



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Projet de Fin d'Etudes

Licence Sciences & Techniques
Sciences Biologiques Appliquées et Santé
(LST - SBAS)

**Culture des cathéters ombilicaux chez les nouveaux nés
hospitalisés dans le service de néonatalogie et réanimation
néonatale au CHU de Fès**

Présenté par : Mlle BIBAH Hajar

Encadré par : Pr OUMOKHTAR Bouchra (Faculté de médecine et pharmacie Fès)

Pr TAZI Abdelali (FST Fès)

Soutenu le : 09/07/2021

Devant le jury composé de : Pr.Tazi Abdelali (FSTF)

Pr. Harki El Houssaine (FSTF)

Pr. Oumokhtar Bouchra (FMPF)

Stage effectué à : Laboratoire de microbiologie et biologie moléculaire FMPF

Année universitaire : 2020-2021

Remerciements

Je tiens tout d'abord à exprimer mes remerciements les plus sincères à toute l'équipe pédagogique de la licence SBAS de la Fst de Fès, un grand respect pour nos chers professeurs de nous avoir assuré les enseignements dans les meilleures conditions.

Je remercie Pr. HALOTI Said coordonnateur de la filière SBAS, pour ses conseils et sa disponibilité tout au long de la formation.

Je voudrais également exprimer ma vive gratitude à mon encadrante de stage Pr. OUMOKHTAR Bouchra, pour m'avoir offert l'opportunité de réaliser mon stage au sein du laboratoire de microbiologie et biologie moléculaire à la Faculté de Médecine et de pharmacie de Fès, Je la remercie de m'avoir réservé un bon accueil malgré ses obligations professionnelles.

Je tiens à remercier sincèrement mon encadrant pédagogique Pr. TAZI Abdelali d'avoir dirigé ce travail avec enthousiasme en me faisant bénéficier de ses précieux conseils, permettez-moi professeur de vous exprimer à travers ce travail, toute ma gratitude pour votre compréhension et votre soutien. Merci également pour votre gentillesse, veuillez trouver ici le signe de mon profond respect.

Je tiens aussi à remercier Pr.Harki El Houssaine d'avoir accepté d'évaluer ce travail.

Je tiens aussi à remercier et à témoigner toute ma reconnaissance au personnel du laboratoire, Mr. Salim Belchkar et Mr. Benboubker Moussa pour leur contribution à la réussite de cet humble projet de fin d'études dans les meilleures conditions.

merci

Dédicaces

Je dédie ce travail :

A ma très chère mère

Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

A mon très cher père

Tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager. Que ce travail traduit ma gratitude et mon affection.

*A mes très chers frères Youssef et Ismaïl et mes belles sœurs
Bouchra et Yasmín*

*Que Dieu vous donne santé, bonheur, courage et surtout
réussite*

*A ma famille, mes proches et à ceux qui me donnent de
l'amour et de la vivacité.*

*A tous mes amis qui m'ont toujours encouragé, et à qui je
souhaite plus de succès.*

A tous ce que j'aime

Liste des abréviations

ATB : antibiotique

BGN : bacilles à gram négatifs

BHI : Brain Heart Infusion

CAO : cathéter artériel ombilicale

CA-SFM : Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

CVC : cathéter veineux centrale

CVO : cathéter veineux ombilicale

CVP : cathéter veineux périphérique

E. coli : *Escherichia coli*

EMB : Eosin Methylene Blue

EUCAST : Le Comité européen sur les tests de sensibilité aux antimicrobiens

ILC : infections liées aux cathéters

IN: infection nosocomiale

Kp : *klebsiella pneumoniae*

KT : cathéter

Milieu MH : milieu *Mueller-Hinton*

MR : rouge de méthylène

NaCl : chlorure de sodium

OMS : organisation mondiale de santé

pH : potentiel hydrogène

SA : *staphylococcus aureus*

SCM : le muscle sterno-cléido-mastoïdien

SCN : staphylocoques à coagulase négative

SGB : *streptococcus* de groupe B

TSA : tryptone soja agar

UFC : unité formant colonie

VP : Voges-Proskauer

Liste des tableaux

Tableau 1 : Tableau représentant les différentes conditions d'incubation pour certaines bactéries.....	25
Tableau 2 : Les antibiotiques spécifiques à <i>klebseilla pneumoniae</i>	26
Tableau 3 : les antibiotiques spécifiques à <i>staphylococcus Aureus</i>	26
Tableau 4 : le résultat de la coloration de gram	28
Tableau 5 : le résultat du test catalase	29
Tableau 6 : le résultat du test oxydase.....	29
Tableau 7 : le résultat du test coagulase.....	30
Tableau 8 : le résultat de l'IMViC	30
Tableau 9 : la synthèse.....	30
Tableau 10 : les 16 ATB testés sur <i>Klebseilla pneumoniae</i>	31
Tableau 11 : les 16 ATB testés sur <i>Staphylococcus aureus</i>	32

Liste des figures

Figure 1: Schéma montrant l'emplacement de la veine ombilicale [10].....	3
Figure2 : Rapports anatomiques de la veine jugulaire interne [10].....	4
Figure3 : Rapports anatomiques de la veine sous-clavière [10].....	5
Figure 4 : Rapports anatomiques de la veine axillaire [10].....	6
Figure5 : Emplacement d'un cathéter périphérique dans le cuir chevelu chez un nouveau-né [5].....	9
Figure 6 : Cathéter type Broviac [10].....	9
Figure 7 : Emplacement d'un cathéter ombilical chez un nouveau-né [5].....	10
Figure 8 : culture des staphylococcus aureus sur gélose au sang.....	15
Figure 9 : culture d' <i>E.coli</i> sur milieu <i>EMB</i>	15
Figure10 : culture de <i>Klebsiella pneumoniae</i> sur milieu TSA [16].....	16
Figure 11: culture des <i>Staphylococcus Aureus</i> sur milieu <i>chapman</i> 24h à 37°C; Mannitol+(A). Culture des <i>Staphylococcus Epidermidis</i> sur milieu <i>chapman</i> 24h à 37°C; Mannitol-(B) [15].....	17
Figure 12 : vue au microscope des bactéries à gram positif et à gram négatif [14].....	18
Figure 13 : Test catalase [18].....	19
Figure 14 : Test oxydase.....	19
Figure 15 : Test coagulase.....	20
Figure 16 : Test indole	21
Figure 17 : Test MR.....	21
Figure 18 : test VP.....	22
Figure 19 : test citrate.....	22
Figure 20 : la culture d'un KTO par la méthode de <i>Cleri</i>	28
Figure 21 : antibiogramme réalisé pour Kp.....	31
Figure 22 : antibiogramme réalisé pour SA	33

Table des matières

- Remerciements
- Dédicaces
- Liste des abréviations
- Liste des tableaux
- Liste des figures
- Introduction

Introduction	1
CHAPITRE 1: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	2
I. Généralités sur le capital vasculaire chez le nouveau-né	3
1. Les principales voies veineuses chez le nouveau-né	3
II. Les infections liées aux soins chez le nouveau-né	6
1. Définition.....	6
2. Les germes en cause	6
3. Les modes de transmission	6
4. Les types des infections liées aux soins chez les nouveaux nés	7
III. Les infections liées aux cathéters chez le nouveau-né.....	8
1. Qu'est-ce qu'un cathéter ?.....	8
2. Les types des cathéters	8
a. Cathéter veineux centrale CVC	8
c. Cathéter tunnélisé ou de type Broviac	9
IV. Les complications liées aux cathéters ombilicaux.....	10
1. Les complications du CVO.....	10
2. Les complications du CAO.....	11

V.	Les infections liées aux cathéters	11
VI.	Préventions des infections liées aux KTV	11
1.	Hygiène des mains	11
2.	Précautions de barrière maximale.....	11
3.	Désinfection cutanée à la Chlorhexidine	12
4.	Sélection optimale du type de cathéter et du site d'insertion	12
Chapitre 2 : matériel et méthodes.....		13
I.	Culture des CVO chez le nouveau-né	14
1.	Culture semi-quantitative du cathéter	14
2.	Culture quantitative du cathéter	14
II.	Préparation des milieux de culture	14
1.	Gélose au sang	14
2.	Gélose EMB	15
3.	Gélose TSA.....	15
4.	Gélose <i>Chapman</i>	16
5.	Citrate de <i>Simmons</i>	17
III.	Identification biochimique.....	17
1.	Coloration de <i>gram</i>	17
2.	Test catalase.....	18
3.	Test oxydase	19
4.	Test <i>coagulase</i> libre.....	20
5.	IMViC.....	20
IV.	L'antibiogramme	23
1.	Techniques d'antibiogrammes par la méthode de diffusion en milieu gélosé.....	23
2.	Réalisation de l'antibiogramme pour les <i>Entérobactéries</i> et les <i>staphylocoques</i>	25

Chapitre 3 : résultats et discussion	27
I. Culture quantitative des KT	28
II. Coloration de gram	28
III. Résultats catalase	29
IV. Résultats oxydase	29
V. Résultats coagulase.....	30
VI. Résultats IMViC	30
VII. Synthèse des résultats obtenus.....	30
VIII. L'antibiogramme.....	31
1. Réalisation d'un antibiogramme chez <i>klebsella pneumoniae</i>	31
2. Réalisation d'un antibiogramme chez <i>staphylococcus aureus</i>	32
Conclusion.....	33
Références bibliographiques.....	34

Introduction

Le cathétérisme ombilical est devenu obligatoire en réanimation néonatale, du fait de ses indications de plus en plus fréquentes. Cependant, l'abord des vaisseaux ombilicaux peut être difficile et dangereux chez le nouveau-né et son succès dépend d'un apprentissage soigneux et d'une pratique régulière. [1]

Néanmoins, le risque d'infection lié au placement de ce type de cathéter est défini sous le nom de l'infection nosocomiale qui représente un véritable problème de santé en néonatalogie, et elle est une cause majeure de morbidité et de mortalité.

L'infection nosocomiale a été définie par le National Nosocomial Infections Surveillance system (NNIS), comme un état localisé ou systémique qui est le résultat d'une réaction défavorable de l'organisme due à la présence d'un agent infectieux ou de sa toxine et qui n'était ni présent ni en incubation au moment de l'admission et ne se manifeste qu'au-delà de 48h d'hospitalisation. [2]

Une étude a démontré que parmi 702 nouveau-nés, 91 ont développé une IN ; 65,9% des nouveau-nés infectés avaient bénéficié d'un cathéter ombilical. Les bactériémies représentaient 89%, elles étaient associées au cathéter veineux ombilical dans 74% des cas. Les Pneumopathies représentaient 6,6%. La méningite (3,3%) et l'infection urinaire (1,1%) [2].

L'objectif de mon stage est d'évaluer la contamination des cathéters ombilicaux retirés chez des nouveau nés hospitalisés dans le service de réanimation néonatale du CHU Hassan II de Fès.

CHAPITRE 1: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralités sur le capital vasculaire chez le nouveau-né

La connaissance théorique et pratique de l'abord veineux pédiatrique est obligatoire à tout médecin ayant à prendre en charge l'enfant. La mise en place d'une voie veineuse chez l'enfant n'est pas un geste inoffensif et le respect de quelques règles de bonne pratique doit permettre d'en améliorer l'acceptabilité, de réduire la morbidité liée au geste et de protéger l'avenir vasculaire de l'enfant [9].

1. Les principales voies veineuses chez le nouveau-né

a. La veine ombilicale

Elle transporte le sang oxygéné du placenta vers le fœtus. De l'ombilic, son origine, elle se dirige en haut et à droite vers la face inférieure du foie et rejoint la branche gauche de la veine porte. Le canal veineux d'Arantius relie directement l'ensemble veine porte/veine ombilicale à la veine cave inférieure, court-circuitant en partie la circulation hépatique.

Chez le nouveau-né à terme, le calibre interne de la veine ombilicale est d'environ 2 mm. Après section du cordon ombilical à environ 1 cm de l'implantation abdominale, la veine est visualisée sous la forme d'un orifice large, béant et unique. [10]

Chez le nouveau-né, la ligne ombilicale représente une voie accessible et essentielle pendant les premières heures de vie. Elle permet un accès rapide couramment utilisé pour la réanimation initiale dans la salle d'accouchement et permet la conservation du réseau veineux en évitant les ponctions veineuses répétées.

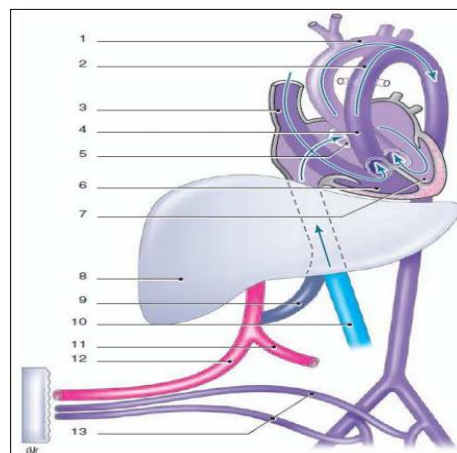


Figure 1 : Schéma montrant l'emplacement de la veine ombilicale 1. Aorte ; 2. Canal artériel ; 3. Veine cave supérieure ; 4. Artère pulmonaire ; 5. Foramen ovale ; 6. Ventricule droit ; 7. Ventricule gauche ; 8. Foie ; 9. ductus venosus ; 10. Veine cave inférieure ; 11. Veine porte ; 12. Veine ombilicale ; 13. Artères ombilicales.

b. La veine jugulaire interne

La veine jugulaire interne passe en bissectrice par le sommet du triangle de Sédillot délimité par le chef sternal du muscle sterno-cléido-mastoïdien SCM en dedans, le chef claviculaire du même muscle en dehors et en bas par le bord supérieur de la clavicule. Chez l'enfant, il existe, au niveau du cou, des variations de la position de la veine jugulaire interne par rapport à la carotide en fonction du niveau où l'on se place. Ces variations sont indépendantes de l'âge et de la taille de l'enfant mais vont être primordiales à connaître pour la pose d'un cathéter

De haut en bas les études échographiques ont montré que :

- A hauteur du cartilage cricoïde : la veine jugulaire interne est le plus souvent latérale à la carotide (64 % des cas). Elle n'est antérieure que dans 24 % des cas et antérolatérale dans 12 % des cas [35] ;
- A hauteur de l'apex de l'angle formé par les deux chefs du muscle SCM, la jugulaire interne est le plus souvent antérieure à la carotide (56 % des cas), elle est latérale dans 40 % des cas et antérolatérale dans 4 % des cas;
- Au niveau de l'isthme thyroïdien (2 cm au-dessus de la clavicule) : la jugulaire interne est antérolatérale à la carotide dans 85 % des cas, elle n'est latérale que dans 9 % des cas et antérieure dans 4,2 % des cas [10]

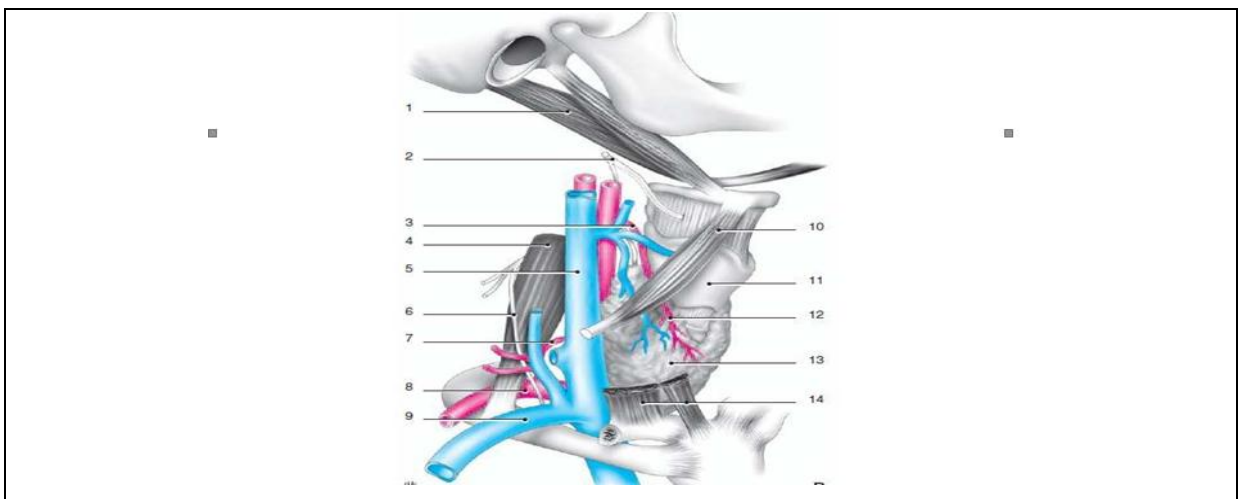


Figure 2: Rapports anatomiques de la veine jugulaire interne 1. Muscle digastrique (ventre postérieur) ; 2. nerf laryngé postérieur ; 3. artère thyroïdienne supérieure ; 4. muscle scalène antérieur ; 5. veine jugulaire interne ; 6.nerf phrénique ; 7.artère thyroïdienne inférieure ; 8.

artère sous-clavière ; 9. veine sous-clavière ; 10. muscle omohyoïdien ; 11. cartilage thyroïde ; 12. artère thyroïdienne supérieure ; 13. glande thyroïde ; 14. muscle sternocléidomastoïdien.

c. La veine sous-clavière

La veine sous-clavière naît de la veine axillaire et s'unit à la jugulaire interne pour composer le tronc veineux brachiocéphalique. La veine est toujours protégée en avant par la clavicule. Elle est plus basse et plus antérieure que l'artère. En arrière de l'artère, émerge le dôme pleural. Le nerf phrénique croise la veine sous-clavière en arrière. À gauche, le canal thoracique pénètre dans l'angle formé par les veines jugulaires internes et sous-clavières.

Chez le nouveau-né, le trajet de la veine a une orientation plus céphalique. Généralement, la veine sous-clavière droite forme un angle de 90° avec la veine jugulaire interne du même côté. À droite également, l'angle avec la veine cave supérieure est plus aigu que du côté gauche et donc plus difficile à franchir. C'est le cas en particulier chez l'enfant de moins de 2 ans [10]

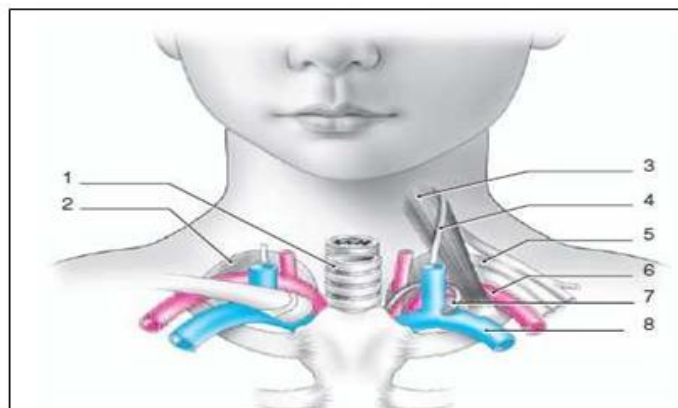


Figure 3 : Rapports anatomiques de la veine sous-clavière 1. Trachée ; 2. Dôme pleural ; 3. Muscle scalène antérieur ; 4. Nerf phrénique ; 5. Plexus brachial ; 6. Artère sous-clavière ; 7. Canal thoracique ; 8. Veine sous clavière.

d. La veine axillaire

La veine axillaire fait suite à la veine basilique au niveau du creux axillaire. Elle a un trajet ascendant vers le sommet de ce dernier et devient la veine sous-clavière au bord inférieur de la première côte. La veine est localisée en dedans et légèrement au-dessous de l'artère. Elle peut être visible sous la peau chez le nourrisson, sa portion distale en dehors du muscle petit

pectoral étant superficielle. Hormis le nerf cutané médial de l'avant-bras, les éléments du plexus brachial sont plus proches de l'artère que de la veine. [10]

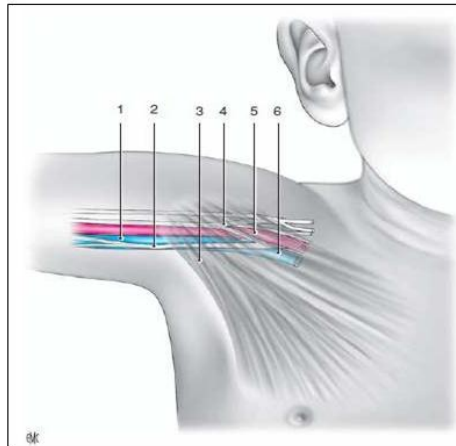


Figure 4 : Rapports anatomiques de la veine axillaire 1. Veine basilique ; 2. Nerf cutané médial ; 3. Muscle grand pectoral ; 4. Plexus brachial ; 5. Artère axillaire ; 6. Veine axillaire.

II. Les infections liées aux soins chez le nouveau-né

1. Définition

Selon l'OMS, une infection nosocomiale ou infection hospitalière peut être définie comme suit : Infection acquise à l'hôpital par un patient admis pour une raison autre que cette infection. Infection survenant chez un patient à l'hôpital ou dans un autre établissement de santé et chez qui cette infection n'était ni présente ni en incubation au moment de l'admission. Cette définition inclut les infections contractées à l'hôpital mais qui se déclarent après la sortie, et également les infections professionnelles parmi le personnel de l'établissement. [6]

2. Les germes en cause

Les agents infectieux responsables des infections nosocomiales sont des micro-organismes : parasites, champignons, bactéries, virus et des agents transmissibles non conventionnels.

3. Les modes de transmission

Toute infection qui peut être issue des germes propres au patient est dite : infection endogène
Toute infection qui peut être issue des micro-organismes provenant d'un milieu contaminé est dite : infection exogène

Les modes de transmissions endogènes sont présentés par la modification de la flore résidente normale du patient au cours d'une hospitalisation, et à cause de certains actes invasifs les germes vont se déplacer d'un milieu où ils sont inactifs vers un autre milieu où ils se divisent et deviennent pathogènes [6]

L'infection exogène est transmise soit :

- Par contact direct du réservoir au patient ou indirecte par le biais d'un matériel souillé
- Par des sécrétions respiratoires en suspension dans l'air sous forme de gouttelettes dans ce cas la source est proche du patient
- Par voie aérienne à cause des microorganismes transportés par la poussière et dans ce cas la source est éloigné du patient
- Par des outils médicaux, produits biologiques ...

4. Les types des infections liées aux soins chez les nouveaux nés

Les infections associées aux soins les plus courants sont la pneumonie ou l'infection pulmonaire, les infections du sang (la septicémie) causées par l'introduction d'un cathéter veineux pour injecter les liquides et les médicaments au nouveau-né, ainsi que les infections cutanées les plus fréquentes qui sont dues à une bactérie *Staphylococcus aureus* .

La pneumonie : est une infection aiguë où les alvéoles sont remplies de pus et liquide ce qui rend la respiration difficile et limite l'absorption de l'oxygène. Selon l'OMS elle est la première cause de mortalité chez l'enfant. Elle est causée par des microorganismes pathogènes : bactérie, virus ou champignons. Comme *Streptococcus pneumoniae* ; *Haemophilus influenzae type b* ; *Pneumocystis jiroveci*... Elle est transmise par plusieurs voies spécifiquement la voie aérienne et par inhalation des bactéries ou virus présents dans la partie nasale et le pharynx elle peut être aussi transmis par la voie sanguine pendant ou après la naissance. Les nouveaux nés présentent un état de risque qui est exprimé par l'immunodépression à cause de la malnutrition ou la sous-alimentation pour les bébés qui ne sont pas allaités exclusivement au sein. [23]

La septicémie : est une réaction généralisée grave à la propagation de l'infection dans le sang. [3], les enfants atteints de septicémie sont apathique, s'alimentent mal, leur peau est souvent grise, une température corporelle instable. Le diagnostic de cette maladie repose sur la présence d'une bactérie, virus ou champignon dans le sang, l'urine ou le liquide céphalorachidien. Les types de bactéries les plus souvent à l'origine d'une septicémie

néonatale sont : *Escherichia coli* et les streptocoques du groupe B (SGB). Qui sont généralement acquises lors du passage du nouveau-né dans le vagin. Les nouveau-nés peuvent développer une septicémie tardive à cause d'une utilisation prolongée d'un cathéter ou l'utilisation des antibiotiques ainsi qu'une hospitalisation longue.

III. Les infections liées aux cathéters chez le nouveau-né

1. Qu'est-ce qu'un cathéter ?

Le cathéter veineux central ou périphérique est un outil médical stérile fréquemment utilisé dans le milieu hospitalier, il est sous forme d'un tube mince et flexible qui est inséré dans la voie veineuse et permet d'introduire les médicaments ou les solutions nutritives et de réaliser des prélèvements sanguins pour éviter les piqûres répétées lors d'un traitement.

2. Les types des cathéters

Il existe plusieurs types des cathéters qui sont utilisés afin de créer un accès vasculaire chez le nouveau-né:

a. Cathéter veineux centrale CVC

Le CVC désigne un long tube mince, souple et flexible qui est inséré dans une des grosses veines qui vont jusqu'au cœur. Le choix d'accès vasculaire qui est utilisé dépend de l'âge et l'état du bébé, généralement les cathéters qui procurent un accès aux artères sont utilisés pour prélever du sang ou pour le monitoring de la tension artérielle, et les cathéters qui procurent un accès aux veines sont utilisés pour injecter les nutriments, les solutions et les médicaments. [5]

b. Cathéter veineux périphérique CVP

C'est un cathéter inséré dans les veines des mains, des pieds ou du cuir chevelu. Ce type de cathéter peut être inséré et laissé en place pendant quelques jours sont utilisés pour administrer des médicaments, nutrition, cependant ce n'est pas la meilleure option les bébés qui ont besoin d'une thérapie par intraveineuse à long terme [5]



Figure 5 : Emplacement d'un cathéter périphérique dans le cuir chevelu chez un nouveau-né

c. Cathéter tunnélisé ou de type Broviac

Ils sont des cathéters centraux en silicone ou en polyuréthane proposés pour la première fois par *Broviac* et *Hickman* dans les années 1970. Sont constitués par deux segments :

- Un segment distal mince comprenant la partie intravasculaire
- Un segment proximal extravasculaire, muni ou non d'un (version Broviac) ou de plusieurs (version Hickman) manchon(s). Ce segment proximal est destiné à être tunnélé



Figure 6 : Cathéter type *Broviac*

d. Cathéter veineux ombilical CVO

Le CVO est inséré dans le système cardiovasculaire par le bout restant d'un cordon ombilical coupé. En général c'est la méthode de choix d'accès veineux chez les nouveau-nés. Les cathéters veineux ombilicaux peuvent être insérés rapidement et peuvent rester en place jusqu'à deux semaines. Cependant l'abord des vaisseaux ombilicaux peut être difficile et dangereux et son succès dépend d'un apprentissage soigneux et d'une pratique régulière. Ce cathéter est faufilé par le cordon ombilical jusqu'à tous près de l'oreillette droite du cœur. [5,6]

e. Cathéter artériel ombilical CAO

Les cathéters artériels ombilicaux (CAO), fréquemment utilisés pour surveiller les bébés en soins intensifs néonataux. Le cathéter peut également être placé en position haute ou basse. Il a été rapporté que le positionnement haut du cathéter entraînait moins de complications et permettait de limiter le remplacement et la réinsertion du cathéter. La pose d'un CAO nécessite une surveillance en continue de la pression artérielle systémique et permettra de préserver le capital artériel, d'effectuer des prélèvements sanguins sans douleurs. [8]



Figure 7 : Emplacement d'un cathéter ombilical chez un nouveau-né

IV. Les complications liées aux cathéters ombilicaux

Le risque infectieux et les problèmes techniques comme l'utilisation d'un cathéter, endommagé sont les complications communes aux cathéters CVO et CAO.

1. Les complications du CVO

Les complications spécifiques du CVO sont principalement dues à un mal positionnement des cathéters. La perforation d'une veine sous hépatique peut provoquer le logement du cathéter dans le foie ce qui peut provoquer des hémorragies importantes. Les risques

thrombotiques et les complications augmentent avec la durée d'utilisation du cathéter pour cela il est nécessaire de respecter la durée d'utilisation recommandée par les spécialistes (inférieur à cinq jours) [8]

2. Les complications du CAO

Les complications spécifiques du CAO sont le résultat d'un mauvais positionnement du cathéter qui peut entraîner des perforations des vaisseaux, des hypoglycémies réfractaires, des perforations péritonéales ou des faux anévrismes. [8]

V. Les infections liées aux cathéters

Les infections liées aux cathéters veineux représentent la troisième cause d'infection nosocomiale en réanimation néonatale et sont responsables d'un surcroît de morbidité et de mortalité ainsi qu'une augmentation des coûts de soins. Généralement la cause la plus fréquente d'infections liées aux cathéters est les staphylocoques *coagulase* négatif en ordre de 40%. Viennent ensuite les entérobactéries dans 20 à 25 % des cas, puis les bactéries à Gram négatif et notamment les *Pseudomonas* 10 à 20 % et les staphylocoques dorés à 10% des cas. [11]

VI. Préventions des infections liées aux KTV

1. Hygiène des mains

Le nettoyage des mains à l'aide d'un désinfectant à base d'alcool sans eau aide à prévenir la contamination des sites de cathéters veineux et les bactériémies qui en résultent :

- Avant et après avoir palpé les sites d'insertion du cathéter
- Avant et après avoir inséré un cathéter, l'avoir remplacé, y avoir accédé, l'avoir réparé ou avoir changé un pansement
- Lorsque les mains sont sûrement souillées ou qu'une contamination est suspectée
- Avant de mettre des gants et après les avoir retirés [19]

2. Précautions de barrière maximale

Un des éléments clés pour diminuer la probabilité d'une infection liée aux cathéters veineux est l'appel aux précautions de barrière maximale au moment de la préparation de l'insertion du cathéter. Les précautions de barrière maximale se manifestent par la conformité stricte aux

mesures d'hygiène des mains ainsi que par le port d'un bonnet, d'un masque, d'une blouse d'hôpital stérile et de gants. Le bonnet doit couvrir les cheveux complètement, et le masque doit couvrir fermement le nez et la bouche.[19]

3. Désinfection cutanée à la Chlorhexidine

Il a été démontré que la désinfection cutanée à la chlorhexidine est plus puissante que les autres agents antiseptiques, tels que les solutions de povidone iodée (Bétadine)

4. Sélection optimale du type de cathéter et du site d'insertion

L'insertion des cathéters veineux chez les enfants peut être plus complexe que chez les adultes. Pour choisir le site d'insertion, il faut tenir compte des éléments suivants : confort du patient, facteurs personnels, risque de complications, risque d'infection, potentiel de mobilité et expérience de la personne qui procède à l'intervention. Le choix du site d'insertion des cathéters veineux chez les enfants repose sur l'appréciation des particularités des patients et sur l'analyse du rapport risques/avantages dans chacune des situations cliniques. Il n'y a pas de données conduisant qu'un site particulier correspond à un taux d'infection inférieur chez les jeunes enfants.

Chapitre 2 : matériel et méthodes

Ce travail a été réalisé dans le cadre de notre stage de licence durant la période de deux mois au sein du laboratoire de microbiologie et biologie moléculaire à la faculté de médecine et de pharmacie de Fès. Afin d'évaluer la contamination des cathéters ombilicaux retirés chez des nouveau nés hospitalisés dans le service de réanimation néonatale du CHU Hassan II de Fès.

I. Culture des CVO chez le nouveau-né

1. Culture semi-quantitative du cathéter

Cette méthode a été proposée par *Maki* en 1997, qui consiste à rouler l'extrémité distale du cathéter à peu près 5cm sur la surface d'un milieu de culture solide à l'aide d'une pince stérile. Après 24 à 48 heures d'incubation à 37°C, on quantifie les bactéries. On dit qu'il y a une colonisation du cathéter si CFU supérieur ou égale à 15. Cette méthode n'a pas été retenue comme une méthode de référence car elle ne s'intéresse qu'à la face externe du KT, et donc la sensibilité est comprise entre 20 et 50%.

2. Culture quantitative du cathéter

Cleri a proposé cette méthode en 1980, puis modifiée et simplifiée par *BRUN BUISSON* en 1987, qui consiste à poser l'extrémité distale du KT dans 1 ml de l'eau physiologique (NaCl 9% avec l'eau distillée) dans un tube stérile, puis vortexer pendant une minute pour homogénéiser le liquide. Ensuite on prend 0,1ml de ce liquide afin de le mettre en culture sur gélose au sang, on étale le liquide en s'aidant d'un étaloir stérile. Après 24 à 48 heures d'incubation à 37°C, si le nombre des colonies dépasse le seuil de positivité qui est de 10^3 ufc/ml donc il y a une contamination du KT. Cette méthode permet d'explorer à la fois la face interne et externe du dispositif donc elle a été adoptée comme méthode de référence avec une sensibilité de 97% pour une spécificité de 88 %

II. Préparation des milieux de culture

1. Gélose au sang

Définition : C'est un milieu enrichi utilisé pour la culture des bactéries très exigeantes qui n'accroissent pas facilement [12].

Mode opératoire : on a versé 39,5 g de poudre de gélose de base dans un litre d'eau distillée. Puis on a porté à ébullition jusqu'à dissolution complète. Après on a mélangé et stérilisé 15 minutes à 121°C à l'autoclave. On a laissé refroidir à 45–50°C et on a ajouté 7 % de sang

stérile (cheval ou mouton). Finalement on a agité délicatement pour éviter les bulles d'air dans la gélose. Le milieu préparé a été coulé sur les boites de pétri



Figure 8 : culture d'un KT sur gélose au sang

2. Gélose EMB

Définition : C'est un milieu de culture sélectif et différentiel employé en microbiologie pour l'isolement et l'identification des bacilles Gram négatifs (BGN).

Mode opératoire : nous avons versé 35,96 grammes dans un litre d'eau distillée. Puis il est porté à ébullition jusqu'à dissolution complète. Ensuite on a mélangé et stérilisé 15 minutes à 121°C à l'autoclave. Enfin on a laissé refroidir puis versé dans les boites de pétri

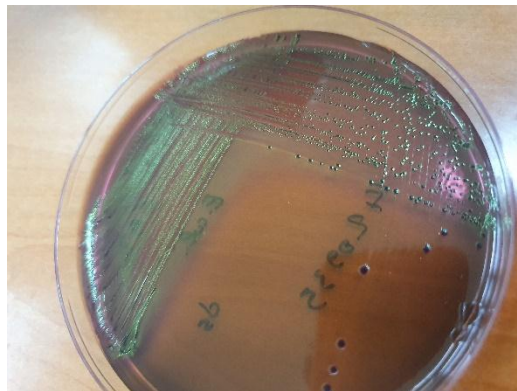


Figure 9 : culture d'*E.coli* sur milieu *EMB*

3. Gélose TSA

Définition : La gélose tryptone soja est un milieu de culture utilisé en microbiologie pour des bactéries peu exigeantes aérobies et anaérobies Il s'agit d'un milieu polyvalent et non sélectif

qui fournit suffisamment de nutriments pour permettre la croissance d'une grande variété de micro-organismes. Il est utilisé pour isoler les cultures pures

Mode opératoire : nous avons versé 40 g de poudre dans un litre d'eau. Puis il est porté à ébullition jusqu'à dissolution complète. Ensuite on a stérilisé 15 minutes à 121°C à l'autoclave.



Figure 10 : culture de *Klebsiella pneumoniae* sur milieu TSA

4. Gélose *Chapman*

Définition : Le milieu de Chapman est utilisé pour l'isolement des Staphylocoques pathogènes qui donnent des colonies jaunes par fermentation du mannitol et virage du rouge de phénol. Sa forte teneur en chlorure de sodium inhibe la croissance de la plupart des autres espèces. La présence de mannitol et de rouge de phénol permet de connaître le caractère mannitol des bactéries : Si le milieu devient jaune : acidification du milieu par fermentation du mannitol = mannitol +. Si le milieu reste rouge : pas d'acidification du milieu = mannitol – [15]

Mode opératoire : 111 grammes de milieu déshydraté ont été mis dans un litre d'eau distillée. Nous avons mélangé jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène. Puis on a chauffé lentement en agitant fréquemment, après il a été porté à ébullition jusqu'à dissolution complète. Puis on a stérilisé à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes. Enfin il a été réparti en boîtes de Pétri ou en flacons. [17]

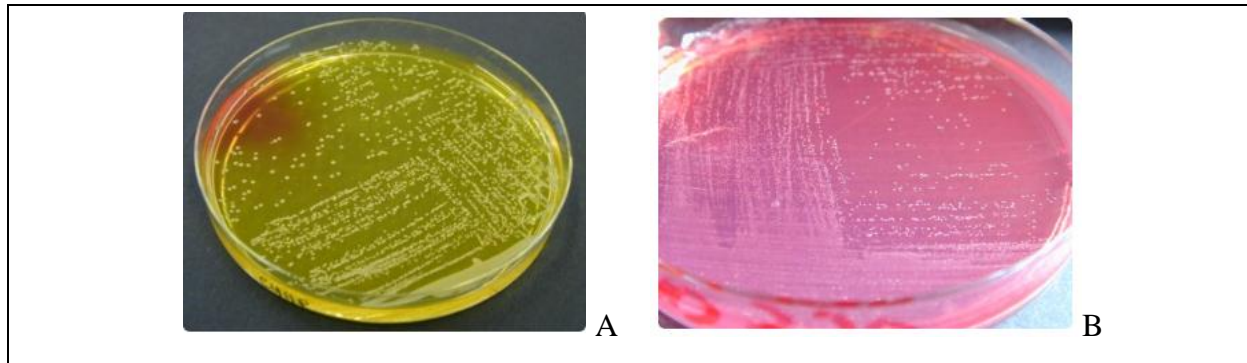


Figure 11 : culture des *Staphylococcus Aureus* sur milieu *chapman* 24h à 37°C; Mannitol+(A). Culture des *Staphylococcus Epidermidis* sur milieu *chapman* 24h à 37°C; Mannitol-(B)

5. Citrate de *Simmons*

Définition : La gélose *Simmons* citrate est utilisée pour l'identification des bacilles Gram négatifs. Il permet la recherche du citrate de sodium comme seule source de carbone et d'énergie pour les bactéries. Ce milieu participe à la mise en évidence des caractères d'identification des Entérobactéries. La fermentation du citrate de sodium entraîne alors une acidification qui provoque une coloration bleue du milieu en présence de bleu de bromothymol (indicateur de pH).

Mode opératoire : 21 grammes de milieu déshydraté ont été mise dans un litre d'eau distillée stérile. Puis nous avons chauffé lentement le mélange en agitant fréquemment. Ensuite porter à ébullition pendant 1 minute. Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 20 minutes. Répartir en tubes ou en flacons. Refroidir les tubes en position inclinée pour obtenir une pente longue sans culot.

III. Identification biochimique

1. Coloration de *gram*

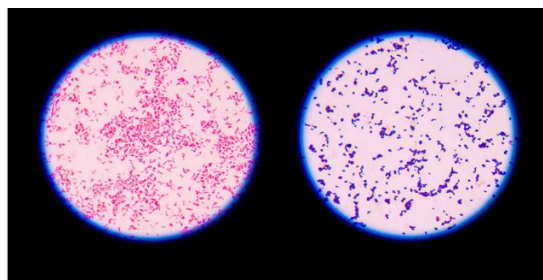
Les bactéries peuvent être classées en deux groupes selon la méthode de coloration de *Gram*. Cette technique a été découverte en 1884 par Hans Christian Gram. Après coloration, les bactéries Gram+ deviennent violettes alors que les bactéries Gram- apparaissent en rose. La répartition des bactéries en Gram+ ou Gram- est un critère systématique important pour la classification des bactéries. En outre, la coloration de Gram reste une étape essentielle dans

l'analyse médicale pour la détermination des germes pathogènes. Elle permet d'identifier facilement les bactéries et de donner des indications sur leurs formes et leurs tailles [13]

Mode opératoire :

Réalisation du frottis : Sur une lame on a posé une goutte d'eau stérile, on a ajouté à la goutte avec un écouvillon une colonie puis on a bien étalé et laissé sécher à l'air. Ensuite la lame a été passée 3 fois dans la flamme du bec bunsen pour fixer l'échantillon à la chaleur.

Technique de coloration : Premièrement quelques gouttes du cristal violet ont été mise sur la lame, laissée 1min puis rincée par l'eau déminéralisée ; le rôle de cristal violet est de coloré le cytoplasme des bactéries. Ensuite on a ajouté quelques gouttes de Lugol sur le frottis, pour fixer le violet sur les bactéries, laissé 1min puis rincer à l'eau déminéralisée. Une décoloration avec l'alcool et l'acétone a été faite pendant 5 à 10 secondes, puis rincé par l'eau ; Les ouvertures de la paroi des Gram+ sont fermées par la déshydratation à l'alcool. La paroi est donc imperméable et les bactéries restent colorées en violet. La membrane des Gram- est plus fine et perméable et de composition différente laisse alors sortir la coloration violette. Enfin quelques gouttes de Safranine ont été déposées sur la lame pendant 30 secondes. Ce colorant permet d'afficher les bactéries Gram- décolorées à l'étape préalable. Cette coloration moins forte que le violet ne change pas la couleur des Gram+. Laissé sécher à l'air, observé au microscope.



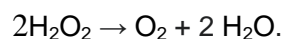
Gram négative

Gram positive

Figure 12: vue au microscope des bactéries à gram positif et à gram négatif

2. Test catalase

Définition : Le test catalase consiste à mettre en évidence les bactéries ayant la capacité de produire le dioxygène à partir de l'enzyme catalase en présence de H_2O_2 selon la réaction suivante :



Mode opératoire : Sur une lame stérile, à l'aide d'un écouvillon nous avons étalé une colonie et déposé une goutte de H₂O₂, S'il y a une formation des bulles d'air, la bactérie possède la catalase. Sinon, la bactérie ne possède pas l'enzyme.

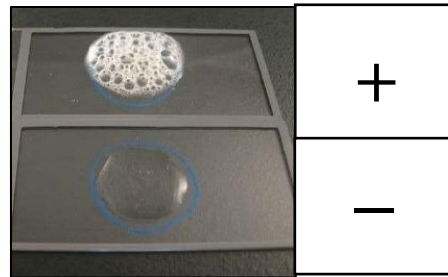


Figure 13 : Test catalase

3. Test oxydase

Définition : La recherche d'oxydase est une technique d'identification en microbiologie concernant les bactéries à gram négatif : la détection de l'enzyme oxydase permet de guider la recherche vers les genres *Pseudomonas* et vers la famille *Vibrionaceae*. Les bactéries possédant l'enzyme oxydase peuvent oxyder la N-diméthyl-paraphénylene diamine, ce qui donne des produits violacés.

Mode opératoire : A l'aide de pinces, nous avons placé un disque d'oxydase sur une lame stérile. Puis nous avons choisi une colonie bien isolée et représentative de la culture fraîche à tester. Nous avons prélevé la colonie choisie à l'aide d'un écouvillon. La colonie a été frottée sur le disque. Enfin nous avons observé l'apparition d'une coloration violette dans un délai de 30 secondes.

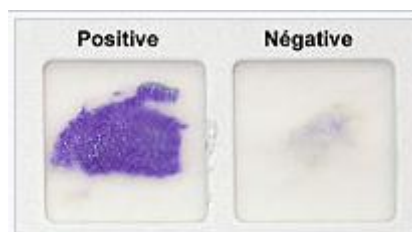


Figure 14 : Test oxydase

4. Test *coagulase* libre

Définition : Le test à la coagulase est utilisé pour distinguer *Staphylococcus aureus* (positif) qui produit l'enzyme coagulase, de *S. epidermis* et *S. saprophyticus* (négatif) qui ne produisent pas de coagulase. C'est-à-dire Staphylocoque à coagulase négative. C'est une enzyme qui est capable de coaguler le plasma sanguin

Mode opératoire : - Dans des conditions stériles, nous avons mis 0,5ml du bouillon Cœur-cerveille (BHI) dans un tube à hémolyse, puis à l'aide d'un écouvillon nous avons prélevé 2 à 3 colonies de la souche à identifier. 0,5ml du plasma de lapin a été transmise dans le tube. Homogénéiser et incuber pendant 24h à 37°C. Lecture des résultats : Si le plasma coagule en moins de 24h, le germe possède une coagulase et donc une forte possibilité qu'il s'agit d'une *Staphylococcus aureus*. Sinon il s'agit des staphylocoques à coagulase négative (SCN).

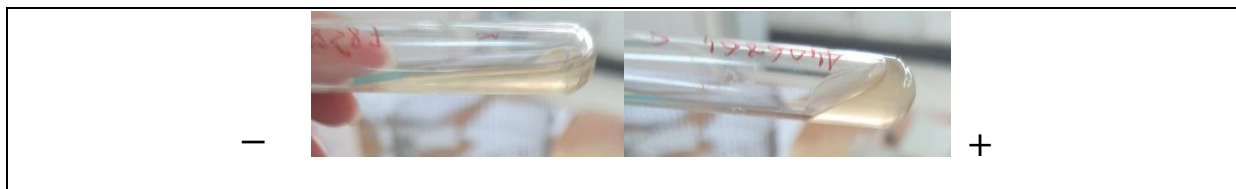


Figure 15 : Test coagulase

5. IMViC

C'est un groupe de tests qui est réalisé fréquemment dans les laboratoires de microbiologie pour identifier les *Enterobacteriaceae*. Le terme «IMViC» est un acronyme pour chacun de ces tests. "I" est pour test d'indole; "M" est pour test au rouge de méthylène "V" est pour Voges-Proskauer test, et "C" est pour test de citrate.

a. Test indole

Définition : Le milieu Urée Indole permet la mise en évidence de l'uréase, la tryptophane désaminase et la production d'indole. Les bactéries contiennent une uréase transformant l'urée en carbonate d'ammonium entraînant une alcalinisation qui provoque une coloration rouge violacé du milieu en présence de rouge de phénol (indicateur de pH). La production d'indole est mise en évidence par l'addition de réactif de Kovacs qui agit avec l'indole en donnant une coloration rouge dans la partie supérieure du milieu en cas de réaction positive. [21]

Mode opératoire : dans des conditions stériles, nous avons ajouté 3ml de milieu urée indole, puis nous avonsensemencé 2 à 3 colonies. Après 24h d'incubation à 37°C nous avons versé 3 à 4 gouttes de réactif de Kovacs dans le tube de milieu urée indoleensemencé. L'apparition d'une coloration rouge dans la partie supérieure du tube témoigne la présence de l'indole : indole +

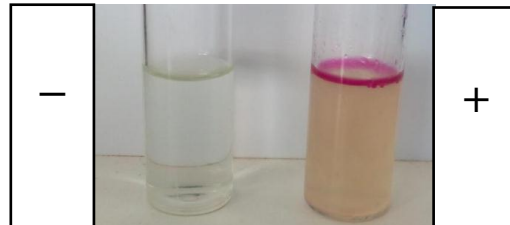


Figure 16 : Test indole

b. Test de MR

Définition : Le test au rouge de méthyle détecte la formation d'acides formés au cours du métabolisme par La voie acide mixte en utilisant le pyruvate comme substrat. L'indicateur de pH (rouge de méthyle) est ajouté à un tube et une couleur rouge apparaît à un pH inférieur à 4,2 ; indiquant un test positif (une fermentation acide mixte est utilisée). La solution restant jaune (pH = 6,2 ou plus) indique un test négatif, c'est-à-dire fermentation de butanediol est utilisé.

Mode opératoire : Dans des conditions stériles. 2,5ml de milieu MR-VP a été versé dans un tube, nous avonsensemencé une colonie à partir d'une culture pure. Après 24h d'incubation à 37°C, le réactif MR a été ajouté dans le même tube. L'apparition de la couleur rouge dans le tube démontre une réaction MR+



Figure 17 : Test MR

c. Test VP

Définition : Le test VP utilise alpha-naphtol (VP1) et l'hydroxyde de potassium KOH (VP2) pour tester la présence de l'acétylméthylcarbinol (acétoïne), un intermédiaire de la voie de fermentation du 2,3-butanediol. Après avoir ajouté les deux réactifs, le tube est agité vigoureusement puis laissé reposer pendant 5 à 10 minutes. Une couleur rouge rosé indique un test positif, ce qui signifie que la voie de fermentation du 2,3-butanediol est utilisée.

Mode opératoire : Dans des conditions stériles, 2,5ml de milieu MR-VP a été versé dans un tube, nous avons ensemencé une colonie à partir d'une culture pure. Après 24h d'incubation à 37°C nous avons ajouté 0.6ml de VP1 et 0.3 ml de VP2, le tube a été agité soigneusement pendant 30 secondes à 1 minute pour exposer le milieu à l'oxygène de l'air (nécessaire à l'oxydation de l'acétoïne pour obtenir une réaction de couleur).



Figure 18 : test VP

d. Test citrate

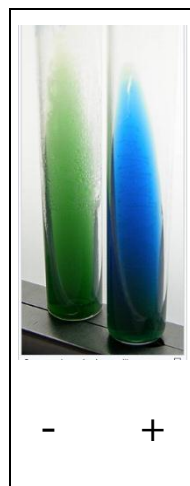


Figure 18 : test citrate

Mode opératoire : Ce milieu a été ensemencé à partir d'une culture pure et fraîche prélevée sur milieu gélosé. Nous avons ensemencé en surface, par des stries longitudinales. Incuber à l'étuve à 37°C pendant 24 h. Les bactéries "citrate positive" bleussent ce milieu en donnant

une culture souvent abondante. Les bactéries "citrate négative" ne donnent ni culture, ni bleuissement du milieu, même après plusieurs jours d'étuve.

IV. L'antibiogramme

Afin de déterminer la résistance des entérobactéries et des staphylocoques aux différentes familles d'antibiotiques, nous avons isolé et identifié à partir des cathéters ombilicaux récupérés du Complexe Universitaire Hassan II de Fès. Pour cela nous avons réalisé pour chacun de ces deux genres bactériens un antibiogramme contenant des antibiotiques spécifiques.

1. Techniques d'antibiogrammes par la méthode de diffusion en milieu gélosé

Un antibiogramme permet de mesurer la capacité d'un antibiotique à inhiber la croissance bactérienne. Le principe consiste à placer la culture de bactéries en présence des antibiotiques et à observer les conséquences sur la survie de celles-ci. Il a été réalisé par la méthode de diffusion sur disque, en milieu gélosé MH selon les recommandations du CA-SFM 2013. Un inoculum de 0,5 McFarland a été préparé pour chaque souche bactérienne, puis dilué à un dixième. Le milieu MH a été ensemencé par écouvillonnage et des disques d'antibiotiques ont été déposés.

a. Milieu MH

Définition : La gélose *Mueller-Hinton* est un milieu solide standardisé recommandé pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux agents antimicrobiens par la méthode de diffusion ou de dilution en gélose.

Préparation : 25 grammes de milieu déshydraté ont été mélangés dans 1 litre d'eau distillée stérile jusqu'à obtention d'une suspension homogène. Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes. Répartir en boîtes de pétri

b. Préparation d'une culture fraîche

Afin d'obtenir une culture jeune, il faut suspendre une colonie bien isolée, l'ensemencer sur une gélose nutritive (par exemple milieu TSA) et ensuite l'incuber pendant une durée entre 18-24 heures à une température de 37 °C.

c. Préparation de l'inoculum

Sous les recommandations du CA-SFM, EUCAST 2021. L'inoculum est préparé à partir d'une culture pure, une suspension bactérienne en solution salée a été réalisée (NaCl 9%) pour

Les bactéries	Les conditions d'incubations
---------------	------------------------------

atteindre une turbidité équivalente à celle de l'étalon 0,5 de la gamme de McFarland, ce qui correspond à un inoculum d'environ $1 \text{ à } 2 \times 10^8$ UFC/mL. Pour ce faire, plusieurs colonies de même morphologie ont été mises en suspension en milieu salé avec un écouvillon en coton.

d. Ensemencement de l'inoculum sur milieu gélosé

Un écouvillon en coton stérile a été plongé dans la suspension bactérienne déjà préparée puis l'excès de liquide a été éliminé en tournant l'écouvillon sur les parois du tube pour éviter une sur-inoculation des boîtes. Ecouvillonner sur la totalité de la surface de la gélose dans trois directions. L'inoculum doit être réparti de façon homogène sur toute la surface de la gélose en prenant soin de ne pas laisser d'espace entre les stries.

e. Dépôt des disques imprégnés d'antibiotique

Les disques d'antibiotiques ont été déposés sur la surface du milieu inoculée et séchée. Le nombre de disques déposés par boîte est limité du fait du chevauchement des zones d'inhibition et pour limiter les interférences entre les antibiotiques. Il est important que les diamètres des zones d'inhibition soient mesurables.

Remarque : Les disques une fois déposés ne peuvent être déplacés car la diffusion des antibiotiques est très rapide.

f. Incubation des boîtes de Pétri

Les boîtes de pétri ont été incubées dans les 15 min. qui suivent le dépôt des disques, sans dépasser 60 min. Il faut savoir que chaque espèce bactérienne possède des conditions d'incubation précise. Comme indiquer dans le tableau ci-dessous :

<i>Les entérobactéries</i>	35±2°C en aérobiose 16 à 24 h
<i>Staphylococcus spp.</i>	35±2°C en aérobiose 16 à 24 h
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	35±2°C en présence de concentration proche de 5% CO ₂ en aérobiose 16 à 24 h

Tableau 1 : Tableau représentant les différentes conditions d'incubation pour certaines bactéries

g. Mesure des zones d'inhibition et catégorisation clinique

La culture doit être répartie sur toute la surface de la gélose de façon à obtenir des zones d'inhibition circulaires, les bordures de ces zones doivent être lues à l'œil nu. Les boîtes ont été placées sur un support noir pour faciliter la lecture. A l'aide d'une règle graduée nous avons mesuré les diamètres de ces zones en millimètre, puis les résultats obtenue sont interprété selon les recommandations fourni par le CASFM en: sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R).

2. Réalisation de l'antibiogramme pour les *Entérobactéries* et les *staphylocoques*

a. Les entérobactéries

Les Entérobactéries sont des bacilles Gram négatif retrouvés partout dans le sol, dans l'eau, et surtout dans l'intestin de l'homme et des animaux. Nous avons réalisé l'antibiogramme sur :

klebseilla pneumoniae pour étudier la résistance et la sensibilité de celle-ci vis-à-vis aux différents antibiotiques :

Tableau 2 : les antibiotiques spécifique à *klebseilla pneumoniae*

Antibiotique	Classe / Famille	Charge de disque(μ g)
Aztéonam	monobactames/bêta-lactames	30
Céfotaxime	céphalosporines de troisième génération/ bêta-lactames	5
Cefpodoxime	Céphalosporines	10
Ceftazidime	Céphalosporines	10
Ceftazidime+avibactam	Céphalosporines, Inhibiteur de β -lactamases	10-4
Ceftolozane+tazobactam	Céphalosporines, Inhibiteur de β -lactamases	30-10
Ceftriaxone	céphalosporines de troisième génération/ bêta-lactames	30
Pipéracilline+tazobactam	Pénicillines	30-6

b. Les staphylocoques

Les staphylocoques sont des coques (cocci) à Gram positif, groupés en amas ayant la forme de grappes de raisin, immobiles, non sporulés. On les trouve dans la muqueuse nasale des sujets normaux. Nous avons réalisé l'antibiogramme pour *Staphylococcus Aureus* :

Tableau 3 : les antibiotiques spécifiques à *Staphylococcus Aureus*

Antibiotique	Famille	Charge du disque (μ g)
Pénicilline G	Pénicillines	6
Céfoxitine	Céphalosporine 2ème génération	30
Céfalexine	Céphalosporine 1ère génération	10
Erythromycine	Macrolides	15
Clindamycine	Lincosamides	2
Norfloxacine	Fluoroquinolone	5
Cotrimoxazole	Divers	

Acide fusidique	Divers	10
Rifampicine	Divers	30
Tobramycine	Aminosides	10
Tétracycline	Tétracyclines	30
Fosfomycine	Divers	50

Chapitre 3 : résultats et discussion

Les résultats de ce travail concernant la culture des KT ombilicaux en utilisant les méthodes citées dans la partie matériel et méthode.

I. Culture quantitative des KT

Parmi les KTO reçus des services. Un KT qui a présenté un nombre de colonies supérieur à la norme (1000 ufc/ml), ce qui correspond donc à une contamination du cathéter.



Figure 20 : la culture d'un KTO par la méthode de Cleri

II. Coloration de gram

A partir de la culture des deux KT provenant de deux nouveau-nés (Nn1, Nn2) nous avons étudié les colonies qui ont poussées sur les géloses correspondantes. La coloration de gram de trois colonies d'aspects morphologiques différents (Souche1, Souche2, Souche3) nous a permis d'obtenir les résultats suivants :

Tableau 4 : le résultat de la coloration de gram

Nn 1 Souche1	Cocci à Gram positif
Nn1 Souche2	Bacille à gram négatif

Nn1 Souche3	Bacille à gram négatif
Nn2 Souche1	Bacille à gram négatif
Nn2 Souche2	Bacille à gram négatif
Nn2 Souche3	Bacille à gram négatif

Nn : Nouveau-né

III. Résultats catalase

Le test catalase cité dans la partie <matériel et méthodes> ; nous a permis d'obtenir les résultats suivants :

Tableau 5 : le résultat de test catalase

Nn 1 Souche1	Positif
Nn1 Souche2	Positif
Nn1 Souche3	Positif
Nn2 Souche1	Positif
Nn2 Souche2	Positif
Nn2 Souche3	Positif

IV. Résultats oxydase

Nous avons réalisé la méthode citée dans la partie <matériel et méthodes>, les résultats obtenus sont les suivants :

Tableau 6 : le résultat de test oxydase

Nn 1 Souche1	Négatif
Nn1 Souche2	Négatif
Nn1 Souche3	Négatif
Nn2 Souche1	Négatif
Nn2 Souche2	Négatif

Nn2 Souche3	Négatif
-------------	---------

V. Résultats coagulase

Après avoir effectué le test coagulase, nous avons obtenu les résultats suivants :

Tableau 7 : le résultat de test coagulase

Nn 1 Souche1	Positif
Nn1 Souche2	Négatif
Nn1 Souche3	Négatif
Nn2 Souche1	Négatif
Nn2 Souche2	Négatif
Nn2 Souche3	Négatif

VI. Résultats IMViC

Le test IMViC est réalisé selon le mode opératoire déjà cité ; les résultats obtenus sont les suivants :

Tableau 8 : le résultat de l'IMViC

	Indole	MR	VP	Citrate
Nn 1 S1	—	+	+	+
Nn1 S2	+	+	—	—
Nn1 S3	—	—	+	+
Nn2 S1	+	+	—	—
Nn2 S2	—	—	+	+
Nn2 S3	—	+	—	+

VII. Synthèse des résultats obtenus

Les résultats précédents nous ont permis de déduire les espèces observées :

Tableau 9 : la synthèse

	Souche1	Souche2	Souche3
Nn1	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>E coli</i>	<i>Klebseilla pneumoniae</i>
Nn2	<i>E coli</i>	<i>Klebseilla pneumoniae</i>	<i>Citrobacter freundii</i>

VIII. L'antibiogramme

1. Réalisation d'un antibiogramme chez *klebseilla pneumoniae*

Tableau 10 : Les 16 types antibiotiques testés

Signe	Antibiotique	Charge de disque
ETP	Ertapenem	10
IRM	Imipenem	10
ATM	Aztreoram	30
NA	Acide nalidixique	30
FOX	Cefoxitidime	30
CTX	Céfotaxime	30
AMC	Amoxiciline, acide clavunique	30
FEP	Céfipime	30
AK	Amikacine	30
CFR	Céfadroxil	30
CAZ	Ceftazidime	10
CFM	Céfixime	5
TZP	Pipéralin,tazobbactam	36
PRL	Pipéraciline	75
TI	Ticarciline	75
AMP	Ampiciline	10

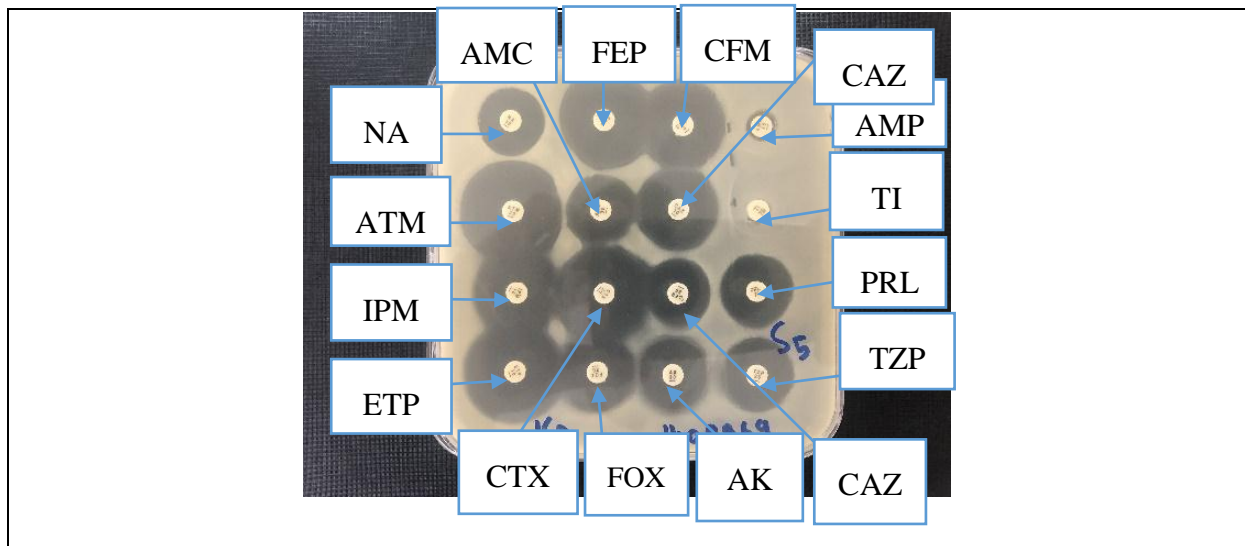


Figure 21 : antibiogramme réalisé pour Kp

Les résultats obtenus montrent que Kp est résistante à : TI, AMP et NA. Par contre cette bactérie est sensible à ETP, FOX, AK, TZP, CFR, PRL, TI, CAZ, AMP, CFM , AMC, ATM, IPM et CTX

2. Réalisation d'un antibiogramme chez *staphylococcus aureus*

Tableau 11 : les 16 antibiotiques testés

Signe	Antibiotique	Charge de disque
P	Penicilline G	10
LE	Lincomycine	5
SXT	Cotrimoxazole	25
MY	Monocycline	15
Ox	Oxacilline	5
E	Erythromycine	15
DA	Quinupristine-Dalfopristine	2
RIF	Rifampicine	5
CN	Gentamycine	10
FUS	Acide fusidique	10
C	Clindamycine	30
FOT	Fosfomycine	200
TOB	Tobromycine	10
OFL	Nofloxacin	5
FOX	Céfoxitidine	30
AMC	Amoxiciline, acide clavunique	30

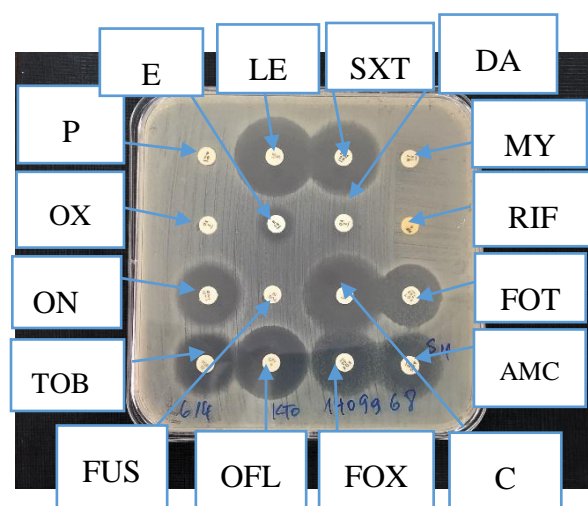


Figure 22 : antibiogramme réalisé pour SA

Ces résultats montrent que la souche utilisée est résistante à P, OX, FUS, E, DA, MY et RIF. Par contre elle est sensible à LE, SXT, ON, TOB, OFL, FOX, C, AMC et FOT.

Conclusion

Ce travail nous a permis de mettre nos connaissances théoriques en pratique, en apprenant les différentes techniques d'identification microbiologique et biochimique des micro-organismes ainsi que la méthode de réalisation et d'interprétation des antibiogrammes.

A partir des KTO apportés du Centre Hospitalier Universitaire Hassan II de Fès nous avons pu isoler puis identifier les germes infectant les KTO dans le service de néonatalogie et le service de la réanimation néonatale.

La lutte contre les infections nosocomiales, en particulier les infections liées aux cathéters veineux, reste une préoccupation de chaque instant en réanimation. En effet, cela constitue un enjeu majeur en termes de mortalité, de durée de séjour et d'économie. De plus, le taux d'infections liées aux cathéters est un véritable reflet de la qualité des soins dans un service de

réanimation. Par conséquent il est nécessaire de prendre en considération les conditions de stérilité et d'hygiène pour minimiser le risque de ces infections.

Références bibliographiques

[1] Laftouhi K , CATHETER OMBILICAL EN NEONATOLOGIE : COMPLICATIONS IMMEDIATES, A MOYEN ET A LONG TERME (A propos de 55 cas) , 2013

[2] F. ABBA, A. ABOUSSAD, L'infection Nosocomiale chez le Nouveau-né, Service de Réanimation Néonatale. Hôpital mère-enfants. CHU Mohamed VI. Marrakech. Thèse N°X / 2012

[3] Brenda L. Tesini MD, University of Rochester School of Medicine and Dentistry , la septicémie chez le nouveau-né , juillet 2020

[4] Julie Martory, cathéter ,2018

[5] L'équipe d'AboutKidsHealth ,Types d'accès vasculaires pour les bébés prématuré , October 31st 2009

[6] Comité éditorial pédagogique UVMaF , Hygiène hospitalière , 2010-2011 UMVF

[7] Fiche technique - Cathétérisme ombilical ,2009

- [8] Liliane Gschwind, Caroline Fonzo-Christe, Pascal Bonnabry, Riccardo Pfister. ADMINISTRATION DE MEDICAMENTS AU NOUVEAU-NE PAR LE CATHETER OMBILICAL . 2012
- [9] Ringuier B, Jeudy C, Le Rolle C, Chapotte C, Monrigal J-P, Rod B, Granry J-C. « Abords veineux chez le nouveau-né, le nourrisson et l'enfant » .EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Anesthésie-Réanimation 2007 ; 10: 36- 742
- [10] Mlle Samia El Azdi , les voies veineuse centrales en néonatalogie : étude prospective de 137 cas, 2010
- [11] J.F.Timsit, Infections liées aux cathéters : aspects microbiologiques, 2005
- [12] Gélose au sang - Milieux non-sélectifs solides pour la microbiologie : <https://www.clinisciences.com/achat/cat-gelose-au-sang-milieux-non-selectifs-5489.html>
- [13] La coloration de gram <https://www.bioutils.ch/protocoles/5-la-coloration-de-gram>
- [14] <https://blog.microbiologics.com/9-gram-staining-best-practices/>
- [15] <https://microbiologiemedicale.fr/gelose-chapman/>
- [16] <https://microbiologiemedicale.fr/gelose-trypticase-soja/>
- [17] Chapman - Mannitol Salt Agar. https://www.biorad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/fr/53647_05_2011_FR.pdf
- [18] Tests et Paramètres microbiologique : <https://microbiologie-clinique.com/catalase-test.html>
- [19] l'institut canadien, PRÉVENTION DES INFECTIONS LIÉES AUX CATHÉTERS CENTRAUX, 2012
- [20] https://fr.wikipedia.org/wiki/Recherche_de_l%27oxydase
- [21] milieu urée indole : <https://microbiologie-clinique.com/ur%C3%A9e-indole.html>
- [22] CASFM. Recommandations CASFM 2021 <https://www.sfm-microbiologie.org/2021/04/23/casfm-avril-2021-v1-0/> consulté le 23 avril 2021
- [23] OMS, chiffres pour la Belgique sur base de l'étude de prévalence du ECDC 2011.

