

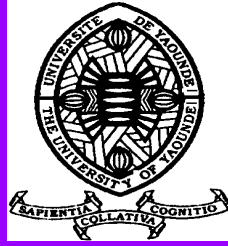
UNIVERSITE DE YAOUNDE I

CENTRE DE RECHERCHE ET DE FORMATION
DOCTORALE EN SCIENCES DE LA VIE, SANTE
ET ENVIRONNEMENT

UNITE DE RECHERCHE ET DE FORMATION
DOCTORALE EN SCIENCES DE LA VIE

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE



THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

POST GRADUATE SCHOOL FOR LIFE, HEALTH
AND ENVIRONMENT SCIENCE

UNIT FOR RESEARCH TRAINING IN LIFE
SCIENCES

FACULTY OF SCIENCE

DEPARTMENT OF MICROBIOLOGY

LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE
LABORATORY OF MICROBIOLOGY

**ECOLOGIE BACTERIENNE AU SEIN DE QUELQUES
SERVICES DE L'HOPITAL JAMOT DE YAOUNDE ET
PROFIL DE RESISTANCE DES ISOLATS BACTERIENS
OBTENUS**

Mémoire rédigé en vue de l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie

Option : Microbiologie Médicale

Par :

SITCHOMTZO MARIE PERSIDE

Matricule : 19J2809

Licenciée en Sciences



Sous la codirection de :

Pr. NYEGUE Maximilienne Ascension

Professeur

Dr. MEYIN A EBONG Solange

Chargée de Cours

Année Académique 2024-2025

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

CENTRE DE RECHERCHE ET DE FORMATION
DOCTORALE EN SCIENCES DE LA VIE, SANTE
ET ENVIRONNEMENT

UNITE DE RECHERCHE ET DE FORMATION
DOCTORALE EN SCIENCES DE LA VIE

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE



THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

POST GRADUATE SCHOOL FOR LIFE, HEALTH
AND ENVIRONMENT SCIENCE

UNIT FOR RESEARCH TRAINING IN LIFE
SCIENCES

FACULTY OF SCIENCE

DEPARTMENT OF MICROBIOLOGY

LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE
LABORATORY OF MICROBIOLOGY

**ECOLOGIE BACTERIENNE AU SEIN DE QUELQUES
SERVICES DE L'HOPITAL JAMOT DE YAOUNDE ET
PROFIL DE RESISTANCE DES ISOLATS BACTERIENS
OBTENUS**

Mémoire rédigé en vue de l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie

Option : Microbiologie Médicale

Par :

SITCHOMTZO MARIE PERSIDE

Matricule : **19J2809**

Licenciée en Sciences

Sous la codirection de :

Pr. NYEGUE Maximilienne Ascension

Professeur

Dr. MEYIN A EBONG Solange

Chargée de Cours

Année Académique 2024-2025

DEDICACE

Je dédie ce travail à mes chers parents :

TODJO EMMANUEL et NGOKO NOUNGA épouse TODJO MADELEINE

REMERCIEMENTS

Pour la réalisation et le bon déroulement de ce travail, nous tenons à exprimer toute notre reconnaissance :

- ✓ A Dieu, Celui par qui et pour qui je vis, sans qui ce travail n'aurait jamais été possible, pour sa présence bienveillante, son soutien sans faille, avant et tout au long de ce travail ;
- ✓ Au Pr NYEGUE Maximilienne Ascension de l'Université de Yaoundé I, pour avoir accepté de co-encadrer ce travail et pour ses remarques pertinentes malgré ses multiples responsabilités au sein de la Faculté des Sciences ;
- ✓ Au Dr MEYIN A EBONG Solange de l'Université de Yaoundé I, pour son encadrement, ses encouragements, ses conseils, ses déploiements pour faciliter le bon déroulement de cette étude et chercher les solutions aux problèmes ;
- ✓ Au Professeur ESSIA NGANG Jean-Justin, Chef de Département de Microbiologie, pour son encadrement ;
- ✓ Aux enseignants du Département de Microbiologie, pour la bonne formation académique qu'ils m'ont assurée, pour le savoir et les valeurs qu'ils m'ont transmis ;
- ✓ Aux membres du Jury, pour leur disponibilité et l'intérêt à l'endroit de mon travail, en acceptant de l'examiner et de l'enrichir scientifiquement ;
- ✓ Aux Pr MENDIMI NKODO Joseph Marie et Pr FOU DA Pierre Joseph, Directeurs respectifs de l'Hôpital Jamot et de l'Hôpital Central de Yaoundé, pour les autorisations accordées ayant permis la collecte et l'analyse des échantillons dans les structures hospitalières placées sous leur supervision ;
- ✓ Au Dr YEPNJO Faustin, neurologue à l'Hôpital Central de Yaoundé, pour sa disponibilité et ses services qui ont facilité l'obtention des autorisations de travail et l'accès au laboratoire de l'Hôpital Central de Yaoundé ;
- ✓ Au Dr NKE ATEBA Gisèle, biologiste et chef service du laboratoire, pour avoir donné son accord et des directives pour le bon déroulement de ce travail au sein du laboratoire de l'Hôpital Central placé sous sa responsabilité ;
- ✓ Aux Dr POKA Virginie, Dr OLINGA MEDJO Urbald et Dr ONANA NGONO Irène, Conseillère Médicale, Chefs Service de Pneumologie A, des Urgences et de l'Unité des Soins Intensifs de l'Hôpital Jamot de Yaoundé respectivement, pour les autorisations d'accès dans les services pour la collecte ;
- ✓ Au Dr FOPOUSSI Nelly, pour ses encouragements et ses orientations pratiques ;

- ✓ A Mme MESSINA Marie-Claude, Major du laboratoire de l'Hôpital Central de Yaoundé, Mme BATOUAN Viviane, Mme LONTSI Germaine, Mme NGO ELOUMA Jeanne Nicole et la Sœur Claudine, personnels de la paillasse de bactériologie, pour leur accueil, leurs orientations et leur supervision ;
- ✓ Aux Majors du Laboratoire, du Haut Standing de Pneumologie A, de l'Unité des Soins Intensifs et des Urgences, pour leur accueil et l'accès facilité aux différentes salles et chambres de prélèvement ;
- ✓ A M. MATAKONE Moïse, pour ses instructions, sa supervision, ses orientations, directives et conseils concernant notre travail, pour le matériel de qualité fourni et nécessaire au bon déroulement de notre travail ;
- ✓ A mes parents, frères et sœurs dans le Seigneur pour leur soutien multiforme, leurs encouragements et leurs orientations ;
- ✓ A M. & Mme NDONG Isaïah et Jeannette, pour leurs encouragements et conseils, pour avoir recherché et proposé des solutions aux difficultés rencontrées ;
- ✓ A mes frères et sœurs NKONGNE Gadielle Paulette, FODIENG Samuel, SIBAFO NOWA Princesse, KAMGUE Joël Nathan, MKOUNGA TATCHUM Laurent, AGABUS Myriam, TEYABA Dorcas Lydie, pour leur soutien dans la prière, leurs encouragements et leurs services dans l'exécution de quelques tâches pratiques ;
- ✓ A MBOULE NGUESSE Princesse, VESDAY Priscille, MOUEN Hilary, BELINGA Ounita et DJEUMENI Kévine pour leur accompagnement et leur soutien pendant ce travail ;
- ✓ A mes aînés académiques, NDE Vigny et METSINA NDZANA Ghislaine, pour leurs orientations et leurs conseils ;
- ✓ A mes promotionnaires, TABLEY NGO MINYEM Sarah Pauline, MANGA FOUDA Christine, MELI Jires, ALLADOUM KERBE Richard et DALO KAMGA Linda Espérance, pour l'entraide et la famille que nous formons ;
- ✓ A toutes les autres personnes qui de près ou de loin nous ont soutenu et ont contribué d'une manière ou d'une autre, au bon déroulement et à la réussite de ce travail.

SOMMAIRE

DEDICACE.....	i
REMERCIEMENTS.....	ii
ABBREVIATIONS ET ACRONYMES.....	vi
LISTE DES FIGURES.....	viii
LISTE DES TABLEAUX.....	x
LISTE DES ANNEXES	xi
RESUME.....	xii
ABSTRACT	xii
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : REVUE DE LITTERATURE	5
1.1. GÉNÉRALITES SUR LES BACTERIES.....	5
1.1.1. Classification des bactéries.....	5
1.1.2. Modes de vie et types de relations des bactéries	6
1.2. LES INFECTIONS NOSOCOMIALES.....	6
1.3. CHIMIOThERAPIE ANTIBACTERIENNE	7
1.3.1. Modes d'action des antibiotiques	8
1.3.2. Antibiorésistance	9
1.4. METHODES D'ISOLEMENT ET D'IDENTIFICATION DES BACTERIES DANS L'ENVIRONNEMENT	11
1.4.1. Méthodes de collecte des surfaces et dispositifs médicaux.....	11
1.4.2. Méthodes d'identification et de test de sensibilité.....	12
1.4.3. Mise en évidence des mécanismes de résistance en laboratoire.....	13
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES	17
2.1. MATÉRIEL	17
2.1.1. Matériel de collecte des données	18
2.1.2. Matériel de prélèvement	19
2.1.3. Matériel d'analyse bactériologique	19
2.1.4. Matériel de gestion des déchets	19
2.2. CADRE DE L'ÉTUDE.....	20
2.2.1. Type d'étude	17
2.2.2. Lieu d'étude.....	17
2.2.3. Période d'étude	17

2.2.4. Population d'étude	19
2.2.5. Taille d'échantillonnage	20
2.3. MÉTHODES	20
2.3.1. Phase pré-analytique	20
2.3.2. Phase analytique	22
2.4. ANALYSES STATISTIQUES	26
2.5. CONSIDÉRATIONS LÉGALES ET ÉTHIQUES	26
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION	29
3.1. RÉSULTATS	29
3.1.1. Caractérisation des échantillons analysés	29
3.1.2. Positivité globale à la recherche des bactéries en fonction des surfaces échantillonnées	29
3.1.3. Présentation des groupes de bactéries identifiées	30
3.1.4. Isolats obtenus dans chaque groupe de bactéries en fonction des services	32
3.1.5. Isolats obtenus en fonction des surfaces prélevées	33
3.1.6. Phénotypes de résistance observés	34
3.1.7. Synthèses enzymatiques observées	38
3.2. DISCUSSION	40
CONCLUSION	45
RECOMMANDATIONS	45
PERSPECTIVES	46
REFERENCES	48
ANNEXES	a

ABBREVIATIONS ET ACRONYMES

AMC	: Amoxicilline + Acide clavulanique
AmpC	: Ampicillinase de classe C
AST	: Antibiotic Sensitivity Test
BC I	: Bâtiment Central I
BC II	: Bâtiment Central II
BLSE	: Bêta-lactamases à spectre étendu
C2G	: Céphalosporine de deuxième génération
C3G	: Céphalosporines de troisième génération
C4G	: Céphalosporines de quatrième génération
CARBA	: Carbapénèmes
CA-SFM	: Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
CCLIN	: Comité de Coordination de Lutte contre les Infections Nosocomiales
CENAME	: Centrale Nationale d'Approvisionnement en Médicaments et Consommables médicaux Essentiels
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institute
CTIN	: Comité Technique national des Infections Nosocomiales
EMB	: Eosin Methylene Blue
EPC	: Entérobactérie productrice de carbapénémase
ESBL	: Extended Spectrum Beta lactamase
ESKAPEE	: <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Enterobacter</i> spp. et <i>Escherichia coli</i>
EUCAST	: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FQ	: Fluoroquinolones
HCY	: Hôpital Central de Yaoundé
HJY	: Hôpital Jamot de Yaoundé
IN	: Infections nosocomiales
INSERM	: Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale
INSPQ	: Institut National de Santé Publique du Québec
ISO	: Organisation internationale de normalisation
MONO	: Monobactame
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé

PDCA	: Plan - Do - Check – Act
PLP	: Protéine de Liaison à la Pénicilline
PTZ	: Pipéracilline + Tazobactam
RAM	: Résistance antimicrobienne
SARM	: <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline
TIC	: Technique d'inactivation des carbapénèmes
TSB	: Tryptic Soy Broth (ou bouillon de soja tryptique)
USI	: Unité des soins intensifs
WHO	: World Health Organization

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Classification – taxonomie des bactéries	5
Figure 2 : Récapitulatif des sites et modes d'action des antibiotiques	9
Figure 3 : Récapitulatif des modes d'action des antibiotiques et des mécanismes de résistance des bactéries	11
Figure 4 : Carte AST de VITEK®2	13
Figure 5 : Synergies en bouchon de champagne avec l'AMC.....	14
Figure 6 : Résultats négatif (A) et positif (B) attendus respectivement pour les souches contrôles négative (A) et positive (B).....	15
Figure 7 : Résultat positif du test D.....	16
Figure 8 : Positivité globale à la recherche des bactéries.....	30
Figure 9 : Groupes de bactéries identifiées	31
Figure 10 : Isolats obtenus en fonction des différents services.....	32
Figure 11 : Taux de contamination des surfaces échantillonnées	Error! Bookmark not defined.
Figure 12 : Phénotypes de résistance des entérobactéries dans des services de l'HJY	34
Figure 13 : Phénotypes de résistance des souches d'entérobactéries identifiées.....	35
Figure 14 : Phénotypes de résistance des non-entérobactéries dans des services de l'HJY	36
Figure 15 : Phénotypes de résistance des souches de non-entérobactéries identifiées	36
Figure 16 : Phénotypes de résistance des souches de cocci identifiées	37
Figure 17 : Phénotypes de résistance des cocci identifiés dans des services de l'HJY	38
Figure 18 : Synthèses enzymatiques observées chez les entérobactéries.....	39
Figure 19 : Synthèses enzymatiques observées chez les isolats d'entérobactéries.....	39
Figure 20 : Pesées pour la préparation des milieux de culture et homogénéisation avec de l'eau distillée.....	e
Figure 21 : Ecouvillons contenant la gélose nutritive avant emballage et stérilisation.....	e
Figure 22 : Portage à ébullition des milieux de culture.....	f
Figure 23 : Citrate de Simmons, Mannitol mobilité et Kligler-Hajna dans des tubes à vis	f
Figure 24 : Contrôle qualité	f
Figure 25 : Prélèvement des échantillons.....	g
Figure 26 : Pooling et codage des échantillons	g
Figure 27 : Ensemencement des bouillons contenant les échantillons enrichis la veille	h
Figure 28 : Croissance bactérienne observable dans les boîtes de pétri.....	h

Figure 29 : Test à l'ONPG (gauche) et test d'urée-indole (droite).....	h
Figure 30 : Résultats d'identification dans mannitol mobilité, Kliger-Hajna et citrate de Simmons	i
Figure 31 : Lecture des résultats d'identification	i
Figure 32 : Résultats de l'antibiogramme.....	i
Figure 33 : Mise en évidence de la production de BLSE avec bouchon de champagne.....	j
Figure 34 : Test (négatif) de mise en évidence de l'induction.....	j
Figure 35 : Préparation des inocula.....	k
Figure 36 : Introduction des cartes dans les inocula (gauche) et des échantillons dans VITEK®2 (droite).....	k

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Echantillons collectés des surfaces des différents services.....	29
Tableau II : Positivité globale à la recherche des bactéries en fonction des surfaces échantillonnées.....	30
Tableau III : Répartition des isolats selon la technique utilisée.....	31
Tableau IV : Nombre d'isolats obtenus par espèce et par service	33

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Notice d'information	a
Annexe 2 : Autorisations obtenues des Directeurs de l'HJY (gauche) et de l'HCY (droite)	b
Annexe 3 : Mot de la Conseillère Médicale et accords manuscrits des chefs services de Pneumologie A, de l'Unité des soins intensifs et des Urgences de l'HJY	c
Annexe 4 : Fiche de prélèvement des échantillons	d
Annexe 5 : Préparation des milieux de culture et apprêtement des écouvillons	e
Annexe 6 : Prélèvement et premier traitement des échantillons	g
Annexe 7 : Traitement des échantillons (ensemencement, macroscopie, microscopie, identification, antibiogramme, mise en évidence des synthèses enzymatiques associées aux phénotypes de résistance)	h
Annexe 8 : Identification et antibiogramme avec VITEK	k
Annexe 9 : Fiche technique d'identification et d'antibiogramme des microorganismes sur VITEK [®] 2 COMPACT	l

RESUME

L'environnement en général et hospitalier en particulier constitue un énorme réservoir pour de nombreux germes impliqués dans la survenue des maladies infectieuses. De tous ces germes, les bactéries représentent la plus grande proportion de par leur pourvoir métabolique robuste. Ainsi, au sein des hôpitaux dont la principale mission est la prise en charge des différentes pathologies, plusieurs germes notamment les bactéries sont susceptibles d'être présents. Ceux-ci sont responsables des infections hospitalières ou nosocomiales. Notre étude visait à étudier l'écologie bactérienne au sein de quelques services de l'Hôpital Jamot de Yaoundé et le profil de résistance des isolats obtenus. Quinze types de surfaces ont été écouvillonnées dans cinq services : Unité des soins intensifs, Urgences, Laboratoire, Pneumologie A (Bâtiment Central I, Bâtiment Central II, Haut Standing). Les échantillons recueillis ont été ensemencés dans différents milieux de culture en utilisant la méthode des quadrants et par épuisement. Les isolats obtenus ont été soumis au test de sensibilité à différents antibiotiques généralement utilisés pour traiter les infections dues à ces germes suivant les recommandations de l'EUCAST. 125 échantillons sur 153 analysés étaient positifs (82%). Le Haut Standing était le service le plus contaminé (41%) et les surfaces les plus contaminées étaient les chaises et lits. Nous avons obtenu 58% d'entérobactéries (dont 25% de *Citrobacter freundii*), 21% de cocci (97% de *Staphylococcus non aureus*), 17% de non-entérobactéries (avec prédominance de *Sphingomonas paucimobilis*) et 3% d'isolats non identifiés. Les entérobactéries ont montré une grande résistance à l'amoxicilline + acide clavulanique et aux céphalosporines de 4^e génération. Les non-entérobactéries étaient plus résistantes aux céphalosporines de 3^e génération, au monobactame et à quelques céphalosporines de 4^e génération. Au terme de ce travail nous avons noté que 1) le haut standing était le service le plus contaminé de même que les surfaces telles que les chaises et les lits qui sont plus en contact avec les patients ; 2) les entérobactéries étaient les plus rencontrées ; 3) les isolats obtenus ont montré des profils de résistance très variés. Ces bactéries résistantes peuvent entraîner des infections nosocomiales capables de causer des impasses thérapeutiques, une surveillance microbiologique régulière est donc vivement recommandée.

Mots clés : Ecologie bactérienne, services, Hôpital Jamot, profil de résistance, isolats bactériens.

ABSTRACT

The environment in general, and hospitals in particular, constitutes a huge reservoir for numerous germs involved in the occurrence of infectious diseases. Of all these germs, bacteria represent the largest proportion due to their robust metabolic capacity. Thus, within hospitals whose primary mission is the treatment of various pathologies, several germs, particularly bacteria, are likely to be present. These are responsible for hospital-acquired or nosocomial infections. Our study aimed to investigate the bacterial ecology within several departments of Jamot Hospital in Yaounde and the resistance profile of the isolates obtained. Fifteen types of surfaces were swabbed in five departments : Intensive Care Unit, Emergency Department, Laboratory, and Pulmonology A (Central Building I, Central Building II, High Standing). The collected samples were inoculated into different culture media using the quadrant and exhaustion methods. The isolates obtained were tested for susceptibility to various antibiotics commonly used to treat infections caused by these organisms, following EUCAST recommendations. 125 of the 153 samples analyzed were positive (82%). The High Standing ward was the most contaminated ward (41%), and the most contaminated surfaces were chairs and beds. We obtained 58% Enterobacteriaceae (including 25% *Citrobacter freundii*), 21% cocci (97% non-*Staphylococcus aureus*), 17% non-enterobacteria (with a predominance of *Sphingomonas paucimobilis*), and 3% unidentified isolates. The enterobacteria showed significant resistance to amoxicillin + clavulanic acid and fourth-generation cephalosporins. Non-enterobacteria were more resistant to third-generation cephalosporins, monobactam, and some fourth-generation cephalosporins. At the end of this work, we noticed that 1) the high standing ward was the most contaminated service, as well as surfaces such as chairs and beds that are more in contact with patients; 2) enterobacteria were the most frequently encountered; 3) the isolates obtained showed highly varied resistance profiles. These resistant bacteria can lead to nosocomial infections capable of leading to therapeutic impasses; therefore, regular microbiological monitoring is strongly recommended.

Keywords : Bacterial ecology, wards, Jamot Hospital, resistance profile, bacterial isolates.



INTRODUCTION

Les bactéries sont des organismes vivants microscopiques, unicellulaires et de type procaryote. Elles constituent les premières formes de vie connues sur Terre et il existe de nos jours des milliers d'espèces bactériennes cosmopolites qui colonisent tous les environnements de vie, dont les déchets radioactifs pour certaines. Plusieurs bactéries vivent donc sur et dans le corps de l'Homme et des animaux (au niveau de la peau, des voies respiratoires, de la bouche, du tube digestif, des voies génito-urinaires, ...) sans causer de préjudices (**Bush, 2022**). Cependant, certaines bactéries sont capables de provoquer des maladies et sont dites pathogènes. Lorsque ces dernières sont présentes sur des surfaces, particulièrement dans l'environnement hospitalier, elles peuvent être responsables de nombreuses infections chez l'Homme appelées infections nosocomiales.

Les infections hospitalières encore appelées infections nosocomiales (IN) se définissent comme étant des infections contractées au cours d'un séjour dans un établissement hospitalier. Absentes au moment de l'admission du patient, elles se déclarent au minimum 48 heures après son admission, et surviennent le plus souvent de façon sporadique. Quelques fois, dans 5% à 10% des cas, elles surviennent dans un contexte d'épidémie qu'il faudrait détecter et contrôler avec sérieux (**Idir, 2014**). L'origine nosocomiale d'une infection est alors suspectée lorsqu'un patient développe les symptômes d'une pathologie autre que celle pour laquelle il est hospitalisé. Les patients, les garde-malades et le personnel soignant sont majoritairement exposés aux IN à cause de nombreuses contraintes techniques, écologiques et économiques qui perturbent l'exercice médical (**Simon et al., 2006**).

Dans le monde, la prévalence des infections dues aux germes présents dans l'environnement hospitalier varie en fonction des pays. Dans les hôpitaux de traitement aigu, sur cent patients, sept dans les pays à revenu élevé et quinze dans les pays à revenu faible ou intermédiaire contractent au moins une infection nosocomiale pendant leur hospitalisation ; un patient touché sur dix en moyenne succombe à cette infection (**WHO, 2022**).

En Afrique, des travaux antérieurs ont présenté les IN comme un fléau de santé publique. Une prévalence d'IN de 12,3% a été rapportée du Mali (**Abeghe, 2020**). Tandis qu'en Tunisie, il a été constaté que 13% d'infections sont associées aux soins.

Au Cameroun, plusieurs travaux ont permis de montrer l'ampleur des IN dans certains services des structures hospitalières des différentes villes du pays. Ainsi, une prévalence de 12% d'IN a été rapportée du Service de Réanimation de l'Hôpital Laquintinie de Douala (**Njall et al., 2013**). L'analyse microbiologique de l'eau de l'hémodialyse dans le Service d'Hémodialyse de l'Hôpital Général de Douala a montré la présence de nombreuses bactéries pouvant être à l'origine des IN ; de même, l'étude de l'écologie microbienne sur les

dispositifs médicaux et les surfaces au sein du même hôpital a montré que 79% des matériaux prélevés étaient contaminés par des germes infectieux (**Gueguim et al., 2023 ; Ebongue et al., 2018**).

En milieu hospitalier, la transmission des germes est principalement manuportée. Ceci dit, les germes retrouvés sur les surfaces et équipements peuvent facilement être transmis d'un individu à un autre. Cette transmission peut également se faire par contact direct, par les aérosols, par des gouttelettes, par le matériel médical, l'environnement aérien, hydrique, ou les surfaces, constituant ainsi des sources de contamination exogènes. Le patient lui-même est une source de contamination endogène et le personnel soignant peut être vecteur de transmission via les actes chirurgicaux, le sondage urinaire qu'il exerce sur le patient (**INSERM, 2024**).

Le risque nosocomial d'infection varie selon le profil du patient, les soins pratiqués ou le niveau de respect des mesures de prévention, les germes les plus souvent incriminés étant les bactéries (**INSERM, 2024**). Les germes responsables d'IN sont à l'origine de la propagation des résistances ; l'impact de ces IN et de la résistance aux antimicrobiens sur la vie des personnes touchées est incalculable. Plus de 24% des patients atteints d'une septicémie d'origine nosocomiale et 52,3% des patients pris en charge dans une unité de soins intensifs meurent chaque année. Les décès sont multipliés par deux ou trois si les patients sont atteints d'infections résistantes aux antimicrobiens (**WHO, 2022**).

Il existe aussi en milieu hospitalier, un risque de colonisation par une bactérie multi- ou fortement résistante aux antibiotiques, entraînant chez le patient contaminé une infection plus difficile à traiter. Selon des estimations récentes, 136 millions d'IN résistantes aux antibiotiques surviennent chaque année et l'OMS s'est engagée à aider les pays à faire en sorte que d'ici à 2030, toute personne qui bénéficie de soins de santé ou les fournit soit à l'abri des IN (**WHO, 2024**).

Les bactéries présentes dans l'environnement hospitalier, plus précisément sur des dispositifs ou surfaces en contact avec le patient, le garde-malade et/ou le personnel soignant, peuvent être à l'origine de nombreuses infections, coïnfections et/ou réinfections si les dispositions ne sont pas prises pour limiter les environnements favorables au développement de celles-ci au sein de l'établissement de santé. Une revue systématique a décrit les IN comme un sérieux problème de santé publique et a révélé qu'au Cameroun, l'environnement hospitalier et les mains sales sont des vecteurs majeurs de transmission des germes responsables des maladies nosocomiales, avec une prévalence de 10% à 20% (**Evina et al., 2014**).

Les infections nosocomiales restent donc préoccupantes en termes de morbidité et de mortalité et la surveillance microbiologique de l'environnement hospitalier serait l'un des moyens d'évaluation des résultats de la lutte contre ces IN.

La présente étude aimerait déterminer le profil de résistance des isolats bactériens obtenus après réalisation d'une écologie bactérienne au sein de quelques services de l'Hôpital Jamot de Yaoundé, de même que la synthèse enzymatique associée au profil de résistance observé.

PROBLEMATIQUE

Les infections nosocomiales ou infections associées aux soins constituent un lourd fardeau dans la prise en charge des patients dans les structures sanitaires. Ces IN contractées par les patients, les garde-malades et/ou le personnel soignant sont principalement dues aux bactéries. Ces dernières colonisent l'environnement hospitalier et sont présentes sur les dispositifs et appareils médicaux, les meubles, les tables, les chaises, les lits, les interrupteurs, les poignées de porte, les paillasses, les robinets, ... De ce fait, il serait d'une importance capitale de faire un état des lieux de la présence de ces bactéries au sein de l'HJY, un hôpital de référence pour la prise en charge des grandes endémies.

Question de recherche : Quel est le profil de résistance des souches bactériennes isolées des services de prise en charge des patients à l'HJY ?

Hypothèse : Plusieurs souches bactériennes résistantes seraient présentes au sein des services de prise en charge des patients à l'HJY.

Objectif général : Réaliser une écologie bactérienne au sein de quelques services de l'HJY et déterminer le profil de résistance des isolats bactériens obtenus.

Objectifs spécifiques :

- Faire un échantillonnage des surfaces dans des services précis au sein de l'HJY ;
- Identifier les souches de bactéries isolées de ces échantillons ;
- Déterminer le profil de résistance des souches bactériennes isolées et la synthèse enzymatique associée.



**CHAPITRE I :
REVUE DE LITTERATURE**

1.1. GÉNÉRALITES SUR LES BACTERIES

La microbiologie est une branche de la science qui étudie les organismes vivants microscopiques invisibles à l'œil nu appelés microorganismes dont les bactéries, les champignons microscopiques, les virus, les protozoaires parasites et les algues microscopiques. Ces êtres vivants jouent un rôle crucial dans divers domaines, notamment la santé humaine et animale, l'agriculture, l'industrie alimentaire et les biotechnologies. Une connaissance approfondie de leur physiologie, leur génétique, des interactions entre eux et entre leur environnement de vie facilite notre compréhension du monde vivant à l'échelle microscopique. Les bactéries représentent la plus grande proportion de ces organismes vivants. De type procaryote, leur taille de l'ordre du micron varie de 1 à 10µm selon les espèces, mais la majorité d'entre elles n'ont qu'un diamètre d'environ 1 à 2µm (Archie, 2006).

1.1.1. Classification des bactéries

Les bactéries vraies appartiennent à l'embranchement des Eubacteria, qui a deux classes : la classe des Asporulales et la classe des Sporulales. Ces classes englobent des ordres qui constituent plusieurs familles, regroupant plusieurs genres, espèces et sous-espèces. (Paolozzi & Liébart, 2015)

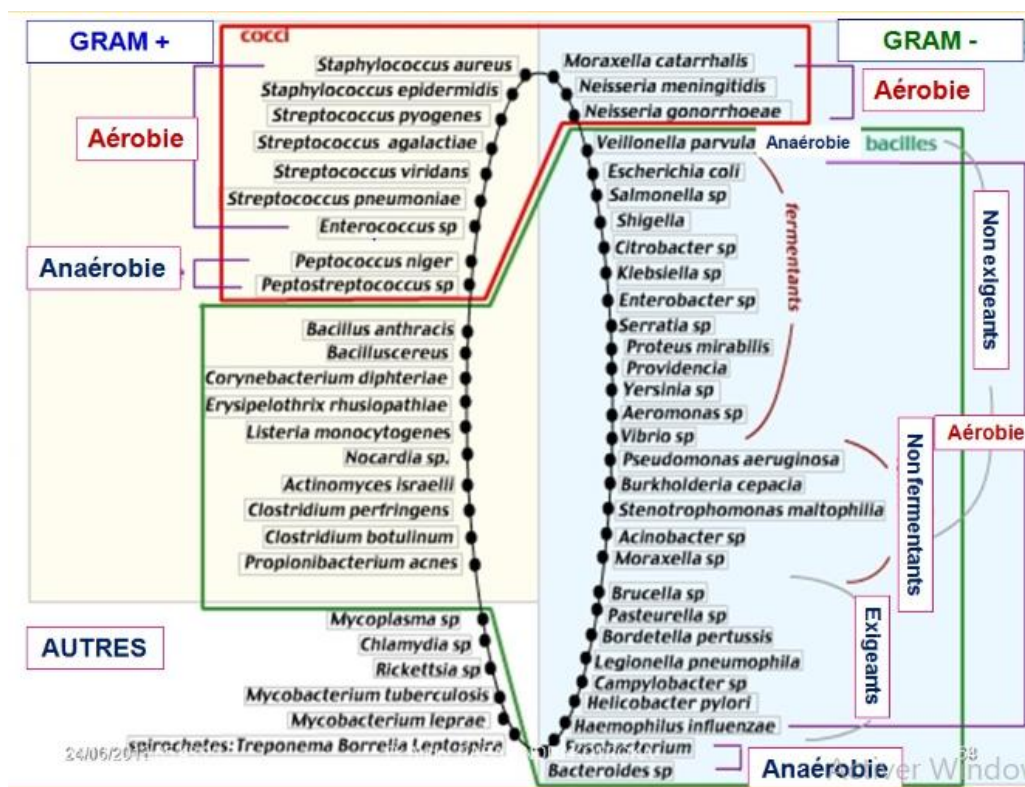


Figure 1 : Classification – taxonomie des bactéries (Rasamindrakotroka, 2013)

1.1.2. Modes de vie et types de relations des bactéries

Les bactéries sont des êtres vivants ubiquitaires, elles vivent dans l'eau, la terre, les profondeurs de la croûte terrestre, les plantes, l'air, la nourriture, la peau, la bouche, les intestins, ... Elles peuvent survivre dans des conditions de chaleur ou de froid extrêmes, mais se développent mieux dans un environnement chaud, humide et riche en protéines, au pH neutre ou légèrement acide. Les bactéries peuvent vivre à l'état libre dans l'environnement, dans des particules telles que les sécrétions des voies respiratoires, sous forme de biofilms, ... Certaines bactéries sécrètent une substance qui les aide à se fixer à d'autres bactéries, à des cellules ou à des objets ; cette substance se combine aux bactéries pour former une couche collante appelée biofilm, qui piège des particules de nourriture pour qu'elles soient traitées et utilisées par les bactéries (**Bush, 2022**). Les biofilms bactériens sont des amas structurés de cellules bactériennes enrobés d'une matrice polymérique et attachés à une surface. Ils protègent les bactéries, les aident à échapper aux antibiotiques en rendant leur destruction difficile et leur permettent de survivre dans des conditions environnementales défavorables (**Tremblay et al., 2014**).

Certaines bactéries sont inoffensives, c'est dire qu'elles vivent au contact des cellules animales et humaines dont elles sont étroitement dépendantes et sans jamais s'attaquer à celles-ci. D'autres sont utiles et bénéfiques à l'hôte lorsqu'elles sont administrées en quantité adéquate : ce sont les probiotiques (**Guarner et al., 2008**). Il existe également des bactéries qui vivent aux dépens des matières organiques animales ou végétales en décomposition, d'où leur appellation de bactéries saprophytes. Cependant, plusieurs bactéries sont hostiles, elles vivent au profit de l'hôte en lui causant des dommages ; il n'en tire aucun avantage et les bactéries sont qualifiées de parasites dans ce mode de relation déséquilibrée (**Camille, 2014**). Lorsque l'hôte est l'Homme, les bactéries parasites sont pathogènes pour lui et peuvent lui causer de nombreuses maladies. La présence de ces bactéries en milieu hospitalier est donc à l'origine de nombreuses infections.

1.2. LES INFECTIONS NOSOCOMIALES

Les infections nosocomiales, souvent appelées infections associées aux soins, sont des infections contractées en milieu hospitalier et qui étaient absentes au moment de l'admission dans l'établissement de santé. Environ 6% des patients qui séjournent à l'hôpital y contractent une infection ; le risque du patient varie en fonction de son profil, des soins qu'il reçoit, de la durée de son séjour, du respect ou non des mesures de prévention et d'hygiène, de la

désinfection régulière ou irrégulière des espaces, surfaces et équipements, de la fréquence de surveillance et de contrôle microbiologique, ... (INSERM, 2024).

Dans les IN, les germes généralement incriminés ce sont les bactéries, qui peuvent provenir du patient lui-même ou de l'environnement hospitalier dans lequel il se trouve. Les bactéries du groupe ESKAPEE ont été reconnues comme les principaux vecteurs des infections associées aux soins dans le monde. Ce groupe regroupe *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp.* et *Escherichia coli* (Rajput et al., 2021). Elles font donc partie des pathogènes à surveiller en milieu hospitalier, dont la présence impacte négativement le séjour des patients. Les IN entraînent la prolongation des durées d'hospitalisation, des décès (environ trois mille à quatre mille par an), ... ; elles sont la troisième cause d'évènement indésirable grave et 20 à 30% sont évitables (HAS, 2025).

Les bactéries rencontrées en milieu hospitalier et responsables de ces IN sont fortement impliquées dans l'émergence de la résistance aux antibiotiques, qui constitue une menace pour la santé publique, la médecine moderne et la réalisation des objectifs de développement durable. Les infections dues aux agents pathogènes résistants aux antibiotiques représentent une charge de morbidité mondiale importante ; on estimait en 2019, à 1,27 million le nombre de décès imputables aux bactéries résistantes aux antibiotiques, auxquels s'ajoutaient 5 millions de décès associés à celles-ci (WHO, 2024).

L'OMS a établi une liste de vingt-quatre éléments recensant les bactéries pathogènes prioritaires dans la surveillance et la lutte contre la résistance aux antibiotiques. Parmi celles-ci, nous avons *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM), les entérobactéries résistantes aux bêtalactamines à spectre élargi (E-BLSE), les entérobactéries productrices de céphalosporinases de troisième génération (EBCASE) et de carbapénèmases (EPC), *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* résistants aux carbapénèmes, les entérocoques résistants à la vancomycine (ERV), *Mycobacterium tuberculosis* résistant à la rifampicine, les streptocoques du groupe A résistants aux macrolides et ceux du groupe B résistants à la pénicilline (WHO, 2024).

1.3. CHIMIOTHERAPIE ANTIBACTERIENNE

Les antibiotiques sont des molécules synthétiques, semi-synthétiques ou naturelles capables de tuer ou d'inhiber la croissance bactérienne sans affecter la cellule hôte. La découverte des antibiotiques a été attribuée à Alexander Fleming, avec la découverte de la

pénicilline en 1928 (Agència, 2022) ; l'antibiothérapie est donc le traitement médicamenteux anti-infectieux qui implique l'utilisation d'un ou de plusieurs antibiotiques.

1.3.1. Modes d'action des antibiotiques (Mammeri & Amiens, 2013)

Les antibiotiques agissent sur les bactéries par toxicité sélective ou inhibition compétitive ; certains empêchent la formation de leurs enveloppes protectrices (membrane cytoplasmique, paroi) et d'autres bloquent certaines réactions chimiques indispensables à leur métabolisme. En fonction de leur mode d'action, nous pouvons classer les antibiotiques en :

- **Inhibiteurs de la synthèse du peptidoglycane**, constitués des β -lactamines qui agissent sur la paroi bactérienne par toxicité sélective en inactivant les PLP lors de la synthèse du peptidoglycane ; cette inactivation aboutit à l'inhibition de la formation des ponts pentacycliques responsables de la structure réticulée de la paroi. Nous y avons également les Glycopeptides qui inhibent la synthèse de la paroi bactérienne (spécifiquement la transglycolysation en se liant au dipeptide terminal du peptidoglycane). La Fosfomycine quant à elle inhibe la synthèse de la paroi bactérienne par action sur la pyruvyl transférase;
- **Inhibiteurs de la synthèse des protéines**, dont les Aminosides qui agissent sur les sous unités 30S du ribosome et entraînent les erreurs de lecture du code génétique lors de la traduction des protéines ; les Macrolides-Lincosamides-Streptogramines (MLS) qui agissent au niveau de la sous unité 50S du ribosome en inhibant la croissance de la chaîne polypeptidique en formation ; les Tétracyclines qui inhibent la phase d'élongation de la chaîne polypeptidique au niveau de la sous unité 30S du ribosome en empêchant la fixation de l'aminoacyl-ARNt ; et les Phénicolés, actifs sur la sous unité 50S du ribosome pour inhiber la polymérase ;
- **Inhibiteurs des acides nucléiques**, parmi lesquels les Quinolones et les Fluoroquinolones qui agissent sur l'ADN gyrase et l'ADN topoisomérase IV pour inhiber la synthèse de l'ADN bactérien ; les Rifampicines qui inhibent la transcription de l'ADN en ARN messenger (ARNm) par l'inhibition de l'ARN polymérase ; et les Nitrofuranes qui agissent directement sur l'ADN provoquant diverses lésions ;
- **Inhibiteurs de la synthèse des folates**, à l'instar des Sulfamides qui se fixent sur la dihydroptéroate synthase et des Triméthoprimes qui se fixent sur la dihydrofolate réductase ;
- **Antibiotiques actifs sur les enveloppes membranaires**, comme c'est le cas des Polymixines ; elles possèdent une charge positive et agissent comme des agents tensio-

actifs sur la membrane cellulaire en se fixant sur les phospholipides, d'où la rupture de la membrane osmotique.

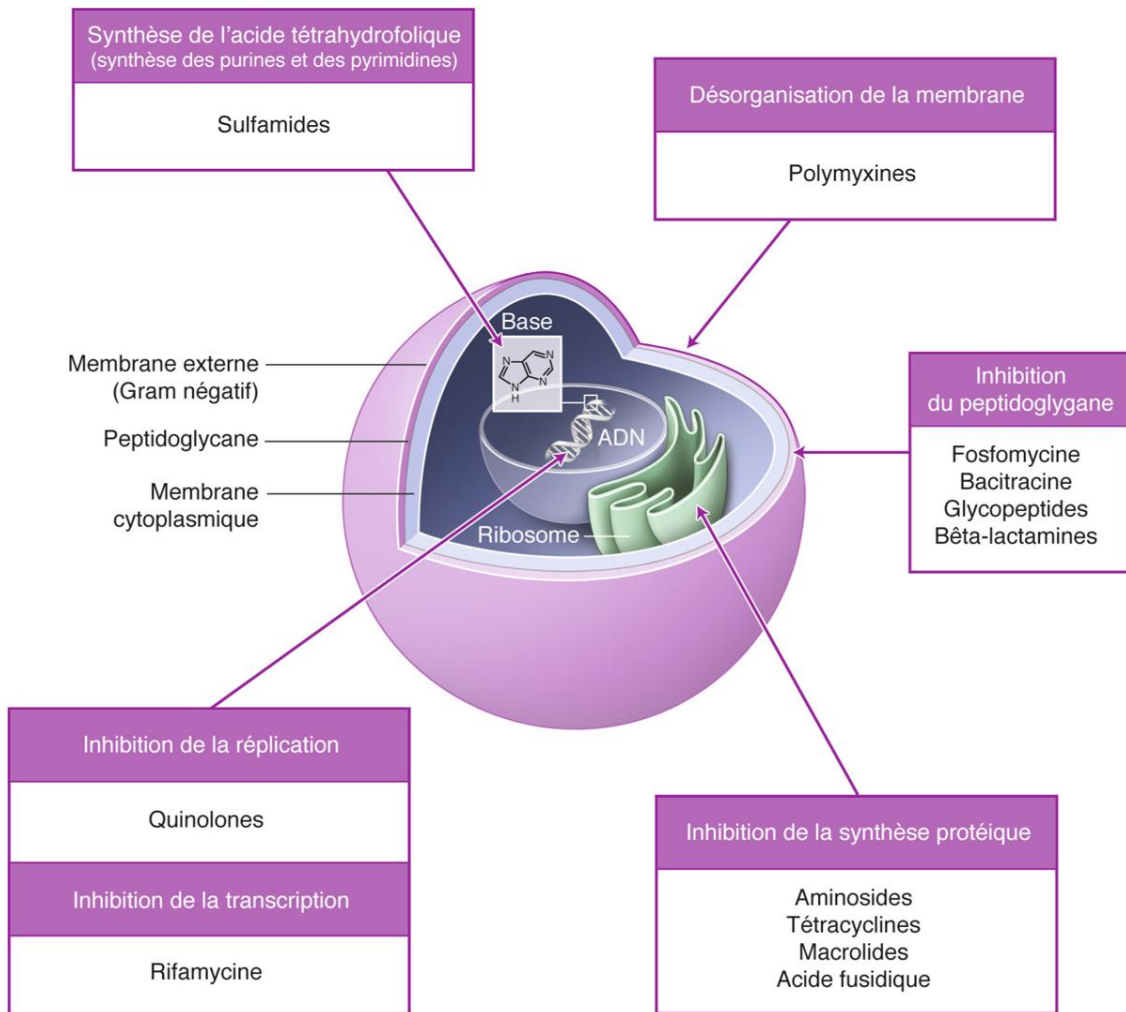


Figure 2 : Récapitulatif des sites et modes d'action des antibiotiques (Debellemanière & Saleh, 2015)

1.3.2. Antibiorésistance (Muylaert & Mainil, 2013)

La diversité des modes d'action des antibiotiques n'a pas laissé les bactéries indifférentes ; elles ont donc développé des mécanismes de résistance pour échapper aux actions stratégiques des antibiotiques. Certaines bactéries sont naturellement résistantes à certains antibiotiques. D'autres par contre développent une résistance aux antibiotiques parce qu'elles acquièrent des gènes d'autres bactéries qui sont devenues résistantes, ou parce que leurs gènes mutent (**Bush, 2022**). Par ailleurs, l'augmentation croissante des infections bactériennes s'étant accompagnée d'une prescription accrue d'antibiotiques et de l'automédication, a fortement contribué au développement des résistances. La résistance aux antibiotiques est ainsi définie lorsque l'infection bactérienne progresse dans un organisme

malgré l'administration d'un traitement antibactérien ; les bactéries auraient donc développé des stratégies de survie et/ou de multiplication en présence d'agents antibactériens. Divers mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques peuvent être observés :

- **La réduction de la perméabilité de la membrane externe** : les bactéries réduisent la quantité de production des porines (protéines permettant la formation des pores membranaires et servant de canaux pour la pénétration des antibiotiques) ;
- **L'inactivation des antibiotiques** : les bactéries produisent des enzymes ayant la capacité de modifier la structure de l'antibiotique par transfert d'un groupement chimique, ou de cliver directement l'antibiotique, le rendant ainsi inefficace ;
- **L'efflux via les systèmes multi drogues** : Grâce aux pompes à efflux (transporteurs membranaires responsables de la désintoxication de la cellule bactérienne par expulsion active des substances antibactériennes vers l'extérieur de celle-ci), les bactéries peuvent résister aux antibiotiques par exportation active ;
- **La mutation de la cible de l'antibiotique** : les bactéries peuvent développer des mutations aléatoires au sein de leur matériel génétique, modifiant ainsi les différentes cibles des antibiotiques et les rendant insensibles face à l'action de ces antibiotiques ;
- **L'acquisition du matériel génétique** : les bactéries peuvent également développer des résistances par acquisition des gènes de manière temporaire ou permanente ; la transmission de ces gènes de résistance se fait par des plasmides ;
- **La surexpression de la cible de l'antibiotique** : ici, les bactéries produisent davantage la macromolécule cible et arrivent à maintenir leur activité biologique pour pouvoir se développer malgré la présence de l'antibiotique ;
- **Le contournement métabolique** : dans ce cas, les bactéries empruntent une autre voie métabolique qui remplace la voie habituelle affectée par l'antibiotique ;
- **La défense altruiste** : ici, les bactéries très résistantes aux antibiotiques synthétisent l'indole en grande quantité afin de subvenir aux besoins des bactéries sensibles.

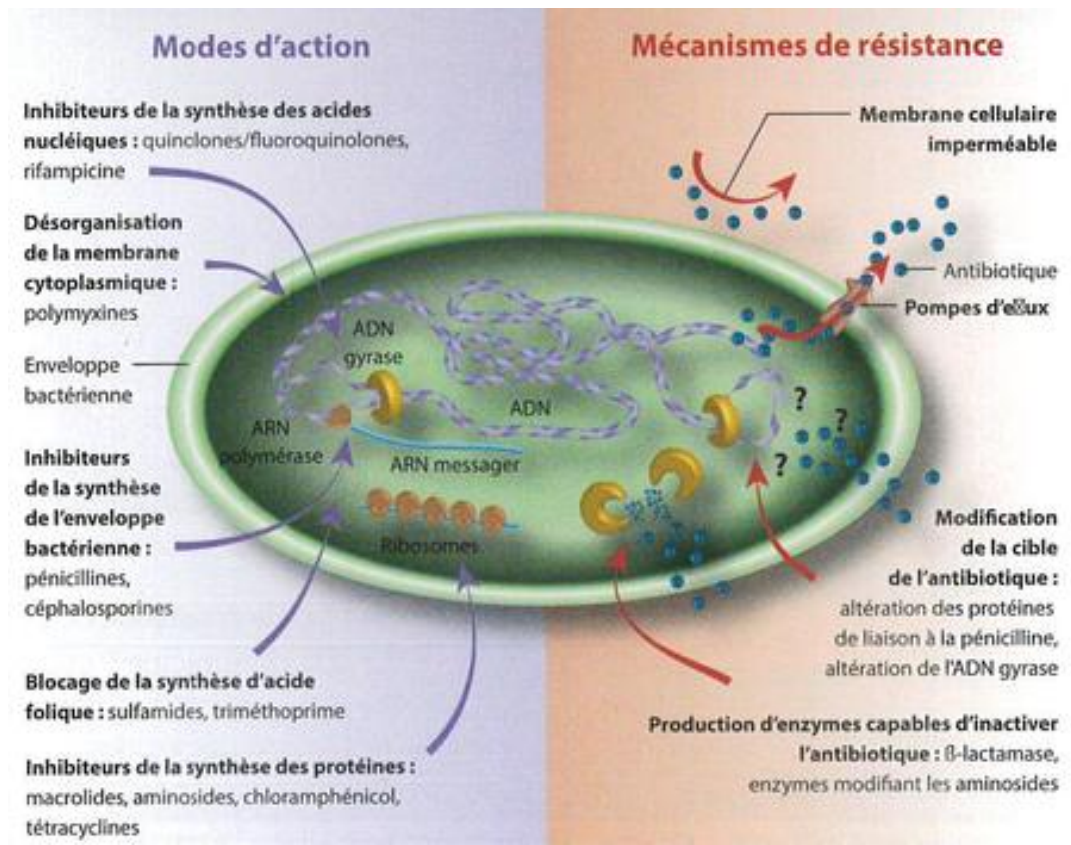


Figure 3 : Récapitulatif des modes d'action des antibiotiques et des mécanismes de résistance des bactéries (Grandchamp-Renard, 2022)

1.4. METHODES D'ISOLEMENT ET D'IDENTIFICATION DES BACTERIES DANS L'ENVIRONNEMENT

Limiter la transmission des bactéries présentes dans l'environnement exige de vérifier les différentes surfaces et équipements en contact avec les patients, le personnel médical et les garde-malades. Cette vérification se fait par plusieurs méthodes et les surfaces critiques concernées par la surveillance microbiologique regroupent entre autres : les points de contact direct ou proximal avec les patients (armoire de chevet, interrupteur, poignées de porte, lit, matelas, ...), le matériel (tensiomètres, plateaux de matériel d'intervention, chariots, ...) et l'environnement général (couverts de poubelle, meubles, surfaces de travail, ...). Nous avons également au sein de l'hôpital, des services à risque élevé comme les unités des soins intensifs, les services de greffe, les salles d'isolement infectieux et les services d'hémodialyse.

1.4.1. Méthodes de collecte des surfaces et dispositifs médicaux

Pour cette surveillance microbiologique, il est primordial de travailler dans le respect des normes établies pour respecter les principes d'assurance qualité et de bioéthique ; elles

régulent les méthodes et procédures à mettre en œuvre pour un résultat optimal. C'est le cas des normes ISO 14698-1, ISO 14698-2, EN 17141 et ISO 18593.

La norme ISO 14698-1 dont l'approche est basée sur le risque pour l'identification des sources de contamination (personnel, air, surfaces, etc.), spécifie les principes de base, les méthodes d'échantillonnage (par contact et par écouvillonnage) et d'analyse microbiologique (ISO, 2003).

La norme ISO 14698-2 quant à elle, conjointement utilisée avec l'ISO 14698-1, traite l'évaluation et l'interprétation des données de biocontamination en spécifiant les méthodes d'analyse des données microbiologiques recueillies, les critères d'interprétation et les actions correctives à mettre en œuvre (ISO, 2003).

Il est important de noter que la norme européenne EN 17141 remplace depuis Août 2020 les deux parties de l'ISO 14698 ; elle donne des recommandations pratiques à utiliser pour établir et démontrer la maîtrise de la contamination microbiologique aérienne et de surface. Elle recommande des boîtes de contact et des écouvillons pour le prélèvement des surfaces, puis que la culture soit faite sur des milieux stériles et fertiles, l'incubation dans des conditions précises (Recasens, 2022).

Nous avons également la norme ISO 18593 qui décrit les méthodes horizontales pour les prélèvements de surface (boîtes de contact, écouvillons, chiffonnettes et éponges stériles), avec utilisation d'un gabarit stérile (jetable ou réutilisable, délimitant une zone spécifique) ; elle permet la vérification de la qualité microbiologique des surfaces en définissant des programmes d'échantillonnage pour évaluer les niveaux de contamination microbienne des surfaces (ISO, 2018).

1.4.2. Méthodes d'identification et de test de sensibilité

A la suite de la collecte, les différentes bactéries isolées sont identifiées en laboratoire par diverses méthodes, dont la mini-galerie classique centrée sur des tests biochimiques d'identification. Nous avons également des méthodes automatisées qui rendent l'identification plus rapide et plus exacte : VITEK®2 COMPACT, MALDI-TOF, ...

Le système VITEK 2 de bioMérieux est un nouveau système automatisé d'identification et de test de sensibilité bactérienne qui utilise une technologie basée sur la fluorescence. VITEK®2 COMPACT a un principe unique de remplissage par chambre à vide qui assure l'inoculation des cartes d'identification et d'antibiogramme. Les isolats y sont testés à l'aide d'une carte AST unique, autonome et jetable, propre à chaque isolat, dont le principe repose sur la technique de concentration minimale inhibitrice par micro dilution en

bouillon. Chaque carte contient au moins un puits de contrôle positif sans antibiotique (bouillon de culture élaboré pour la croissance uniquement) et plusieurs puits dont la concentration en antibiotiques dans le bouillon de culture est croissante (Michalik, 2018).

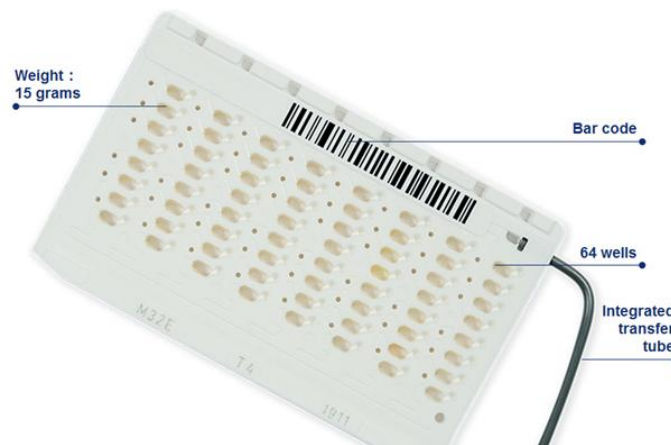


Figure 4 : Carte AST de VITEK®2

Quant à la spectrométrie de masse de type MALDI-TOF (matrix assisted laser desorption and ionisation time of flight), elle est une méthode de diagnostic en microbiologie rapide et robuste permettant d'identifier les espèces de microorganismes grâce à leur empreinte protéique constituée par le spectre de masse. Elle utilise un laser pour absorber l'énergie d'une matrice et générer ainsi des ions par fragmentation des grosses molécules, et permet en recherchant le profil protéique, d'identifier les bactéries (Grams positif et négatif), les moisissures, les mycobactéries et les microbes anaérobies, évaluant la contamination microbienne présente (Mohammad, 2023).

1.4.3. Mise en évidence des mécanismes de résistance en laboratoire

Les bactéries identifiées, nous pouvons constater de nombreuses résistances aux antibiotiques, surtout en milieu hospitalier. Il existe donc en laboratoire, des possibilités d'évaluer ces mécanismes de résistance des bactéries, notamment la synthèse enzymatique, dont la production de BLSE de classe A, la production de carbapénèmes, l'induction, ...

- **Production de BLSE :**

Les BLSE sont des enzymes qui confèrent une résistance à une vaste gamme de bêtalactamines (notamment les pénicillines G, pénicillines M, les carboxypénicillines), dont les céphalosporines de première, deuxième, troisième et de quatrième génération, ainsi que le monobactame (aztréonam). La résistance de certaines espèces aux céphalosporines est habituellement due à un des deux mécanismes de résistance connus : une BLSE de classe A (BLSE classique), ou une BLSE de classe C (AmpC). Normalement les BLSE de classe A se

forment grâce à un plasmide de résistance, alors que les BLSE de classe C sont habituellement d'origine chromosomique, bien que de nombreuses exceptions aient été signalées. La détection des BLSE en laboratoire se fait par la méthode de diffusion en disques sur gélose Mueller-Hinton, où la présence d'une BLSE s'exprime par l'apparition d'une synergie en « bouchon de champagne » entre un disque contenant de l'acide clavulanique [AMC (inhibiteur de bêta-lactamase)] et un disque de céfoxitine (C2G), de ceftazidime (C3G), de céfépime (C4G) et/ou de monobactame [aztréonam (ATM)] ; les disques étant distants de l'AMC et entre eux de 30mm (Lamine et al., 2017).

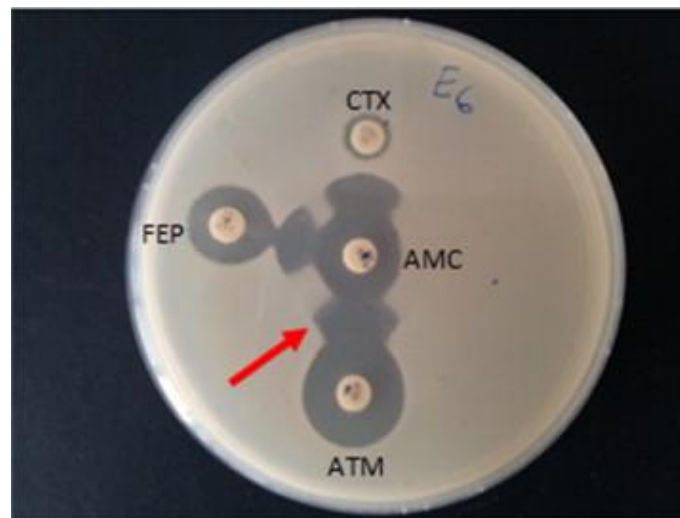


Figure 5 : Synergies en bouchon de champagne avec l'AMC (Lamine et al., 2017)

- Production de carbapénèmes :

Les carbapénèmes sont des β -lactamases à large spectre d'action qui hydrolysent les carbapénèmes ainsi que d'autres β -lactamines. Les souches d'entérobactéries productrices de carbapénèmes sont résistantes aux carbapénèmes et font l'objet d'une surveillance clinique. Cependant, certaines souches sont résistantes par des mécanismes autres que la production de carbapénèmes, notamment la production d'AmpC et la perte de porine. La détection des carbapénèmes chez les entérobactéries peut se faire par la technique d'inactivation des carbapénèmes (TIC). C'est une méthode phénotypique qui permet rapidement et facilement aux laboratoires cliniques de différencier les souches d'entérobactéries résistantes aux carbapénèmes qui produisent ou non une carbapénémase ; elle repose sur une brève incubation de la souche d'entérobactérie dans un tube contenant un disque de méropénème. En présence d'une carbapénémase, le méropénème sera hydrolysé (détruit) ; à la sortie du disque du tube, il ne restera plus d'antibiotique sur le disque. Lorsque ce disque sera placé sur une géloseensemencée avec un *Escherichia coli* ATCC 25922 (sensible au méropénème), il y

aura croissance de cette souche jusqu'au bord du disque puisque le disque ne contiendra plus d'antibiotique. Si la souche ne produit pas de carbapénémase, il n'y aura pas destruction du méropénème. Ainsi, lorsque le disque sera placé sur la gélose ensemencée avec le *E. coli* ATCC 25922, il y aura une zone d'inhibition autour du disque puisque l'antibiotique sera présent et que cette souche contrôle est sensible. Nous avons donc besoin pour cette mise en évidence, d'une souche pure d'entérobactérie, d'une anse stérile, du bouillon TSB, d'eau physiologique, d'un vernier, du disque de méropénème 10 µg, de la gélose Mueller-Hinton, des souches de contrôle de qualité : *Escherichia coli* ATCC 25922, *K. pneumoniae* ATCC BAA-1705 (souche contrôle positive), *K. pneumoniae* ATCC BAA-1706 (souche contrôle négative) (INSPQ, 2022).

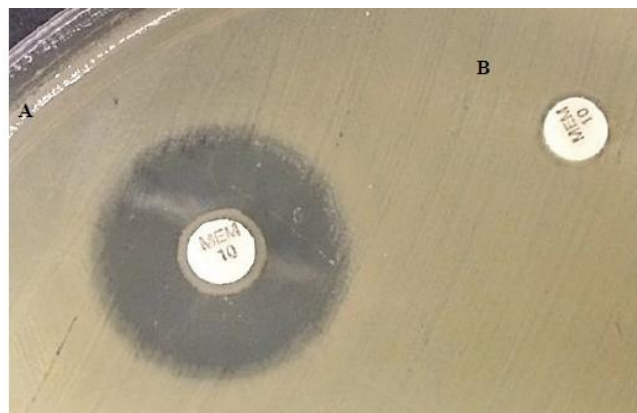


Figure 6 : Résultats négatif (A) et positif (B) attendus respectivement pour les souches contrôles négative (A) et positive (B) (INSPQ, 2022)

- L'induction :

La clindamycine est un agent attrayant pour le traitement empirique des infections suspectées à *S. aureus* en raison de ses excellentes propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques. Des échecs cliniques du traitement par la clindamycine pour le traitement des infections à SARM ont été documentés pour des souches sensibles à la clindamycine mais résistantes à l'érythromycine. Les échecs étaient dus à une résistance inductible à la clindamycine. Le test D est utilisé pour détecter cette résistance. La mise en évidence de l'induction chez les cocci entre l'érythromycine et la clindamycine repose sur un test appelé test D. Il est utilisé pour détecter une résistance induite à la clindamycine chez les bactéries résistantes à l'érythromycine. La procédure consiste à préparer une suspension bactérienne à partir de l'échantillon clinique, et à l'étaler sur une gélose Mueller-Hinton. Par la suite, deux disques d'antibiotiques sont placés sur la gélose : un disque d'érythromycine (15µg) est placé à une distance de 15mm d'un disque de clindamycine (2µg) ; et la gélose est incubée à 35-37°C pendant 18-24heures. Après incubation, on observe la zone d'inhibition

autour des disques. Si la zone d'inhibition autour du disque de clindamycine est en forme de « D » du côté du disque d'érythromycine, cela indique une résistance induite à la clindamycine (l'érythromycine a induit une résistance à la clindamycine) (Ojha & Maheshwari, 2025).

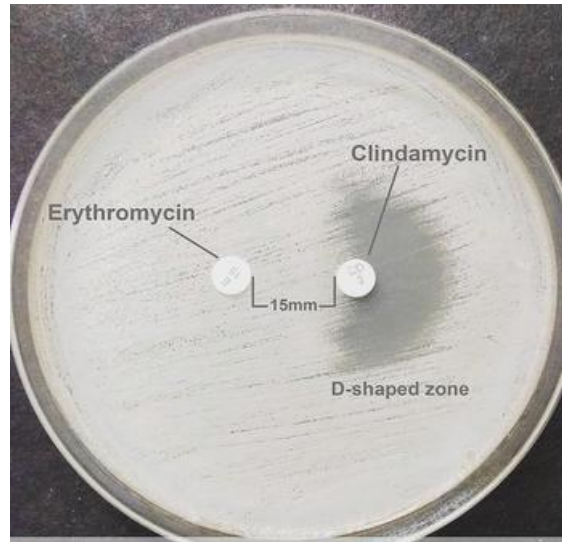


Figure 7 : Résultat positif du test D (Ojha & Maheshwari, 2025)

A purple ribbon graphic with a black outline, featuring a central rectangular box and two pointed ends. The text is centered within the box.

**CHAPITRE II :
MATERIEL ET METHODES**

2.1. MATÉRIEL

Pour bien mener cette étude, nous avons utilisé le matériel énuméré ci-dessous :

2.1.1. Matériel de collecte des données

Le matériel de collecte des données était constitué d'une fiche préalablement établie, de l'autorisation de collecte du Directeur Général de l'HJY, de l'autorisation d'accès au laboratoire de l'HCY signée du Directeur Général de l'HCY, des autorisations des chefs des différents services concernés, et d'un stylo.

2.1.2. Matériel de prélèvement

Pour le prélèvement, nous avons utilisé des fiches de collecte, une brève notice d'information, des caches nez, des blouses blanches à longues manches, des calottes, des chaussures de protection, des gants de soin stériles, les accumulateurs de froid, une glacière de transport d'échantillons, la bande adhésive pour l'étiquetage, le gabarit de prélèvement, des écouvillons stériles préalablement humidifiés avec la gélose nutritive (Biolife, Milan, Italie, 2022) préalablement préparée, étiquetés et emballés dans le papier aluminium par lots de dix et quinze. Nous avons utilisé la gélose nutritive comme milieu de transport de nos échantillons (CCLIN, 1998).

2.1.3. Matériel d'analyse bactériologique

Nous avons utilisé le bouillon nutritif (Biolife, Milan, Italie, 2022) pour l'enrichissement des échantillons prélevés.

Pour l'analyse microscopique, nous avons besoin : des lames et lamelles, d'un microscope optique, du kit de coloration de Gram, de l'eau physiologique, de l'anse de platine, du Bec de bunsen, ... Différents milieux de culture ont été utilisés pour l'isolement, l'identification des isolats et l'antibiogramme :

- Isolement des micro-organismes : géloses : Chapman (Accumix, Malaga, Espagne, 2024), Columbia (Liofilchem, Roseto degli Abruzzi, Italie, 2023), EMB (Accumix, Malaga, Espagne, 2024), MacConkey (Liofilchem, Roseto degli Abruzzi, Italie, 2022) préalablement préparées.

- Identification : les géloses Mannitol mobilité, Kliger Iron Agar et Citrate de Simmons (toutes de Liofilchem, Roseto degli Abruzzi, Italie, 2023), préalablement préparées et conservées dans des tubes à vis, ont été utilisées pour l'identification des isolats ; de même que les réactifs et les autres éléments nécessaires pour les tests de catalase, d'oxydase, de

coagulase et d'urée-indole. Par ailleurs, un matériel automatisé (VITEK[®]2 COMPACT de bioMérieux) a été utilisé pour une identification plus approfondie des isolats obtenus, ainsi que pour l'antibiogramme de certains isolats bactériens.

- L'antibiogramme a été réalisé sur gélose Mueller-Hinton (bioMérieux, Marcy-l'Etoile, France, 2022) et différents disques d'antibiotiques (provenant de Bioanalyse[®]) ont été utilisés. Pour tester la sensibilité des entérobactéries et des non-entérobactéries nous avons utilisé les pénicillines (Amoxicilline + acide clavulanique, Pipéracilline + Tazobactam), les céphalosporines de deuxième (Céfoxitine), troisième (Ceftazidime, Céfotaxime) et quatrième générations (Céfépime), les carbapénèmes (Imipénème, Méropénème), les fluoroquinolones (Ciprofloxacine, Levofloxacine, Ofloxacine), les aminosides (Amikacine, Gentamicine), le monobactame (Aztreonam) et les autres antibiotiques (Fosfomycine, Cotrimoxazole). Pour les cocci, les antibiotiques testés étaient la Pénicilline G, des céphalosporines (Céfoxitine, Céfotaxime, Ceftriaxone), des aminosides (Gentamicine, Tobramycine), des fluoroquinolones (Ciprofloxacine, Levofloxacine), l'Erythromycine (macrolide), la Tétracycline et la Clindamycine. Ces antimicrobiens ont été choisis en respectant les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM/EUCAST, 2024).

Nous disposons également des souches de référence, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 pour le contrôle qualité des milieux de culture.

Nous avons utilisé le bouillon nutritif plus glycérol à 10% pour la conservation des souches dans les cryotubes. La gélose Mueller-Hinton, la souche *Escherichia coli* ATCC 25922, les disques de Méropénème, d'Erythromycine, de Clindamycine, ... pour mettre en évidence la synthèse enzymatique associée au profil de résistance observé.

2.1.4. Matériel de gestion des déchets

Le matériel de gestion des déchets était constitué de solutions de décontamination, de bacs à ordures avec plastiques pour déchets respectant le code couleur associé à la gestion des déchets en vigueur dans le laboratoire de bactériologie de l'HCY, des poubelles pour objets coupants et piquants.

2.2. CADRE DE L'ÉTUDE

2.2.1. Type d'étude

Il s'agissait d'une étude prospective et transversale.

2.2.2. Lieu d'étude

La collecte des échantillons a été réalisée à l'Hôpital Jamot de Yaoundé (HJY). Un hôpital de référence pour la prise en charge des grandes endémies ; organisé en plusieurs services et recevant un grand nombre de patients. Les échantillons collectés ont été analysés au laboratoire de bactériologie de l'Hôpital Central de Yaoundé.

2.2.3. Période d'étude

Notre étude s'est déroulée pendant une période de quatre mois, allant de mi-October 2024 à mi-Février 2025.

2.2.4. Population d'étude

Notre étude a porté sur les échantillons collectés sur les différentes surfaces préalablement sélectionnées dans quelques services de l'Hôpital Jamot de Yaoundé où sont pris en charge les patients à risque élevé d'infection notamment le Service de Pneumologie, l'Unité des soins intensifs, les Urgences et le Laboratoire.

Le Service de Pneumologie a deux grandes parties, chacune étant constituée de plusieurs unités. Le Service de Pneumologie A a des unités de prise en charge des patients tuberculeux dont le Bâtiment Central I où les patients tuberculeux sont hospitalisés dans des chambres individuelles, le Bâtiment Central II constitué de salles communes pour la prise en charge des patients, le Haut Standing dans lequel les patients sont internés dans des chambres individuelles assez équipées, ...

L'Unité des soins intensifs est constituée de quatre mini-salles d'hospitalisation, à raison de deux patients par salle partiellement séparés par une baie vitrée.

Les Urgences sont également constituées de salles d'hospitalisation, avec une salle d'observation, dans lesquelles sont installés et traités les patients.

Le Laboratoire quant à lui est constitué de plusieurs salles qui servent d'accueil et d'enregistrement, de prélèvement, de laboratoires de bactériologie, de sérologie-hématologie, de biochimie, et la salle de rechange (vestiaire).

Les différents sites de collecte ont été sélectionnés selon les recommandations du guide de gestion de l'hygiène relatif aux surfaces environnementales ; ils incluaient les tables, les chaises, les lits, les armoires, les interrupteurs, les poignées de porte, les frigos, les paillasses, les robinets de lavabo, les dispositifs et appareils médicaux dont les chariots, les moteurs appareils respiratoires, les tensiomètres électriques, les appareils TB-LAMP, les microscopes,

les perfusions et supports, dans le Service de Pneumologie A (Bâtiment central I, Bâtiment Central II, Haut Standing), l'Unité des soins intensifs, le Service des Urgences et le Laboratoire.

2.2.5. Taille d'échantillonnage

La taille d'échantillon "n" a été calculée à partir de la formule de Lorentz :

Avec :

n = taille de l'échantillon pour une population mère très grande

$$n = \frac{t^2 p(1-p)}{e^2}$$

t = coefficient de marge déduit du taux de confiance « s » (où s = 95% => t = 1,96)

p = proportion (connue ou supposée, estimée) des éléments de la population-mère qui présentent une propriété donnée [\rightarrow taux de prévalence des infections nosocomiales causées par les germes retrouvés dans l'environnement et sur les mains sales = 20% = 0,20 (Evina et al., 2014)]

e = marge d'erreur que l'on se donne (e = 5%)

Application numérique :

$$n = \frac{(1,96)^2(0,20)(1-0,20)}{(5\%)^2} = 245,86$$

Notre taille d'échantillonnage était de 246.

2.3. MÉTHODES

2.3.1. Phase pré-analytique

2.3.1.1. Collecte des données

Après présentation des autorisations obtenues au personnel de chaque service sollicité et aux patients présents, nous leur avons expliqué l'objet de notre présence dans les dits services à travers une notice d'information préparée à cet effet. Nous avons fait une visite guidée afin de sélectionner les sites de prélèvement dans chaque service et par la même occasion, nous avons renseigné nos fiches de collecte préalablement établies en notant toutes les informations sur chaque site de collecte (service, date et heure du prélèvement, numéro et code de l'échantillon, nature de la surface prélevée, salle de prélèvement, ...).

2.3.1.2. Prélèvement des échantillons

Nous avons procédé à un écouvillonnage des surfaces en respectant le protocole précédemment utilisé par l'équipe de Cavallo et l'équipe de Nabila (CTIN, 2002 ; Nabila et al., 2014).

Les prélèvements ont été faits en neuf descentes, à raison de trois descentes par mois soit une descente par semaine, dans les conditions strictes d'asepsie permettant d'éviter toute contamination éventuelle. Au niveau des surfaces planes et des dispositifs/matériels médicaux ayant des surfaces planes, notamment les tables, les chaises, les armoires, les paillasses, les chariots, les frigos, les moteurs des appareils respiratoires, le tensiomètre électrique, les appareils TB-LAMP et les lits (bords, chevets et/ou matelas), nous avons échantillonné au niveau des zones les plus en contact avec les patients et/ou le personnel soignant. Nous utilisons un écouvillon préalablement humidifié de gélose nutritive par site de collecte. A l'aide d'un gabarit de prélèvement d'une surface de 25cm², l'écouvillon étiqueté était frotté sur toute la surface de 25cm² en formant des traits serrés parallèles, puis perpendiculaires ; il était tourné et retourné au fur et à mesure qu'on se déplaçait sur la surface prélevée.

Au niveau des interrupteurs et des poignées des portes, nous prélevions chacun de ces éléments en écouvillonnant les surfaces et les bordures, à l'aide d'un écouvillon préalablement humidifié de gélose nutritive, en tournant et en retournant de manière à former des lignes parallèles puis perpendiculaires.

Au niveau du robinet de lavabo, des microscopes, des perfusions et supports, le prélèvement a consisté à parcourir aseptiquement les surfaces de ces dispositifs avec un écouvillon stérile humidifié de gélose nutritive, de manière à le frotter horizontalement et verticalement en retournant, sur les surfaces des dispositifs les plus en contact avec les patients et/ou le personnel soignant/personnel du laboratoire.

A la fin du prélèvement, les écouvillons étaient mis dans la glacière et transportés au laboratoire de bactériologie de l'HCY dans les brefs délais pour analyse.

2.3.1.3. Préparation des milieux de culture

La préparation des milieux de culture a été faite en respectant les consignes du fabricant ainsi que les mesures de sécurité microbiologique. Les milieux de culture ainsi préparés ont été stérilisés et répartis (environ 25ml) dans des boîtes de Pétri stériles. Après refroidissement, nous avons fait le contrôle qualité en utilisant des souches de référence (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus*

aureus ATCC 29213). Tous les milieux de culture étaient conservés au réfrigérateur (4°C) pour les analyses ultérieures.

- **Test de stérilité :**

Il consistait à vérifier que les milieux préparés ne soient pas contaminés. Nous mettions premièrement une portion de marqueur de stérilité sur les verreries avant de les introduire dans l'autoclave. Après la stérilisation à l'autoclave, les minces bandes (lignes) obliques noires observées au niveau des portions de marqueur de stérilité placées, témoignaient de la stérilité des milieux de culture préparés.

Aussi, une quantité assez considérable des boîtes de Pétri contenant les géloses préparées non ensemencées était incubée à 37°C pendant 24h. Après les 24h, elles étaient sorties de l'incubateur et observées ; l'absence de toute croissance sur les géloses confirmait la stérilité des milieux de culture.

- **Test de fertilité :**

La fertilité des milieux de culture était vérifiée en les ensemencant avec des souches appropriées. La présence de colonies sur milieu stérile révélait la fertilité de ce dernier. Nous avons ensemencé les souches de référence *Escherichia coli* ATCC 25922 sur le milieu EMB et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 sur Mueller Hinton. La croissance de ces souches sur ces milieux respectifs a prouvé leur fertilité.

- **Test de spécificité/sélectivité :**

La spécificité ou sélectivité des milieux de culture était vérifiée comme suit : sur un milieu de culture stérile et fertile, nous ensemencions une souche qui normalement ne devrait pas croître sur ledit milieu. L'absence de croissance de cette souche sur ce milieu stérile et fertile traduisait la spécificité du milieu de culture préparé. Nous ensemencions par exemple la souche *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 sur EMB ; la non-croissance de cette souche sur ce milieu traduisait la spécificité du milieu de culture préparé.

2.3.2. Phase analytique

2.3.2.1. Formation de pools, et enrichissement des échantillons

Dès leur arrivée au laboratoire, les échantillons collectés étaient poolés et codés. Les pools se faisaient en mélangeant les écouvillons de prélèvements de surfaces identiques d'une même salle, pour en faire un seul échantillon avec un seul code. Le code était fonction du service et de l'ordre de prélèvement.

Les écouvillons appartenant à un même pool et les échantillons non poolés étaient répartis dans des tubes à hémolyse et à vis contenant le bouillon nutritif. Puis, ils étaient incubés à 37°C pendant 24h ; cette étape a permis d'enrichir les échantillons avec le bouillon nutritif et ainsi, de déstresser les éventuelles bactéries présentes.

2.3.2.2. Isolement des bactéries

Nous avonsensemencé les bouillons enrichis sur trois milieux de culture susceptibles de permettre la croissance des bactéries généralement responsables d'infections nosocomiales; notamment les milieux MacConkey, EMB et Chapman. Nous avons utilisé la méthode d'ensemencement par des stries et par épuisement pour permettre aux éventuelles bactéries présentes sur les surfaces de s'exprimer. Après Vingt-quatre heures d'incubation, nous avons procédé à l'observation macroscopique (l'aspect des colonies, le relief, la consistance, la taille, la couleur, la production ou non de pigments, la dégradation ou non de sucres) et l'observation microscopique (états frais et Gram de contrôle) en prenant des notes sur notre fiche de paillasse préalablement conçue. L'observation microscopique de contrôle des états frais et coloration de Gram a permis d'orienter la suite des analyses bactériologiques.

2.3.2.3. Purification et identification des isolats

Après le Gram de contrôle, nous avons repiqué les colonies sur la gélose ordinaire Columbia afin d'avoir des isolats purs, sachant que la pureté d'un isolat est caractérisée par la présence de colonies ayant un seul aspect.

Les colonies pures des bacilles Gram négatifs obtenues des géloses sélectives (EMB et MacConkey) ont été identifiées sur la base des caractéristiques biochimiques en utilisant la mini-galerie classique spécifique aux entérobactéries. Le test à l'oxydase a permis de différencier les entérobactéries (oxydase négative) des non entérobactéries (oxydase positive). Au niveau des cocci, nous avons fait le test à la catalase pour différencier les staphylocoques des streptocoques et le test à la coagulase pour différencier *Staphylococcus aureus* des staphylocoques non aureus.

Quant à l'identification des bacilles Gram négatifs à oxydase positive et des cocci Gram positif à coagulase positive, nous avons utilisé des techniques automatisées : le système VITEK®2 de bioMérieux.

Le système VITEK 2 de bioMérieux est un nouveau système automatisé d'identification et de test de sensibilité bactérienne qui utilise une technologie basée sur la

fluorescence. VITEK[®]2 a un principe unique de remplissage par chambre à vide qui assure l'inoculation des cartes d'identification et d'antibiogramme (Annexe 9).

Les isolats purs identifiés ont été conservés dans des cryotubes contenant le bouillon nutritif additionné à 10% de glycérol et rangés dans le congélateur (4 à 8°C) apprêté à cet effet.

2.3.2.4. Antibiogramme

L'antibiogramme a été effectué sur milieu gélosé Mueller-Hinton par la méthode de Kirby-Bauer (méthode de diffusion en disques) (Casals, 1973) pour certains isolats, et avec l'automate VITEK[®]2 pour d'autres.

La méthode de Kirby-Bauer a été utilisée pour l'antibiogramme des entérobactéries, puis pour quelques non-entérobactéries et cocci dont l'antibiogramme n'avait pas été lu par VITEK[®]2. Les inocula étaient préparés à partir d'isolats purs en respectant le standard de 0,5 MacFarland (1×10^8 unités formant colonies) et les disques étaient disposés fermement en veillant à respecter l'espace de 25mm entre deux disques et celui de 15mm entre les disques et les bordures (CA-SFM/EUCAST, 2024).

L'automate VITEK[®]2 quant à lui, a été utilisé pour l'antibiogramme de la plupart des non-entérobactéries et des cocci à coagulase positive.

Les résultats obtenus des antibiogrammes réalisés ont montré plusieurs phénotypes de résistance, confirmant la nécessité de chercher ce qui serait à l'origine de ces résistances. C'est ainsi que nous avons travaillé à déterminer si la synthèse enzymatique est responsable des résistances observées.

2.3.2.5. Mise en évidence des synthèses enzymatiques associées aux phénotypes de résistance

Face aux résistances observées chez certains isolats bactériens, nous avons cherché des synthèses enzymatiques qui pourraient être associées. Pour cela, nous avons recherché la production de BLSE (entérobactéries et non-entérobactéries), la production de carbapénémases (entérobactéries) et l'induction chez les cocci.

- **Mise en évidence de la production de BLSE (Lamine et al., 2017)**

Pour mettre en évidence la production de BLSE chez les entérobactéries et les non-entérobactéries, nous avons recherché le bouchon de champagne entre l'inhibiteur de bêta-lactamases [l'AMC (chez les entérobactéries) ou le PTZ (chez les non-entérobactéries)] et les

céphalosporines de troisième et quatrième génération ; et entre cet inhibiteur de bêta-lactamases et le monobactame. Cette recherche du bouchon de champagne s'est faite pendant l'antibiogramme puisque nous avons déposé des disques d'antibiotiques en mettant l'AMC (chez les entérobactéries) ou le PTZ (chez les non-entérobactéries) au centre de la gélose, et nous l'avons entouré de la céfoxitine, de deux céphalosporines de troisième génération (ceftazidime et cefotaxime), de la céfépime (qui est une céphalosporine de quatrième génération), et de l'aztréonam (qui est un monobactame). L'observation d'un bouchon de champagne après le temps d'incubation permettait de conclure que la souche d'entérobactérie ou de non-entérobactérie testée est productrice de bêta-lactamases à spectre élargi. L'absence de ce bouchon de champagne permettait de conclure que la souche n'est pas productrice de BLSE.

- **Mise en évidence de la production de carbapénèmases (INSPQ, 2022)**

Pour mettre en évidence la production de carbapénèmases chez les entérobactéries, nous avons utilisé la technique d'inactivation des carbapénèmes : nous avons d'abord sélectionné les souches qui étaient résistantes à un carbapénème (l'imipénème dans notre cas), puis nous avons procédé comme suit pour chacune de ces souches :

Dans un tube à hémolyse, nous avons introduit environ 4ml de bouillon nutritif, et nous y avons ajouté une colonie pure de la souche pour laquelle nous souhaitons mettre en évidence la production de carbapénèmases. Puis un disque de méropénème de 10 μ g y a été ajouté de manière à être complètement immergé, et nous avons incubé pendant quatre heures (\pm quinze minutes). Environ quinze minutes avant la fin du temps d'incubation, nous avons préparé une suspension 0,5 MacFarland de la souche *Escherichia coli* ATCC 25922 dans un tube à hémolyse contenant environ 3ml de bouillon nutritif. Puis, nous avonsensemencé la suspension préparée sur toute une gélose Mueller-Hinton à l'aide d'un écouvillon stérile, en faisant des stries serrées et dans les quatre sens. Nous avons ensuite attendu trois à dix minutes pour permettre à la gélose d'absorber l'inoculum.

Une fois le tube sorti de l'incubateur, à l'aide d'une pince stérile, nous avons aseptiquement retiré le disque de méropénème du bouillon, et nous l'avons déposé sur la gélose contenant la souche *Escherichia coli* ATCC 25922 que nous avionsensemencée. Nous avons ensuite étiqueté la boîte de Pétri avant de l'incuber pendant vingt-quatre heures.

Le lendemain, nous avons procédé à la lecture et à l'interprétation des résultats en mesurant la zone d'inhibition autour du disque de méropénème. Pour une zone d'inhibition dont le diamètre était compris entre 6 et 15mm, ou entre 16 et 18mm (avec des petites

colonies dans la zone d'inhibition pour cet intervalle), le résultat était dit positif, et nous concluons que la souche est résistante aux carbapénèmes par production de carbapénèmases. Lorsque le diamètre de la zone d'inhibition autour du disque de méropénème était supérieur ou égal à 19mm sans colonies dans la zone d'inhibition, le résultat était dit négatif, nous faisant conclure que la souche est résistante aux carbapénèmes par un mécanisme autre que la production de carbapénèmases.

- **Mise en évidence de l'induction (Ojha & Maheshwari, 2025)**

Chez les cocci, pour rechercher l'induction, nous avons recherché la forme D, caractéristique de l'induction entre la clindamycine et l'érythromycine (comme décrit dans la littérature scientifique). En pratique, pour chacun des isolats de cocci identifiés, nous avons procédé comme suit :

Dans un tube à hémolyse, nous avons préparé une suspension 0,5 MacFarland avec de l'eau physiologique et une colonie de la souche à tester ; puis, à l'aide d'un écouvillon stérile, nous avons ensemencé l'inoculum sur une gélose Mueller Hinton, dans le respect de la procédure pour l'antibiogramme. Par la suite, nous avons disposé un disque de clindamycine et un disque d'érythromycine distants l'un de l'autre de 15mm (au lieu de 25mm) sur la gélose précédemment inoculée et nous avons incubé pendant vingt-quatre heures. Le lendemain, nous avons procédé à la lecture et l'interprétation : une zone d'inhibition en forme de "D" autour du disque de clindamycine devait indiquer que l'érythromycine a induit une résistance à cette dernière traduisant un résultat positif au test d'induction. Nous devons dans ce cas conclure que la bactérie a développé une résistance induite à la clindamycine.

Mais lorsque la forme "D" était absente et que la bactérie était sensible à la clindamycine, nous concluons que le test d'induction était négatif et que la bactérie est effectivement sensible à la clindamycine.

2.4. ANALYSES STATISTIQUES

L'analyse des données recueillies a été assurée par le logiciel Microsoft office Excel ; il nous a permis de représenter les résultats obtenus sous forme de graphiques facilement exploitables et compréhensibles.

2.5. CONSIDÉRATIONS LÉGALES ET ÉTHIQUES

La présente étude quoiqu'ayant principalement impliqué les surfaces de l'environnement hospitalier, est pour le bien-être des êtres humains au sein de l'établissement

de santé. De ce fait, avant de réaliser ce travail, nous avons obtenu des autorisations de collecte et d'analyse des directions de l'HJY et de l'HCY. Les patients et personnels soignants présents sur les sites de prélèvement ont été clairement informés de la nature des prélèvements, de la procédure et des bénéfices de notre étude ; les différentes autorisations obtenues étaient présentées avant tout prélèvement.

- **Engagement de bonnes pratiques :**

Cette étude a été réalisée en conformité avec les lois bioéthiques, ainsi qu'en accord avec les bonnes pratiques cliniques. Les informations obtenues ne seront ni utilisées, ni diffusées à des fins autres que celles pour lesquelles elles ont été collectées.

- **Aspects réglementaires :**

Nous avons obtenu pour ce travail :

- ✓ Une autorisation de collecte fournie par le Directeur Général de l'HJY ;
- ✓ Une autorisation qui nous permet de faire les analyses, fournie par le Directeur Général de l'HCY ;
- ✓ Des autorisations des Chefs Services de Pneumologie A, des Soins Intensifs et des Urgences ;
- ✓ Une autorisation de la biologiste du laboratoire de l'Hôpital Central ;
- ✓ Des accords, quoique verbaux, des majors des unités des différents services et du laboratoire.

- **Risques potentiels :**

Les prélèvements des surfaces dans des services de l'HJY au niveau des tables, des chaises, des lits, des armoires, des interrupteurs, des poignées de porte, des frigos, des paillasses, du robinet de lavabo, des dispositifs et appareils médicaux (chariots, moteurs appareils respiratoires, tensiomètre électrique, appareils TB-LAMP, microscopes, perfusions et supports), ne constituent pas un risque majeur d'atteinte à la santé du patient, du garde-malade, du personnel soignant et de l'investigateur. Ces prélèvements ont nécessité le respect des normes de bonnes pratiques pour prélèvements aseptiques, afin d'éviter toute contamination des surfaces prélevées.

- **Bénéfices :**

Cette étude apporte des nouvelles connaissances dans la recherche scientifique, elle a permis d'isoler et d'identifier des souches de bactéries présentes dans l'environnement

hospitalier de l'HJY qui pourraient être responsables d'infections nosocomiales. Elle a également permis d'évaluer la sensibilité de ces bactéries vis-à-vis d'une série d'antibiotiques et de déterminer les synthèses enzymatiques associées à quelques phénotypes de résistance observés. Ces découvertes ont permis de donner des recommandations qui permettraient de limiter les conditions environnementales favorisant la dissémination bactérienne au sein des hôpitaux, réduisant ainsi les maladies nosocomiales qui seraient dues à la présence de ces bactéries en environnement hospitalier.

La direction de l'HJY recevra les résultats de notre travail de surveillance microbiologique, sans qu'aucune compensation financière ne leur soit demandée.

- **Confidentialité** :

La confidentialité des informations recueillies et des résultats des examens effectués a été et demeurera de rigueur.

A purple ribbon graphic with a black outline, featuring a central rectangular section and two pointed ends. The text is centered within the central section.

**CHAPITRE III :
RESULTATS ET DISCUSSION**

3.1. RÉSULTATS

3.1.1. Caractérisation des échantillons analysés

Nous avons collecté au total deux cent cinquante échantillons (250) au sein des différents services retenus dans le cadre de notre étude (Tableau I). Certains échantillons ont été regroupés en pools en fonction de la salle et du site de collecte, permettant ainsi d'analyser 153 échantillons. Quatre-vingt-seize (96) de ces échantillons provenaient du Service de Pneumologie A (16 du bâtiment central I, 18 du bâtiment central II, 62 du haut standing), 21 de l'Unité des soins intensifs, 16 du Service des Urgences et 20 du Laboratoire (Tableau I).

Tableau I : Echantillons collectés des surfaces des différents services

Services Sites de collecte	Pneumologie A			USI ²	Urgen- ces	Laboratoire	Total échantillons collectés
	Bât ¹ Central I	Bât ¹ Central II	Haut standing				
Appareils TB-LAMP	00	00	00	00	00	02	02
Armoires	05	12	10	00	08	01	36
Chaises	04	05	17	06	00	07	39
Chariots	00	00	00	04	02	00	06
Frigos	00	00	05	00	00	00	05
Interrupteurs	00	02	10	05	03	05	25
Lits	05	15	10	06	09	02	47
Microscopes	00	00	00	00	00	02	02
Moteurs appareils respiratoires	00	01	00	00	03	00	04
Paillasses	00	00	00	01	00	05	06
Perfusions et supports	04	08	04	06	02	00	24
Poignées de porte	04	04	15	04	05	06	38
Robinet de lavabo	00	00	00	01	00	00	01
Tables	01	00	10	01	00	02	14
Tensiomètre électrique	00	00	00	01	00	00	01
Total échantillons collectés	23	47	81	35	32	32	250

¹Batiment

²Unité soins intensifs

3.1.2. Positivité globale à la recherche des bactéries en fonction des surfaces échantillonnées

Nous avons analysé 153 échantillons, dont 125 étaient positifs à la culture contre 28 négatifs (Figure 8). La répartition détaillée est présentée dans le tableau II.

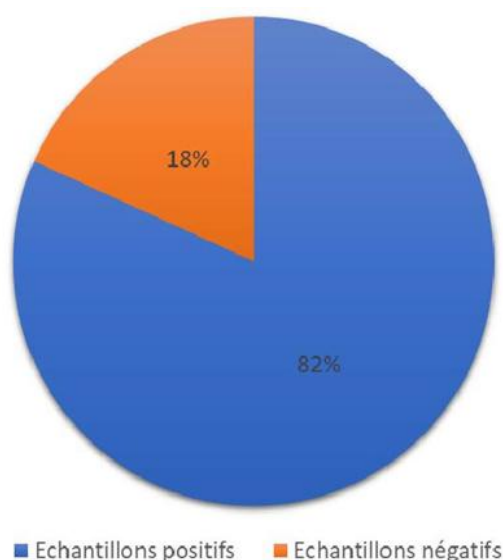


Figure 8 : Positivité globale à la recherche des bactéries

Tableau II : Positivité globale à la recherche des bactéries en fonction des surfaces échantillonnées

Echantillons	Total échantillons collectés	Total échantillons analysés (après formation des pools)	Total échantillons positifs
Appareils TB-LAMP	02	01	00
Armoires	36	21	17
Chaises	39	20	18
Chariots	06	04	04
Frigos	05	05	04
Interrupteurs	25	22	15
Lits	47	25	24
Microscopes	02	02	00
Moteurs appareils respiratoires	04	03	03
Paillasses	06	03	03
Perfusions et supports	24	10	08
Poignées de porte	38	22	17
Robinet de lavabo	01	01	01
Tables	14	13	10
Tensiomètre électrique	01	01	01
Total	250	153	125

3.1.3. Présentation des groupes de bactéries identifiées

Globalement, nous avons présenté les bactéries identifiées en différents groupes dont 104 entérobactéries (59%), 30 non-entérobactéries (17%) et 38 cocci (21%). 05 isolats n'ont pas pu être identifiés dont 3% (Figure 9). En fonction de la technique utilisée, nous avons

identifié 154 isolats par les techniques usuelles (102 entérobactéries, 18 non-entérobactéries, 34 cocci) et 18 isolats par la technique automatisée (VITEK[®]2 COMPACT) dont 02 entérobactéries, 12 non-entérobactéries et 04 cocci. Cependant, cinq (5) isolats n'ont pas pu être identifiés par les deux techniques utilisées (Tableau III). En fonction des services retenus dans cette étude, nous avons obtenu globalement : 119 isolats en Pneumologie A soit 67% dont 17 isolats (9%) au Bâtiment Central I, 30 (17%) au Bâtiment Central II, 72 (41%) au Haut Standing ; 23 isolats (13%) dans l'USI, 18 isolats (11%) aux Urgences et 17 isolats (9%) au Laboratoire (Figure 10).

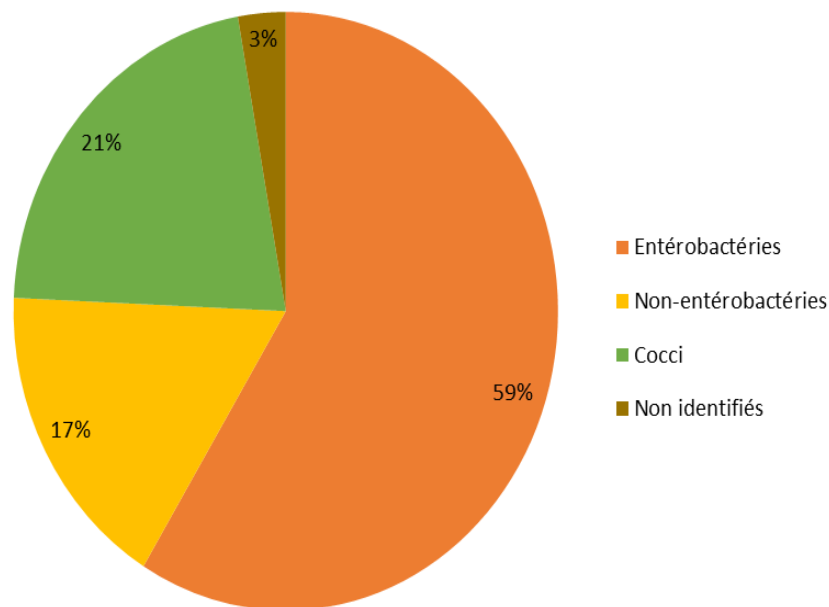


Figure 9 : Groupes de bactéries identifiées

Tableau III : Répartition des isolats selon la technique utilisée

Techniques d'identification / Microorganismes	Usuelle	Automatisée	Total isolats obtenus par groupe
Entérobactéries	102	02	104
Non-entérobactéries	18	12	30
Cocci	34	04	38
Non identifiés	00	05	05
Total isolats obtenus par technique	154	23	177

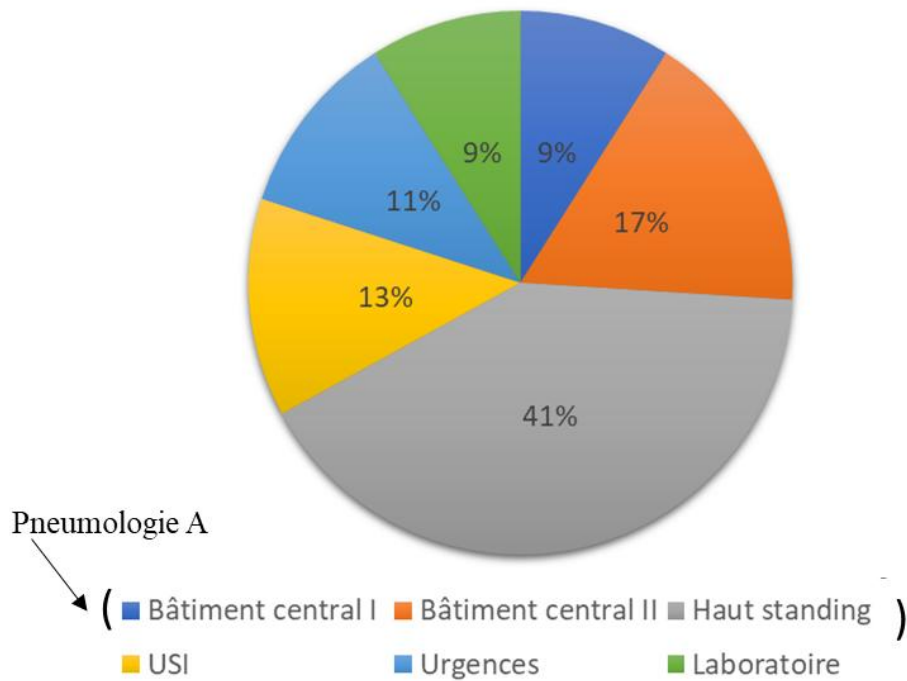


Figure 10 : Isolats obtenus en fonction des différents services

3.1.4. Isolats obtenus dans chaque groupe de bactéries en fonction des services

Le tableau IV ci-dessous présente les différents isolats identifiés dans chaque groupe de bactéries en fonction des services dont : 13 isolats différents des 104 entérobactéries, 8 des 30 non-entérobactéries et 2 des 38 cocci. *Citrobacter freundii* était le plus abondant (43 isolats, 24%), suivi de *Staphylococcus non aureus* (37 isolats, 21%), puis de *Citrobacter braakii* (18 isolats, 10%), de *Klebsiella pneumoniae* (16 isolats, 9%) et de *Sphingomonas paucimobilis* (13 isolats, 7%). Les moins abondants étaient *Aeromonas sobria*, *Chromobacterium violaceum*, *Enterobacter intermedius*, *Enterococcus columbae*, *Proteus vulgaris*, *Providencia rettgeri*, *Providencia stuartii*, *Pseudomonas putida* et *Pseudomonas stutzeri* avec chacun un isolat (0,56%). *Acinetobacter baumannii*, *Citrobacter koseri* et *Citrobacter youngae* ayant chacun deux isolats (1%) ; *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca* et *Photobacterium damsela* avec chacun trois isolats (1,67%) (Tableau IV).

Tableau IV : Nombre d'isolats obtenus par espèce et par service

Services Isolats	Groupes bactériens	Pneumologie A			USI	Urgences	Labo- ratoire	Total
		Bâtiment central I	Bâtiment central II	Haut standing				
<i>Citrobacter braakii</i>	Entérobactérie	03	05	07	00	01	02	18
<i>Citrobacter freundii</i>		04	04	18	02	08	07	43
<i>Citrobacter koseri</i>		00	00	00	00	01	01	02
<i>Citrobacter youngae</i>		00	01	01	00	00	00	02
<i>Enterobacter cloacae</i>		01	00	03	02	02	00	08
<i>Enterobacter intermedius</i>		01	00	00	00	00	00	01
<i>Escherichia coli</i>		01	00	01	01	00	00	03
<i>Klebsiella oxytoca</i>		00	00	00	02	00	01	03
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		00	03	02	08	01	02	16
<i>Proteus vulgaris</i>		00	00	00	00	00	01	01
<i>Providencia rettgeri</i>		00	00	00	00	01	00	01
<i>Providencia stuartii</i>		00	00	00	00	01	00	01
<i>Salmonella paratyphi A</i>		00	01	04	00	00	00	05
<i>Acinetobacter baumannii</i>		00	01	00	00	01	00	02
<i>Aeromonas salmonicida</i>		Non- entérobactérie	00	00	06	02	00	00
<i>Aeromonas sobria</i>	00		00	00	01	00	00	01
<i>Chromobacterium violaceum</i>	01		00	00	00	00	00	01
<i>Photobacterium damsela</i>	01		00	02	00	00	00	03
<i>Pseudomonas putida</i>	00		00	00	01	00	00	01
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	00		00	01	00	00	00	01
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	02		03	07	00	01	00	13
<i>Enterococcus columbae</i>	Cocci		00	00	01	00	00	00
<i>Staphylococcus non aureus</i>		03	10	17	04	01	02	37
<i>Non identifié</i>		/	00	02	02	00	00	01
Total		17	31	73	23	18	17	177

3.1.5. Isolats obtenus en fonction des surfaces prélevées

Globalement les surfaces les plus contaminées étaient les chaises et les lits avec chacune 30 isolats (17%), puis les armoires (25 isolats ; 14%), les poignées de porte (24 ; 13%) et les tables (15 ; 8%). Les surfaces les moins exposées étaient les microscopes et les appareils TB-LAMP dont les échantillons ont été négatifs à la culture, le tensiomètre électrique (01 isolat ; 0,56%), le robinet du lavabo (01 isolat ; 0,56%) et les paillasses (03 isolats ; 2%) (Figure 11) :

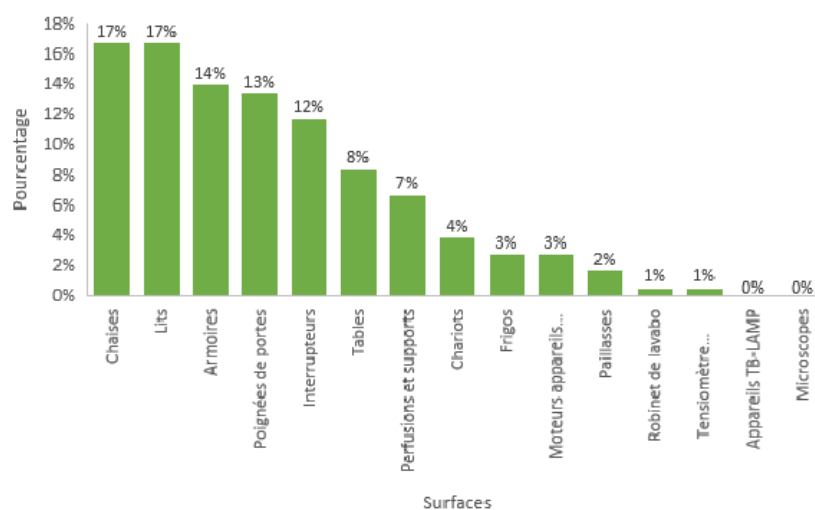


Figure 11 : Taux de contamination des surfaces échantillonnées

3.1.6. Phénotypes de résistance observés

3.1.6.1. Entérobactéries

La figure 12 représente les différents phénotypes de résistance que nous avons obtenus chez les entérobactéries isolées des échantillons de surface des services retenus pour l'étude. Nous constatons une résistance totale aux céphalosporines de quatrième génération de toutes les bactéries isolées du Service des Urgences ; la résistance au monobactame et à l'AMC est remarquable et interpellatrice dans ce même Service. Nous avons observé moins de résistance chez les isolats obtenus du Bâtiment Central I du Service de Pneumologie A (Figure 12). *Citrobacter freundii* a montré une plus grande résistance à l'AMC, aux céphalosporines de troisième et quatrième génération, et au monobactame ; pendant qu'*Enterobacter intermedium* n'a présenté aucun phénotype de résistance (Figure 13)

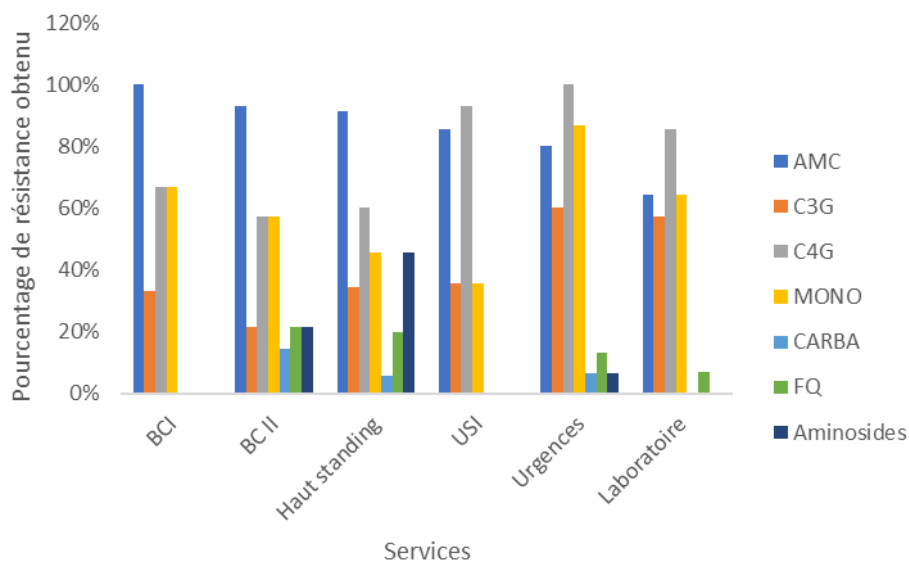


Figure 12 : Phénotypes de résistance des entérobactéries dans des services de l'HJY

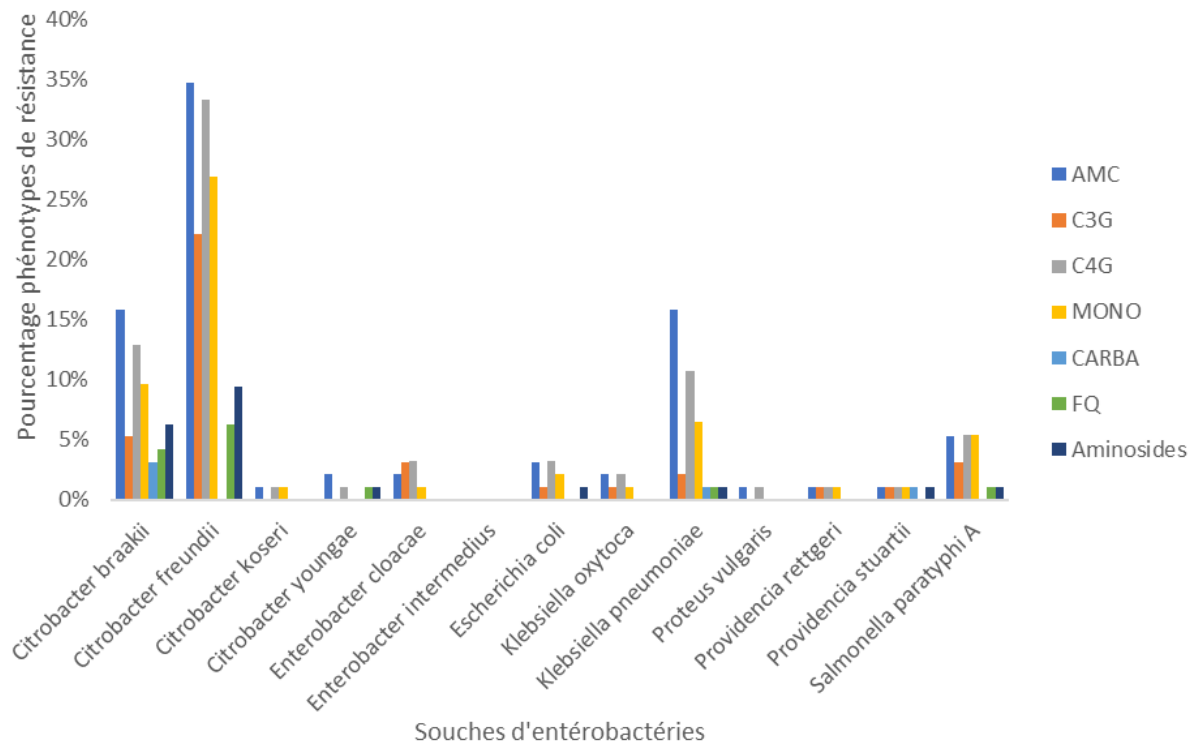


Figure 13 : Phénotypes de résistance des souches d'entérobactéries identifiées

3.1.6.2. Non-entérobactéries

Chez les non-entérobactéries, la résistance aux céphalosporines de troisième et quatrième générations et au monobactame est la plus prononcée au Bâtiment Central I de Pneumologie A ; tandis que la résistance aux céphalosporines de troisième génération et au monobactame est élevée aux Urgences. Au Bâtiment Central II, la résistance aux céphalosporines de troisième génération est la plus élevée et la moins élevée est celle aux carbapénèmes. Quant au Haut Standing et à l'Unité des soins intensifs, la résistance aux céphalosporines de troisième génération et au monobactame n'est pas des moindre (Figure 14). Aucune non-entérobactérie n'a été isolée du Laboratoire, d'où l'absence de phénotypes de résistance dans ce Service. *Sphingomonas paucimobilis* s'est démarquée par une forte résistance aux céphalosporines de troisième et de quatrième génération, et au monobactame, suivi d'*Aeromonas salmonicida*, résistant au monobactame, aux carbapénèmes et aux céphalosporines de quatrième génération. *Aeromonas sobria* quant à lui a faiblement montré une résistance aux céphalosporines de troisième génération (Figure 15).

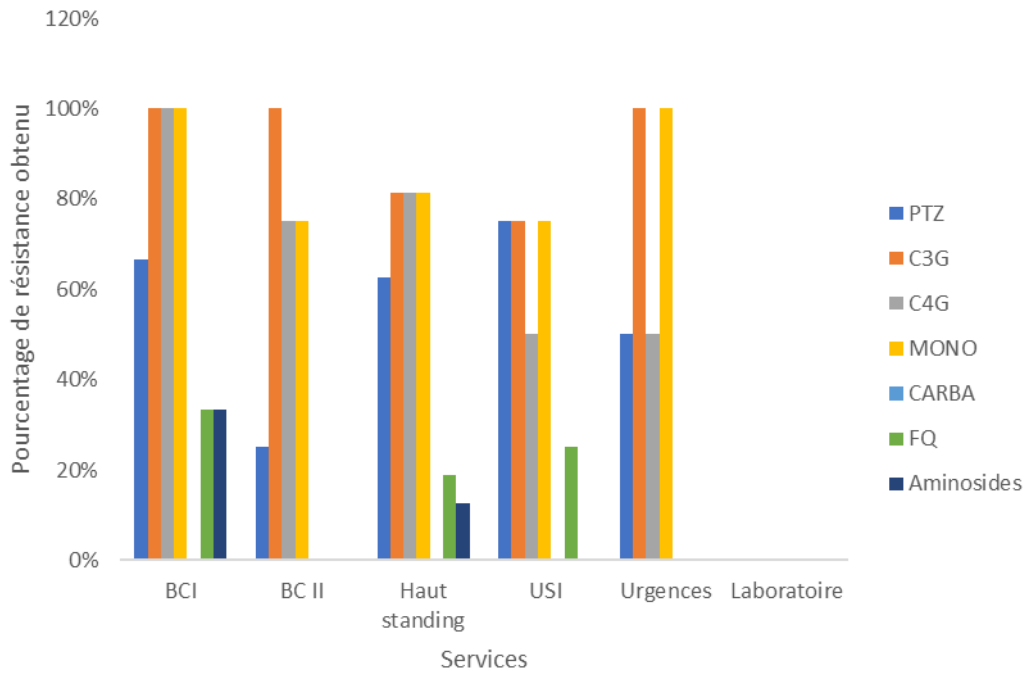


Figure 14 : Phénotypes de résistance des non-entérobactéries dans des services de l'HJY

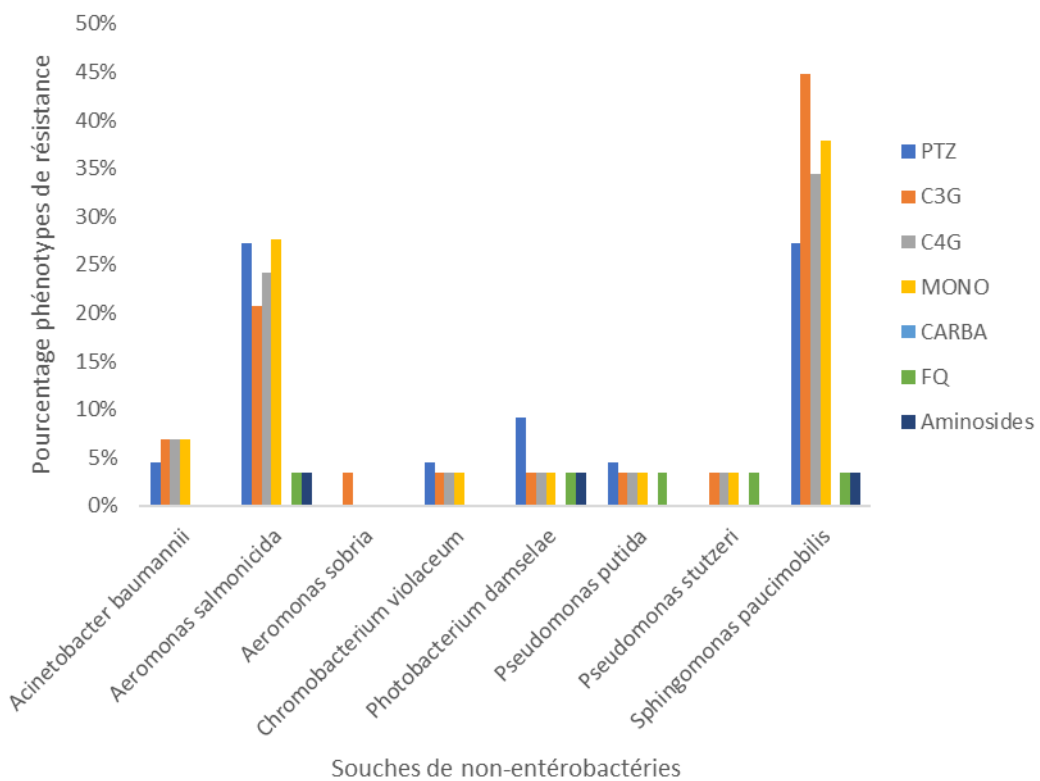


Figure 15 : Phénotypes de résistance des souches de non-entérobactéries identifiées

3.1.6.3. Cocci

Chez les cocci, nous n'avons pas fait d'antibiogramme pour les isolats à coagulase négative. Pour ceux dont la coagulase semblait positive, nous avons fait l'identification et l'antibiogramme simultanément par la technique automatisée. *Enterococcus columbae* a montré une résistance aux céphalosporines, aux tétracyclines, aux macrolides et à la clindamycine. *Staphylococcus haemolyticus* était résistant aux aminosides et aux fluoroquinolones. *Staphylococcus sciuri* était résistant uniquement aux fluoroquinolones, *Staphylococcus vitulinus* résistant aux céphalosporines, aux macrolides et à la clindamycine (Figure 16). En considérant les services de provenance des cocci identifiés, nous pouvons dire que les phénotypes de résistance ont été observés dans le Bâtiment Central II, le Haut Standing du Service de Pneumologie A et dans l'Unité des soins intensifs (Figure 17).

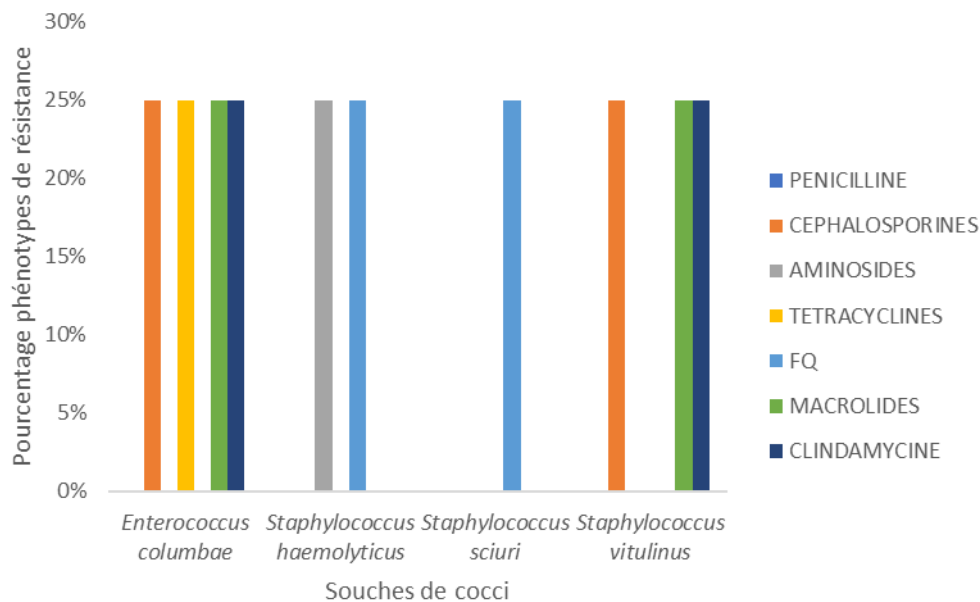


Figure 16 : Phénotypes de résistance des souches de cocci identifiées

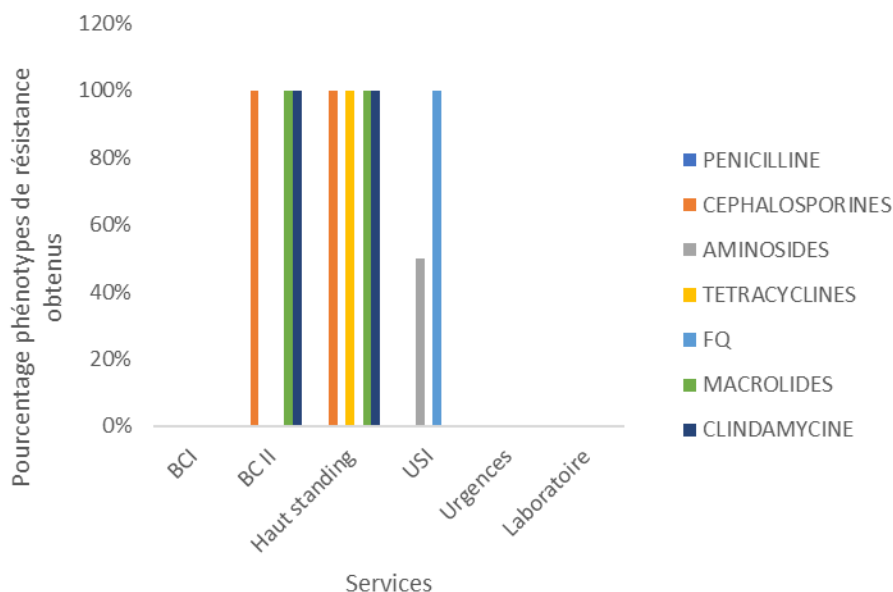


Figure 17 : Phénotypes de résistance des cocci identifiés dans des services de l'HJY

3.1.7. Synthèses enzymatiques observées

Parmi les entérobactéries, 3% étaient productrices de BLSE, et 1% de carbapénèmases (Figure 18). Ces synthèses enzymatiques ont été observées à des fréquences différentes chez les isolats d'entérobactéries identifiés. Nous voulons relever que trois isolats uniquement étaient producteurs de BLSE : les deux isolats de *Citrobacter freundii* producteurs de BLSE ont formé le bouchon de champagne, l'un avec l'aztréonam (monobactame) (Annexe 7, figure 33) et l'autre avec la ceftazidime (C3G). L'isolat de *Citrobacter braakii* producteur de BLSE quant à lui, a formé le bouchon de champagne avec le céfotaxime (C3G). La fréquence d'observation de ces synthèses enzymatiques au sein des isolats d'entérobactéries est illustrée dans la figure 19.

Quant aux non-entérobactéries, aucune souche n'était productrice de BLSE, et aucune n'était résistante aux carbapénèmes ; d'où nous n'avons pas cherché à mettre en évidence la production de carbapénémase.

Par ailleurs, chez les cocci, 100% des isolats testés étaient négatifs au test d'induction, confirmant qu'il n'y avait pas de résistance induite à la clindamycine. Aucune synthèse enzymatique n'a donc été observée chez les cocci.

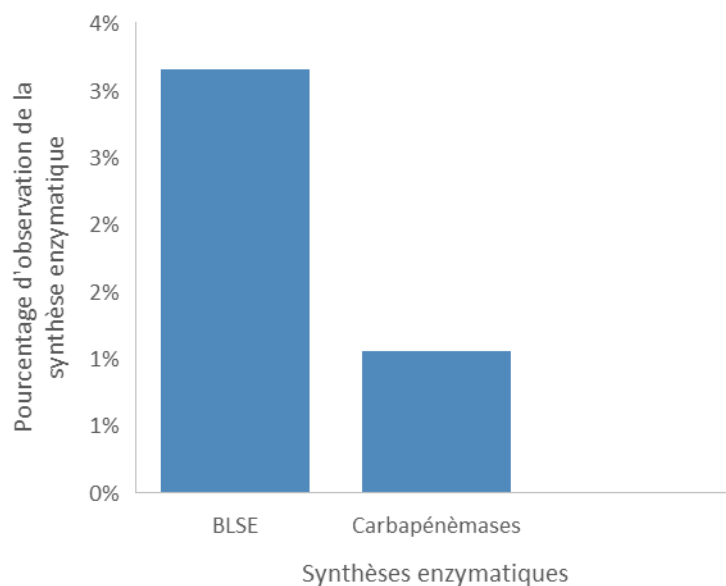


Figure 18 : Synthèses enzymatiques observées chez les entérobactéries

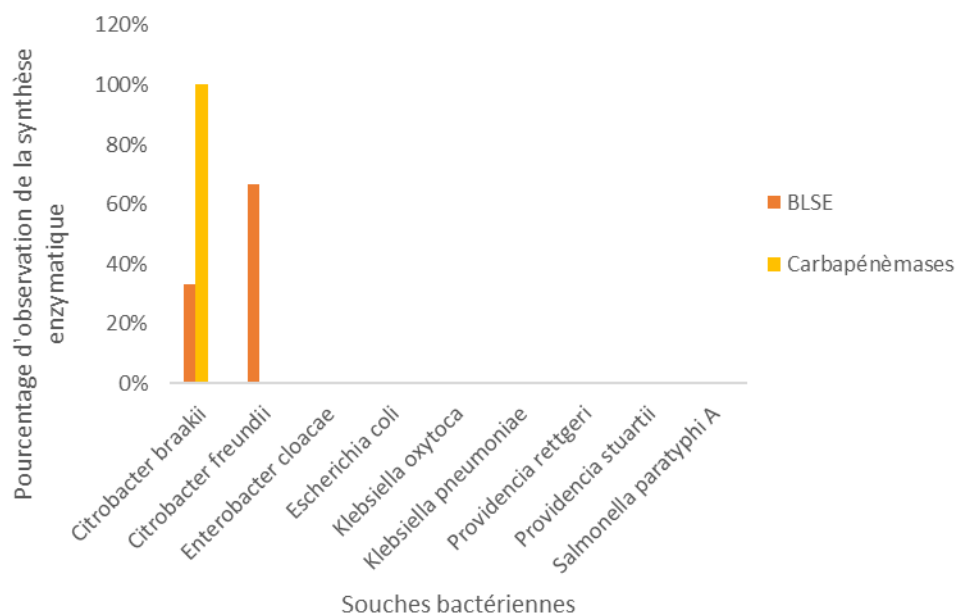


Figure 19 : Synthèses enzymatiques observées chez les isolats d'entérobactéries

3.2. DISCUSSION

Des cent cinquante-trois (153) échantillons analysés (pools et individuels), nous avons obtenu 177 (81,7%) isolats issus des surfaces échantillonnées dans les services retenus dans cette étude. Cette multitude d'isolats et le pourcentage de contamination élevé seraient dus à l'état précaire des infrastructures, à la vétusté et la détérioration avancée de certains dispositifs et meubles des salles/chambres où sont pris en charge les patients internés à l'HJY. La forte contamination pourrait aussi être due aux habitudes culturelles de notre contexte, notamment les multiples visites aux patients qui seraient à l'origine de la propagation des bactéries pathogènes. Le plus grand taux de contamination a été obtenu dans l'unité haut standing du service de Pneumologie A. Ce résultat est très surprenant, étant donné que le haut standing comme le nom l'indique est un service prestigieux qui devrait retenir toutes les attentions du personnel concernant l'administration des soins, le respect des règles d'hygiène, la maintenance des équipements... Le laboratoire était le service le moins contaminé, ceci pourrait s'expliquer par le fait que l'accès est généralement contrôlé et très souvent limité au personnel en poste. De plus, il est fortement recommandé de respecter les protocoles de sécurité microbiologiques mis en place. Les chaises et les lits étaient les surfaces les plus contaminées certainement du fait que ce sont des équipements les plus en contact avec les malades ou les gardes malades voire le personnel soignant ; de plus, lors du nettoyage des salles et chambres d'hospitalisation, ils sont généralement négligés ou oubliés. Parmi les isolats obtenus, les entérobactéries étaient les plus fréquentes, suivi des non-entérobactéries. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que les entérobactéries ont une capacité remarquable à survivre dans divers environnements, y compris les surfaces sèches, et peuvent former des biofilms (communautés bactériennes adhérentes et résistantes) qui les protégeraient des désinfectants et leur permettraient de persister sur les surfaces, certaines non-entérobactéries en formeraient également (**Branger, 2007**). Le genre *Citrobacter* était le plus fréquent, avec l'espèce *freundii*, ceci pourrait s'expliquer par la dissémination facile de *C. freundii* en milieu hospitalier, comme démontré dans les travaux de l'équipe de Couturier (**Couturier et al., 2022**). Chez les non-entérobactéries, la prédominance de *Sphingomonas paucimobilis* s'expliquerait parce que c'est une bactérie à habitat ubiquitaire, capable de contaminer les dispositifs médicaux en milieu hospitalier (**Clave, 2017**) ; et quoique généralement peu pathogène, elle pourrait provoquer des IN (**Makanéra et al., 2018**). Chez les cocci, la possibilité que *Staphylococcus non aureus* soit transféré par les mains du personnel soignant

ou par des objets contaminés favorisant sa dispersion dans l'environnement hospitalier, justifierait la prédominance de ces isolats sur les surfaces.

Parlant des phénotypes de résistance, nous avons observé chez les entérobactéries une prédominance des résistances à l'AMC et aux céphalosporines de quatrième génération, résultat alarmant parce que les C4G seraient le dernier recours lorsque les autres céphalosporines auraient perdu leur efficacité sur les bactéries. La forte résistance à l'AMC s'expliquerait par la transmission horizontale des gènes, les plasmides auraient permis aux bactéries de partager des gènes de résistance, ou alors, les bactéries auraient subi des mutations génétiques qui auraient modifié les cibles des antibiotiques, conférant ainsi aux bactéries la résistance vis-à-vis de ceux-ci (**Samaké, 2023**). Le service des urgences s'est négativement démarqué par l'abondance des phénotypes de résistance et des fréquences d'apparition de ces phénotypes. Ceci s'expliquerait par l'abondance, la pression et la précipitation dans les interactions entre patients, garde-malades, personnel médical et équipements, qui augmenteraient les risques de propagation des bactéries résistantes (**Pasteur, 2015**). *Citrobacter freundii* a montré le plus grand nombre de phénotypes de résistance et les plus grands pourcentages à ces différents phénotypes. Plus de 50% des isolats de *C. freundii* obtenus étaient résistants à l'AMC, au monobactame, aux céphalosporines de troisième et quatrième génération. Ceci serait dû comme nous l'avons précédemment évoqué, au transfert de gènes de résistance ou à des mutations.

Chez les non-entérobactéries, les phénotypes de résistance étaient prédominants au bâtiment central I et aux urgences, le laboratoire n'a présenté aucun phénotype de résistance. L'ajout du bâtiment central I (où les patients de pneumologie A étaient logés dans de simples chambres individuelles) dans la prédominance des phénotypes de résistance serait dû à la transmission indirecte des bactéries résistantes via le personnel soignant ou les équipements partagés. Les surfaces de ces chambres pourraient aussi être des réservoirs de bactéries résistantes si les protocoles de nettoyage n'étaient pas rigoureusement appliqués. Les isolats de *Sphingomonas paucimobilis* ce sont démarqués par une grande résistance au monobactame, aux C3G et C4G, où plus de 55% des isolats identifiés ont présenté ces phénotypes de résistance. Ce résultat s'explique dans les travaux de l'équipe de Makanéra qui ont permis de démontrer la multirésistance observée chez une souche de *Sphingomonas paucimobilis* (**Makanéra et al., 2018**). Chez les espèces de cocci identifiées, la prévalence des phénotypes de résistance était assez moyenne pour chacun des phénotypes obtenus, ceci pourrait s'expliquer par la faible quantité d'isolats testés.

A certains phénotypes de résistance étaient associés la synthèse enzymatique. Chez les entérobactéries et les non-entérobactéries, nous avons détecté une faible production de BLSE, probablement parce que les résistances observées chez les souches bactériennes isolées seraient dues à des voies autres que celles que nous avons cherchées à mettre en évidence. Comme autre synthèse enzymatique, nous avons eu la production de carbapénèmases, très faiblement observée chez les entérobactéries qui majoritairement étaient sensibles aux carbapénèmes, justifiant leur non-production de carbapénèmases. Par ailleurs, la non production de carbapénèmases chez les non-entérobactéries s'expliquerait par leur forte sensibilité vis-à-vis des carbapénèmes. Chez les cocci, la non détection de la synthèse enzymatique mise en évidence, serait un encouragement à chercher et à tester en laboratoire, les voies et moyens utilisés par les cocci pour résister aux antibiotiques. Il se peut en effet que les bactéries utilisent d'autres moyens pour résister aux antibiotiques.

De nombreux auteurs ont également travaillé sur les microorganismes responsables d'infections nosocomiales, notamment Ebongue et son équipe qui ont travaillé à l'Hôpital Général de Douala et ont constaté que 79% des échantillons prélevés étaient contaminés (**Ebongue et al., 2018**). Ce pourcentage de contamination diffère légèrement du nôtre (qui s'élève à 81,7%) et peut s'expliquer par les différences dans les protocoles d'hygiène et de prévention, la variabilité des sites de collecte, les facteurs environnementaux et infrastructurels dont l'ancienneté des bâtiments.

Les isolats obtenus par l'équipe d'Ebongue ont révélé la prédominance d'*Enterobacter cloacae* (53,6%), suivi de *Pseudomonas aeruginosa* (22,6%), des staphylocoques à coagulase négative (8,7%) et de *Klebsiella pneumoniae* (6,6%) (**Ebongue et al., 2018**). Ces résultats sont différents des nôtres où nous avons obtenu 25% de *Citrobacter freundii*, suivi de 21% de *Staphylococcus non aureus*, puis 10% de *Citrobacter braakii*, 9% de *Klebsiella pneumoniae*, 7% de *Sphingomonas paucimobilis*, 5% d'*Aeromonas salmonicida* et *Enterobacter cloacae*, et les autres espèces à 3, 2 et 1%. Cette différence de résultat pourrait s'expliquer par la différence de lieu et de contexte, la différence des services et unités prélevés, qui auraient contribué à donner des résultats différents pour des conditions environnementales différentes.

Les isolats d'*Enterobacter cloacae* obtenus par Ebongue et son équipe ont montré une grande sensibilité aux carbapénèmes dans l'unité des soins intensifs, la maternité et la néonatalogie (**Ebongue et al., 2018**), tout comme ceux obtenus par nous qui étaient tous sensibles aux carbapénèmes, et isolés de l'Unité des soins intensifs, des Urgences et du Service de Pneumologie A. Cette concordance de résultat pourrait traduire l'efficacité des

carbapénèmes sur les espèces d'*Enterobacter cloacae*, quel que soit le service, le lieu d'isolement de l'espèce.

Les 5% d'*E. cloacae*, les 1% de *Proteus vulgaris* que nous avons obtenus correspondent à ceux trouvés dans les travaux faits par Nabila et son équipe au Maroc (**Nabila et al., 2014**). Cette concordance de résultats pourrait s'expliquer par la similarité de quelques services de prélèvements comme les Urgences où *E. cloacae* a été majoritairement isolé dans les deux études. Ceci pourrait donner l'impression que le service des Urgences serait un réservoir favorable à l'émergence d'*E. cloacae*, et des mesures strictes devraient être prises pour limiter voire anéantir cela.

La prédominance de la contamination des lits (17%) dans notre étude est presque semblable à celle de Faye-Ketté et Dosso où les lits étaient les surfaces les plus contaminées (avec 12,8%) (**Faye-Ketté & Dosso, 2010**). La différence de pourcentage de contamination s'expliquerait par la différence des méthodes de prise en charge et d'entretien dans les différents services.

Les résistances observées aux céphalosporines de troisième et quatrième génération pour les mêmes espèces, à l'AMC et quelques fois au monobactame, nous permettent de dire que nous aurions à faire aux bactéries multirésistantes. Ceci rejoint donc la déclaration selon laquelle l'environnement hospitalier serait un potentiel réservoir secondaire de bactéries multirésistantes capables de coloniser ou d'infecter les patients (**Talon, 1999**). Des mesures appropriées pour limiter la contamination et le risque d'infection croisée seraient nécessaires.



CONCLUSION

Arrivés au terme de notre travail qui visait à réaliser une écologie bactérienne au sein de quelques services de l'HJY et à déterminer le profil de résistance des isolats bactériens obtenus de même que la synthèse enzymatique associée, plusieurs constats se dégagent : 1) une large gamme de surfaces (meubles, dispositifs médicaux, appareils...) sont contaminées par les bactéries ; 2) de nombreuses souches bactériennes colonisent différents espaces, équipements, meubles, dispositifs médicaux... 3) les isolats ont montré un taux élevé de phénotypes de résistance ; de même, certains isolats ont montré des synthèses enzymatiques remarquables comme mécanismes de résistance aux antibiotiques. Nous pouvons donc dire que le milieu hospitalier regorge de nombreuses souches bactériennes présentant des phénotypes variés aux antibiotiques par conséquent il constitue une source par excellence des infections hospitalières et de dissémination des souches bactériennes résistantes aux antibiotiques.

A purple ribbon graphic with a black outline, featuring a central rectangular box. The text is centered within this box.

**RECOMMANDATIONS
ET PERSPECTIVES**

RECOMMANDATIONS

Des constats faits pendant ce travail, et conscients que la présence d'un seul microorganisme sur les surfaces de travail est un indicateur qui requiert une intervention adéquate immédiate, nous recommandons :

➤ **Au personnel médical :**

- De respecter les règles élémentaires d'hygiène dont le lavage systématique des mains, le port de la blouse, de la calotte, des gants ;
- D'améliorer l'entretien des services (surtout celui des Urgences) ;
- De faire une désinfection profonde de toutes les surfaces au moment du nettoyage, à une fréquence régulière, systématiquement à la sortie de chaque patient et quelques heures avant l'entrée d'un autre, en commençant par les surfaces les plus souvent négligées ;
- D'exiger le port systématique et l'usage unique des gants par tout personnel qui entre dans la chambre du patient ;
- D'utiliser autant que possible les matériaux à activité antibactérienne intrinsèque.

➤ **Aux laboratoires et scientifiques pharmaceutiques :**

- De continuer à tenir compte des mécanismes de résistance détectés, dans le processus de fabrication de nouveaux médicaments ou antimicrobiens.

➤ **Aux responsables des structures hospitalières :**

- De multiplier les travaux internes de surveillance microbiologique dans les structures hospitalières (tout en veillant à la disponibilité du matériel adéquat pour le faire), afin d'évaluer la progression dans la lutte contre les microorganismes responsables d'infections nosocomiales et la lutte contre la résistance aux antimicrobiens, ceci en mettant sur pied des équipes techniques uniquement responsables de la surveillance microbiologique ;
- Mettre sur pied des moyens d'assainissement de l'environnement hospitalier ;
- Aussi, il existe des programmes de surveillance de la colonisation des surfaces, des salles et d'agents pathogènes spécifiques dans les zones cliniques à risque (**Schulster et al., 2004**), que les hôpitaux devraient prendre en compte pour protéger les patients, les garde-malades et le personnel médical.

➤ **Aux populations :**

- De limiter les visites en milieu hospitalier ;
- De veiller à la désinfection de leurs vêtements et outils au retour de l'hôpital ;
- D'appliquer à leur niveau des mesures de prévention et de désinfection pendant leur séjour à l'hôpital.

PERSPECTIVES

Puisque les méthodes usuelles de nettoyage des surfaces n'enlèveraient pas tous les pathogènes des surfaces contaminées, de nouvelles méthodes de désinfection de l'environnement hospitalier seraient nécessaires.

Nous envisageons tester la production des biofilms chez les isolats obtenus pendant la surveillance microbiologique, afin de clarifier si ces microorganismes obtenus sont dus à l'absence de nettoyage fréquent, ou s'ils produisent des biofilms qui leur permettraient de résister aux désinfectants utilisés et de demeurer sur les surfaces même quand le nettoyage serait régulier. En effet, la présence de biofilms lors d'infections demande de nouvelles méthodes de prévention, de diagnostic et de traitement, puisque les biofilms présents sur les surfaces affecteront l'efficacité du protocole de désinfection.

Nous envisageons également rechercher par des méthodes de biologie moléculaire, s'il y'a transfert de gènes de résistance entre les bactéries, puisque certaines d'entre elles développent une résistance aux antibiotiques parce qu'elles acquièrent des gènes d'autres bactéries devenues résistantes, ou parce que leurs gènes mutent.



REFERENCES

- Abeghe, A. T. A. (2020).** *Prévalence des infections nosocomiales dans 10 services du CHU du Point G* (Doctoral dissertation, PhD Thesis]. Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako).
- Agència, A. (2022, 18 février).** *Histoire des antibiotiques : la bataille entre l'homme et les bactéries*. Small Ruminants. <https://aboutsmallruminants.com/fr/histoire-antibiotiques-evolution-chronologie/>
- Archie, H. (2006).** *La santé animale. Généralités*. KARTHALA Editions.
- Branger, A. (2007).** *Microbiochimie et alimentation*. Educagri éditions.
- Bush, L. M. (2022, 12 septembre).** *Présentation des bactéries*. Manuels MSD Pour le Grand Public. <https://www.msmanuals.com/fr/accueil/infections/infections-bact%C3%A9riennes-pr%C3%A9sentation/pr%C3%A9sentation-des-bact%C3%A9ries>
- Camille, D. (2014).** *Pratique en microbiologie de laboratoire ? Recherche de bactéries et de levures-moisissures*. Lavoisier.
- Casals, J. B. (1973).** L'antibiogramme Par La Méthode Des Disques (Comprimés) Bases théoriques et application à un système pratique. *Acta Clinica Belgica*, 28(3), 188-197.
- CA-SFM / EUCAST. (2024).** Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie - European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Recommandations 2024 V.1.0 Juin.
- CCLIN Sud-Ouest. (1998).** *Contrôles Microbiologiques en Hygiène Hospitalière : Conseils Pratiques*. CCLIN Sud-Ouest.
- Clave, D. (2017).** *Fiche technique bactériologie*. Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique, CHU de Toulouse - Institut Fédératif de Biologie.
- Comité Technique National des Infections Nosocomiales (CTIN). (2002).** *Surveillance microbiologique de l'environnement dans les établissements de santé : Air, eaux et surfaces*. Paris : Ministère chargé de la santé, DGS/DHOS, CTIN.
- Couturier, J., Rabate, M., Nesa, D., Adam, M., Prat, L., Jolivet, S. & Barbut, F. (2022).** Evaluation de la dissémination des bactéries à partir des toilettes : Etude expérimentale. *Hygiènes*, 30(1), 29-35.
- Debellemanière, G. & Saleh, M. (2015).** *Rapport SFO 2015 - Surface oculaire*. https://www.em-consulte.com/em/SFO/2015/html/file_100030.html
- Ebongue, C.O., Nguatcheussi, C.M., Mefo'o, J.-P.N., Bol-langa, J., Adiogo, D. and Luma, H.N. (2018).** Microbial Ecology and Antibiotic Susceptibility Profile of Germs Isolated from Hospital Surfaces and Medical Devices in a Reference Hospital in

Douala (Cameroon). *Advances in Microbiology*, 8, 125-137.
<https://doi.org/10.4236/aim.2018.82009>

Evina, C.D., Vouking, M., Mbuagbaw, L., et Ongolo-Zogo, P. (2014). Evaluation des preuves des interventions pour améliorer l'adhésion des professionnels de santé aux lignes directrices pour la prévention des infections associées aux soins. *Revue systématique*.

http://www.cdbph.org/documents/Evidence_%20Assessment_Interventions_to_%20improve_professional_adherence_to_guidelines_for_prevention_of_device_related_infections_French.pdf

Faye-Ketté, H., & Dosso, H. (2010). Surveillance microbiologique des surfaces au niveau d'un établissement hospitalier de niveau tertiaire : exemple du chu de Yopougon, Abidjan, Cote d'ivoire. *Journal scientifique*, 11(1-2010), 73-81.

Grandchamp-Renard, G. (2022, 31 mai). Introduction au concept « One Health » : lutte contre l'antibiorésistance. equipédia.ifce.fr. <https://equipedia.ifce.fr/sante-et-bien-etre-animal/soin-prevention-et-medication/medication/introduction-au-concept-one-health-lutte-contre-lantibioresistance>

Guarner, F., Khan, A. G., Garisch, J., Eliakim, R., Gangl, A., Thomson, A., Krabshuis, J., Lemair, T., Gonvers, J. J., Kaufmann, P., De Paula, J. A., Fedorak, R., Shanahan, F., Sanders, M. E., Szajewska, H., Ramakrishna, B. S., Karakan, T., & Kim, N. (2008). Probiotiques et prébiotiques. *World Gastroenterology Organisation Global Guidelines*, 24(1), 45-60.

Gueguim, C., Ragon, A., Patrice, H. M., Folefack, F. J. K., & Kamga, H. G. (2023). 4059 Microbiological analysis of hemodialysis water at the Douala General Hospital, Cameroon. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 38(Supplement_1), gfad063d_4059.

HAS. (2025). Fiche pédagogique 6^e cycle : Prévention des IAS [PDF].

https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2025-01/fiche_pedagogique_6e_cycle_prevention_ias.pdf

Idir, A. (2014). Epidémiologie et conduite à tenir devant une épidémie d'infection nosocomiale.

Institut national de la santé et de la recherche médicale (INSERM). (2024, 04 juillet). *Infections nosocomiales*. INSERM. <https://www.inserm.fr/dossier/infections-nosocomiales/>

Institut national de santé publique du Québec (INSPQ). (2022). *Procédure Opérationnelle*

Normalisée : Détection des carbapénèmases chez les entérobactéries par la technique d'inactivation des carbapénèmes (TIC). <https://www.inspq.qc.ca>

International Organization for Standardization (ISO). (2003). Salles propres et environnements maîtrisés apparentés – Maîtrise de la biocontamination – Partie 1: Principes généraux et méthodes (ISO 14698-1:2003).

International Organization for Standardization (ISO). (2003). Salles propres et environnements maîtrisés apparentés – Maîtrise de la biocontamination – Partie 2: Evaluation et interprétation des données de biocontamination (ISO 14698-2 :2003). <https://www.iso.org/fr/standard/25014.html>

International Organization for Standardization (ISO). (2018). *Microbiologie de la chaîne alimentaire - Méthodes horizontales pour les prélèvements sur surface* (ISO 18593:2018).

<https://cdn.standards.iteh.ai/samples/64950/bfd80d9f2cfc4d76b5c7b7d7254998ee/ISO-18593-2018.pdf>

Lamine, Y. B., Abene, I., Jemaa, R. B. & Bouhalila-Besbes, S. (2017). Etude comparative des méthodes de détection phénotypique des BLSE chez les entérobactéries. *Revue Tunisienne de Biologie Clinique*, 24 (1).

Madigan, M. & Martinko, J. (2007). Brock Biologie des Microorganismes. (11^e édition) Pearson Education : Paris.

Makanéra, A., Condé, M., Diallo, M. A., & Camara, D. (2018). Sphingomonas paucimobilis : Un phénotype de multirésistance inhabituel chez un probable pathogène émergent. *Revue Malienne d'Infectiologie et de Microbiologie*, 2(2).

Mammeri, H., & Amiens, C. (2013). Mode d'action des antibiotiques. *Service de bactériologie, CHU Amiens. P, 2.*

Michalik, S. (2018, août 10). *Comment VITEK®2 génère-t-il des valeurs de CMI ?* BIOMERIEUX iNEWS.

Mohammad, N. (2023). *Exploration des modèles d'apprentissage statistique profonds couplés à la spectrométrie de masse pour améliorer la surveillance épidémiologique des maladies infectieuses* (Doctoral dissertation, Sorbonne Université).

Muylaert, A., & Mainil, J. (2013). Résistance bactérienne aux antibiotiques, les mécanismes et leur "contagiosité". In *Annales de Médecine vétérinaire* (Vol. 156). ULg-Université de Liège, Liège, Belgium.

Nabila, E. A. S., Adil, E., Abedelaziz, C., Nabila, A., Samir, H., & Abdelmajid, S. (2014).

Rôle de l'environnement hospitalier dans la prévention des infections nosocomiales : surveillance de la flore des surfaces à L'Hôpital El Idrissi de Kenitra-Maroc. *European Scientific Journal*, 10(9).

- Njall, C., Adiogo, D., Bitá, A., Ateba, N., Sume, G., Kollo, B., Binam, F., & Tchoua, R. (2013).** Bacterial ecology of nosocomial infection in intensive care unit of Laquintinie hospital Douala, Cameroon. *The Pan African Medical Journal*, 14, 140-140. <https://doi.org/10.11604/pamj.2013.14.140.1818>
- Ojha, A., & Maheshwari, R. K. (2025).** Phenotypic detection of inducible clindamycin resistance by D-test in Staphylococci from various clinical samples. *American Journal of Psychiatric Rehabilitation*, 28(5), 250-253.
- Paolozzi, L., & Liébart, J. C. (2015).** Microbiologie.
- Pasteur, I. (2015, 31 mai).** *L'apport des nouvelles technologies pour comprendre la propagation des maladies infectieuses en milieu hospitalier.* Institut Pasteur. <https://www.pasteur.fr/fr/apport-nouvelles-technologies-comprendre-propagation-maladies-infectieuses-milieu-hospitalier>
- Rajput, A., Seif, Y., Choudhary, K. S., Dalldorf, C., Poudel, S., Monk, J. M. & Palsson, B. O. (2021).** Pangenome analytics reveal two-component systems as conserved targets in ESKAPEE pathogens. *Msystems*, 6(1), 10-1128.
- Rasamindrakotroka, A. (2013).** *Classification - taxonomie des bactéries 17.* Université d'Antananarivo Madagascar. <https://andryrasamindrakotroka.e-monsite.com/album/images-selectionnees-bacteriologie-generale/>
- Recasens, S. B. (2022, 16 Juin).** Journée technique Aspec Paris De la nouvelle norme EN 17141 sur le contrôle de la biocontamination à l'ISO 14644 20, Merck. <https://www.aspec.fr/Data/EIFinder/s6/Base-documentaire/JT-NORMES-2022/10-Biocontamination-EN-17141-.pdf>
- Samaké, A. (2023).** *Etude de la résistance aux antibiotiques des souches d'Entérobactéries isolées au laboratoire BIOTECH de Bamako.* <https://www.bibliosante.ml/handle/123456789/13153>
- Schulster, L. M., Chinn, R. Y. W., Arduino, M. J., Carpenter, j., Donlan, R., & Ashford, D. (2004).** *Guidelines for environmental infection control in health-care facilities. Recommendations from CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC).* Chicago, IL: American Society for Healthcare Engineering/American Hospital Association; 2004, viewed 15 May 2014.

- Simon, F., Demortiere, E., Chadli, M., Kraemer, P., & DE PINA, J. J. (2006).** Le risque nosocomial en Afrique intertropicale : Le contexte. *Médecine Tropicale*, 66(1), 91-96.
- Talon, D. (1999).** The role of the hospital environment in the epidemiology of multi-resistant bacteria. *Journal Of Hospital Infection*, 43(1), 13-17.
<https://doi.org/10.1053/jhin.1999.0613>
- Tremblay, Y. D., Hathroubi, S., & Jacques, M. (2014).** Les biofilms bactériens : leur importance en santé animale et en santé publique. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 78(2), 110-116.
- World Health Organization : WHO. (2022, 6 mai).** L’OMS publie le tout premier rapport mondial sur la lutte anti-infectieuse. *World Health Organization*.
<https://www.who.int/fr/news/item/06-05-2022-who-launches-first-ever-global-report-on-infection-prevention-and-control>
- World Health Organization : WHO. (2024, 29 novembre).** Un nouveau rapport souligne la nécessité d’investir durablement dans les programmes de prévention et de lutte anti-infectieuse. *World Health Organization*. <https://www.who.int/fr/news/item/29-11-2024-new-report-highlights-need-for-sustained-investment-in-infection-prevention-and-control-programmes>
- World Health Organization : WHO. (2024).** *WHO bacterial priority pathogens list, 2024 : bacterial pathogens of public health importance, to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance*.
<https://iris.who.int/handle/10665/376776>



ANNEXES

Annexe 1 : Notice d'information

NOTICE D'INFORMATION AUX PARTICIPANTS

Chers participants,

Nous vous prions de lire attentivement les informations ci-dessous avant de donner votre consentement pour le prélèvement des surfaces dans votre pièce dans le cadre de l'étude.

Titre de la recherche : « ECOLOGIE BACTERIENNE AU SEIN DE QUELQUES SERVICES DE L'HOPITAL JAMOT DE YAOUNDE ET PROFIL DE RESISTANCE DES ISOLATS BACTERIENS OBTENUS »

Enquêteur : SITCHOMTSO MARIE PERSIDE, étudiante en Master 2 Microbiologie Médicale, à la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I.

But de l'étude : Le but est de réaliser une écologie bactérienne au sein de quelques services de l'HJY et de déterminer le profil de résistance des isolats bactériens obtenus. Les résultats de cette étude nous permettront d'identifier les souches de bactéries pathogènes isolées, de déterminer leur profil de résistance et la synthèse enzymatique associée, afin de travailler à limiter les conditions favorables à la dissémination de ces bactéries nocives pour le bien-être des patients et du personnel soignant.

Procédure de participation : La participation sera volontaire, les patients, les garde-malades et le personnel médical auront la liberté de donner ou de refuser leur accord pour que les surfaces soient prélevées dans leurs chambres ou salles. L'accord sera verbalement donné, seul l'accord de la direction et des chefs de service seront écrits. Nous réaliserons notre étude sur des échantillons prélevés sur les tables, les chaises, les lits, les armoires, les interrupteurs, les poignées de porte, les frigos, les paillasses, les robinets de lavabo, les dispositifs et appareils médicaux (chariots, moteurs appareils respiratoires, tensiomètre électrique, appareils TB-LAMP, microscopes, perfusions et supports).

Risque et bénéfice : Le risque psychologique de la peur sera géré en rassurant les personnes présentes au moment du prélèvement de la stérilité du matériel utilisé. L'HJY bénéficiera des résultats obtenus après analyse des échantillons prélevés sur les surfaces des services.

Résultats de la recherche : Les résultats de cette recherche pourront être publiés dans tout journal en respectant la confidentialité.

Adresse de l'investigatrice : SITCHOMTSO MARIE PERSIDE, Tél : (+237) 698 13 84 65, marieperside.mary@gmail.com. Si vous avez des questions ou des préoccupations concernant le projet de recherche, vous pouvez communiquer avec nous.

Annexe 2 : Autorisations obtenues des Directeurs de l'HJY (gauche) et de l'HCY (droite)

REPUBLIQUE DU CAMEROUN
 Paix - Travail - Patrie
 MINISTÈRE DE LA SANTÉ PUBLIQUE
 SECRETARIAT GÉNÉRAL
 HÔPITAL JAMOT DE YAOUNDE
 N° **7707**/L/MINSANTE/SG/DHJY/nm


REPUBLIC OF CAMEROON
 Peace-Work-Fatherland
 MINISTRY OF PUBLIC HEALTH
 SECRETARIAT GENERAL
 JAMOT HOSPITAL OF YAOUNDE
 Yaoundé, le **08 SEPT 2024**

LE DIRECTEUR /THE DIRECTOR
A/TO
SITCHOMTZO Marie Perside
 Master 2 Microbiologie Médicale
 Faculté des Sciences/UI1

Objet : autorisation de collecte.

Madame,

Nous vous informons que votre demande d'autorisation de recherche en vue de mener une étude sous le thème : « **Dynamique des souches bactériennes au sein de l'Hôpital Jamot de Yaoundé** » a obtenu notre avis favorable.

Vous êtes priée de prendre attache avec Madame le Conseiller Médical qui vous introduira dans les services sollicités.

Veuillez agréer, **Madame**, l'expression de notre parfaite considération.

LE DIRECTEUR


 Pathologiste
 ONMC N° 4070


B.P. 4 021 Mballa II, Yaoundé – Cameroun Tél: 00 (237) 222 20 31 65 – 222 21 52 26 – 222 20 43 90

REPUBLIQUE DU CAMEROUN
 Paix-Travail-Patrie
 MINISTÈRE DE LA SANTÉ PUBLIQUE
 SECRETARIAT GÉNÉRAL
 DIRECTION DE L' HOPITAL CENTRAL DE YAOUNDE
 SECRETARIAT MEDICAL
 N° **503/24**/AR/MINSANTE/SG/DHCY/CM/SM


REPUBLIC OF CAMEROON
 Peace-Work-Fatherland
 MINISTRY OF PUBLIC HEALTH
 GENERAL SECRETARY
 DIRECTORATE OF CENTRAL HOSPITAL OF YAOUNDE
 MEDICAL SECRETARY
 Yaoundé, le **19 OCT 2024**


AUTORISATION DE COLLECTE

Je soussigné **Professeur FOU DA Pierre Joseph**, Directeur de l'Hôpital Central de Yaoundé, marque mon Accord pour la collecte de **Madame SITCHOMTZO Marie Perside**, étudiante en Master 2 filière Microbiologie Médicale à la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I, sous le thème « **DYNAMIQUE DES SOUCHES BACTERIENNES AU SEIN DE L'HOPITAL CENTRAL DE YAOUNDE** », sous la supervision du docteur **NKE ATEBA Gisele**.

Pour le Directeur et par ordre
 Le Conseiller Médical



Ampliations :


- Conseiller Medical ;
- Chef service concerné ;
- Intéressé ;
- Archives Chrono



Annexe 3 : Mot de la Conseillère Médicale et accords manuscrits des chefs services de Pneumologie A, de l'Unité des soins intensifs et des Urgences de l'HJY

REPUBLIC OF CAMEROON
Paix - Travail - Patrie

MINISTRE DE LA SANTE PUBLIQUE
SECRETARIAT GENERAL
HOPITAL JAMOT DE YAOUNDE
N° 770/L/MINSANTE/SG/DHJY/nm



REPUBLIC OF CAMEROON
Peace-Work-Fatherland

MINISTRY OF PUBLIC HEALTH
SECRETARIAT GENERAL
JAMOT HOSPITAL OF YAOUNDE
Yaoundé, le 06 SEPT 2024

LE DIRECTEUR / THE DIRECTOR
A/TO
SITCHOMTISO Marie Perside
Master 2 Microbiologie Médicale
Faculté des Sciences/UYI

*28.10.2024
Vos collègues des services de Pneumologie A, Urgences et Unité des Soins Intensifs, ont accepté le thème de l'étude.*

Objet : autorisation de collecte.

Madame,

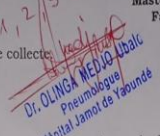
Nous vous informons que votre demande d'autorisation de recherche en vue de mener une étude sous le thème : « **Dynamique des souches bactériennes au sein de l'Hôpital Jamot de Yaoundé** » a obtenu notre avis favorable.

Vous êtes priée de prendre attache avec Madame le Conseiller Médical qui vous introduira dans les services sollicités.

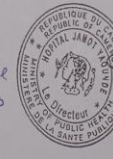
Veuillez agréer, **Madame**, l'expression de notre parfaite considération.

LE DIRECTEUR

*Med - 16 SEPT 2024
Vob. Chef de service des laboratoires, Pneumologie A et B, USI et Urgences*



Dr. OUNGA MEDJO Ubalé
Pneumologue
Hôpital Jamot de Yaoundé




Pathologiste
ONMC N° 4070

*Dr. P. Tchouaquié
Pneumologue
ONMC: 6089*

B.P. 4 021 Mballa II, Yaoundé - Cameroun Tél: 00 (237) 222 20 31 65 - 222 21 52 26 - 222 20 43 90

REPUBLIC OF CAMEROON
Paix - Travail - Patrie

MINISTRE DE LA SANTE PUBLIQUE
SECRETARIAT GENERAL
HOPITAL JAMOT DE YAOUNDE
N° 770/L/MINSANTE/SG/DHJY/nm



REPUBLIC OF CAMEROON
Peace-Work-Fatherland

MINISTRY OF PUBLIC HEALTH
SECRETARIAT GENERAL
JAMOT HOSPITAL OF YAOUNDE
Yaoundé, le 06 SEPT 2024

LE DIRECTEUR / THE DIRECTOR
A/TO
SITCHOMTISO Marie Perside
Master 2 Microbiologie Médicale
Faculté des Sciences/UYI

Objet : autorisation de collecte.

Madame,

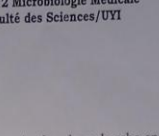
Nous vous informons que votre demande d'autorisation de recherche en vue de mener une étude sous le thème : « **Dynamique des souches bactériennes au sein de l'Hôpital Jamot de Yaoundé** » a obtenu notre avis favorable.

Vous êtes priée de prendre attache avec Madame le Conseiller Médical qui vous introduira dans les services sollicités.


Veuillez agréer, **Madame**, l'expression de notre parfaite considération.

LE DIRECTEUR

*Med - 16 SEPT 2024
Vob. Chef de service des laboratoires, Pneumologie A et B, USI et Urgences*



Dr. OUNGA MEDJO Ubalé
Pneumologue
Hôpital Jamot de Yaoundé



Pathologiste
ONMC N° 4070

*Dr. P. Tchouaquié
Pneumologue
ONMC: 6089*

*Dr. OUNGA MEDJO Ubalé
Pneumologue
ONMC: 6082
S. Urgences et USI.*

B.P. 4 021 Mballa II, Yaoundé - Cameroun Tél: 00 (237) 222 20 31 65 - 222 21 52 26 - 222 20 43 90

Annexe 5 : Préparation des milieux de culture et apprêtament des écouvillons



Figure 20 : Pesées pour la préparation des milieux de culture et homogénéisation avec de l'eau distillée



Figure 21 : Ecouvillons contenant la gélose nutritive avant emballage et stérilisation (à gauche), et après emballage et stérilisation (à droite)



Figure 22 : Portage à ébullition des milieux de culture



Figure 23 : Citrate de Simmons, Mannitol mobilité et Kligler-Hajna dans des tubes à vis



Figure 24 : Contrôle qualité

Annexe 6 : Prélèvement et premier traitement des échantillons



Figure 25 : Prélèvement des échantillons



Figure 26 : Pooling et codage des échantillons

Annexe 7 : Traitement des échantillons (ensemencement, macroscopie, microscopie, identification, antibiogramme, mise en évidence des synthèses enzymatiques associées aux phénotypes de résistance)



Figure 27 : Ensemencement des bouillons contenant les échantillons enrichis la veille



Figure 28 : Croissance bactérienne observable dans les boîtes de pétri



Figure 29 : Test à l'ONPG (gauche) et test d'urée-indole (droite)

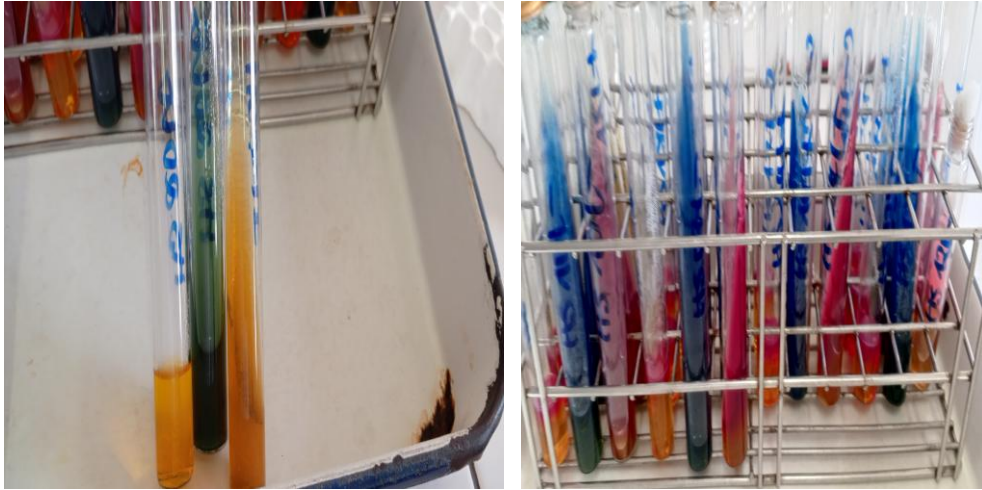


Figure 30 : Résultats d'identification dans mannitol mobilité, Kligler-Hajna et citrate de Simmons



Figure 31 : Lecture des résultats d'identification



Figure 32 : Résultats de l'antibiogramme



Figure 33 : Mise en évidence de la production de BLSE avec bouchon de champagne



Figure 34 : Test (négatif) de mise en évidence de l'induction

Annexe 8 : Identification et antibiogramme avec VITEK



Figure 35 : Préparation des inocula



Figure 36 : Introduction des cartes dans les inocula (gauche) et des échantillons dans VITEK®2 (droite)

Annexe 9 : Fiche technique d'identification et d'antibiogramme des microorganismes
sur VITEK®2 COMPACT

L'automate permet l'identification des microorganismes dont les souches bactériennes et teste leur sensibilité vis-à-vis des antibiotiques.

Matériel : colonie pure, cassette, tubes à hémolyse, solution saline, densitomètre, œuses, cartes VITEK®2 pour identification et antibiogramme.

- Impression de la fiche de paillasse ;
- Réalisation des densités ;

	Gram négatif (Entéro et non entérobactéries)	Cocci Gram positif
Mac Farland	0,5 - 0,63	0,5 - 0,63

- Réalisation des dilutions :

Cartes GP	Cartes GN
3ml solution saline + 280µl de l'inoculum	3ml solution saline + 145µl de l'inoculum

- Choix des cartes pour l'identification :

Cartes VITEK®2	Souches
GN	Entérobactéries, non-entérobactéries
GP	Cocci (Staphylocoques et entérocoque)

Lancement VITEK sur l'automate VITEK®2 COMPACT :

Etape 1 : Enregistrement des cassettes et des cartes sur ordinateur

- Entrer "flex prep", puis saisir le nom d'utilisateur et le mot de passe ;
- Enregistrer la cassette, puis entrer le "ID Lab" suivi de "card", et scanner la carte ;
- Ensuite, cliquer sur "add card" dans le cas où on doit faire l'antibiogramme ;
- Cliquer sur "Send cassette"

Etape 2 : VITEK®2 COMPACT

- Insérer la cassette dans l'automate puis refermer ;
- Appuyer sur remplissage ;
- Enregistrer les informations de la fiche de paillasse dans la machine ;
- Après remplissage dans les cartes, faire sortir la cassette et l'introduire dans le deuxième et petit compartiment de VITEK®2 COMPACT et refermer ;
- Imprimer les résultats après au moins 18h.