimique d'espèces de *Staphylococcus* à coagulase positive isolées de sources humaines et animales en Jordanie. *International Journal of Medicine and Medical Sciences*, 47(1), 1491-1507.

Horng, I.M., Unicomb, L., Alam, M.U., Halder, A. K., Shoab,A.K., Ghosh,A.K., Opel,M.K., Islam,M.K., &luby, S.P. (2016). Healthcare worker and family caregiver hand hygiene in Bangladeshi healthcare facilities: results from the Bangladesh National Hygiene Baseline Survey. *Journal ofHospital Infection*, 94(3) 1-9.

J

Jarreau, P. H. (2013). La prématurité. *Médecine/sciences*, 29(10), 819-820.0

K

Kacet, N., Liska, A., Truffert, P., Coignard, B., & Lequien, P. (1999). Infections nosocomiales chez le nouveau-né. *Journal de pédiatrie et de puériculture*, 12(4), 195-203.

Kemeze, S., Moudze, B., Chiabi, A., Eposse, C. H., Kaya, A., Mbangue, M., Guifo, O., & Kago, I. (2016). Profil clinique et bactériologique des infections néonatales bactériennes à l'Hôpital Laquintinie de Douala, Cameroun. *Pan African Medical Journal* 23.

Koeck, J. L., Trueba, F., & Chakour, M. (2001). Les hémocultures en 2001. *Revue française des laboratoires*, 2001(335), 43-47.

L

Lachassinne, E., Letamendia-Richard, E., & Gaudelus, J. (2004). Épidémiologie des infections nosocomiales en néonatalogie. *Archives de pédiatrie*, 11(3), 229-233.

Lemarié, J., & Gibot, S. (2013). Combinaison de biomarqueurs pour le diagnostic du sepsis en réanimation, *Réanimation*, 22(3), 306-313.

Leno, D. W. A., Camara, M. K. Kouyate, S., Diallo, F. D., Tolno, J., Hijazy, Y., & Keita, N. (2017). Les déterminants maternels associés au petit poids pour l'âge gestationnel à la maternité de l'hôpital Donka de Conakry. *Revue de médecine périnatale*, 9(3), 178-183.

M

Mabiala-Babela, J. R., Matingou, V. C., & Senga, P. (2007). Facteurs de risque de petit poids de naissance à Brazzaville, Congo. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction*, 36(8), 795-798.

Manickam, K., Karlowsky, J. A., Adam, H., Lagacé-Wiens, P. R., Rendina, A., Pang, P., & Alfa, M. J. (2013). Le milieu d'orientation CHROMagar réduit la charge de travail de culture d'urine. *Journal of clinical microbiology*, 51(4), 1179-1183.

Maoulainine, F. M. R., Elidrissi, N. S., Chkil, G., Abba, F., Soraa, N., Chabaa, L., Amine, M., & Aboussad, A. (2014). Épidémiologie de l'infection nosocomiale bactérienne dans un service de réanimation néonatale marocain. *Archives de Pédiatrie*, 21(9), 938-943.

Mathilde, M. C., & Sylvie, P. (2021). Utilisation de la CRP rapide dans la prise en charge des enfants consultant pour fièvre aux urgences pédiatriques du chu de bordeaux évaluation et perspectives. *U.F.R des sciences médicales Université de Bordeaux. Thèse n° 3079.*

McFadyen, J.D., Pietersz, G.A., Peter, E.K. J., Zeller, J., Eisenhardt, S.U., Potempa, L.A., & Steffen, U. (2020). Chapter 20 C-Reactive Protein and Its Structural Isoforms: An Evolutionary Conserved Marker and Central Player in Inflammatory Diseases and Beyond James D. *Subcellular biochemistry*. 94, 499-520.

Merzougui, L., Ben Helel, K., Hanachi, H., Metjaouel, H., Brini, H., Barkallah, M., Ben Rejeb, M., & Said-Latiri, H. (2018). Risk factors of Bacterial Nosocomial Infection in a neonatology center. “Case-Control Study” about 184 cases. *Journal of pediatrics and childcare*, 31(1), 18-26.

Morris, G. K. et Feeley, J. C. (1976). *Yersinia enterocolitica*: examen de son rôle dans l'hygiène alimentaire. *Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé*, 54(1), 79.

Morris, G. K. et Feeley, J. C. (1976). *Yersinia enterocolitica*: examen de son rôle dans l'hygiène alimentaire. *Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé*, 54(1), 79.

N

Nouri-Merchaoui, S., Mahdhaoui, N., Beizig, S. R., Zakhama S.R., Fekih, M., Methlouthi, J., Salem, N., & Seboui, H. (2009). Intérêt de la C-réactive protéine (CRP) sériée dans la prise en charge des nouveau-nés suspects d'infection bactérienne materno-fœtale : étude prospective de 775 cas, *Journal de pédiatrie et de puériculture*, 22(2), 80—88.

P

Padonou, S. G. R. (2014). Faible poids de naissance, prématurité et retard de croissance intra utérin: facteurs de risque et conséquences sur la croissance de la naissance à 18 mois de vie chez des nouveau-nés béninois (*Doctoral dissertation, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI*).

Peigue-Lafeuille, H., Chambon, M., Bailly, J.L., Henquell, C., Alcaraz, S., & Gaulme, J. (2000). Infections nosocomiales à entérovirus en néonatalogie et dans les nurseries : un risque à ne pas négliger. *Médecine et maladies infectieuses*, 30, 683-690.

R

Rambliere, L. (2021). Mortalité périnatale et morbidité post-hospitalière: données d'une cohorte pédiatrique internationale (*Doctoral dissertation, Université Paris-Saclay*).

Rasamiravaka, T., Dessay, M., NiryManantsoa, S., OlivatRakoto-Alson, A., & Rasamindrakotroka, A. (2011). La place de l'examen direct des prélèvements bactériologiques dans le diagnostic des infections bactériennes. *Bio tribune magazine*, 41(1), 13-17.

Rebiahi, S.A., Rahmouna, M., Seddiki, S.M.L., Kadi, K., Belhadji, F., Chabni, N., & Kunkel, D. (2014). Nosocomial infections caused by Staphylococcus aureus biofilm producer in the neonatal unit of the hospital specialist mother-child of Tlemcen. *Journal of pediatrics and childcare*, 27(5), 228-235.

Repond, T. (2012). Les facteurs de motivation infirmière assurant la pérennité d'un soin de qualité afin de prévenir les infections nosocomiales en milieu hospitalier : *une revue de littérature étoffée* (*Doctoral dissertation, Haute Ecole de Santé de Fribourg*).

Richard, C. (1979). Les Limites d'Utilisation des Systèmes prêts à l'emploi. *Médecine et maladies Infectieuses*, 9(9), 484-489.

S

Siboub, M. (2018). La prévalence de l'infection nosocomiale au CHU Mohammed VI de Marrakech. (*Doctoral dissertation, Thèse Doctorat en Médecine, Faculté de Médecine de Marrakech*).

T

TEBBAL, A. (2018). Etude de l'activité antagoniste de certaines Cyanobactéries vis-à-vis des germes responsables des infections nosocomiales. *Université Djillali Liabes De Sidi Bel Abbes, Faculté Des Sciences De La Nature Et De La Vie (Thèse De Doctorat)*.

Traore, B. M., Diallo, H., Diarra, A.S., El Fakir, S., & Nejjari, C. (2016). Facteurs associés au faible poids de naissance au centre de santé communautaire de Yirimadio (Mali). *Annale de science de la sante*, 1(7), 8-15.

Z

Zahlane, K., Ouafi, A. T., & Barakate, M. (2020). The clinical and epidemiological risk factors of infections due to multi-drug resistant bacteria in an adult intensive care unit of University Hospital Center in Marrakesh-Morocco. *Journal of Infection and Public Health*, 13(4), 637-643.