



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE



Ministère de L'enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique

UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID

Faculté des Sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre
Département de biologie moléculaire et cellulaire

Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire,
au Biomédical et à l'Environnement (LAMAABE)

Mémoire de fin d'étude
En vue de l'obtention du diplôme Master en biologie moléculaire et
cellulaire
Option : Microbiologie

Présenté par : Benmammar Riad

Soutenue le : 30/09/2012

Thème

Intérêt du dosage de la CRP dans le dépistage des infections nosocomiales à l'unité de néonatalogie de l'EHS mère-enfants de Tlemcen du 14 mai au 22 juin 2012.

Directeur de mémoire : Dr Rebiahi Sid Ahmed, Maître de conférences B

Membre de jury :

Dr Mourad ARIBI Maître de conférences A, Université de Tlemcen Président

Dr. Nafissa Chaabni Maître-assistante en épidémiologie Examinatrice
et médecin préventive, CHU Tlemcen

Année universitaire : 2011-2012

A LA MÉMOIRE DE MA MERE

trop tôt disparu pour apprécier cette thèse que sa vie de sacrifices
m'a permis de réaliser

A MA FEMME ET MON FILS

A MON PERE

A MES FRERES ET SOEURS

A MES AMIS

Remerciement

Je remercie tout particulièrement :

Monsieur Sid Ahmed REBIAHI docteur Maitre de Conférence B au Département de Biologie moléculaire et cellulaire d'avoir accepté de diriger ce travail avec dévouement et beaucoup de patience.

Je remercie Mr Mourad LARIBI docteur Maitre de Conférence A à l'université de Tlemcen. Qui m'a accueilli dans son laboratoire, a suivi et donné une impulsion supplémentaire à la réalisation de ce travail et me fait l'honneur de présider le jury de cette soutenance.

Madame Nefissa CHAABNI maitre assistante en épidémiologie et en médecine préventive qui me fait l'honneur de participer à ce jury.

J'apprécie ses grandes qualités humaines et scientifiques.

Je remercie Mr Smahi et tout le personnel de l'unité de néonatalogie.

Je remercie également:

Tout le personnel du laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et d'immunologie N°51.

Mes Collègues

Je remercie aussi tous ceux qui d'une façon ou d'une autre auront contribué à la réalisation de ce travail.

Résumé

Introduction :

Les infections nosocomiales, constituent un problème majeur de santé, le service de néonatalogie ne semble pas être épargné, La protéine C réactive (CRP) est utilisé pour orienter le diagnostique et évaluer ces infections.

Objectifs : Ce travail consiste à évaluer l'état inflammatoire des patients atteints d'infections nosocomial en déterminant leur taux de CRP.

But : La démarche de ce travail visait à prendre en considération un double souci, L'intérêt de ce dosage dans le diagnostic et le suivi et le des nouveau-nés. Son impact sur le dépistage des infections nosocomiales.

Matériels et Méthodes : Sur une période de 40 jours, (32) nouveau-nés ont été admis au service de néonatalogie de l'Etablissement Hospitalier Spécialisée mère enfant de Tlemcen. (17) cas de nouveau-nés étaient de sexe masculin et (15) cas était de sexe féminin, parmi eux (10) cas atteints infections nosocomiales, la prématurité à été comme principal diagnostic d'hospitalisation avec(10) cas, suivie par les infections néonatales et postnatales avec (4) et (3) cas respectivement.

Résultats : on tous (64) dosage de CRP réalisée, les taux sérique de la CRP augmentés surtout chez les prématurés et ceux de faible poids.

Conclusion : Notre travail montrent une excellente sensibilité du dosage de la CRP .Ceci confirme l'intérêt de ce test chez des nouveau-nés, néanmoins dans le dépistage des infections nosocomiales néonatale ce dosage reste à évaluer.

Summary

introduction:

Nosocomial infections constitute a major health problem, the neonatology service does not seem to be spared, C-reactive protein is used to guide the diagnosis and evaluation of these infections.

Objectives: This study is to assess the inflammatory state of patients with nosocomial infections by determining the rate of C-reactive protein.

Purpose: The approach of this work was to consider a dual concern, interest of this assay in the diagnosis and monitoring and newborns. Its impact on the detection of nosocomial infections.

Materials and Methods: Over a period of 40 days (32) newborns were admitted to the NICU of the Hospital Specialized Establishment mother child Tlemcen. (17) If newborns were male and (15) cases were female, among them (10) cases with nosocomial infections, prematurity was as principal diagnosis of hospitalization with (10) cases, followed by neonatal and postnatal infections with (4) and (3) cases, respectively.

Results: we all (64) determination of C-reactive protein performed, the serum C-reactive protein increased centerpieces in premature and low birth weight.

Conclusion: Our work showed excellent sensitivity of the assay of C-reactive protein. This confirms the usefulness of this test in newborns, however, in detecting neonatal nosocomial infections this dosage remains to be evaluated.

_____:

المستشفيات صحية كبيرة، خصوصا داخل وحدة حديثي الولادة حيث انه تبين لنا ان هذا البروتين المتفاعل يستخدم في تشخيص و تقييم هذه العدوى .

الأهداف: هدف هذه هو تقييم الذين يعانون التهابات المستشفيات من تحديد بروتين " " .

: الغرض من دراسة هذا الموضوع باعتباره مصدر و الذي يتمثل في رصد و تشخيص التهابات حديثي الولادة و من جهة اخرى, أثرها على المستشفيات.

: فترة مدتها 40 يوما تم اخذ عينة متكونة من (32) طفل حديث المواليد (15) بينهم (10) المستشفيات تم تشخيصها (10) خداج بعد التشخيص، تليها حديثي عدوى (4), (3)

: (64) يد أداء بروتين " " التفاعلي حيث لوحظت زيادة في نسبة هذا البروتين,

: أظهر عملنا الحساسية الممتازة للبروتين المتفاعل " " كمقياس و هذا يؤكد فعاليته عند حديثي الولادة و لكن يبقى الكشف لمستشفيات قيد البحث والتقييم.

Table des matières

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction.....1

Partie I: synthèse bibliographique

1. Définitions de l'infection nosocomiale2

1.2. Facteurs favorisant les (IN).....3

2. Les infections nosocomiales des nouveau-nés3

2.1. Les procédures invasives4

2.1.1. Cathéter veineux central.....4

2.1.2. Ventilation mécanique6

3. Types d'infections chez les nouveaux nés6

3.1. Infection urinaire6

3.2. Infection du tube digestive.....7

3.3. Infection respiratoire7

4. Les bactéries responsables d'infections nosocomiales7

4.1. *Klebsiella pneumoniae*8

4.2. *Acinetobacter baumannii*.....8

4.3. *Pseudomonas aeruginosa (Psa)*.....8

4.3.1. Facteurs de pathogénicité9

4.4. *Escherichia coli (E. coli)*9

4.4.1. Facteurs de pathogène10

5. la CRP10

5.1. Historique.....10

5.2. La structure biologique et la fonction de la CRP.....	11
5.3. La synthèse la CRP	14
5.4. Prélèvements	15
5.5. Méthodes de mesures de la CRP.....	15
5.5.1. Méthode d'examen qualitative.....	15
5.5.2. Méthode d'examen semi-quantitative	16
5.5.3. Méthode d'examen quantitatif	17
6. L'apport de la CRP dans les infections nosocomiales néonatales.....	18
6.1. Inconvénients de la CRP	19
6.2.5. Avantages de la CRP.....	20
Partie II : partie pratique	
1. Matériels et méthode.....	23
2. Résultat et discussion.....	28
3. Conclusion.....	37

Partie III : Références Bibliographiques

Liste des abréviations :

IN : Infection nosocomiale.

CRP : Protéine C-Réactive.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

CLIN : Centre de coordination de la lutte contre les IN.

ILC : Les infections liées aux cathéters.

BLC : les bactériémies liées aux cathéters.

CVC : Cathéter veineux central.

BLSE : Lactamase à Spectre Elargie.

CHU : Centre Hospitalier Universitaire.

Ab : *Acinetobacter baumannii*.

Psa : *Pseudomonas aeruginosa*.

E. coli : *Escherichia coli*.

PN : Polynucléaires.

IL-1 : Interleukine-1.

IL-6 : Interleukine-6.

TNF- α : Facteur de Nécrose Tumorale.

ELISA : Le test immuno-enzymatique.

NN : Nouveau-né.

IB : Infection bactérienne.

IDR : Immuno Diffusion Radial

Liste des tableaux

Tableau1 : Profil microbiologiques des colonisations et des bactériémies liées aux cathéters veineux centraux. (Aissaoui et <i>al.</i> , 2010).....	5
Tableau 2 : Méthode d'examen qualitative. (Hengst et <i>al.</i> , 2003).....	16
Tableau 3: Méthode d'examen semi-quantitative. (Hengst et <i>al.</i> , 2003).....	17
Tableau 4 : Méthode d'examen quantitatif. (Hengst et <i>al.</i> , 2003).....	18
Tableau 5 : Dilutions sériées du dosage semi-quantitatif.....	26

Liste des figures :

Figure1 : Source de bactérie et zone de colonisation CVC. (Espinasse et <i>al</i> , 2010).....	5
Figure2 : Risque occasionnée par ventilation mécanique. (Espinasse et <i>al</i> , 2010).....	6
Figure3 : les étapes d'infections invasives. (Nouri-Merchaoui et <i>al</i> , 2009).....	10
Figure4 : La structure Pentamère de la CRP. (Kushner, 1990 ; Hengst et <i>al.</i> , 2003).....	12
Figure 5 : Les principales fonctions de CRP dans le système immunitaire inné. (Duclos ., 2000 ; Hengst et <i>al.</i> , 2003).....	13
Figure 6 : La stimulation et la synthèse des protéines de la phase aiguë inflammatoire. (Hengst et <i>al.</i> , 2003).....	14
Figure 7 : Répartition de la population selon la fréquence des valeurs de la CRP.....	28
Figure 8:Répartition de la population selon la fréquence de l'infection nosocomiale.....	29
Figure 9 : Concordance entre le taux de la CRP et la durée de séjour.....	30
Figure 10 : Illustration de la population et de la durée de séjours.....	31
Figure 11 : Comparaison entre la CRP d'admission et la CRP de sortie.....	32
Figure 12 : Taux d'infection selon le sexe.....	32
Figure 13 : Répartition de notre population selon le diagnostic.....	33
Figure 14 : Corrélation entre le poids et l'infection.....	34
Figure 15 : L'état de sorties dans notre population.....	34
Figure 16 : Concordance inversée de la CRP et la T°.....	35
Figure 17 : comparaison entre la CRP et IDR.....	36

Synthèse bibliographique

Introduction

Les infections nosocomiales (IN), constituent un problème majeur de santé publique et économique, leurs incidences varient selon de nombreux facteurs.

Le service de la maternité ne semble pas être épargné surtout en néonatalogie, où ces complications représentent un enjeu important par les coûts non négligeables qu'elles génèrent. Elles sont à la fois responsables d'une mortalité élevée et d'une morbidité tout aussi importante caractérisée par un prolongement de la durée d'hospitalisation.

Ces nouveau-nés caractérisés par une grande vulnérabilité et une immaturité de leur système immunitaire, dépendent souvent du personnel soignant ils sont soumis à des procédures thérapeutiques invasives avec parfois rupture de leurs barrières cutanéomuqueuses ce qui amplifie le risque de contracter une infection nosocomiale.

L'utilisation des bio-marqueurs a considérablement modifié la réflexion diagnostique des pathologies infectieuses en médecine. Actuellement la CRP est considérée comme l'un des marqueurs le plus utilisé pour le diagnostic et la surveillance des infections en néonatalogie. Elle s'est avérée être impliquée dans la réponse inflammatoire chez le nouveau-né et a été utilisée dans la prise en charge de l'infection néonatale depuis les années 1980.

Son dosage permet également de suivre l'efficacité du traitement et de dépister d'éventuelles complications, moyennant un faible coût.

L'objectif de notre travail vise à évaluer l'apport de la CRP dans :

- La démarche diagnostique et le suivi des nouveau-nés,
- L'impact de celle-ci sur le dépistage des (IN).

1. Définition de l'infection nosocomiale

L'infection nosocomiale (IN), se définit comme une infection contractée dans un établissement de soins, un service hospitalier ou clinique, alors qu'elle n'était ni présente, ni en incubation, à l'admission du patient. (Dia et *al.*, 2008). Un délai d'au moins 48- 72 heures entre l'admission et l'état infectieux est retenu, il peut être plus long dans les infections virales.(Lachassinne et *al.*,2004). Et allez jusqu'à 1 mois en cas d'intervention chirurgicale. Il est admis d'exclure les infections maternofoetales survenant dans les premières 48 heures de vie.(Lachassinne et *al.*, 2004).

Malgré les progrès réalisés en matière de santé publique et de soins hospitaliers, ces infections continuent à apparaître chez certains patients hospitalisés et peuvent aussi toucher le personnel de l'établissement. (Haley, 1985 ; Gayvallet-Montredon et *al.*, 2002).

De nombreux facteurs favorisent l'infection chez les patients:

- Une immunité affaiblie.
- La variété croissante des procédures qui peuvent ouvrir la voie à l'infection.
- La transmission de bactéries résistantes aux antibiotiques, souvent facilitée par l'insuffisance des précautions de lutte contre l'infection nosocomiale. (Haley, 1985 ; Gayvallet-Montredon et *al.*, 2002).

Il existe plusieurs types d'infections nosocomiales relevant de modes de transmission différents :

Les infections d'origine « endogène » : Le malade s'infecte avec ses propres microorganismes, à la faveur d'un acte invasif et/ou en raison d'une faiblesse particulière. (Faure,2002).

Les infections d'origine « exogène »: Elles sont croisées, transmises d'un malade à l'autre par les mains ou les instruments de travail du personnel médical ou paramédical ;soit d'infections provoquées par les microorganismes portés par le personnel.Ou ; d'infections liées à la contamination de l'environnement hospitalier (eau, air, matériel, alimentation...). (Faure ,2002).

1.2. Facteurs favorisant les (IN)

Quel que soit son mode de transmission, la survenue d'une infection nosocomiale est favorisée par la situation médicale du patient qui dépend de :

- L'âge: les nouveaux nés (NN), en particulier les prématurés sont particulièrement susceptibles.
- Certains traitements (antibiotiques qui déséquilibrent la flore des patients et sélectionnent les bactéries résistantes).
- La réalisation d'actes nécessaires au traitement : pose d'un cathéter, ventilation artificielle et intervention chirurgicale. (Vincent *et al.*, 2008).

Bien qu'en moyenne, 190 millions de personnes sont hospitalisées chaque année dans le monde, l'Organisation Mondiale de la Santé OMS estime que neuf millions d'entre elles contractent une IN à cette occasion. (Centre de coordination de la lutte contre les IN(CLIN),1995 ; Tago *et al.*,2009).L'enquête de prévalence demeure, à ce jour, une stratégie privilégiée et réalisable par tous les établissements en vue d'une évaluation de la situation épidémiologique en matière d'infections nosocomiales.(Harbarth *et al.*, 1999 ; Dia *et al.*,2008).

A l'exception des pays développés, peu de pays disposent de statistiques nationales fiables en matière d'IN ; des discordances importantes peuvent s'observer d'une série à l'autre en fonction du pays et du type d'établissement. (Fki *et al.*, 2008).En pédiatrie, les données épidémiologiques relatives à ces infections ;a l'heure actuelle ne sont pas nombreuses dans les pays sous développés.(Simon *et al.*, 2007).Les difficultés de l'exercice médical, et parfois l'ignorance et la variété de l'environnement microbien font que ces infections deviennent de plus en plus émergentes. (Simon *et al.*, 2006 ; Lasmé-Guillao *et al.*, 2011).

2. Les infections nosocomiales des nouveau-nés

Les infections nosocomiales du nouveau-né se différencient de celles de l'adulte par plusieurs caractéristiques, faisant que leur compréhension passe obligatoirement par la mise en place de systèmes de surveillance spécifiques. (Hamza *et al.*, 2008).

Cette catégorie d'âge constitue un des groupes les plus délicats, en raison de la faiblesse de leurs défenses et la multiplicité des procédures, particulièrement fréquentes dans les services néonataux. (Ben Jaballah et *al.*, 2006 ; Andrianarivelo et *al.*, 2010).

Le nouveau-né, stérile à la naissance, est rapidement colonisé par des germes provenant de sa mère et de l'environnement. Ces relations microorganisme hôte ont souvent été regardées essentiellement sous l'angle de la pathogénicité. Plusieurs travaux ont montrés les interactions bénéfiques entre la flore commensale du tube digestive et l'organisme humain. (Lachassinne et *al.*, 2004 ; Campeotto et *al.*,2007).

Facteurs influençant la flore digestive du nouveau-né

- Le mode d'accouchement : Les enfants nés par césarienne rencontrent en premier lieu les bactéries de leur environnement : air et personnel soignant, Contrairement aux(NN) nés par voie basse.(Cronlund et *al.*, 1999; Campeotto et *al.*,2007).
- L'environnement :l'environnement à un impacte direct sur la flore digestive ainsi les différences de flore sont vraisemblablement liées aux conditions strictes d'hygiène entourant les accouchements. (Simhon et *al.*, 1991 ;Sepp et *al.*,2000; Campeotto et *al.*,2007).
- Le mode d'alimentation : la flore intestinale du nouveau-né allaité est moins diversifiée que celle du nouveau-né qui se nourrit au lait artificiel, les espèces dominantes semblent être différentes. (Ducluzeau et *al.*, 1993 ; Orrhage et *al.*,1999; Campeotto et *al.*,2007).
- Le terme de naissance : Le prématuré à un retard de colonisation par rapport aux enfants à terme par un nombre plus réduit d'espèces.(Magne et *al.*, 2005 ;Westerbeek et *al.*, 2006; Campeotto et *al.*,2007).
- L'antibiothérapie : l'utilisation d'antibiotiques peut être à l'origine d'un déséquilibre de la flore. (Bennet et *al.*, 1986; Campeotto et *al.*,2007).

2.1. Les procédures invasives

2.1.1. Cathéter veineux central :(Figure1)

Ce dernier peut être responsable de nombreuses infections dont elles représentent les complications les plus graves.(Renaudet *al.*, 2001 ; Vincent et *al.*,2009 ;Aissaoui et *al.*, 2010).

Les infections liées aux cathéters (ILC) et en particulier les bactériémies liées aux cathéters (BLC) sont des infections nosocomiales préoccupantes. (Renaudet *al.*, 2001 ; Vincent et *al.*,2009 ;Aissaoui et *al.*, 2010).

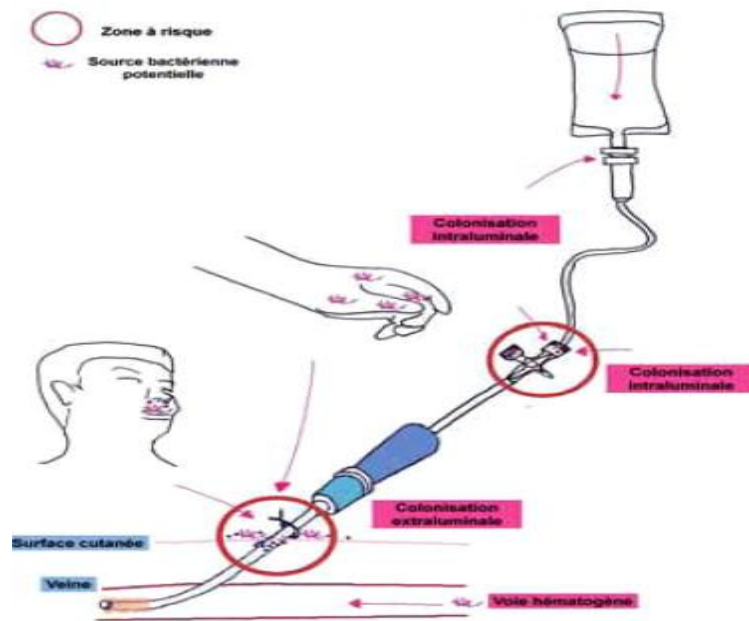


Figure1 : Source de bactérie et zone de colonisation CVC.(Espinasseet *al.*,2010).

Le tableau 1 résume les bactéries qui peuvent coloniser les cathéters veineux centraux.

Tableau1 :

Profil microbiologiques des colonisations et des bactériémies liées aux cathéters veineux centraux.(Aissaoui et *al.*, 2010).

Micro-organismes	Colonisation	Bactériémies Liées aux cathéters
Bacilles à gram-	16	5
<i>Acinetobacter baumannii</i>	5	3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3	
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	1

2.1.2. Ventilation mécanique :(Figure2)

Chez le sujet sain, les voies aériennes inférieures et les alvéoles pulmonaires sont régulièrement soumises à une contamination microbienne à laquelle s'opposent différents mécanismes de défense : mouvements mucociliaires, sécrétions locales d'immunoglobulines, activité macrophagique alvéolaire. (Espinasseet *al.*,2010).

En cas d'altération, l'immaturité du système immunitaire ou débordement de ces multiples mécanismes de défenses, situation fréquente chez les hospitalisés est aggravée par la pathologie sous-jacente, l'invasion bactérienne, virale ou fongique des voies respiratoires. D'où la nécessité d'une assistance respiratoire mécanique. (Espinasseet *al.*,2010).

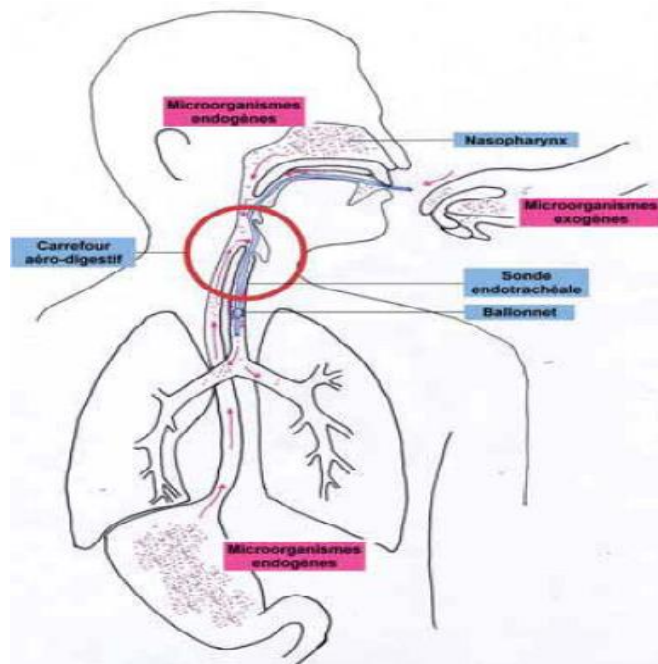


Figure2 : Risque occasionnée par ventilation mécanique. (Espinasseet *al.*, 2010)

3. Types d'infections chez les nouveau-nés

3.1. Infection urinaire

Considérée comme une infection grave chez le nouveau-né, l'infection urinaire est définie par une bactériurie supérieure à 10^5 bactéries/ml, dans un prélèvement urinaire réalisé de façon aseptique. Son incidence chez le nouveau-né varie de 0,15 à 5,5 %. (Dechelette et *al.*, 1980 ; Gérard et *al.*,1998 ; Atmani et *al.*, 2007).

3.2. Infection du tube digestive

La colonisation du tube digestif est précoce, le plus souvent au cours du premier mois de vie, cependant elle est plus précoce chez les prématurés, ainsi le taux de colonisation rectale chez les grands prématurés varie selon les études de 9 à 45 %.(Hagemanet *al.*, 1985 ; Baleyet *al.*, 1986 ; Rowenet *al.*, 1994 ; Kicklighter et *al.*,2001 ; Hot et *al.*, 2007).

3.3. Infection respiratoire :

Elles sont le plus souvent diagnostiquées chez le nourrisson et l'enfant plus âgé, plus rarement chez le nouveau-né. (Yamada et *al.*, 2010 ;Nouri-Merchaoui et *al.*,2012).

Ils existent d'autre infection telle que, la colonisation cutanée, les manifestations oculaires, les manifestations neurologiques et qui sont tout aussi importantes. (Hot et *al.*, 2007).

4. Les bactéries responsables d'infections nosocomiales :

Chez tous les sujets en bonne santé, une flore saprophyte, à faible pouvoir pathogène, est présente à des concentrations importantes dans certains sites. Cet équilibre écologique représente un des maillons essentiels de la défense antibactérienne, en empêchant le développement de germes à haut niveau pathogène. Dès la première semaine d'hospitalisation, la flore endogène normale est remplacée par une flore hospitalière, constituée de bacilles à Gram négatif et de levures. Cette modification de flore provient d'une exposition inhabituelle à des germes pathogènes et du déficit immunitaire. (Johanson et *al.*, 1969 ; Dupuis et *al.*, 1979 ; Léone et *al.*, 2000). (**Figure3**)

Dans le service de néonatalogie du centre hospitalier et universitaire à Abidjan Akafou avait isolé 60,2 % de bacilles à Gram négatif dans les infections néonatales ; leurs prédominance était de (79 %).(Akaffou et *al.*, 1998 ; Dia et *al.*,2008 ;Lasme-Guillao et *al.*,2011).

Selon Aujard, 1993 ; trois catégories de germes étaient responsables:

Les germes habituels, les germes rares et les germes trompeurs.

Klebsiella pneumoniae et *Enterobacter cloacae* était classés parmi les germes habituels et les plus fréquentent. (Aujard et *al.*, 1993 ; Lasme-Guillao et *al.*, 2008 ; Lasme-Guillao et *al.*,2011).

4.1. *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae est un pathogène à fort potentiel épidémique fréquemment impliqué dans des infections sévères. En raison de mauvaises conditions d'hygiène de certains hôpitaux, les nouveaux nés hospitalisés sont souvent victimes des Infections nosocomiales dues à celles-ci.(Bingen et *al.*, 1993 ;Peñaet *al.*,2001 ;Carreret Nordmann .,2011).

De nombreuses épidémies nosocomiales causées par cette bactérie ont été décrites, notamment chez ces catégories hospitalisées dans des unités de soins intensifs pédiatriques.(Bingen et *al.*, 1993 ;Peñaet *al.*, 2001 ;Carreret Nordmann .,2011).

Des études nationales réalisées en France, en Italie, en Espagne, en Belgique et en Pologne corroborent ce résultat. (Cantón et *al.*, 2008; Coque et *al.*, 2008 ; Carreret Nordmann .,2011).

En Amérique du Sud, la prévalence de BLSE produite par le genre *Klebsiella* est la plus élevée du monde (45,4–51,9 %). (Villegas et *al.*, 2008 ;Carreret Nordmann .,2011).

D'une autre part, elle fut être incriminée dans des épidémies hospitalières en Algérie au CHU Ibn Rochd, à Annaba. (Nadjai et *al.*, 2012).

4.2. *Acinetobacter baumannii*

Acinetobacter baumannii(Ab) est un coccobacille à Gram négatif. Son habitat naturel est l'eau et le sol. Dans les régions froides, (Ab) se trouve à un taux de 0,5% sur la peau saine de l'homme, et plus rarement dans la gorge, le nez, et les voies intestinales,elle est souvent responsable d'épidémie nosocomiale en raison d'adhésion a des surfaces inertes.(Berlau et *al.*, 1999 ;Jawad et *al.*,1999 ; Munos et *al.*,2008 ; Peleget *al.*,2008 ; Garlantézec et *al.*,2011).



4.3. *Pseudomonas aeruginosa* (Psa)

Pseudomonas aeruginosa (Psa) est un bacille à Gram négatif, aérobic strict, opportuniste, à métabolisme oxydatif, pathogène le plus impliqués dans les infections surtout nosocomiales. C'est un germe ubiquitaire de l'environnement, saprophyte de l'eau, des sols humides, des matières en décomposition et même des matériels tels les bronchoscopes mal désinfectés.(Richet et *al.*, 2003 ; Floretet *al.*,2009 ;Adjidé et *al.*, 2010).

Il est responsable d'infections telles que les bactériémies, infections urinaires, infections du site opératoire, infections cutanées, infections respiratoires basses, notamment chez les sujets ventilés. Des infections sévères pouvant atteindre 70 % de létalité en cas de pneumopathie nosocomiale. (Berthelot et *al.*, 2005; Adjidé et *al.*, 2010).

Pseudomonas aeruginosa est caractérisé par son aptitude particulière à acquérir et cumuler de nombreux et variés mécanismes de résistance : sécrétion de b-lactamases, modification de la perméabilité membranaire (efflux, imperméabilité) et modifications de cible. (Mesaros et *al.*, 2007 ;Minchella et *al.*,2010).

4.3.1. Facteurs de pathogénicité :

Fimbriae  l'adhésion aux muqueuses
Pseudo-capsule polysaccharidique  anti phagocytaire. (Nauciel, 2000).

Cette accumulation de mécanismes de résistance est devenue problématique car elle conduit, à l'extrême, à une impasse thérapeutique en raison de l'émergence de souches dites multi résistantes. (Mesaros et *al.*, 2007 ; Vettoretti et *al.*, 2009 ; Minchella *etal.*,2010).

4.4. *Escherichia coli* (*E. coli*)

Escherichia coli de la famille des *Enterobacteriaceae* est un bacille, à gram négatif, elle constitue tout au long de la vie de l'hôte l'espèce bactérienne dominante de la flore aérobie facultative intestinale. De se fait elle peut devenir pathogène si les défenses de l'hôte se trouvent affaiblies en raison d'une hospitalisation par exemple. (Nauciel, 2000).

Elle est impliquée dans les infections urinaires notamment nosocomiales ; aussi bien que dans gastro-entérites traduit cliniquement par des diarrhées. (Nauciel, 2000).

Des études de portage réalisées en Espagne et en Israël ont en effet montré que le taux de *E. coli* retrouvées dans des selles de patients hospitalisés est de 11,8 % et 10,8 % respectivement, ce qui constituerait un réservoir très important de plasmides à fort potentiel de transfert inter espèces de gènes. (Valver et *al.*, 2004 ; Ben-Ami et *al.*, 2006 ;Carrèret Nordmann.,2011).

4.4.1. Facteurs de pathogène

- Capsule.
- Adhésines.
- Toxines (Nauciel, 2000).

L'acquisition de résistances à travers les échanges d'informations génétiques, renforce les bactéries, ont les rendant plus pathogènes.

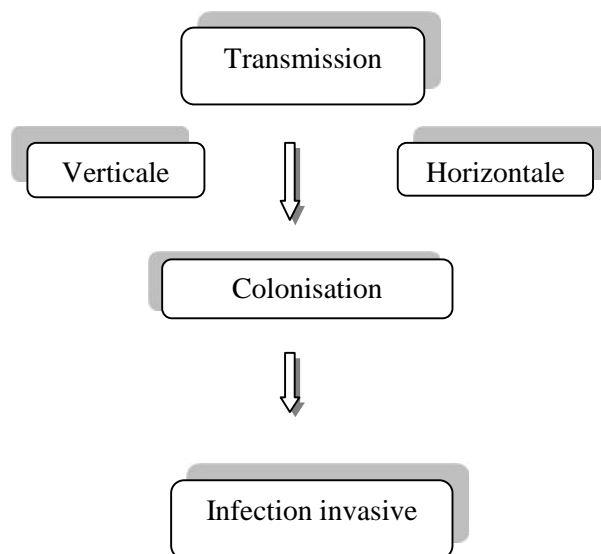


Figure3 : les étapes d'infections invasives. (Nouri-Merchaoui et *al*, 2009).

5. la CRP

5.1. Historique

La protéine C-réactive (CRP) est une protéine de réponse inflammatoire synthétisée essentiellement par les hépatocytes, sous l'influence principale de l'interleukine 6. Elle a été découverte en 1930 par Till et Francis qui ont mis en évidence l'existence d'une réaction de précipitation de la fraction C pneumococcique au contact du sérum de patients infectés par le Pneumocoque. (Tillett et *al.*, 1930; Hajek et *al.*, 2011).

Il a été démontré ultérieurement que cette réaction n'était pas spécifique des infections à pneumocoque (Macleod *et al.*, 1940 ; Hajek *et al.*, 2011).

Les rôles physiologiques de la CRP est l'activation de la voie classique du complément, la mobilisation et l'activation des leucocytes, la stimulation de la phagocytose et la sécrétion de cytokines par les monocytes (Kolb *et al.*, 1991 ; Clyne *et al.*, 1999 ; Hajek *et al.*, 2011).

5.2. La structure biologique et la fonction de la CRP

Comprendre la structure biochimique et la fonction de la CRP est important pour garantir une utilisation appropriée.(Kushner, 1990 ;Hengst *et al.*, 2003).(Figure4)

Elle appartient à la famille des pentraxine, protéine de la phase inflammatoire aiguë, composé de 5 sous-unités polypeptidiques identiques donnant une forme pentamère cyclique, leurs poids est de 23 kDa.(Pepys, 1981 ; Kushner, 1990;Ballou, 1992 ;Duclos, 2000 ; Hengst *et al.*, 2003).

Chacune de ces sous-unités contient un site de liaison pour une molécule phosphocholine et deux sites de liaison pour le calcium. (Pepys, 1981 ; Kushner, 1990 ;Hengst *et al.*, 2003).

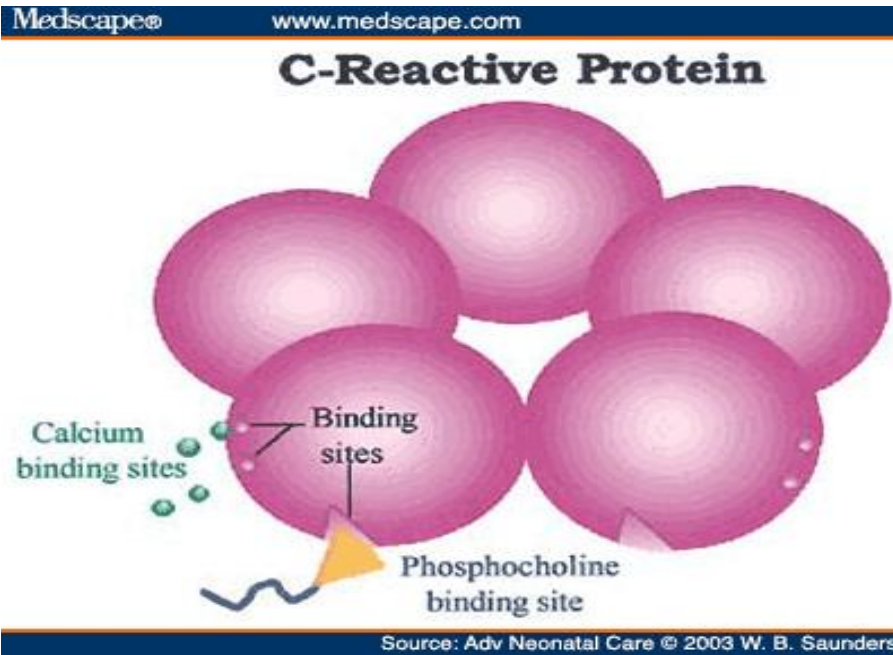


Figure4 : La structure Pentamère de la CRP. (Kushner, 1990 ; Hengst et *al.*, 2003).

Ces sites de liaisons permettent, la reconnaissance d'un grand nombre de substrats biologiques, notamment des composants phospholipidiques et phosphocholine, la liaison aux parois cellulaires endommagées et aux antigènes nucléaires qui entraînent la formation du complexe CRP-ligand. (Pepys, 1981 ; Ballou et Kushner ., 1992 ; Wiswell, 2001 ; Hengst et *al.*, 2003).

Les fonctions de la CRP sont illustré dans la (**Figure 5**). (Hengst et *al.*, 2003).

Ce complexe va activer le système du complément, ce qui facilitera la phagocytose et l'élimination des matières libérés par les cellules endommagées ainsi que les toxines de micro-organismes envahisseurs. (Ballou et Kushner 1992 ; McCance et Huether 1998 ; Duclos, 2000 ; Hengst et *al.*, 2003).

Comme il peut aussi se lier directement aux neutrophiles, aux macrophages, et à d'autres cellules phagocytaires, en stimulant une réponse inflammatoire et la libération de cytokines. (Gabayet Kushner 1999 ; Duclos, 2000 ; Hengst et *al.*, 2003).

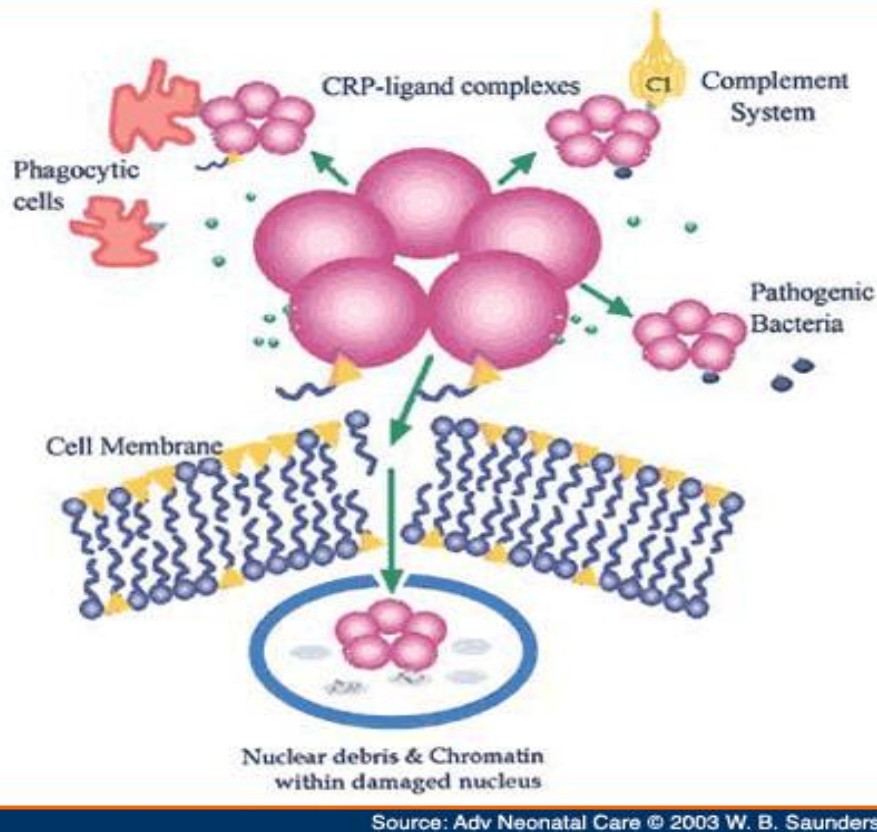


Figure 5 : Les principales fonctions de la CRP dans le système immunitaire inné.

(Duclos, 2000 ;Hengst et *al.*, 2003).

Les principales fonctions de CRP dans le système immunitaire inné comprennent la capacité de :

- (1) Reconnaître la phosphocholine exposés dans les parois cellulaires endommagés et de se lier aux bactéries, champignons et parasites.
- (2) Agir comme une opsonine, pour le marquage des bactéries, des cellules endommagées, et les débris nucléaires pour la phagocytose;
- (3) La liaison au C₁, le premier composant de la voie classique du système du complément qui déclenche l'activité phagocytaire.
- (4) La liaison à des leucocytes polynucléaires (PN) et les monocytes, qui stimulent la production de cytokines inflammatoires. (Hengst et *al.*, 2003).

5.3. La synthèse de la CRP

Une réponse inflammatoire de la phase aiguë se produit lorsque le corps humain montre une réponse systémique due à une lésion tissulaire lors d'une agression ou d'une défense contre un pathogène. (Kushner, 1990 ; Gabay, 1999 ; Hengst et *al.*, 2003).(Figure 6)

Le facteur de nécrose interleukine-1 (IL-1), l'interleukine-6 (IL-6), et le facteur de nécrose tumorale(TNF) – sont les principales cytokines qui stimulent le foie pour synthétiser la CRP et d'autres protéines de phase aiguë. (Gabay, 1999 ; Ballou, 1992 ; Hengst et *al.*, 2003).

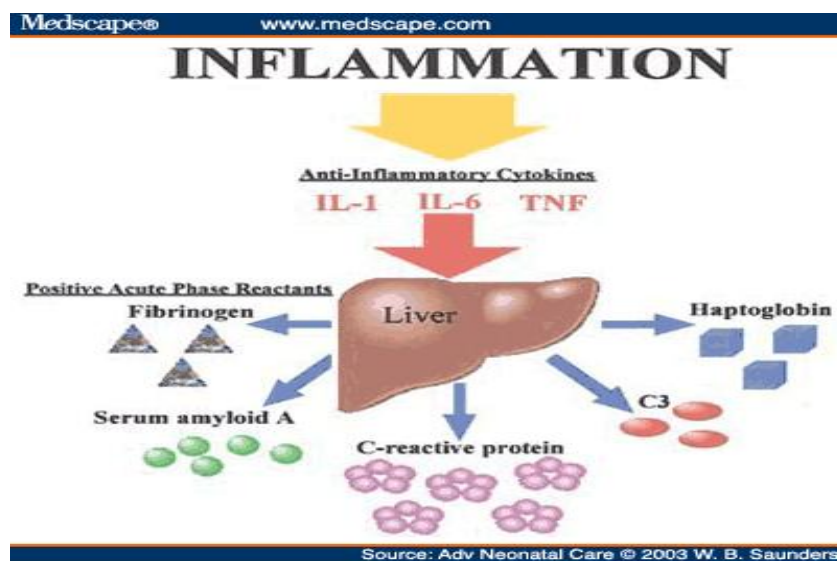


Figure 6 : La stimulation et la synthèse des protéines de la phase aiguë inflammatoire.(Hengst et *al.*, 2003).

Actuellement, la CRP est très utilisée en routine en raison de sa bonne sensibilité. (Hajek et *al.*, 2011).

Elle a prouvé son intérêt dans le cadre des syndromes fébriles, permettant de détecter des infections bactériennes graves mais surtout de les écarter quand sa valeur reste basse, Cohen et *al.*, 2006 a montré la fiabilité de son dosage quantitatif rapide. (Rose et *al.*, 2007).

Même si elle ne permet pas à elle seule un diagnostic, elle peut être, associée à l'histoire clinique, à l'examen clinique et éventuellement à d'autres examens complémentaires, être un élément important à prendre en compte pour les décisions diagnostiques et thérapeutiques, à condition de respecter un délai supérieur à 18 heures par rapport au début de l'infection. (Bossuyt et *al.*, 2001 ; Grandjean et *al.*, 2006) .

5.4. Prélèvements

Les dosages de CRP sont réalisés sur plasma hépariné, après centrifugation 10 minutes à 3500 tours/min.

Tous les dosages sont réalisés sur plasma frais, conservés à température ambiante, et analysés au maximum dans les 4 heures suivant leur centrifugation. (Pachot et *al.*, 2006) .

Les nouveau-nés ont un volume sanguin faible et souvent un hémocrite élevé, ce qui pose dans un certain nombre de cas le problème du volume insuffisant de l'échantillon pour réaliser un bilan complet. Il est difficilement envisageable de demander de nouveaux prélèvements au service de néonatalogie.(Omrani et *al.*, 2010).

5.5. Méthodes de mesures de la CRP :

Deux méthodes de laboratoire clinique sont utilisées pour mesurer les taux sériques de CRP:

- Qualitatif (Tableau 2).
- Semi-quantitative (Tableau 3).
- Quantitatif (Tableau 4).

Les 3 tests sont basés sur la capacité de la CRP à se lier à une grande variété de ligands biologiques formant un complexe (CRP-ligand). (Hengst et *al.*, 2003).

Quand un réactif contenant des anticorps anti-CRP humains est ajouté à un échantillon la CRP, se lie aux anticorps formant un complexe (CRP-ligand) insoluble, qui peut être visualisé et mesuré ensuite. (Hengst et *al.*, 2003).

5.5.1. Méthode d'examen qualitative

Le test qualitatif d'agglutination au latex, est la méthode la plus développée pour mesurer la CRP. Cette méthode permet de mesurer la présence ou l'insuffisance d'agglutination et de précipitation, ce qui indique l'existence ou l'absence de la CRP dans l'échantillon de sérum. (Tresler, 1995 ; Jaye et Waites., 1997 ; Weinberg et Powell., 2001 ; Hengst et *al.*, 2003).

Un résultat positif indique la présence du complexe CRP-ligand formés lors d'une agglutination, tandis qu'un résultat négatif indique qu'aucun complexe n'est formé. (Weinberg et Powell., 2001; Hengst et al., 2003).

Les Résultats positifs indiquent un niveau supérieur à 6 mg / L de CRP ou supérieure à 10 mg / L, selon le kit et réactif spécifique utilisé. Les tests qualitatifs peuvent être effectués rapidement au chevet du patient réalisé en 10 à 15 minutes. (Hengst et al., 2003).

Ces méthodes d'examens purement qualitatifs ne sont pas généralement utilisées pour mesurer les niveaux de la CRP, parce qu'ils ont une faible sensibilité. (Jeune et al., 1995;Jaye et Waites., 1997 ; Weinberg et Powell., 2001 ; Hengst et al., 2003).

Un test qualitatif positif de la CRP doit toujours être suivi par un test semi-quantitatif, qui est un procédé de mesure plus sensible à quantifier la concentration de la CRP.(Hengst et al., 2003).

Tableau 2 : Méthode d'examen qualitative. (Hengst et al., 2003).

Type d'essai	Ce qui est mesuré	Comment le test est effectué	Comment les résultats sont rapportés
Qualitatif	La présence ou l'absence du complexe CRP-anticorps dans une quantité donnée d'échantillon de sérum.	Une quantité mesurée du sérum est ajouté à une diapositive ou un tube d'essai, en mélange avec un réactif de latex, et examinées les signes de l'agglutination.	Positive: présence d'une agglutination indique une concentration de CRP > 6 mg / l ou > 10 mg / L
		Un réactif latex est généralement constitué d'un polystyrène uniforme entrepris ou des perles en plastique recouvertes d'anticorps anti-CRP de l'homme. CRP se lie à l'anticorps formé un complexe anticorps-CRP, qui ce précipite.	Négatif: absence d'agglutination indique une concentration de CRP <6 mg / L ou <10 mg / L

5.5.2. Méthode d'examen semi-quantitative

Le test d'agglutination au latex semi-quantitative implique l'utilisation de dilutions successives du sérum et une solution saline. Chaque dilution est mélangée avec le réactif de latex et examinée pour une présence ou non d'agglutination.(Philippe et Andrews. ,1986 ;Jaye et Waites., 1997 ;Hengst et al., 2003).

Comme le test qualitatif, le test semi-quantitatif peut être réalisée en 15 à 30 minutes et a un niveau de détection signalée supérieure entre 6 et 10 mg / L.

(Philippe et Andrews. ,1986 ; Jeune et *al.*, 1995 ;Hengst et *al.*, 2003).

Les résultats sont présentés sous forme de pourcentage et / ou,en mg approximative / L de concentration (CRP). (Philippe et Andrews. ,1986 ;Hengst et *al.*, 2003).

Tableau 3:Méthode d'examen semi-quantitative. (Hengst et *al.*, 2003).

Type d'essai	Ce qui est mesuré	Comment le test est effectué	Comment les résultats sont rapportés
Semi-quantitative	Une quantité approximative du complexe CRP-anticorps dans une quantité donnée d'échantillon de sérum.	Dilutions de sérum / saline seront mélangés avec un réactif latex et examinés pour la présence d'une agglutination. La plus forte dilution dans laquelle l'agglutination est visualisée correspond à la quantité approximative de la CRP.	La plus forte dilution dans laquelle agglutination est signalé comme un titre approximatif de CRP en mg /l en mg / L 1:06 ratio = 6 à 12 mg / L 1:12 ratio = 12 à 24 mg / L 1:24 ratio = 24 à 48 mg / L 1:48 ratio > 48 mg / L

5.5.3. Méthode d'examen quantitatif

La méthode immunologique quantitative est la plus rapide, sophistiqué et sensible pour détecter et mesurer la CRP.(Harmoinen et *al.*, 1981 ; Tresler, 1995 ;Luhr et Modi .,2000 ;Weinberg et Powell., 2001 ;Hengst et *al.*, 2003).

Le test immuno-enzymatique (ELISA), et le test quantitatif d'immunofluorescence utilise des anticorps monoclonaux anti-CRP marqués avec une enzyme ou marqueur fluorescent fixé aux micro-puits situés à l'intérieur une plaque de micro-titration ou tube à essai. Lorsque le sérum humain dilué est ajouté, la CRP se lie à l'anticorps anti-CRP marqué et immobilisé formant ainsi un complexe CRP-ligand.(Tresler, 1995;Hengst et *al.*, 2003).

Les anticorps non liés sont ensuite lavées à partir du tube à essai. Les fluorescents marqués CRP-ligand peuvent être visualisés et mesurés sous un microscope à fluorescence. Un substrat est ajouté aux enzymes marquées CRP-ligand, qui interagit avec l'enzyme de sorte qu'une réaction colorée se réalise. (Harmoinen et *al.*, 1981 ;Tresler, 1995 ; Luhr et Modi .,2000 ;Hengst et *al.*, 2003).

L'échantillon est lu avec un spectrophotomètre, qui calcule la capacité net d'absorption de couleur. Cette méthode pratique peut être effectuée dans les 10 à 15 minutes, est capable de détecter les niveaux de CRP entre 1 à 40 mg / L. (Harmoinen et *al.*, 1981 ;Tresler, 1995 ; Luhr et Modi .,2000 ;Hengst et *al.*, 2003).

Tableau 4 :Méthode d'examen quantitatif. (Hengst et *al.*, 2003).

Type d'essai	Ce qui est mesuré	Comment le test est effectué	Comment les résultats sont rapportés
Quantitatif	La quantité du complexe CRP-anticorps dans un échantillon de sérum.	Des échantillons de sérum dilué sont mélangés avec un réactif contenant des anticorps monoclonaux qui réagissent spécifiquement avec la CRP. Le complexe CRP-anticorps résultant sera ensuite mesuré.	Les deux méthodes quantitatives sont présentées comme une quantité en mg / L
	Mesure directement du complexe CRP-anticorps marqués avec une enzyme ou traceur fluorescent.	Immuno-enzymatique multiplié (ELISA), immunofluorescence la CRP se lie à des anticorps monoclonaux anti-CRP marqués avec une enzyme ou un traceur fluorescent. Les complexes (enzyme marqués CRP-anticorps) sont mesurés par un spectrophotomètre analyseur portable ou entièrement automatisé. Les Fluorescents marqués et le complexe CRP-anticorps sont visualisés et mesurés par l'intermédiaire d'un microscope à fluorescence.	

6. L'apport de la CRP dans les infections nosocomiales néonatales

Les progrès en néonatalogie ont permis d'améliorer la survie des nouveau-nés, en particulier ceux de très petit poids de naissance. Cependant les infections néonatales restent une source importante de morbidité et de mortalité. Chez le nouveau-né, à terme ou prématuré, les premiers signes de ces infections sont souvent discrets et aspécifiques, mais la gravité potentielle et le risque de développement rapide obligent le déontologiste à évoquer fréquemment une infection, et à débiter un traitement antibiotique sans délai. (Arsac, 2007).

Cependant, les résultats bactériologiques ne seront obtenus que 48 heures après leur arrivée au laboratoire, et la poursuite des traitements antibiotiques sur la présomption d'infection conduit souvent à la poursuite d'un traitement inutile. La gravité éventuelle et la rapidité d'évolution de certaines infections néonatales expliquent la sollicité des néonatalogistes pour trouver le marqueur biologique d'infection qui soit à la fois sensible, spécifique et précoce.

(Magny, 2000 ; Arsac, 2007.,Nouri-Merchaoui et *al.*,2009).

Un tel marqueur permettrait d'une part de ne pas prendre de retard à l'initiation d'une antibiothérapie chez un nouveau-né infecté et d'autre part de ne pas traiter un trop grand nombre d'enfants sains sur des éléments de présomption plus ou moins marqués. (Magny, 2000 ; Arsac, 2007.,Nouri-Merchaoui et *al.*,2009).

Le fœtus est capable de produire la CRP et d'autres protéines réactives de phase aiguë dès 4 à 5 semaines de gestation. (Blackburn, 1998 ; Weinberg, 2001 ;Hengst et *al.*, 2003) L'échantillonnage montre que la CRP pour nourrissons ne traversent pas la barrière placentaire, et bien que les facteurs de risque maternels peuvent exercer un effet sur le fœtus, il n'ya pas de corrélation entre taux de CRP maternelle et infantile à la naissance. (Ainbender et *al.*, 1982 ; Brillance et *al.*, 1985 ;Hengst et *al.*, 2003).

Les faux positifs sont rares et bien identifiés. Les faux négatifs sont essentiellement le fait de dosages trop précoces.(Arsac, 2007).

Il est admis de ne jamais exclure le diagnostic d'infection néonatale sur un seul dosage de CRP inférieur à 10 mg/L. En revanche, pour différents auteurs, l'association de deux dosages inférieurs à 10 mg/L à 12 heures d'intervalle se caractérise par une valeur prédictive négative de 99 %. Le suivi du taux de CRP sous traitement est un marqueur utile du bon contrôle thérapeutique de l'infection.(Arsac, 2007).

6.1. Inconvénients de la CRP :

Des méthodes qualitatives et semi-quantitative de la mesure de la CRP, bien que moins coûteux, ne sont pas suffisamment précis pour être utilisés pour les nourrissons. (Da Silva et *al.*, 1995 ; Jaye et Waites., 1997 ; Weinberg,2001 ; Hengst et *al.*, 2003). Le niveau de détection est limitée à 6 mg / L dans certains kits, pourrait facilement passer à côté d'une vraie septicémie des nourrissons et beaucoup plus dans des résultats de thérapie au antibiotique. (Luhr et Modi ., 2000 ;Hengst et *al.*, 2003).

Il est impératif pour les praticiens de prendre conscience que la méthode du dosage de la CRP utilisée dans leur propre établissement dans le cadre clinique, et de la sensibilité et la spécificité de ce test lors de l'estimation de ces mesures de concentrations. (Hengst et *al.*, 2003).

6.2. Avantages de la CRP :

En pratique, la baisse rapide de la CRP sous traitement permet de prédire une Evolution favorable sans complications et autorise le passage à une antibiothérapie orale. (Lorrot et *al.* , 2007).

L'étude de sa cinétique semble donc pouvoir permettre un diagnostic relativement précoce, une surveillance de l'évolution de l'infection, ainsi que la prescription et l'efficacité d'un traitement approprié et administré suffisamment tôt. Ces avantages ne peuvent avoir qu'une incidence bénéfique sur la gestion des antibiotiques et sur la durée du séjour hospitalier des patients.(Rasamoelisoa et *al.*, 1999).

L'identification de différents facteurs susceptibles de modifier les concentrations de la CRP Chez le nouveau-né, l'influence de l'âge post-natal ou de l'âge gestationnel sur la CRP n'est pas encore clairement précisée et pourra donc être étudiée, de même que celle de la détresse respiratoire qui peut éventuellement interférer sur l'interprétation des concentrations en cas de diagnostic précoce d'infection bactérienne.(Bienvenu, 1998).

L'apport de la CRP dans l'évaluation de l'IB chez le nouveau-né est étudié par les différents auteurs. Certaines études statistiques montrent que la CRP avait une sensibilité de 75 à 97 %, une spécificité de 60 à 90 % et une valeur prédictive positive entre 50 à 90 % (Nouri-Merchaoui et *al.* , 2009).

L'intérêt de celle-ci en tant que marqueur inflammatoire, des dosages « sensibles » de CRP ont été développés pour la détection précoce d'infections en pédiatrie et pour l'évaluation du risque de maladie coronarienne. (Pearson et *al.*, 2003 ;Ridker et *al.*,2003 ;Grandjean et *al.*,2006).

La hs-CRP, un index de micro-inflammation impliqué dans les maladies cardiovasculaires

Le développement de nouvelles méthodes de détermination de la CRP plasmatique basées sur de l'immunonéphélométrie ou de l'immunoturbidimétrie particulaire a permis d'abaisser les seuils de détection de 10 mg/l jusqu'à des valeurs inférieures à 0,01 mg/l. (Huthinson et *al.*, 2000 ; wener et *al.*, 2000).

Cette sensibilité accrue nécessite que les normes soient redéfinies et que les taux de CRP soient de 1 mg/l pour l'adulte jeune et jusqu'à 2 mg/l pour le sujet âgé. (Huthinson et *al.*, 2000 ; wener et *al.*, 2000).

La CRP a été détectée dans la salive humaine, ce qui suggère de nouvelles approches à l'évaluation du malaise, des risques et le suivi de la réponse au traitement qui deviendra plus accessible. (Dillon *et al.*, 2010).

L'existence des autres bio-marqueurs telles que (IL)-6, (IL)-2 et l'IL-8 ont été récemment étudiées. L'IL-8 est un médiateur important de l'inflammation, elle stimule la libération par les neutrophiles de molécules pro-inflammatoires et augmente l'activité des neutrophiles par chimiotactisme. Or l'IL-2 est un facteur de croissance des lymphocytes T qui active leur transformation en lymphocytes T cytotoxiques de type CD8+ qui sécrète l'interféron γ lequel provoque la libération de TNF par les macrophages. (Pfeiffer et *al.*, 1999 ; Popowski et *al.*, 2011). Toutefois, leurs dosages se heurtent encore à des difficultés techniques et surtout économiques qui en limitent leurs diffusions.

La plus connue (PCT) la procalcitonine qui est la pro-hormone peptidique de la calcitonine, constituée de 116 acides aminés. À ce jour, le lieu de synthèse et les mécanismes de ce nouveau marqueur reste inconnue. (Ferrière et *al.*, 2000).

L'interleukine(IL)-10 circulante a également été étudiée. (Gogos et *al.*, et *al.*, 2000 ; Leonidou et *al.*, 2007).

Très onéreux, et de manipulations difficile souvent des résultats controverser peut être due à l'hétérogénéité des populations étudiées ; cela ne fait que valorisée encore plus la CRP.

Matériels

Et

méthodes

L'étude a été réalisée du 14 mai au 22 juin 2012 dans l'unité de néonatalogie du service de pédiatrie d'EHS (Tlemcen) d'une capacité d'accueil de 12 couveuses et 31 berceaux dont six à photothérapie dans la même salle, avec une autre salle d'isolement pour les plus âgés.

Personnel soignants comprend, un médecin chef, cinq médecins résidents, un chef de service, quatre infirmières, trois aides soignants, cinq aides maternelles.

On tous 240 nouveaux nés hospitalisés ont été admis dans cette période avec différentes pathologies (prématurité, asphyxie néonatale, enfants nés de mère diabétique, ictère, malformation etc....).

Le dosage de la CRP était réalisé à 24 heures de vie systématiquement, et déterminée quantitativement par immuno-agglutination.

Défini par une symptomatologie évocatrice d'infection nosocomiale :

- CRP positif ≥ 6 mg/l ;
- Hypothermie (température $< 36^{\circ}\text{C}$) ;
- durée de séjours supérieurs à 72 h.

Nous avons récupéré les échantillons pour les examiner.

Examens complémentaires

La plus part des examens et prélèvements bactériologiques faites par des collègues ont été positifs (hémoculture, isolement, identification des microorganismes, dénombrement) avec un apport très limité par rapport au temps car les résultats sont obtenus qu'après 48 heures, d'autre part elles permettent de décrire l'écologie bactérienne des (IN) en néonatalogie.

Méthodes d'Analyse statistique

Les données ont été analysées avec le logiciel Epi Info 2000 version 6. Les différentes proportions ont été comparées par les tests de χ^2 au seuil de signification de 0,05.

Lieu du travail

Ce travail a été réalisé au sein du Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et Immunologie N°51, ainsi qu'au service Laboratoire d'EHS (Tlemcen).

Prélèvements

Les Prélèvements ont été fait par le personnel soignant qualifiée, vue la fragilité de la population étudié.

Matériels :

Aiguille : Micro perfuseurs (KD-FLY) \varnothing 22, \varnothing 25 ;

Micro perfuseurs ROMED \varnothing 23.

Tubes de Prélèvement à usage unique : Tube sec .

Glaciaire.

Centrifugeuse (**sigma**).

Dosage de la CRP

Dosage de la protéine C-réactive CRP :

Le dosage de la CRP se fait à partir de sérum par la technique d'immuno-agglutination associée à des dilutions sériées de deux en deux, en utilisant un antiserum contenant des anticorps anti-CRP fixés sur des particules de latex. Ce qui permet de doser la CRP par: un dosage qualitatif et un dosage semi quantitatif.(**KIT SPINREACT, Ctra. Santa Coloma, 7E-17176, Sant EsteveDeBas, GL, Spain**)

Principe : Les particules de CRP-Latex sont recouvertes d'anticorps anti-CRP humaine. Le réactif CRP-latex est standardisé pour détecter des taux de CRP dans le sérum aux environs de 6 mg/L, taux considéré comme étant la plus petite concentration ayant une signification clinique dans ce kit. Le mélange du réactif latex avec le sérum contenant la CRP conduit à une réaction antigène-anticorps qui se traduit par une agglutination facilement visible dans les 2 minutes.

La présence ou l'absence d'agglutination visible indique la présence ou l'absence de la protéine.

Dosage qualitatif

Matériels :

Rotateur mécanique avec une vitesse ajustable (80- 100 r.p.m) ;

Diapositives jetables (plaque pour l'agglutination);

Bâtonnets jetables ;

Micropipette (10-100 µl).

Réactifs:

Flacon R1 CRP-Latex : Suspension de particules de latex recouvertes d'anticorps anti-CRP de type IgG (origine chèvre Ph 8,2 azide de sodium 0,95 g/l).

Flacon R2 Contrôle Positif Sérum humain contenant de la CRP avec une concentration CRP > 20mg/l et l'azide de sodium 0,95 g/l.

Flacon R3 Contrôle Négatif Sérum humain exempt de CRP + l'azide de sodium 0,95 g/l.

Procédure : Les réactifs fournis (R1, R2, R3) dans le kit ainsi que les échantillons doivent être ramenés à température ambiante.

50 µl du sérum est mis sur un cercle de la plaque de test, puis une microgoutte de 50µl du réactif contenant les AC anti-CRP est ajoutée sur un cercle d'une plaque-test.

Les gouttes sont mélangées à l'aide d'un agitateur à usage unique, en utilisant toute la surface du cercle .un mouvement de rotation est réalisé à la plaque à l'aide d'un agitateur horizontal à 1500 tours/min ; ensuite l'agglutination est examinée pendant une période n'excédant pas 2 minutes.

Dosage semi-quantitatif:

Principe : des dilutions sériées de deux en deux (1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32) sont réalisées à l'aide de l'eau physiologique. Pour chaque dilution, la procédure du test qualitatif est exécutée.

Le titre du sérum est défini comme la plus haute dilution montrant un résultat positif. La concentration de la CRP peut alors être estimée à partir de la dernière dilution avec agglutination visible. Voir (**tableau 5**)

Matériels :

- Plaque de microtitration ;
- Micropipette (10-100 µl) ; Rotateur mécanique ;
- Plaque de test à usage unique ;
- Bâtonnets goutables.

Réactifs :

- Sérum ;
- Eau physiologique ;
- Flacon R1 CRP-Latex

Tableau 5 : Dilutions sériées du dosage semi-quantitatif

Dilution	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
sérum	50µl	50µl	50µl	50µl	50µl	50µl	50 µl
Na Cl 9g/l(diluant)	50µl	50µl	50µl	50µl	50µl	50µl	50 µl
		50µl	50µl	50µl	50µl	50µl	50µl

Chaque dilution est testez selon la procédure qualitatives.

Les résultats sont calculés selon la formule suivante :

(Seuil de détection)×N° de la dilution	6×2	6×4	6×8	6×16	6×32	6×64	6×128
---	-----	-----	-----	------	------	------	-------

La présence d'agglutination indique une concentration de CRP supérieur ou égale à 6 mg/l. taux Considéré comme étant la plus petite concentration ayant une signification clinique.

Pour calculer la concentration de la CRP dans la méthode semi-qualitative, la valeur de la plus grande dilution conduisant à une agglutination est multiplié par le seuil de détection (6 mg/l).

Exemple : s'il s'agit de la dilution 1/4, la concentration est exprimée à $4 \times 6 = 24 \text{ mg/l}$.
Le temps de réaction plus longs de 2 minutes peut produire de faux résultats positifs.

Immuno Diffusion Radial(IDR)

Principe

Le dosage par immuno-diffusion radiale est surtout appliqué aux protéines sériques humaines. IL est basé sur la diffusion et l'immuno précipitation en gel d'agar tamponné. Le gel d'agar, contenant un anticorps spécifique dans sa masse est coulé, dans des boites de pétries stérile.

Des puits sont découpés ; on y introduit un volume constant du sérum analysé. Au cours de la diffusion, l'antigène forme, avec l'anticorps correspondant, un anneau de précipitation dont le diamètre varie avec la concentration Ag.

Technique

1. 0.30g d'agarose + 15ml PBS (dans un bécher).
2. Mettre sur la plaque chauffante.
3. Laisser refroidir puis ajouter 120 μl de « noir amido » et 15 μl d'anti sérum CRP.
4. Anti sérum CRP est préparé préalablement : 82 μl R2 dans 48 μl de H₂O+28 μl R1 dans 14 μl de H₂O.
5. Mélanger puis coulée les boites.
6. Laisser gélifier puis crée des puits.
7. Dans chaque puits on dépose une quantité de sérum 5 μl .
8. Sérum est préparé préalablement : 2.5 μl du sérum + 30 μl de H₂O.
9. Fermer les boites avec leur couvercle et laisser incuber à température ambiante sur une surface plane horizontale, humide et sombre.
10. Après un temps de diffusion au point final les diamètres des anneaux ont été mesuré.
11. Pour un meilleur résultat ajouté à la lecture par inondation le colorant « NOIR AMIDO », ainsi les zones de précipitation seront plus denses.

Résultats et discussion

Résultats et discussion

Dans notre étude, une valeur de CRP supérieure à 6 mg/l, était fortement évocatrice d'infection, cette dernière s'accompagnant dans la grande majorité des cas, d'une prise en charge.

Nous avons pu exploiter 32 cas, 64 tests de CRP ont été effectués, dix patients parmi la population dont l'infection a été confirmée ce qui nous a permis de les surveiller.

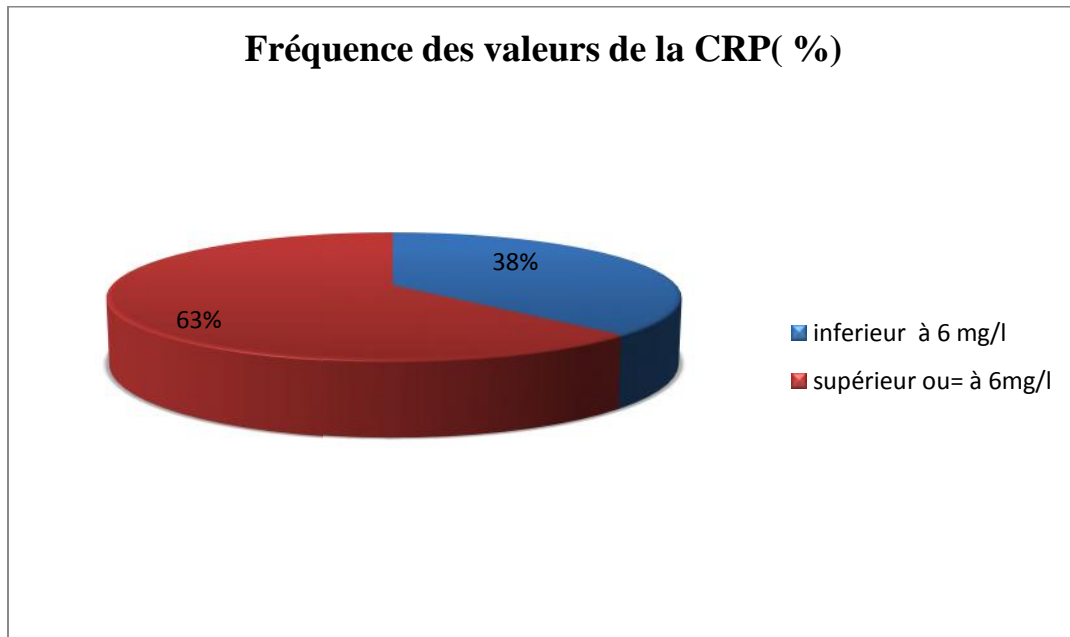


Figure 7 : Répartition de la population selon la fréquence des valeurs de la CRP

Dans cette figure la fréquence de la CRP était jusqu'à (63%) positif, cette fréquence assez élevée pourrait être représentative de notre population.

Au moins une valeur de la CRP sur deux, était supérieur ou = à 6 mg/l, se résultat pourrait expliquer une déficience de leurs système immunitaire.

Selon Povot et *al*, une augmentation du taux de CRP de plus de 25 % par rapport au jour précédent est très en faveur d'une infection. (Povot et *al*,.2006. Hajek et *al*,.2011).

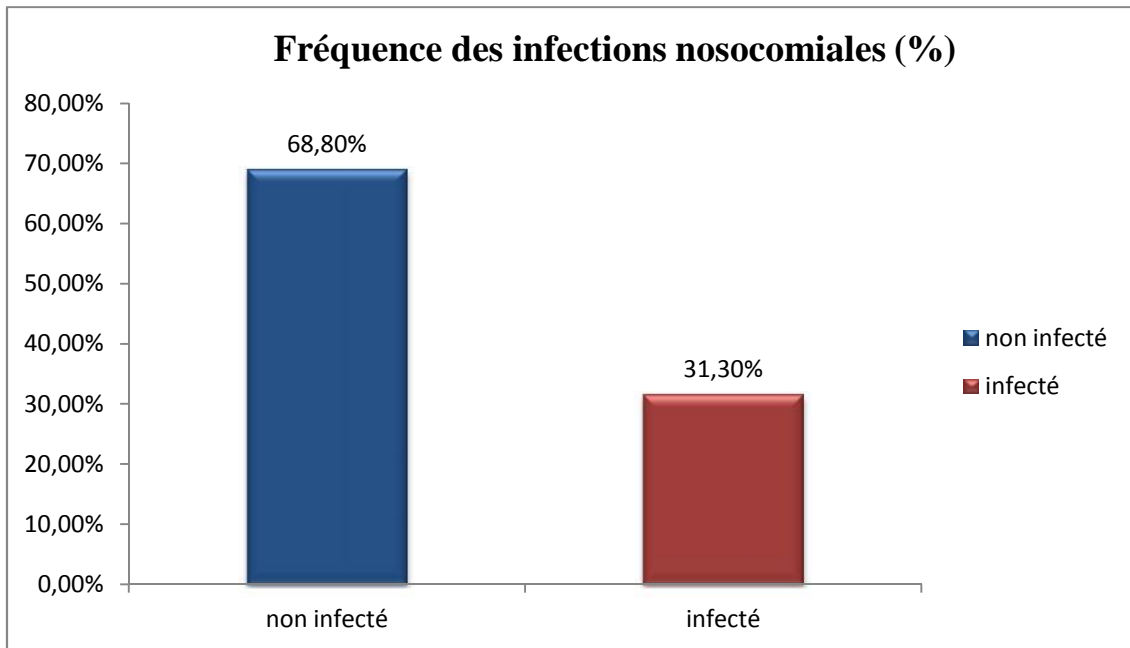


Figure 8: Répartition de la population selon la fréquence de l'infection nosocomiale

La fréquence des cas atteints d'infections nosocomiales était de 31,30%, sur l'ensemble de la population.

Plusieurs hypothèses peuvent expliquer cette fréquence :

- L'effectif trop élevé des nouveau-nés malades ;
- L'augmentation de la durée de séjour des nouveau-nés dans le service ;
- L'absence d'isolement adéquat;
- Le non respect des consignes d'hygiène.

Nos résultats sont en accord avec celles de (Hamza et *al.*, 2008). La fréquence élevée des infections nosocomiales en néonatalogie s'explique essentiellement par le recours accru à des techniques et procédures de soins invasives chez cette catégorie d'âge.

De même le *Center for Disease Control and Prevention* (CDC), a défini arbitrairement toutes les infections acquises pendant l'accouchement ou au cours de l'hospitalisation du nouveau-né comme nosocomiales. (Baltimore et *al.*, 1998 ; Andrianarivelo et *al.*, 2010).

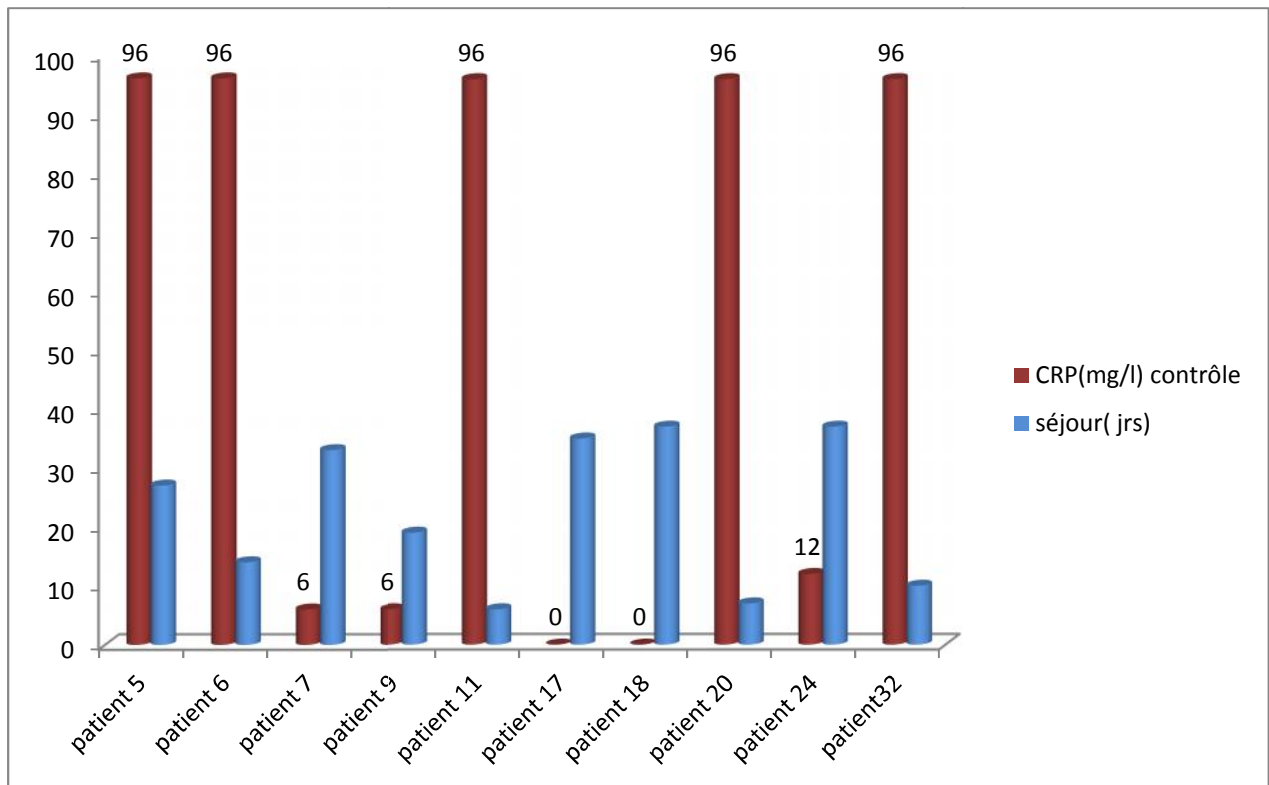


Figure 9 : Concordance entre le taux de la CRP et la durée de séjour

Une discordance est clairement observé entre le taux de la CRP et la durée de séjours, les patients (5, 6, 11, 20,32), avaient des taux de CRP > à 90 mg/l mais leurs séjours ne dépassait pas les 30 jours. Tandis que les patients (7, 9, 17, 18, 24), leurs séjours avait dépassé les 37 jours et leurs taux de CRP était de 12 mg/l au maximum. Cette élévation de la CRP ne peut être expliquée que par un échec thérapeutique probabiliste ou par un fort pouvoir pathogène des germes.

Plusieurs études suggèrent, que la valeur pronostique du taux de la CRP en termes de durée d'hospitalisation n'est pas suffisante, ce qui corrobore notre résultat. (Hogarth et *al.* , 1997 ; Hajek et *al.*, 2011).

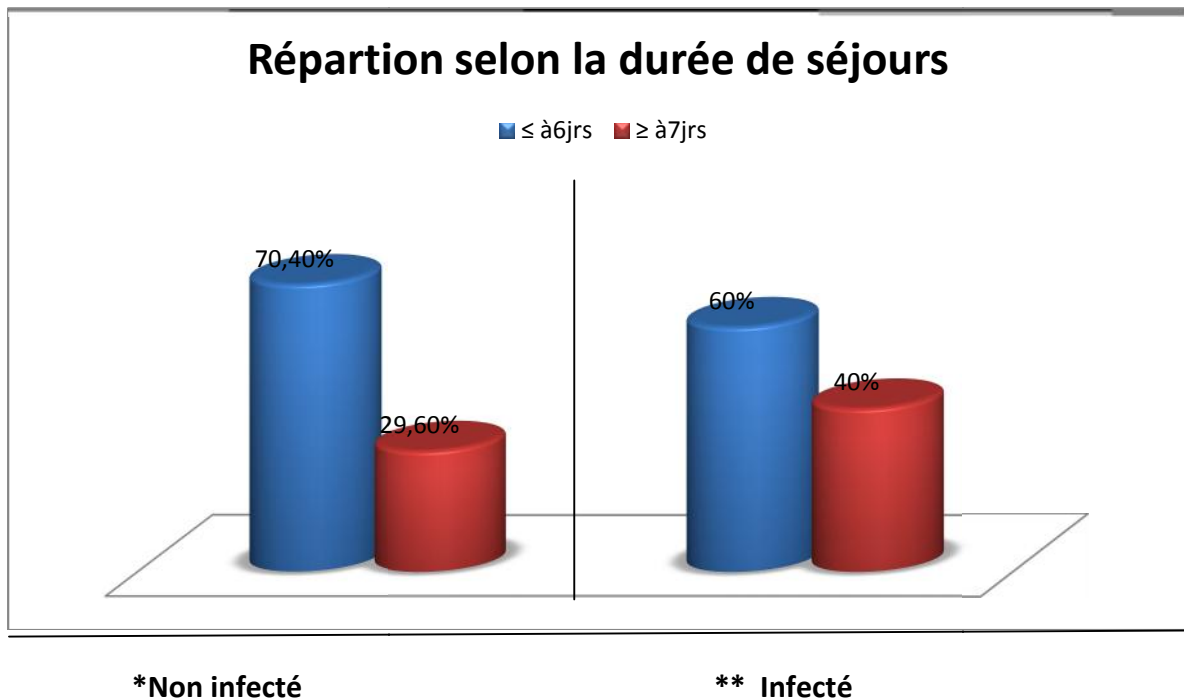


Figure 10 : Illustration de la population et de la durée de séjours

En vue des résultats de la figure 10 on constate que 60% des cas infecté avaient passés une durée de séjours 6 jours, suivis par ceux qui ont passées une durée de séjours 7 jours avec un pourcentage de 40%.

L'analyse statistique ne montre pas de différence significative, ce qui explique que le prolongement de la durée n'influence pas l'infection.

Ce résultat corrobore avec ceux de (Desplanques et *al.*,1993) Qu'i ont constaté qu'il n'y a aucun lien entre la durée de séjours et l'infection.

Notre résultat est en discordance avec les travaux faites par Habzi et benamor ; 2001, qui ont mentionné que la durée d'hospitalisation représente un facteur de risque non négligeable.

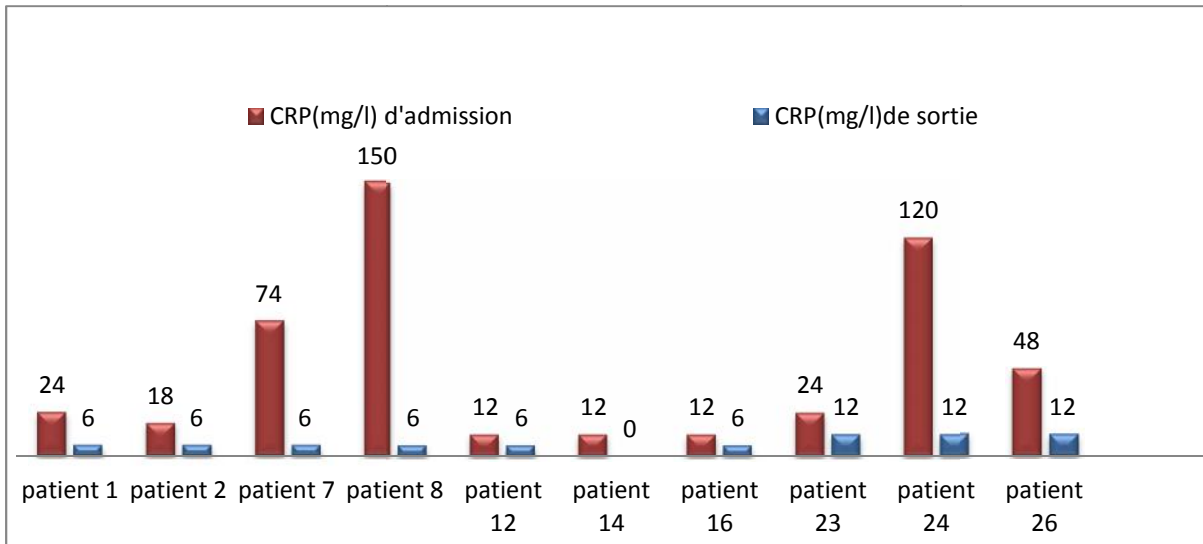


Figure 11 : Comparaison entre la CRP d'admission et la CRP de sortie

L'histogramme N°11 montre que les valeurs de CRP ont été relativement élevées à l'admission, par rapport à celles enregistrées à la sortie des patients.

Selon la littérature scientifique notre résultat semble en accord avec celles faites par (Ehl et al., 1997 ;Nouri-Merchaoui et al., 2009), qui ont rapporté qu'une CRP élevée chez les nouveau-nés même après une antibiothérapie peut être un signe d'infection.

Dans l'étude de Franz en 1999 sur les infections bactériennes nosocomiales, l'antibiothérapie n'a **été** débutée que chez les nouveau-nés ayant une CRP élevée, permettant ainsi de réduire le traitement à 71%. (Franz et al., 1999; Nouri-Merchaoui et al., 2009) .

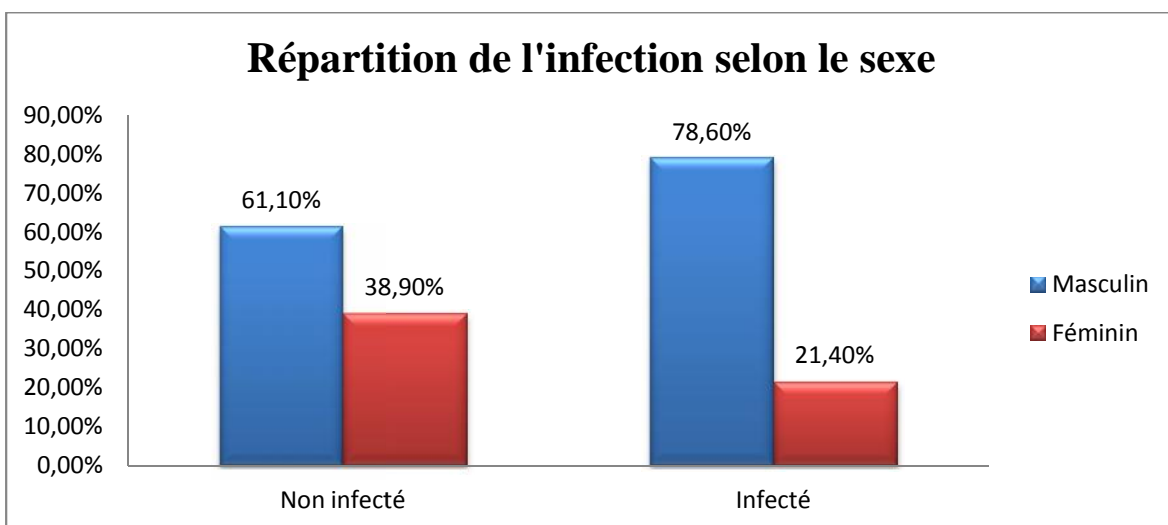


Figure 12 : Taux d'infection selon le sexe

La figure précédente montre que dans notre population, le sexe masculin est prédominant que ce soit chez les non infectés avec un taux de (61.1%), ou chez les infectés avec un taux de (78.6%) ; tandis que le sexe féminin est de (38.9%) et de,(21.4%) respectivement.

Dans plusieurs études similaires, les garçons étaient plus représentés, sans différence statistique entre les deux sexes. (Beaujean et *al.*,2002 ; Onen et *al.*,2002 ;Hernández et *al.*,2003; Togo et *al.*,2009). Ces données de littératures confortent notre hypothèse.

D'après la figure ci-dessous on remarque que la prématurité a été comme principale diagnostic d'entrée avec (46,2 %) des cas et de seulement (21,1%) pour les autres diagnostics.

L'analyse statistique montre que le χ^2 est = 2, 2637 et est inférieur à 3,84, il n'est pas significatif ; donc statistiquement il n'ya pas de relation entre l'infection nosocomiale et la prématurité, ce résultat est en discordances avec d'autres études comme celle de Hamza et *al.* 2008 qui mentionne que la fréquence élevée des infections nosocomiales en néonatalogies tout particulièrement chez le grand prématuré s'explique essentiellement par la dépression immunitaire. D'ailleurs, il est actuellement admis que l'incidence des infections nosocomiales est inversement corrélée au terme de naissance. (Hamza et *al* ; 2008).

L'étude canadienne de Ford Jones a rapporté un taux d'infection nosocomiale de 6 % chez les nourrissons. (Ford Jones et *al.*,1989 ; Aujard et *al.*,2003 ; Hamza et *al.*,2008).

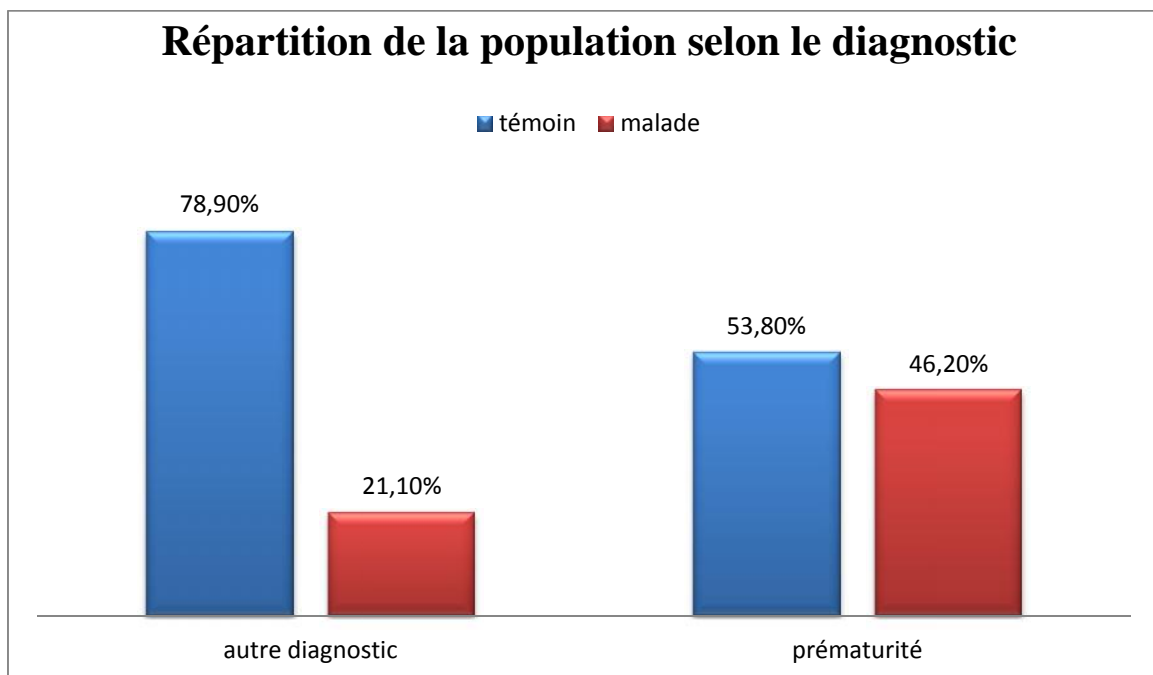


Figure 13 : Répartition de notre population selon le diagnostic

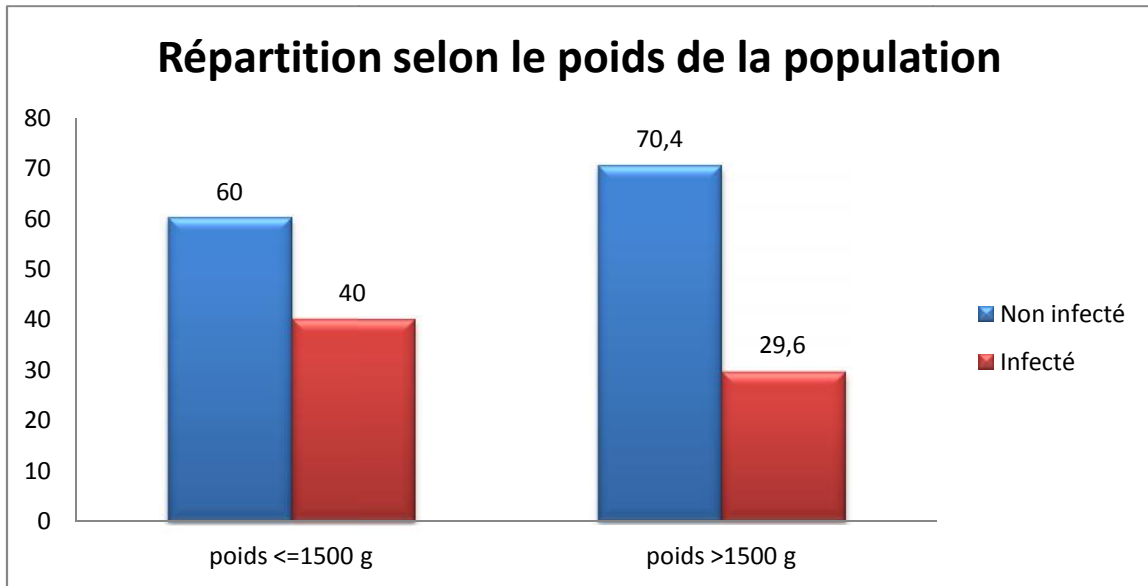


Figure 14 : Corrélation entre le poids et l'infection

D'après notre résultat, les nouveau-nés de faibles poids sont plus évoquer que ceux de poids > à 1500g chez dans notre population, cela est expliqué par la grande vulnérabilité de cette catégorie de nouveau-né et en conclure qu'il ya une relation entre le poids et l'infection.

De même selon les données de la littérature il a été montré qu'il existe une corrélation entre un très faible poids de naissance et le risque d'acquisition d'une infection nosocomiale.

(Beck-Sague et al.,1994; Khadilkar et al.,1995;Szewczyk et al.,2000;Campeotto et al.,2004)

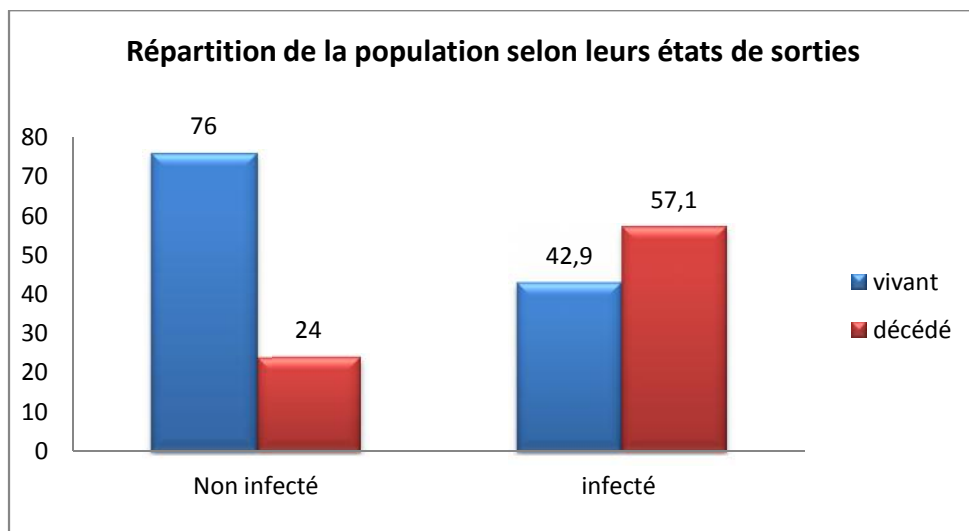


Figure 15 : L'état de sorties dans notre population

La figure ci-dessus montrent qu'un grand nombre des infectés décédés étaient ; majoritairement des prématurés; les actes invasifs et l'antibiothérapie susceptible d'augmenter l'infection et explique ainsi notre pourcentage qui concorde avec de nombreuses études mené notamment en France et l'Europe qui ont montré le rôle extrêmement important de l'âge gestationnel sur la mortalité néonatale, après prise en compte des autres caractéristiques des bébés.(Bréart *et al.*,1991 ;Coory *et al.*,1997 ;Joseph *et al.*,2000; Blondel *et al.*,2005).

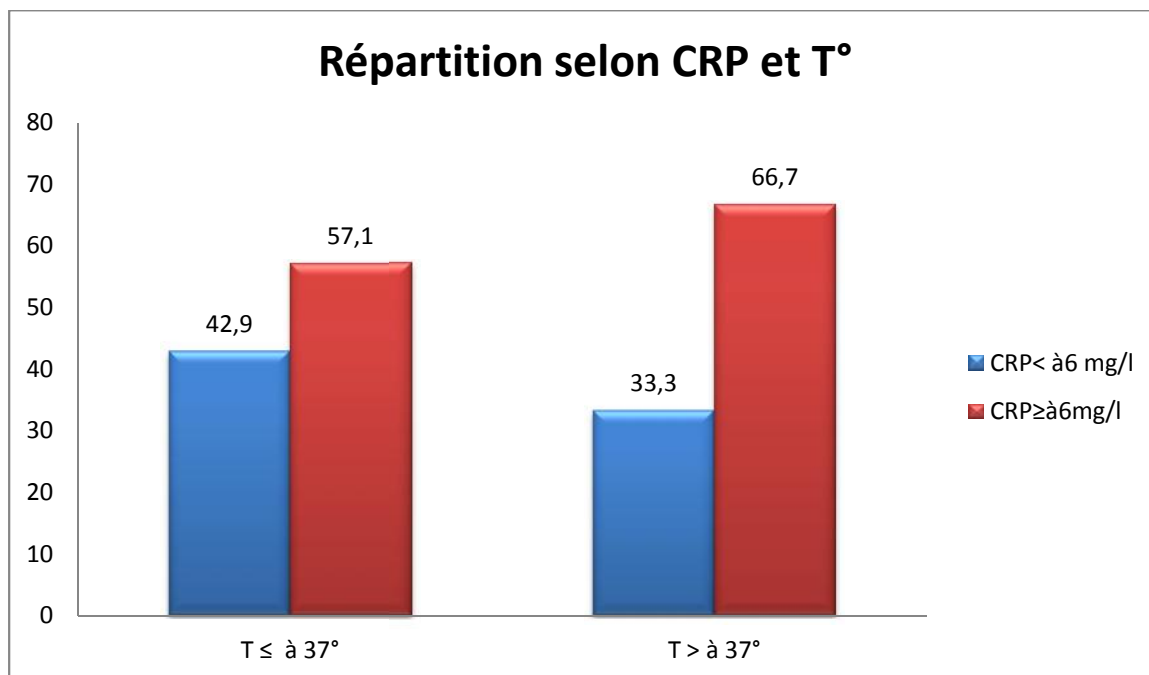


Figure 16 : Concordance inversée de la CRP et la T°

La figure illustre un taux de CRP élevée, les nouveau-nés pouvaient être considérés comme infectés malgré une T° inférieure ou = à (37°), tandis qu'une CRP inférieure à 6mg/l malgré une T° supérieure à (37°) correspondaient à un retard de normalisation de la température par rapport à la CRP.

On peut expliquer une CRP élevée par une réponse inflammatoire, une CRP basse est due probablement à une antibiothérapie courte et suffisante ou une réponse inflammatoire rapide et temporaire.

(Neumaier *et al.*,2008 ;Roger *et al.*,2009) concorde nos résultats, les cathétérismes multiple, en chirurgie peuvent induire des modifications des paramètres biologiques. Ce résultat suggère qu'une CRP restant temporairement élevée comparativement à la température normalisée, donc il n'ya pas un lien puissant entre la CRP et une élévation de T°.

D'autres études confirment ces résultats, dont celles de (Dupond *et al.*, 1990 ;Ruiz *et al.*, 1996), La CRP s'élève dans d'autres circonstances et elle peut rester négative malgré l'infection (kono *et al.*, 1999).

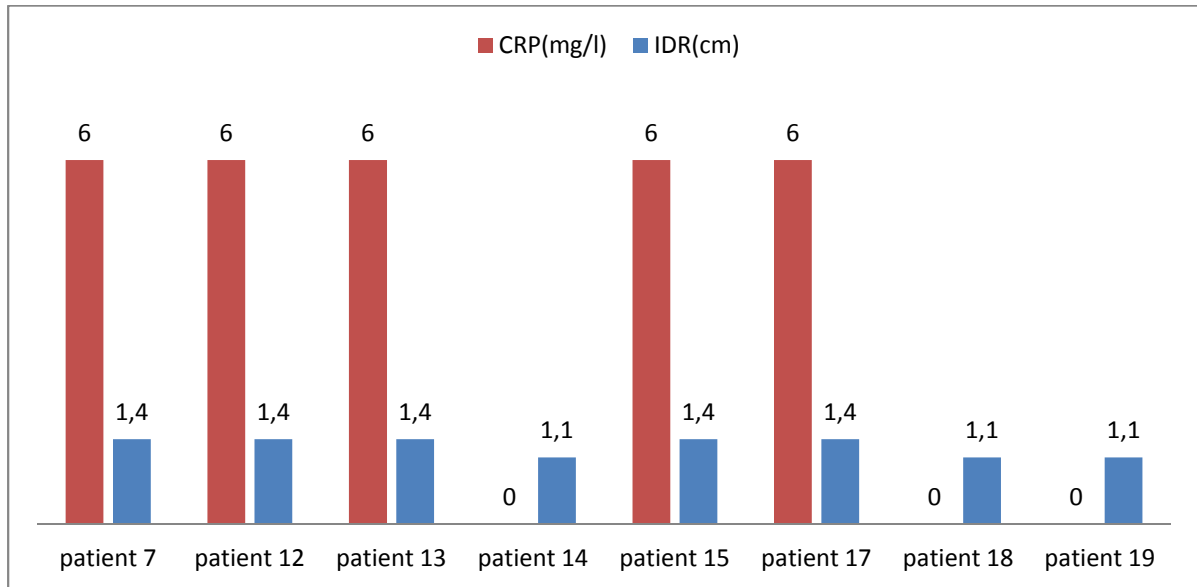


Figure 17 : comparaison entre la CRP et IDR

La figure 17 illustre les résultats obtenus par deux techniques, l'une d'immuno agglutination (CRP) et l'autre d'immuno précipitation (IDR).

On a réussi à avoir un résultat positif de (1.1cm) grâce à un anti-sérum qui avait un seuil de détection de 5 mg/l utilisée dans la technique d'immuno diffusion radiale, ainsi on déduit que plus le seuil de détection est inférieur à 6mg/l, plus la sensibilité du test augmente.

La littérature ne mentionne pas des données sur la technique d'immuno diffusion radiale, et la CRP.

Conclusion

Conclusion

En néonatalogie, lors qu'on prescrit des analyses sanguines, on se trouve confronté, aux difficultés qu'elles engendrent, en particulier pour les prélèvements veineux, elles provoquent un stress non négligeable, pour le nouveau-né lui-même, les parents et l'équipes soignantes.

Les examens biologique effectués sur des quantités de sang constitue un réel avantage d'où la recherche du test le plus sensible et spécifique, présentant le pouvoir d'être simple, rapide, peu coûteux et adapté aux possibilités du praticien.

Cet examen de routine doit se justifier par un bénéfice évident, résultant d'une appréciation plus exacte du diagnostic pour un choix plus pertinent.

Le choix de retenir un examen ne peut donc se faire qu'après une évaluation rigoureuse de ses avantages et inconvénients.

A l'issue de ce travail, portant sur les infections nosocomiales des nouveau-nés et l'intérêt de la CRP, le dosage de celle-ci à permet de suivre l'efficacité du traitement et également montré que les taux de CRP à l'admission sont de bons marqueurs précoces de l'inflammation et l'infection et qu'elles constituent des données supplémentaires intéressantes, discriminantes, dans la prise en charge des nouveau-nés.

La CRP, doit occuper une place importante dans la démarche clinique et biologique puisqu'elle permet d'apprécier la réaction de défense de l'organisme, d'adapter un traitement au patient et d'émettre un pronostic.

Références bibliographiques

Références bibliographiques :

1. Adjidé C.C, De Meyer A, Weyer M, Obin O, Lamory F, Lesueur C, L et al. Evaluation des risques microbiologiques hydriques associés à *Stenotrophomonas maltophilia* et *Pseudomonas aeruginosa* au CHU d'Amiens. *Pathologie Biologie*. 2010 ;58 ; e1–e5.
2. Aissaoui Y, Chouaib N, Chouikh C, Rafai M, Azendour H, Balkhi H, Haimeur C, Drissi Kamili N. Bactériémies liées aux cathéters veineux centraux : étude prospective dans une unité de réanimation médicale marocaine. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*. 2010 ; 29 : 897–901.
3. Andrianarivelo A.M, Rafaravavy N.E, Rafalimanana C, Andriantahiana T.N, Robinson A.L. Profil bactériologique des infections néonatales à l'unité de réanimation néonatale de la Maternité de Befelatanana. *Revue d'Anesthésie-Réanimation et de Médecine d'Urgence* .2010; 2(2): 1-4.
4. Adjidé C-C, Biendob M, Rousseau F, Hamdad-Daoudib F, Thomasb D, Lauransb G et al. *Escherichia coli* producteurs de bêtalactamases à spectre étendu : de nouvelles menaces nosocomiales. *Pathologie Biologie*. 2006 ; 54 :510–517.
5. Atmani S, Aouragh R, Bouharrou A, Hida M. L'infection des voies urinaires du nouveau-né : à propos de 23 cas. *Journal de pédiatrie et de puériculture*. 2007; 20 : 70–73.
6. Campeotto Florence, Anne-Judith Waligora-Dupriet, Doucet-Populaire Florence, Kalach Nicolas, Dupont Christophe, Butel Marie-José. Mise en place de la flore intestinale du nouveau-né. *Gastroentérologie Clinique et Biologique*. 2007 ; Volume 31, Numéro 5 : Pages 533-542.
7. Cohen R, Romain O, Levy C, Perreaux F, Decobert M, Hau I, Lécuyer A, Lesprit E, Maman L et al. Impact de la protéine C-réactive (CRP) en microméthode sur la prise en charge des enfants fébriles aux urgences pédiatriques en Île-de-France. *Archives de pédiatrie*. 2006 ; 13:1566–1571.
8. Carrèr A, Nordmann P. *Klebsiella pneumoniae* CTX-M-15 : vers une modification de l'épidémiologie des β -lactamases à spectre étendu. *Pathologie Biologie*. 2011;59 :e133–e135.
9. Dia N.M, Kab R, Dieng C, Diagne R, Dia M.L, Fortes L, Diop B.M, Sowb A.I, Sowa P.S Résultats de l'enquête de prévalence des infections nosocomiales au CHNU de Fann (Dakar, Sénégal). *Médecine et maladies infectieuses*. 2008;38 : 270–274.

10. Dupuy A-M, Terrier N, Sénécal L, Morena M, Leray H, Canaud B, et al. La CRP est-elle plus qu'un marqueur de l'inflammation. *Néphrologie* Vol. 24 n° 7 2003, pp. 337-341.
11. Dillon M.C, Opris D.C, Kopanczyk R, Lickliter J, Cornwell H.N, Bridges E G, Nazar A. M , Bridges K G. Detection of Homocysteine and C-Reactive Protein in the Saliva of Healthy Adults: Comparison with Blood Levels. *Biomarker Insights* 2010 ;5 : 57 61.
12. Fki H, Yaïch S, Jdidi J, Karray A, Kassis M, Damak J. Epidémiologie des infections nosocomiales dans Les hôpitaux universitaires de Sfax : Résultats de la première Enquête Nationale de Prévalence de L'infection Nosocomiale. *Rev Tun Infectiol.* Janvier 08, Vol 2, N°1, 22 – 31.
13. Florence Espinasse, Bernard Page, Brigitte Cottard-Boulle. Risques infectieux associés aux dispositifs médicaux invasifs. *Revue Francophone Des Laboratoires* - Novembre 2010 - N°426.
14. Hajek V, Pasquet F, Karkowski L, Lachenal F, Gerôme P, Pavic M. Profil étiologique et pronostique des valeurs extrêmes (500 mg/L) de protéine C-réactive : étude rétrospective de 168 valeurs chez 113 patients. *La Revue de médecine interne.* 2011 ; 32 :663–668.
15. Hot A, Mittaine B, Dupont B. Infections fongiques invasives du grand prématuré. *Journal de Mycologie Médicale.* 2007 : 17 ; 33—41.
16. Hamza R, Blanco I, Kammoun H , Saidani B, Boukri M, Hassine J et al. Incidence de l'infection nosocomiale en pédiatrie dans la région de Bizerte: Résultats d'une surveillance de trois mois .*Revue Tun Infectiol*, Juillet 2008 ;vol 2,N°3 :11-20 .
17. Gayvallet-Montredon N, Sauvestre C, Bergeret M, Gendrel D, Raymond J. Bactériémies nosocomiales en pédiatrie. *Arch Pédiatr* .2002 ; 7 : 679-84.
18. Léone M, Arnaud S, Boisson C, Blanc-Bimar M.C, Martin C. Infections urinaires nosocomiales sur sonde en réanimation : physiopathologie, épidémiologie et prophylaxie. *Ann Fr Anesth Réanim* ; 2000 ; 1 : 23-34.
19. Lasmé-Guillaoa E, Amon-Tanoh-Dicka F, GBononb V, Adja Akaffoua E, Kabasa R, Faye-Ketteb H. Infections a *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter cloacae* en néonatalogie a Abidjan. *Journal de pédiatrie et de puériculture* .2011 ; **24** :118—124.
20. Lachassinne E, Letamendia-Richard E, Gaudelus J. Épidémiologie des infections nosocomiales en néonatalogie. *Archives de pédiatrie.* 2004 ; 11 : 229–233.

21. Minchella A, Molinari L, Alonso S, Bouziges N, Sotto A, Lavigne J-P. Évolution de la résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* dans un centre hospitalier universitaire entre 2002 et 2006. *Pathologie Biologie*. 2010 ; 58 :1–6.
22. Nouri-Merchaoui S, Mahdhaoui N, Beizig S, Zakhama R, Fekih M, Methlouthi J, Salem N, Seboui H. Intérêt de la C-réactive protéine (CRP) sériée dans la prise en charge des nouveau-nés suspects d'infection bactérienne maternofoetale : étude prospective de 775 cas. *Journal de pédiatrie et de puériculture*. 2009 ; 22 :80—88.
23. Nouri-Merchaoui S, Mahdhaouia N, Yacoubib M.-T, Sebouia H. Lymphangiectasies pulmonaires congénitales : une cause rare de détresse respiratoire néonatale. *Archives de Pédiatrie* .2012; xxx:1-5.
24. Nejjar N, Benomar S, Lahbabi M.S. Les infections nosocomiales en réanimation néonatale et pédiatrique. Intérêt de la ciprofloxacine. *Arch Pédiatr*. 2000 ; 7 : 1268-73.
25. Nedjai S, Barguigua A, Djahmi N, Jamali L, Zerouali K, Dekhil M, Timinouni M. Prevalence and characterization of extended spectrum β -lactamases in *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* group bacteria, in Algeria. *Médecine et maladies infectieuses* .2012; 42:20–29.
26. Nauciel C, Vildé J.-L. *Bactériologie Médicale*. 2^{ème} édition MASSON .121-124,140-142.
27. Prévention des infections nosocomiales, Guide pratique .Organisation Mondiale de la Santé ; 2ème édition : 2002.
28. Pachot M, Péronnet F, Villard C, Bayle A. Évaluation des performances analytiques du réactif CRP Diasys® sur Roche Hitachi 917®. *Ann Biol Clin*. 2006 ; 64 (4) : 335-9.
29. Simon F, Kraemer P, De Pina J.J, Demortière E, Rapp C. Le Risque Nosocomial en Afrique Intertropicale (Partie 2 : Les Infections Des Patients). *Med Trop* 2007 ; 67 : 197-203.
30. Roubille F, Cayla G, Picot M.-C, Pradet V, Massin F, Gervasoni R, Pasquie J.-L, J.-Macia C, Piot C, Leclercq F. Intérêt de la *C-reactive protein* (CRP) dans l'évaluation pronostique de l'infarctus du myocarde revascularisé. *La Revue de médecine interne*. 2008 ; 29 : 868–874.
31. Rasamoelisoa JM, Tovone XG, Andriamady RCL, Rasamoela NW, Rasamindrakotroka A. Intérêt de la C-Reactive Protein (CRP) dans les affections fébriles de l'enfant. *Arch Inst Pasteur Madagascar*. 1999; **65** (2) : 113-116.

32. Togo A, Coulibaly Y, Keita M, Traore A, Kante L, Diakite I et al. Infections nosocomiales en chirurgie pédiatrique au Mali. *Journal de pédiatrie et de puériculture*. 2009 ; 22 : 273—277.
33. Rasamoelisoa JM, Tovone XG, Andriamady RCL, Rasamoela NW, Rasamindrakotroka A. Intérêt de la C-Reactive Protein (CRP) dans les affections fébriles de l'enfant. *Arch Inst Pasteur Madagascar*. 1999; **65** (2) : 113-116.
34. Roubille F, Cayla G, Picot M.-C, Pradet V, Massin F, Gervasoni R, Pasquie J.-L, J.-Macia C, Piot C, Leclercq F. Intérêt de la *C-reactive protein* (CRP) dans l'évaluation pronostique de l'infarctus du myocarde revascularisé. *La Revue de médecine interne*. 2008 ; 29 : 868–874.
35. Simon F, Kraemer P, De Pina J.J, Demortière E, Rapp C. Le Risque Nosocomial en Afrique Intertropicale (Partie 2 : Les Infections Des Patients). *Med Trop* 2007 ; 67 : 197-203.
36. Vincent A, Saint Genis Laval, Laprugne-Garcia E, Saint Genis Laval. Infections Associées Aux Soins définition, Fréquence et facteurs de risque. Octobre 2008 ; CCLIN Sud-Est.1-5.