

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2017

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Analyse Biologique et Biochimique

Présenté par :

Abbas Lamia & Lakehal Zineb

Thème

***Contrôle microbiologique de l'environnement
hospitalier : cas de l'Etablissement Public Hospitalier
Mohamed Boudiaf de la wilaya de Bouira***

Soutenu le : 28 / 06 / 2017

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>M. Kadri.N</i>	<i>MCA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>Mme. Medboua. C</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promoteur</i>
<i>Mme. Ben Barra .T</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examineur</i>

Année Universitaire : 2016/2017

Remerciements

Merci à Dieu

« On remercie **Dieu** le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour achever ce travail »

Ce travail a été réalisé au niveau du « Laboratoire d'analyse » de l'hôpital Mohamed Boudiaf de Bouira en parallèle avec le laboratoire de recherche de la faculté SNV-ST de l'université Akli Mohand Oulhadj - Bouira.

Nous remercions

Notre Promotrice **M^{me} MEDBOUA CHAFIA** maitre-assistant à l'université Akli Mohand Oulhadj pour avoir accepté d'encadrer notre travail, pour sa rigueur scientifique et son assistance aussi bien matérielle que morale et son soutien indéfectible.

Mr KADRI NABIL maitre de conférences à l'université Akli Mohand Oulhadj en étant président du jury. Nous sommes conscientes de l'honneur qu'il nous a fait

Nous tenons à exprimer notre reconnaissance envers **M^{me} Ben Barra** maitre-assistant à l'université Akli Mohand Oulhadj qui a eue la gentillesse de lire et d'examiner ce travail.

Mr HENNI BOUALEM Médecin Epidémiologiste au niveau de l'hôpital de Bouira, son aide, ses suggestions sur la rédaction de ce mémoire.

Nos remerciements les plus sincères à la technicienne de laboratoire de microbiologie de l'hôpital, **M^{me} AIT SAHED WISSEM** pour ses précieux conseils ainsi que la confiance qu'elle nous a témoigné tout au long de cette étude, et tout le personnel du laboratoire.

Ainsi que tout le personnel administratif et médical de l'EPH de Bouira qui nous ont soutenus et aidés de près ou de loin pour la réussite de ce travail.

« « Merci» »

Dédicaces

**Je dédie ce modeste
travail:**

*AUX personnes les plus chères à mon cœur : Mes chers
parents LAKEHAL BELkACEM et CHOUIHA SAADA
qui m'ont aidée moralement durant toute ma vie....,*

*Mes soeurs Hayet, Nawel, Dalila, Djamila, Souhila,
Fatima, Selma, pour leurs amours et leurs générosités.*

*Mes grands-mères ainsi que mes oncles surtout Chouiha
Yahya et hasiba et tantes pour leurs encouragements et toute
ma famille LAKEHAL.*

*Les enfants Nour dine, Sid ahmed, Amira ,Yasine
,Tawba ,Ishek ,Mohamed ,Douaa ,Rima.*

*Toutes mes amies en particulier : Lamia, Selma, Sarra,
Kahina.*

ZINEB.

Dédicaces

Avec l'aide de Dieu Le Tout-Puissant, puis de tous ceux qui m'aiment et qui m'ont soutenue, j'ai pu achever ce modeste travail que je dédie à mes chers parents. Avec toute ma tendresse et ma profonde reconnaissance, rien au monde ne vaut les efforts fournis pour mon éducation et mon bien-être. Ce travail est le fruit de vos sacrifices consentis pour ma réussite. Vos prières et votre bénédiction m'ont été d'un grand secours. J'espère ne jamais vous décevoir.

A mon époux, Smail, pour le soutien et la patience qu'il m'a témoigné ; tu m'as donné la force et le courage de continuer.

A mes deux princesses Lina et Farah, en espérant que l'aboutissement de ce projet soit une belle manière de vous rendre honneur et pourra remédier mes absences physiques et morales.

Puisse Dieu, Le Tout- Puissant, vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur.

A toute ma famille : mes sœurs, mes frères.

A ma belle-famille

A tous mes amis(es)

A mon binôme Zineb

A toute la promotion d'Analyses Biologiques et Biochimiques

A tous les professeurs de la spécialité Analyses biologiques et biochimiques qui ont participé à ma formation et qui ont été très compréhensifs

LAMIA

Liste des figures

Figure 01: Principales bactéries impliquées dans les infections nosocomiales.....	8
Figure 02 : Nombre total de souches bactériennes isolées dans tous les services.....	33
Figure 03 : Photo colonies de <i>Staphylococcus aureus</i> sur milieu Chapman.....	33
Figure 04 : Photo colonies de <i>Staphylococcus epidermidis</i> sur milieu Chapman.....	33
Figure 05 : Photo de la coloration de Gram positif des staphylocoques.....	34
Figure 06 : Identification des staphylocoques par le test staphaurex.....	34
Figure 07: Photo colonies lactose + sur milieu Mac Conkey.....	35
Figure 08 : Photo colonies lactose - sur milieu Mac Conkey.....	35
Figure 09: Image de coloration de Gram (entérobactéries).....	35
Figure 10: Photo de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> sur milieu Mac Conkey.....	36
Figure 11 : Image de coloration de Gram de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	36
Figure12: Test catalase <i>P.aeruginosa</i> (+).....	37
Figure 13: Test oxydase <i>P.aeruginosa</i> (+).....	37
Figure 14: Photo de <i>Acinetobacter baumannii</i> sur milieu Mac Conkey.....	37
Figure 15: Image de coloration de Gram d' <i>Acinetobacter baumannii</i>	38
Figure 16 : Photo de <i>Streptococcus</i> β hémolytique.....	38
Figure 17 : Photo de <i>Streptococcus</i> α hémolytique.....	38
Figure 18: Gram d'un <i>streptococcus sp</i> : cocci à Gram positif disposé en chainettes.....	39
Figure 19: Répartition de toutes les souches isolées par service.....	39
Figure 20: Répartition des souches de l'air par espèce.....	41
Figure 21: Répartition des souches de l'air par service.....	42
Figure 22 : Répartition des souches isolées par espèce dans la salle septique	47
Figure 23: Répartition des souches isolées par espèce dans le service de réanimation....	49
Figure 24: Répartition des souches isolées par espèce des surfaces du service de pédiatrie néonatalogie.....	51
Figure 25 : Répartition des souches isolées par espèce du service d'oncologie.....	53
Figure 26 : Répartition des souches isolées du linge par espèce.....	60
Figure 27 : Répartition des souches isolées du linge par service.....	61

Liste des tableaux

Tableau N° I : Persistance des bactéries d'origine clinique sur les surfaces sèches inanimées.....	6
Tableau N° II : Classification des locaux par zones à risque adoptée aux HCL	20
Tableau N° III : Sites de prélèvement de l'air.....	21
Tableau N°IV : Les différents sites de prélèvement de surfaces.....	22
Tableau N° V : Les différents sites de prélèvement du linge.....	24
Tableau N°VI : Nombre total de prélèvements par service	32
Tableau N°VII : Les différentes flores de l'air.....	40
Tableau N°VIII : Résultats de l'analyse microbiologique des surfaces du bloc opératoire.....	45
Tableau N°IX : Valeurs guides" hors activités, après nettoyage.....	46
Tableau N°X : Résultats de l'analyse microbiologique des surfaces du service réanimation.....	49
Tableau N°XI : Résultats de l'analyse microbiologique des surfaces du service pédiatrie néonatalogie.....	50
Tableau N°XII : Résultats de l'analyse microbiologique des surfaces du service d'oncologie.....	51
Tableau N° XIII : Les résultats de l'analyse microbiologique du linge.....	58

Tableaux Annexes

Tableau N°I : Milieux et matériel utilisés.

Tableau N°II : Les principaux caractères utilisés dans l'identification des Germes.

Liste des tableaux

Liste des abréviations

- A.E.S** : Accident d'Exposition au Sang.
- AFNOR**: Organisation Française de Normalité.
- ATB** : Antibiotique.
- ATNC** : Agents Toxiques Non Contaminant.
- β -gal** : β -galactosidase.
- BGN** : Bactéries à Gram Négatif.
- BGNnF** : Bacilles à Gram Négatif non Fermentaire.
- BLSE** : β -Lactamases à Spectre Etendu.
- BOP** : Bloc Opératoire.
- CLIN** : Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales.
- CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice
- EMB** : Eosine Bleu de Méthylène
- EPH** : Etablissement Hospitalier Public.
- FMAT** : Flore Mésophile Aérobie Totale.
- Glu** : Glucose.
- GN** : Gélose Nutritive.
- GSF** : Gélose au Sang Frais.
- h** : heure.
- HCL** : Hospices Civils de Lyon
- H₂S** : Hydrogène Sulfuré.
- IgG** : Immunoglobuline G.
- IN** : Infection Nosocomiale.
- Lac** : Lactose.
- mm** : milli mètre.
- MRSA** : *Staphylococcus aureus* Résistants à la Méthiciline.
- ONP** : Orthophényle.
- ONPG** : Ortho-Nitro-Phenyl b-Galactopyranoside.
- ORL** : Oto-rhino-laryngologie.
- SAMU** : Service d'Aide Médicale Urgente.
- SCN** : Staphylocoques à Coagulase Négative.
- SIDA** : Syndrome d'Immuno Déficience Acquise

abréviations

T.S.I : Triple Sugar Iron agar

UFC : Unité Formant Colonie

µm : micro mètre.

USA : United States of America.

UV : Ultra Violet.

Table des matières

INTRODUCTION	1
---------------------------	---

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I :L’environnement hospitalier.

I.1-Définition.....	3
I.2-Microorganismes de l'environnement hospitalier.....	3
I.3-Contamination de l’environnement hospitalier par les microorganismes.....	3
I.3.1-Air.....	
I.3.2-Surfaces	4
I.3.3-Linge	5
I.4-Persistance des bactéries.....	5
I.5-Impact de l’environnement hospitalier sur la santé publique.....	6
I.6-Définition de l’infection nosocomiale.....	7
I.6.1-Les principaux types d'infection nosocomiale....	7
I.6.2-Les bactéries les plus fréquemment impliquées dans l’IN.....	8
I.6.2.1- Les Staphylocoques.....	8
I.6.2.2-Les bacilles à Gram négatif.....	9
I.6.2.3- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9
I.6.2.4- <i>Acinetobacter baumannii</i>	10
I.6.2.5- Les Streptocoques.....	10
I.7-La résistance des bactéries isolées dans l’environnement hospitalier.....	10
I.8- Prévention d’IN.....	11

Chapitre II :Hygiène et méthodes de stérilisation.

II.1.Hygiène hospitalière.....	12
II.1.1-Hygiène des personnels.....	12
II.1.2-Hygiène des locaux.....	13
II.1.3-Hygiène de matériel.....	13
II.1.4-Hygiène du linge et de la literie.....	13
II.1.5-Hygiène de l'air.....	14
II.1.6-Hygiène des surfaces.....	14
II.2-Les méthodes de stérilisation.....	15
II.2.1-Stérilisation.....	16
II.2.2-Désinfection.....	18

PARTIE PRATIQUE

Table des matières

Matériel et méthodes

I.Présentation de L'organisme d'accueil.....	19
II.Questionnaire sur les procédures de nettoyage et respect des règles d'hygiène au sein de l'hôpital	19
III-Méthodes générales d'analyses microbiologiques.....	21
III.1-Analyse microbiologique de l'air.....	21
III.1.1- Prélèvement, dénombrement et isolement	21
III.2-Analyse microbiologique des surfaces.....	22
III.2.1-Prélèvement, dénombrement et isolement.....	22
III.3-Analyse microbiologique du linge.....	23
III.3.1- Prélèvement, dénombrement et Isolement	23
VI-Purification et identification.....	24
VI.1-Identification des staphylocoques.....	26
VI.1.1-Recherche de la catalase.....	26
VI.1.2-Identification par le test Staphaurex.....	26
VI.2-Identification des bactéries à Gram négatif (Entérobactéries, Pseudomonas, Acinetobacter).....	27
VI.2.1-Utilisation du glucose, du lactose et production de gaz et d'H ₂ S (TSI).....	27
VI.2.2-Utilisation du citrate (milieu citrate de Simmons).....	27
VI.2.3-Mise en évidence de l'uréase et la production d'indole (milieu Urée - Indole)	27
VI.2.4-Utilisation du mannitol et test de mobilité.....	28
VI.2.5-Production de la B- galactosidase (Disques ONPG).....	28
VI.2.6-Test de l'Oxydase.....	28
VI.3-Identification des Streptocoques.....	29
Résultats et discussion	
I. Réponses au questionnaire.....	30
II. Prélèvements.....	32
III. Isolement et identification des souches bactériennes.....	32
III.1-Isolement et identification des Staphylocoques.....	33
III.2-Isolement et identification des bacilles à Gram négatif.....	35
III.3-Isolement et identification des <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	36
III.4-Isolement et identification des <i>Acinetobacter baumannii</i>	37

Table des matières

III.5-Isolement et identification des Streptocoques.....	39
VI.Résultats d'identification bactérienne.....	40
VI.1-Résultats de l'analyse microbiologique de l'air des services à risques.....	40
VI.1.1- Etude quantitative de l'analyse de l'air.....	40
VI.1.2-Etude qualitative de l'analyse de l'air.....	41
VI.1.3-Répartition des souches isolées dans l'air par espèce.....	41
VI.1.4-Répartition des souches isolées par service.....	42
Discussion des résultats de l'air.....	43
VI.2-Résultats de l'analyse microbiologique des surfaces.....	45
VI.2.1-Bloc opératoire	45
VI.2.1.1-Etude quantitative des souches isolées du bloc opératoire.....	46
VI.2.1.2-Etude qualitative des souches isolées du bloc opératoire.....	47
VI.2.1.2.1-Répartition des souches isolées par espèce sur les surfaces de la salle septique.....	47
VI.2.2- Service réanimation.....	48
VI.2.2.1-Etude quantitative des souches isolées du service de réanimation.....	48
VI.2.2.2-Etude qualitative du des souches isolées service de réanimation.....	49
VI.2.2.2.1-Répartition des souches isolées par espèce sur les surfaces du service de réanimation.....	49
VI.2.3-Service pédiatrie.....	49
VI.2.3.1-L'étude quantitative des souches isolées du service de pédiatrie néonatalogie.....	50
VI.2.3.2-Etude qualitative des souches isolées du service de pédiatrie néonatalogie.....	50
VI.2.3.2.1- Répartition des souches isolées par espèce sur les surfaces du service pédiatrie néonatalogie.....	51
VI.2.4-Service oncologie.....	51
VI.2.4.1-Etude quantitative des souches isolées du service d'oncologie.....	53
VI.2.4.2 -Etude qualitative des souches isolées du service d'oncologie.....	53
VI.2.4.2.1-Répartition des souches par espèce sur les surfaces du service oncologie.....	53
Discussion des résultats des surfaces	54
VI.3-Résultats des analyses microbiologiques du linge	58
VI.3.1-Etude quantitative des souches isolées du linge des 4 services.....	59
VI.3.2-Etude qualitative des souches isolées du linge des 4 services.....	60

Table des matières

VI.3.2.1-Répartition des souches isolées du linge par espèce dans les différents services.....	60
VI.3.2.2-Répartition des souches isolées du linge par service.....	61
Discussion des analyses microbiologiques du linge.....	62
Conclusion.....	64
Bibliographie	
Annexes	

INTRODUCTION

L'environnement hospitalier constitue une niche écologique de microorganismes qui peuvent avoir une signification clinique, cette contamination varie qualitativement et quantitativement d'un établissement à un autre, au sein du même établissement en fonction des services, des patients, des soins pratiqués et de la capacité de survie des microorganismes dans l'environnement (Cavallo et *al.* , 2002).

L'hôpital est un lieu où l'on traite mais c'est également un lieu où le risque d'infection est très important et où les germes deviennent de plus en plus résistants. De ce fait, les infections contractées au niveau de l'hôpital sont reconnues comme des problèmes majeurs de santé publique de par leur fréquence, leur coût socioéconomique et leur gravité qui touche aussi bien les patients et leurs entourages que l'ensemble des professionnels de santé (Méité et *al.* , 2010 ; Zerrouk, 2013).

Les infections nosocomiales représentent aujourd'hui un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale, étant responsables d'une lourde morbidité mais également d'une létalité non négligeable (Hamza, 2010).

Les infections acquises à l'hôpital sont une réalité préoccupante surtout dans des services à haut risque qui recrutent des patients extrêmement vulnérables à la colonisation et par conséquent à l'infection (Rebiahi, 2012).

La physiopathologie de ces infections est étroitement liée à la constitution d'un biofilm sur des corps étrangers (Espinasse et *al.* , 2010) à la qualité de l'air (Roger et *al.*, 2004) et à la transmission manuportée (Marsaudon, 1998).

La surveillance microbiologique de l'environnement hospitalier représente un des axes majeurs des stratégies de lutte contre les infections nosocomiales (Otter et *al.* , 2013). Elle permet d'identifier les pathogènes responsables des infections, et de déterminer leur sensibilité aux antibiotiques. Ainsi, on peut choisir le traitement adapté à chaque patient. La difficulté des traitements liée à la multi-résistance bactérienne vue l'utilisation extensive et fréquemment abusive des antibiotiques couplée à un déséquilibre dans l'hygiène hospitalière,

duction

permet à ces infections une évolution fulgurante traduisant ainsi plusieurs épidémies (Dubos, 2012).

Les preuves scientifiques de la responsabilité de la contamination de l'environnement dans les infections nosocomiales restent souvent difficiles à démontrer car on ne sait pas si cette contamination est la cause ou la conséquence de l'infection. Toutefois certains travaux ont rapporté l'incrimination des réservoirs environnementaux dans la genèse de ces infections (D'agata et al., 1999 ; Rampling et al., 2001 ; Zeana et al., 2003 ; Kac et al., 2004 ; Carling et al., 2008). Ce constat a été également observé en Algérie par Touati et al., (2007).

La réalisation de contrôles d'environnement (eau, air, surfaces, linge etc...) fait partie de la politique de lutte contre les infections nosocomiales et est indispensable pour évaluer la qualité de l'environnement en milieu hospitalier. Cependant, ces contrôles ne se justifient qu'en zone à environnement maîtrisé. Ces contrôles sont des indicateurs de gestion du risque infectieux et nécessitent une méthodologie rigoureuse et standardisée, des modalités de prélèvement et techniques d'analyse à l'interprétation des résultats (Cavallo et al., 2002).

Notre travail vise à rechercher les microorganismes et plus précisément les bactéries pathogènes qui se trouvent dans le milieu hospitalier afin :

- de mettre en évidence la qualité microbiologique de l'environnement hospitalier ;
- d'évaluer le degré de bio contamination ;
- d'identifier les bactéries qui sont souvent la cause des infections nosocomiales ;
- de vérifier l'efficacité des procédés de bio nettoyage.

I.1-Définition

L'environnement hospitalier est constitué de l'ensemble des éléments liquides, solides et gazeux qui sont susceptibles d'entrer en contact avec le patient, les visiteurs et le personnel d'une structure hospitalière. Entrant dans cette définition l'air (médical ou atmosphérique), les surfaces inertes (mobilier, linge, instrumentation, ...), les surfaces vivantes (les mains du personnel), les eaux (de réseau, de piscine et de dialyse), les solutés (préparations injectables, solutions antiseptiques, pommades,...) et l'alimentation (Bosi, 2000).

1.2- Microorganismes de l'environnement hospitalier

Les microorganismes présents dans l'environnement hospitalier sont extrêmement variés (bactéries, levures, moisissures, virus et parasites) et peuvent appartenir aussi bien aux espèces opportunistes qu'aux espèces habituellement pathogènes pour l'homme. La capacité de créer une infection découle d'une combinaison de facteurs associant le niveau d'expression des facteurs de virulence du microorganisme, sa concentration, le mode de contamination et la réceptivité de l'hôte (Cavallo et al ., 2002).

La flore bactérienne saprophyte est composée de *Bacillus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus non aureus*, *Pseudomonas* et divers bacilles à Gram négatif. La flore commensale contaminante est composée de germes d'origine humaine comme par exemple *Enterococcus*, les entérobactéries ou encore *Staphylococcus aureus* (Bertou et al ., 2000).

I.3-Contamination de l'environnement hospitalier par les microorganismes

La contamination est diffuse et sa maîtrise, qui entraîne des procédures contraignantes, complexes et coûteuses, n'est le plus souvent que partielle et transitoire. Les microorganismes responsables d'infections nosocomiales ont un réservoir humain (flore digestive, respiratoire, cutanée,...) ou environnemental (surface, air, eau, matériel). Les infections nosocomiales d'origine environnementale (exogène) sont plus rares. Elles peuvent être liées à une contamination à partir d'un réservoir situé dans l'environnement à proximité du malade (dispositifs médicaux, surfaces) ou à partir d'un réservoir situé dans l'environnement général de l'hôpital (eau, air) (Lucet et Astagneau, 1998).

I.3.1- Air

Dans les conditions habituelles de fonctionnement de l'hôpital, l'air est plus un transporteur qu'une source véritable de germes (Audurier et al ., 1998). On distingue deux groupes de germes :

- Les microorganismes de l'air extérieur (flore saprophyte extérieur), rarement pathogènes qui varient en quantité et en qualité en fonction du lieu et des conditions atmosphériques. On trouve en majorité des *Bacillus*, des microcoques et des staphylocoques à

coagulase négative mais d'autres espèces peuvent être isolées, comme les bacilles Gram négatif et les microorganismes anaérobies de la flore tellurique (tels *Clostridium perfringens* ou *Clostridium tetani* sous forme de spores). Cette flore de base peut contenir aussi des levures et des champignons.

- Les microorganismes de l'air intérieur hospitalier sont souvent le reflet de la flore commensale humaine des patients et des soignants. Les bactéries les plus fréquemment isolées ont une origine cutanée (germes aérobies, comme les Staphylocoques à coagulase négative, les Corynebactéries et *Bacillus*, germes anaérobies comme *Propionibacterium acnes* (des cocci anaérobies). La flore d'origine humaine comporte également des bacilles à Gram négatif de la flore intestinale, des streptocoques et des *Corynebacteries* de la flore de l'oropharynx (Hugard, 2003).

I.3.2-Surfaces

Les surfaces peuvent être divisées en deux groupes :

- Celles où le contact avec les mains est minime : les planchers et les plafonds.
- Celles dont les mains sont souvent en contact : poignées de porte, les ridelles, interrupteurs, les zones des murs autour des toilettes dans la chambre des patients, les bordures des rideaux,...

Les surfaces sont contaminées soit par contact ou par sédimentation des microorganismes présents dans l'air. En effet, la bio contamination des surfaces se fait par contact (chaussures, roues de chariot,...), par rinçage ou par sédimentation des particules en suspension dans l'air (Mereghetti, 1998).

La répartition de la contamination des surfaces se fait le plus souvent de manière hétérogène. L'adhérence des bactéries est possible selon l'état de la surface. Cette adhérence peut s'accompagner de la création d'un biofilm. Du fait des conditions de croissances défavorables, certaines bactéries peuvent se miniaturiser et d'autres peuvent prendre une forme sporulée et sont difficiles alors à mettre en évidence dans les prélèvements (Bertou et al., 2000 ; Lucet et Astagneau, 1998).

La contamination des surfaces a trois origines :

- L'air qui véhicule sous forme d'aérosols des amas bactériens qui sont capables de sédimenter et de coloniser le milieu (Bosi, 2000).
- Le contact des patients infectés par des bactéries multirésistantes avec des surfaces inertes les rendent généralement contaminées. Cette contamination peut persister des heures, voire des semaines sur des surfaces sèches. Le personnel médical, les

travailleurs et d'autres patients peuvent être contaminés par contact direct avec ces surfaces qui par la suite deviendront un réservoir de microorganismes dans l'hôpital (Rutala et Weber, 2001).

- L'eau qui contamine les surfaces et les dispositifs médicaux par rinçage (inoculation de mycobactéries à partir d'un matériel chirurgicale recontaminé par l'eau du robinet après désinfection) (Lucet et Astagneau, 1998).

I.3.3-Linge

Le linge hospitalier est souillé par :

-les flores commensales qui ne sont pas dangereuses pour des sujets normaux, mais elles peuvent être opportunistes, c'est à dire provoquer des infections chez des sujets immunodéprimés. (Figarella et al ., 2001).

- Les flores pathogènes qui peuvent se trouver dans les différentes salissures que peut porter le linge hospitalier. Les principales souillures et les microorganismes ou virus qu'elles peuvent contenir sont le sang (virus de SIDA, virus de l'hépatite B, germes responsable d'infections diverses), le pus (Staphylocoque dorée, *Pseudomonas aeruginosa*, Streptocoques hémolytiques A, etc), l'urine (germes responsables d'infection urinaire (Entérobactéries, Staphylocoques, Entérocoques, *Pseudomonas* ...), les matières fécales (Salmonelles, Shigelles, autres entérobactérie Vibriion cholérique), parasites (amibes, oxyures, larves de ténia) et salive (Bacille de Koch, Pneumocoques ...) (Figarella et al., 2001).

Le linge constitue donc un important réservoir d'organismes pathogènes ou potentiellement pathogènes (opportunistes). La manipulation du linge sale doit se faire en prenant de grandes précautions car elle constitue une opération dangereuse pour le personnel qui peut être contaminé par les germes qu'il contient (Figarella et al ., 2001).

I.4-Persistance des bactéries

La survie des microorganismes dans l'environnement est de durée très variable, dépendant de différents facteurs comme la nature du germe, la température, le taux d'humidité, le type de surface et leurs degrés de salissure, en particulier leur teneurs en matières organiques (Bertou et al., 2000).

Les microorganismes responsables des infections nosocomiales peuvent persister sur des surfaces sèches inanimées pendant plusieurs mois (tableau I) (Neely et Maley, 2000).Le séchage des surfaces exerce une action bactéricide significative (Bloomfield et Scott, 1997).

Tableau I : Persistance des bactéries d'origine clinique sur les surfaces sèches inanimées
(Kramer et al ., 2006)

Bactéries	Durée de persistance
<i>Acinetobacter spp.</i>	3jours à 5 mois
<i>Clostridium difficile (spores)</i>	5 mois
<i>Chlamydia psittaci</i>	15 jours
<i>Corynebacterium diptheriae</i>	7 jours à 6 mois
<i>Escherichia coli</i>	90 minutes à 16 mois
<i>Enterococcus spp.</i>	5 jours à 4 mois
<i>Haemophilud influenzae</i>	12 jours
<i>Klebsiella spp.</i>	2 heures à >30mois
<i>Listeria spp.</i>	1 jour à plusieurs mois
<i>Mycobacterium bovis</i>	> à 2 mois
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1 jour à 4 mois
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 à 3 jours
<i>Proteus vulgaris</i>	1 à 2 jours
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6 heures à 16 mois
<i>Salmonella spp.</i>	1 jour
<i>Serratia marcescens</i>	3 jours à 2 mois
<i>Shigella spp.</i>	2 jours à 5 mois
<i>Staphylococcus aureus</i> incluant SARM	7 jours à 7 mois
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1 à 20 jours
<i>Streptococcus pyogenes</i>	3 jours à 6.5 mois

I.5 -Impact de l'environnement hospitalier sur la santé publique

L'impact majeur de l'environnement hospitalier sur la santé publique est la survenue des infections nosocomiales (IN). Son origine principale est le manque de pratique d'hygiène. En effet, Il a été montré récemment que la cause majeure de transmission des bactéries était d'une part, le manque d'hygiène (absence de lavage des mains...) et d'autre part les progrès de la médecine et de la chirurgie avec par exemple des soins et des thérapeutiques de plus en plus agressifs qui peuvent être des sources possibles d'infection. (Alfandari ,1997).

I.6 - Définition de l'infection nosocomiale

Le terme nosocomiale, vient du grec « nosos » signifiant maladie et secondairement de « nosokomeone » qui signifie hôpital; il qualifie ce qui se rapporte à ce milieu, ce qui se contracte lors d'un séjour hospitalier (Margot et Chantal, 2009).

L'infection nosocomiale (IN), ou récemment appelée infection associée aux soins, est une maladie infectieuse (bactérienne, fongique, parasitaire, virale) qui survient au cours de la prise en charge d'un patient dans un hôpital ou autres établissements de soin, et elle n'était ni

présente, ni en incubation au début de l'admission. Une IN peut affecter soit le patient soit le personnel soignant (Veyssier et al., 1996).

Les infections nosocomiales peuvent avoir des conséquences importantes pour les patients, le personnel hospitalier et la population en général notamment, la mortalité et la morbidité, la prolongation du séjour hospitalier de 3 à 7 jours, le surcoût, la sélection des germes multi résistants (Alfandari, 1997).

I.6.1- Les principaux types d'infection nosocomiale

Les sites anatomiques d'infections nosocomiales par ordre de fréquence la plus importante sont : l'appareil urinaire, le site opératoire (intervention chirurgicale), les voies respiratoires et le système sanguin (Belhaj, 2010). Les enquêtes menées en Algérie ont estimé que la prévalence des IN est de 30,8% pour les infections urinaires, suivies par 26,9% dans les sites opératoires et 23,1% pour les pneumonies (Atif et al., 2006; Atif et al., 2010). La fréquence n'est pas synonyme de gravité. Ainsi, les infections urinaires sont les plus fréquentes mais ne sont en général pas graves (Belhaj, 2010).

Le développement d'une IN dépend de trois éléments principaux, la présence des microorganismes pathogènes dans le milieu hospitalier, l'hôte susceptible (patient Immunodéprimé) et le mode de transmission. Bien qu'il soit difficile de distinguer entre les sources d'infections endogènes et exogènes, plusieurs autres facteurs peuvent jouer un rôle majeur dans la survenue des IN tels que l'âge du malade, les pratiques thérapeutiques, l'infrastructure hospitalière, les vecteurs de transmission (l'air et les insectes), les visiteurs et les aliments contaminés, etc...(Gassier, 2006).

I.6.2- Les bactéries les plus fréquemment impliquées dans l'IN

Parmi les bactéries à Gram négatif, la famille des Enterobacteriaceae est la plus représentée, et les genres *Pseudomonas* et *Acinetobacter* ont également un impact conséquent. Pour les bactéries à Gram positif, on retrouve les genres *Staphylococcus* et *Enterococcus* (Wolk et Dunne, 2011).

Figure 1: Principales bactéries impliquées dans les infections nosocomiales (Botterel et al., 2004).

I.6.2.1- Les staphylocoques

Les staphylocoques sont des bactéries commensales de la peau et des muqueuses de l'homme et de l'animal. L'homme est le principal réservoir naturel de *Staphylococcus*, il présente un portage sain, principalement au niveau des cavités nasales (Wylie et al., 2005).

Les staphylocoques sont des cocci à Gram positif, isolés ou groupés en amas, immobiles, non sporulés, parfois encapsulés, à catalase positive et oxydase négative. La production d'une Coagulase, d'un pigment caroténoïde jaune doré et la présence d'une protéine A de paroi caractérisent *S.aureus*. Les autres espèces sont regroupées sous le terme de staphylocoques à Coagulase négative (SCN), dont le représentant principal est *S. epidermidis* (Mee- Marquet et al., 2004).

Le *S. aureus* est l'un des principaux pathogènes associés aux infections nosocomiales. Il est l'agent le plus fréquemment impliqué dans les bactériémies, responsable de nombreuses infections de site chirurgical et d'un nombre considérable de pneumonies nosocomiales (Michel, 2012).

Les constituants de la paroi des staphylocoques, les substances enzymatiques et toxiques produites, hydrolysant différents constituants cellulaires contribuent à la pathogénie des staphylocoques (Arvidson, 2000).

I.6.2.2-Les Bacilles à Gram négatif

Les bacilles à Gram négatif, occupent une place importante en pathologie humaine. Généralement, on les divise en deux grands groupes : les entérobactéries et les bacilles à Gram négatif non fermentaires (Liassine, 2000).

Les entérobactéries sont définies par un ensemble de caractères généraux communs. Ce sont des bacilles à Gram négatif, dont les dimensions varient de 6 µm de long et 0,3 à 1µm de large, ces dimensions varient suivant l'âge de la culture, l'espèce, la souche. Certaines espèces peuvent être très polymorphes, notamment le genre *Proteus*. Elles sont non sporulés, le plus souvent mobiles, mais immobiles dans le cas des bactéries des genres *Klebsiella*, *Shigella* et *Yersinia*. Elles sont aérobies-anaérobies facultatives et elles peuvent être cultivées sur les milieux ordinaires. Elles fermentent le glucose avec ou sans production de gaz et réduisent les nitrates en nitrites (sauf certaines souches d'*Erwinia* et *Yersinia*). Elles n'ont pas d'oxydase et possèdent une catalase (sauf *Shigella dysenteriae* sérotype 1). Ces caractères permettent de différencier les entérobactéries des autres bacilles à Gram négatif pouvant être cultivés sur des milieux ordinaires (Avril et al., 2000 ; Joly et Reynaud, 2002).

Les entérobactéries sont responsables de nombreuses infections communautaires et infections nosocomiales notamment les infections urinaires, les gastro-entérites sévères, les infections respiratoires...etc (Gueye, 2007).

I.6.2.3- *Pseudomonas aeruginosa*

P.aeruginosa se présente comme un fin bacille fin à Gram négatif de (0.5x3µm), asporulé et acapsulé, mobile grâce à une ciliature polaire, il possède souvent des granulations plus fortement colorées (Hafiane , 2008).

P.aeruginosa est une bactérie chimio-organotrophe, réduisant les nitrates en nitrites, elle possède deux pigments caractéristiques: la pyoverdine et la pyocyanine et est caractérisée par sa résistance aux antiseptiques et aux antibiotiques (Avril et al ., 1992).

P. aeruginosa est ubiquitaire dans l'environnement et peut être commensale du tube digestif. Dans l'environnement, elle est trouvée dans le sol, dans l'eau, à la surface des plantes et des animaux. En milieu hospitalier, *P. aeruginosa* est parfois retrouvée dans les solutions aseptiques et sur les instruments tels que les cathéters, les sondes, ou encore dans les canalisations, les lavabos (Wolfgang et al ., 2003).

P. aeruginosa est doté d'un véritable arsenal de facteurs de virulence qui sont, soit directement associés à sa cellule (flagelle, pilli, lipopolysaccharide, alginate), soit excrétés dans le milieu extracellulaire (exotoxines, exoprotéases, hémolysines et chromophores) (Richard, 2005).

P.aeruginosa est reconnue comme un pathogène nosocomial majeur chez les patients immuno-compromis ou affaiblis (Mandell, 2005; Mesaros et al ., 2007). Elle est à l'origine de 16 % des cas de pneumonies hospitalières et de 12 % des infections urinaires nosocomiale (Berthelot et al., 2005 ; Adjidé et al.,2006).

I.6.2.4-*Acinetobacter baumannii*

A.baumannii est un coccobacille à Gram négatif, non fermentant, aérobie stricte, asporulé, parfois capsulé, immobile, possède une catalase positive et dépourvu d'oxydase. C'est une bactérie ubiquitaire, pouvant isolée à partir du sol, de l'eau, des animaux et de l'homme et capable d'utiliser une grande variété de substrats comme source d'énergie (Giamarellou et al ., 2008).

A.baumannii s'est imposé comme un pathogène hospitalier, responsable de nombreuses Infections nosocomiales (septicémies, méningites, suppurations diverses, infections urinaires, Pneumopathie), causant de réel les difficultés thérapeutique du fait de sa capacité à développer plusieurs mécanismes de résistance à de nombreux antibiotiques (Baron et al ., 1995).

I.6.2.5- Les Streptocoques

La famille des Streptococaceae regroupe les genres : *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*. Rassemblant des cocci Gram positif souvent disposés en chaînettes. Les caractères biochimiques sont particulièrement intéressants: l'absence de catalase, cette particularité permet de différencier *Staphylococcus* de *Streptococcus* (Fauchère, 2002).

La première classification des streptocoques est basée sur l'aspect de l'hémolyse : les Streptocoques bêta – hémolytique : lyse complète des hématies, les Streptocoques alpha – hémolytique : lyse incomplète, les Streptocoques non hémolytiques et autre qui est basée sur des critères immunologiques. Ils sont responsables de plusieurs infections humaines entre autres : des affections cutanéomuqueuses variées, la méningite néonatale, l'abcès du cerveau, l'endocardite ou la gangrène, des septicémies (Fauchère, 2002).

I.7-La résistance des bactéries isolées dans l'environnement hospitalier

La résistance bactérienne aux antibiotiques (ATB) est en perpétuelle évolution. Cette résistance bactérienne est liée essentiellement à un usage excessif des antibiotiques. Les bactéries pour faire face à la pression de sélection exercée par les antibiotiques utilisent des parades leur permettant de s'adapter aux conditions hostiles de leur environnement (Ben redjeb et al ., 2000).

Les entérobactéries ont la capacité de produire des bêta-lactamases, notamment les Bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) (Mayer et Opal, 2000). Le terme BLSE a été proposé pour la première fois en 1988 pour distinguer les β - lactamases plasmidiques donnant la résistance aux céphalosporines à large spectre à savoir les céphalosporines de 3^{ème} et 4^{ème} génération (C3G et C4G) (Goldstein et al ., 1993).

Les souches d'*Acinetobacter baumannii* et *P.aeruginosa* sont responsables d'infections difficiles à traiter, et elles sont souvent naturellement résistantes à de nombreuses familles antibiotiques, notamment les β -lactamines tels que les pénicillines du groupe A, les céphalosporines de 1^{ère} de 2^{ème} et parfois 3^{ème} génération, les tétracyclines et quinolones (acide nalidixique). La résistance acquise de ces souches confère un haut niveau de résistance vis-à-vis aux β -lactamines à large spectre (imipenème) et aux aminoglycosides (gentamycine et amikacine) (Fauchère, 2002).

Le *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) est l'une des principales causes d'infection résistante en milieu hospitalier. Pour considérer *S. aureus* comme étant un SARM, il doit résister à la concentration minimale inhibitrice (CMI) d'oxacilline supérieure ou égale à 4 mg/L (Keeling et al., 2006).

La première résistance des entérocoques a été décrite pour la première fois en 1986, elle a été représentée chez *E. faecium* et *E. faecalis* résistant aux glycopeptides notamment la vancomycine (Courvalin, 2006).

I.8-Prévention des infections nosocomiales :

L'hygiène hospitalière est une discipline médicale qui a comme objectif la lutte contre les infections nosocomiales, Elle repose sur des recommandations établies en ce qui concerne :les professionnels, les actes de soins, les dispositifs médicaux, les aspects hôteliers et

logistiques (circuits, entretien, travaux, linge, déchets...) (Reed, 2009).

Le risque de contamination nosocomiale, aux centres de santé reste notablement élevé. Donc le protocole d'hygiène et d'asepsie doit être une démarche systématique que toute personne doit appliquer quotidiennement (Reed, 2009).

II.1-Hygiène hospitalière

L'hygiène hospitalière est l'ensemble des mesures systématiques et individualisées permettant de prévenir les infections nosocomiales. Les mesures systématiques sont des précautions d'hygiène à prendre automatiquement dont notamment la maîtrise de l'environnement du patient, la conception architecturale de l'établissement qui s'apprête à l'application des principes d'hygiène, le choix des équipements techniques et biomédicaux les plus appropriés vis-à-vis de l'hygiène, les comportements individuels et collectifs, l'hygiène des locaux, l'hygiène du matériel dont la désinfection et la stérilisation des instruments de travail (Chouitar, 2004 ; Fikri Ben Brahim, 2006).

Les mesures individualisées sont à prendre au cas par cas selon le patient concerné ou la situation de l'hôpital (malade contagieux, malade immunodéprimé, épidémie dans un service) (Chouitar, 2004 ; Fikri Ben Brahim, 2006).

L'hygiène de l'environnement c'est d'abord l'hygiène de l'environnement de personne malade. Cet environnement concerne tout ce qui, de près ou de loin, concourt à la prise en charge d'un malade durant son hospitalisation, du hall d'accueil au bureau de sorties. Cela concerne l'unité d'hospitalisation mais l'unité médico-technique également (consultation, exploration fonctionnelle, bloc opératoire), les installations assurant l'alimentation, le traitement de la ligne ou celui des déchets, etc. (Raoult, 2004).

C'est également l'hygiène de toutes les surfaces (sols, murs, table, chariots de transport, chaises, etc.) et bien évidemment l'hygiène des soins infirmiers ; cette hygiène de l'environnement concerne également l'eau qui circule à tous les niveaux de l'hospitalisation (eau des salles de bains, eau des lavabos de blocs opératoires, circuit d'eau chaude, eau de piscines de rééducation (Raoult, 2004).

II.1.1-Hygiène des personnels

Il existe des précautions d'hygiène de base appelées « précautions standards » qui doivent être appliquées pour tout patient, quel que soit son statut infectieux, afin d'assurer une protection systématique de tous les patients et du personnel vis à vis du risque infectieux.

Ces précautions standards regroupent les indications de lavage ou de désinfection des mains, le port des gants, de sur blouses ou de masques. Elles précisent aussi les conduites à avoir devant du matériel ou des surfaces souillées, le transport des prélèvements biologiques, de linge souillé et les premières mesures à prendre en cas de contact avec du sang ou des liquides biologiques (Recommandation 52 des 100 recommandations, 1999) (CTNIN, 1999).

II.1.2-Hygiène des locaux

L'objectif de l'entretien des locaux en milieu hospitalier est double. Il s'agit d'une part d'assurer la propreté des locaux et donc de participer à l'image de l'hôpital et à la qualité de l'accueil. D'autre part, l'entretien des locaux participe à la prévention du risque infectieux environnemental et permet de limiter la transmission des germes. Il doit tenir compte de la diversité des locaux hospitaliers (Rouch, 2009).

Le guide du bio nettoyage réalisé par la commission Centrale des Marchés en 1991 classe ainsi les locaux en quatre zones selon le risque infectieux encouru par le patient. Chaque établissement, en lien avec son Comité de lutte contre les infections nosocomiales (CLIN) peut adapter cette classification (Rouch, 2009).

L'hygiène des locaux est réalisée par action antimicrobienne avec un désinfectant et qui touche l'air ambiant, les surfaces et l'eau, la literie. Elle est constituée de la désinfection du sol et de plafond, la désinfection des murs surtout de chambre du malade et salle d'opération, la désinfection des cuvettes des toilettes et des baignoires. Les produits utilisés peuvent être désinfectants liquides qui sont très souvent associés à des détergents ; des sprays utilisés par pulvérisations dirigés vers les surfaces verticales ainsi que les rayons UV (Chettas et Merabet.,2000).

II .1.3- Hygiène du matériel :

On entend par dispositif médical « tout instrument, appareil, équipement, matière, produit, à l'exception des produits d'origine humaine, ou autre article utilisé seul ou en association, y compris les accessoires et logiciels intervenant dans son fonctionnement. Les dispositifs médicaux réutilisables sont :

- soit des dispositifs médicaux ne nécessitant pas d'être stériles et ils peuvent être réutilisés après une procédure incluant obligatoirement au minimum un nettoyage.
- soit des dispositifs médicaux qui doivent impérativement être stériles au moment de leur utilisation et dans ce cas ils doivent subir un traitement de stérilisation ou de désinfection de haut niveau selon les matériaux qui les constituent (Darbord et al.,2003).

II .1.4- Hygiène du linge et de la literie :

Le circuit du linge sale et du linge propre doit être bien défini et suivre les recommandations émises à tous les stades, allant de la manipulation et du tri au conditionnement et stockage et transport, lavage et séchage (CCLIN Ouest, 2002). Il existe un

circuit de linge sale et un circuit de linge propre. Dans les établissements de soins, le circuit de linge comprend 5 étapes :

- La collecte du linge souillé dans tous les secteurs de soins, au niveau des plateaux techniques ou dans les unités logistiques ;
- le transport de tout le linge vers les services de blanchisserie de l'établissement.
- le traitement du linge ramassé ;
- le retour du linge vers les unités de soins ou les services ;
- le stockage du linge propre (Raoult, 2004).

II .1.5-Hygiène de l'air

Le traitement de l'air dans les établissements de santé doit répondre à deux exigences principales : l'hygiène des locaux et le confort et la sécurité des patients et du personnel. La maîtrise de la contamination d'une salle propre exige de prendre en compte certains éléments fondamentaux lors de la conception, tels que le niveau de contamination de l'air ambiant, le système de pression, le taux de renouvellement d'air, la maîtrise de la contamination apportée par le personnel, le matériel ou les produits et la maintenance de l'installation. La protection vis à vis des contaminants provenant de l'extérieur passe par la maîtrise des pressions relatives et la filtration de l'air. L'élimination des contaminants émis à l'intérieur de la salle propre par le personnel, le matériel ou les produits est assurée par le renouvellement d'air, le nettoyage et la désinfection des installations (Huart, 2011).

Le traitement de l'air peut se faire soit par ventilation par la mise en mouvement des masses d'air, soit par climatisation visant à créer, dans un espace traité, des conditions d'ambiance assurant le confort des occupants de cet espace ou qui permet d'obtenir un air confortable et hygiénique ; ou traitement par conditionnement (Figarella et *al.*, 2001).

Le conditionnement permet d'obtenir un air stérile filtré à travers des filtres absolus, ou filtres à "très haut efficacité" ou un air "stérile" distribué en flux laminaire distribué en courant parallèles de manière à éviter les turbulences génératrices de biocontaminations (Figarella et *al.*, 2001).

II .1.6-Hygiène des surfaces

Le nettoyage est le processus d'élimination des corps étrangers d'une surface ou d'un objet, il implique à la fois des procédés mécaniques et l'utilisation de détergents avec l'eau. Le nettoyage seul peut diminuer la charge microbienne sur une surface et s'il est utilisé en association avec un désinfectant, conduit à la réduction significative de la charge microbienne en un temps plus court (Hota, 2004).

Le nettoyage des surfaces a deux fonctions principales : d'une part, non microbiologique, améliore ou rétablit l'aspect, maintient la fonction et évite toute détérioration de la surface et d'autre part, microbiologique, afin de réduire le nombre de microorganismes présents ainsi que toutes les substances qui favorisent leur croissance ou qui peuvent diminuer l'efficacité du procédé de désinfection/stérilisation (Dancer, 2004).

Les surfaces doivent être nettoyées et désinfectées quotidiennement ou plusieurs fois par jour dans certains locaux. Deux techniques sont généralement proposées :

- Soit un « bionettoyage en trois temps » qui impose une étape de nettoyage utilisant un détergent, une étape de rinçage à l'eau claire suivie de l'application d'un désinfectant ;
- Soit le « bionettoyage en un temps » avec un produit dit détergent-désinfectant qui s'utilise en une seule application (Rouillon et *al.*, 2006).

II.2-Les méthodes de stérilisation

La prévention des infections contractées à l'hôpital (nosocomiales) constitue l'un des objets majeurs de tous les établissements de santé (Bouaziz S. et Ramdane A., 2005).

Le résultat de la stérilisation dépend de la qualité de chacune des étapes qui précèdent la stérilisation proprement dite (les étapes préparatoires). Le but de ces étapes préalables est de réduire le nombre de germes présents sur l'objet à stériliser et de faciliter l'étape suivante. Les différentes étapes à mettre en œuvre sont : la décontamination, le nettoyage, le rinçage, le séchage, le conditionnement et l'étiquetage. On ne stérilise que ce qui est propre et sec. La qualité de stérilisation dépend donc directement de celle de la décontamination et du nettoyage. Ces deux étapes sont fondamentales (Dominique et *al.*, 2013).

- La décontamination (pré-désinfection) :

La décontamination est le premier traitement à effectuer sur les objets et matériels souillés dans le but de diminuer la population de micro-organismes et de faciliter le nettoyage ultérieur. Pratiquée d'emblée, elle vise tout d'abord à éliminer les souillures visibles et comporte l'essuyage externe avec des compresses ou du papier à usage unique et plus au moins le rinçage abondant à l'eau du réseau (Dominique et *al.*, 2013).

La pré-désinfection a également pour but de protéger le personnel lors de la manipulation des instruments et d'éviter la contamination de l'environnement. C'est l'étape indispensable avant toute désinfection ou stérilisation (Gerard, 2005).

-Le nettoyage

Le nettoyage élimine « tout ce qui se voit », c'est-à-dire les salissures, véritables gîtes pour bactéries, et permet d'atteindre un niveau minimal de contamination indispensable à une stérilisation correcte. Il associe une action mécanique (décollement des salissures), une action chimique (solubilisation des souillures) et une action thermique (accélération optimale de la vitesse de nettoyage de 45 à 60°C). Le nettoyage peut être manuel pour le matériel ne pouvant être lavé en machine ou réalisé en machine (Gerard, 2005).

-Le rinçage et le séchage

Le rinçage a pour but d'éliminer toutes les traces résiduelles de détergent ou de désinfectant. L'eau utilisée pour le rinçage ne doit être contaminante ni sur le plan physicochimique, ni sur le plan bactériologique. Il est conseillé d'effectuer un rinçage final avec une eau spécialement traitée (deminéralisée) (Dominique et al., 2013).

Le séchage empêche la constitution d'un milieu humide favorable à la prolifération bactérienne. Il influence sur la qualité de la stérilisation à l'autoclave. Il est effectué au moyen d'un chiffon propre et non pelucheux. Les instruments creux et tuyaux sont séchés à l'air comprimé médical (Dominique et al., 2013).

-L'emballage ou le conditionnement

Le conditionnement est la mise sous emballage des dispositifs médicaux. Il a pour but d'interdire l'entrée des micro-organismes tout en autorisant le passage de l'agent stérilisant. Il maintient l'état stérile jusqu'à l'emploi en protégeant son contenu de toute contamination extérieure. Les conditionnements doivent être adaptés au mode de stérilisation (Ruty, 1998).

II.2.1- Stérilisation

La stérilisation est l'opération appliquée à un produit ou à un objet pour le rendre stérile, c'est à dire débarrasser de tous les microorganismes vivants qu'elle que soit leur nature. Le résultat obtenu, ou état de stérilité, est durable si le matériel est conservé stérile. La production d'un objet stérile est le résultat d'une démarche globale qui concerne les étapes avant, pendant et après la stérilisation. Elle doit s'inscrire dans un système qualité lié à une obligation de résultat. La stérilisation prend place dans la lutte pour la prévention des IN (Hugard, 2003).

Le choix du procédé de stérilisation est en fonction du matériel à stériliser. On ne stérilise que ce qui est propre (Maiga, 2003). Il existe plusieurs modes de stérilisation

- **Stérilisation thermique :**

- Stérilisation par la chaleur sèche (Poupinel):

Dans le stérilisateur à air chaud, le Poupinel, l'oxygène de l'air est porté à une température élevée qui provoque la dénaturation des protéines bactériennes par oxydation, et il faut habituellement de 2 à 3 heures à 160°C afin que la température soit atteinte au cœur de la charge, le temps étant décompté à partir du moment où la température a atteint le plateau thermique. Le Poupinel est peu fiable. L'usage du Poupinel tend à disparaître, du moins dans les grandes structures au profit de la stérilisation à la vapeur d'eau (Ruty, 1998).

-Stérilisation par la chaleur humide (Autoclave) :

Le premier stérilisateur à vapeur à usage hospitalier a vu le jour en 1881, il s'agissait alors d'un stérilisateur portable de 6 litres, chauffé à l'alcool. La stérilisation par la vapeur d'eau est le procédé de référence pour la stérilisation en milieu hospitalier. L'autoclave est un appareil à pression de vapeur d'eau. L'action conjuguée de la vapeur d'eau et de la température (température supérieure à 120°C) provoque la dénaturation puis la mort des micro-organismes (bactéries, virus,...) présents sur ou dans le matériel (y compris les Agents Toxiques Non Contaminant, ou ATNC, comme le prion, si un cycle spécifique est réalisé) (Gerard, 2005).

- **Stérilisation chimique :**

-La stérilisation par l'oxyde d'éthylène :

L'oxyde d'éthylène compte parmi les gaz stérilisants le plus efficace. L'oxyde d'éthylène est un gaz au pouvoir bactéricide, virucide et sporicide puissant par dénaturation des acides nucléiques et des protéines des micro-organismes. C'est un procédé chimique de stérilisation à basse température (55°C) applicable à des objets thermosensibles qui ne supportent ni la chaleur sèche, ni la chaleur humide (matériel électronique, caméras, microscopes, appareils photos,...). Utilisée pour le matériel thermosensible (caoutchouc), la stérilisation par l'oxyde d'éthylène est un mode de stérilisation contraignant, pratiqué uniquement en service spécialisé (unité centrale de stérilisation et surtout en industrie). Il nécessite une installation particulière et d'importantes précautions. Il est toxique pour le personnel par inhalation et par contact. Il est toxique pour les malades par voie entérale et par réactions avec différents corps chimiques. La stérilisation à l'oxyde d'éthylène ne peut être utilisée que si aucun autre moyen approprié n'existe (Yakar, 1998).

-La stérilisation par le formaldéhyde gazeux (formol) :

c'est un agent de stérilisation en surface, ne pénétrant pas en profondeur à l'inverse de l'oxyde d'éthylène. Il est de plus corrosif et sa désorption se poursuit après stérilisation.

II-2-2-La désinfection

« La désinfection est une élimination dirigée contre les germes ; destinée à empêcher la transmission de certains micro-organismes indésirables en altérant leur structure ou leur métabolisme, indépendamment de leur état physiologique ». La désinfection a pour objectif de réduire les microorganismes (bactéries, virus, champignons) présents sur des objets, et des surfaces verticales ou horizontales ex : eau de javel (Aggoune et al ., 1996).

I-Réponses au questionnaire

➤ Les procédés de nettoyage au niveau des différents services de l'hôpital :

Le nettoyage au niveau des différents services de l'hôpital se fait selon la procédure suivante :

Pour le sol un mélange d'eau et d'eau de javel est versé par terre. On laisse agir 10 minutes minimum, on lave le sol à l'eau et au savon liquide (Isis gel) puis on rince. Enfin, on verse du sanibon et on passe un coup de chiffon.

Pour les surfaces et les murs, les différents services utilisent le nettoyant désinfectant multi surface Anios qui est une mousse détergente désinfectante formulée sans alcool ni parfum. Il est destiné au nettoyage et à la désinfection des surfaces : paillasse, plans de travail, mobilier, tables à langer, murs...à large efficacité désinfectante y compris sur les micro-organismes résistants. Le séchage est rapide et sans traces.

Ce produit est conforme aux produits de nettoyage pouvant entrer en contact avec les denrées alimentaires (Arrêté du 08 septembre 1999).

➤ La fréquence de nettoyage

Le nettoyage se fait 2 fois par jour ; matin et soir. Exception faite pour le bloc opératoire car le nettoyage dans ce dernier dépend du type de bloc :

Si bloc d'urgence ; le nettoyage dépendra du nombre de malades opérés.

Si bloc programme ; le nettoyage se fait 1 fois après l'intervention.

➤ Les heures de nettoyage

Chaque jour à 7 h le matin et à 15 h après la visite.

➤ Les produits utilisés pour le nettoyage : Eau de Javel, savon liquide Isis et sanibon.

➤ La procédure de stérilisation du linge des différents services

La procédure est faite suivant un circuit bien précis :

- ✓ L'entrée du linge sale (circuit sale) par une porte.
- ✓ Prélavage à l'eau seulement.
- ✓ Lavage à l'eau de Javel et savon spécial machine.
- ✓ Séchage.
- ✓ Repassage, pliage et dépôt du linge sur des étagères.
- ✓ Sortie du linge (circuit propre) par une autre porte.

Cette procédure se fait 2 fois par jour matin et soir.

Pour le linge avec des taches de sang anciennes qui ne disparaissent pas avec la procédure habituelle, ce dernier subit d'abord une étape avant le pré-lavage comme suite : Le linge est déposé sur le sol, on lui ajoute de l'eau de Javel pure. On frotte et on le met en machine pour suivre la suite les étapes citées ci-dessus.

Une autre procédure s'ajoute au linge du bloc opératoire, ce dernier qui se constitue surtout de casaques et de champs dont différents modèles ; sont transportés dans des sacs à la lingerie pour être lavés. Une fois le lavage fait, les champs seront mis dans des tambours et stérilisés dans les autoclaves à une température de 134°C/5m. Après stérilisation les tambours sont stockés sur des étagères dans un local de stockage situé juste après la chambre de stérilisation. Cette procédure se fait 6 à 7 fois par jour.

➤ **La procédure de stérilisation**

- ❖ **de l'air du bloc opératoire** : la stérilisation de l'air se fait par une maintenance automatique selon les normes internationales : air filtré + UV après nettoyage et désinfection.
- ❖ **des couveuses (service de néo-natologie)** : la stérilisation des couveuses après la sortie du bébé se fait par le lavage avec des produits spéciaux *Surfa'Safe* Premium qui est un détergeant désinfectant formulé sans alcool.

II. Prélèvements

Durant la période de stage allant du 06 avril au 11 mai 2017, 111 prélèvements sont recueillis dont 40.54% (45/111) prélèvements sont issus de l'air, 37.84% (42/111) des prélèvements issus des surfaces et 21.62% (24/111) prélèvements issus du linge à partir de différents services (pédiatrie (néonatalogie), oncologie, réanimation et bloc opératoire) de l'hôpital Mohamed Boudiaf de Bouira.

Tableau VI : Le tableau VI regroupe le nombre de prélèvements effectués ainsi que les pourcentages au niveau de chaque service.

Tableau VI : Nombre total de prélèvements par service.

Service	Nombre de prélèvements Air, surfaces, linge	Taux de prélèvements
Bloc opératoire	37	33.33%
Oncologie	32	28.84%
Pédiatrie (néonatalogie)	27	24.32%
Réanimation	15	13.51%
Total	111	100%

III. Isolement et identification des souches bactériennes

Les prélèvements ont été ensemencés sur différents milieux d'isolement. Les colonies qui possèdent les caractéristiques culturelles et morphologiques, permettant de suspecter leur appartenance à un groupe bactérien, sont retenues et subissent d'autres tests d'identification, à savoir un examen microscopique après coloration de Gram et des tests d'identifications biochimiques (catalase, oxydase, galerie biochimique classique).

L'analyse des prélèvements, sur la base de caractères culturels, morphologiques et biochimiques a permis d'identifier 84 isolats positifs sur les 111 prélèvements soit 75.67% appartenant à différents groupes bactériens : Staphylocoques avec 60.71%(51/84), entérobactéries avec 26.19% (22/84), streptocoques avec 09.52% (8/84) et bactéries Gram négatif non fermentaire (*Pseudomonas* et *Acinetobacter*) avec 3.57% (3/84) (figure 2).

Figure 2 : Nombre total de souches bactériennes isolées dans tous les services

III.1. Isolement et identification des Staphylocoques

Aspect des colonies

Sur le milieu Chapman, les colonies présentant l'aspect macroscopique caractéristiques du genre *Staphylococcus* ont été prélevées. Sur ce milieu, les colonies de *Staphylococcus* apparaissent souvent jaunes dorées dans le cas où le mannitol est fermenté, si non les colonies sont de couleur blanche. Les colonies sont arrondies à bords régulier de 1 à 2 mm de diamètre après 48h d'incubation à 37° (Figure 03 et 04).



Figure 03 : Photo colonies de *Staphylococcus aureus* sur milieu Chapman

Coloration de Gram

La coloration de Gram des colonies isolées sur milieu Chapman, nous a permis de donner l'aspect des bactéries, qui est sous la forme de cocci en grappe de raisin (Figure 05).

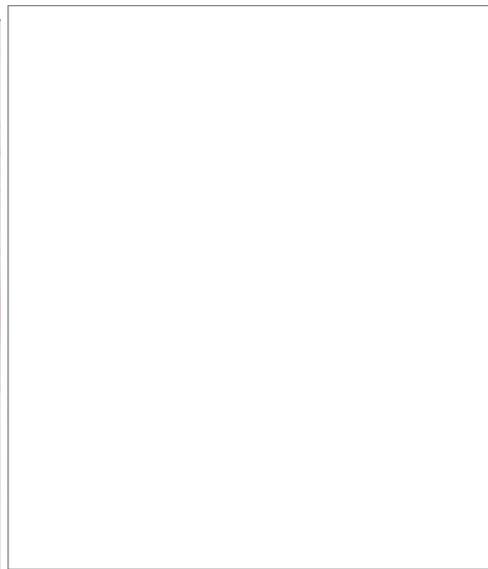


Figure 04 : Photo colonies de *Staphylococcus epidermidis* sur milieu Chapman

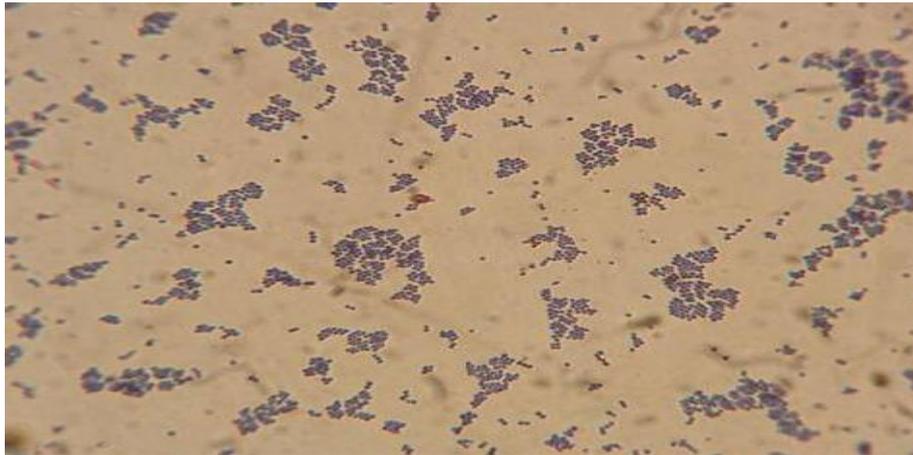


Figure 05 : Photo de la coloration de Gram positif des staphylocoques

Test de catalase

Les tests de catalase étaient positifs pour l'ensemble des bactéries à Gram positif.

Identification biochimique par le test staphaurex

Le test staphaurex nous a permis de mettre en évidence les *staphylococcus aureus* possédant le facteur d'agglutination et la protéine A des *staphylococcus epidermidis* qui ne les possèdent pas.

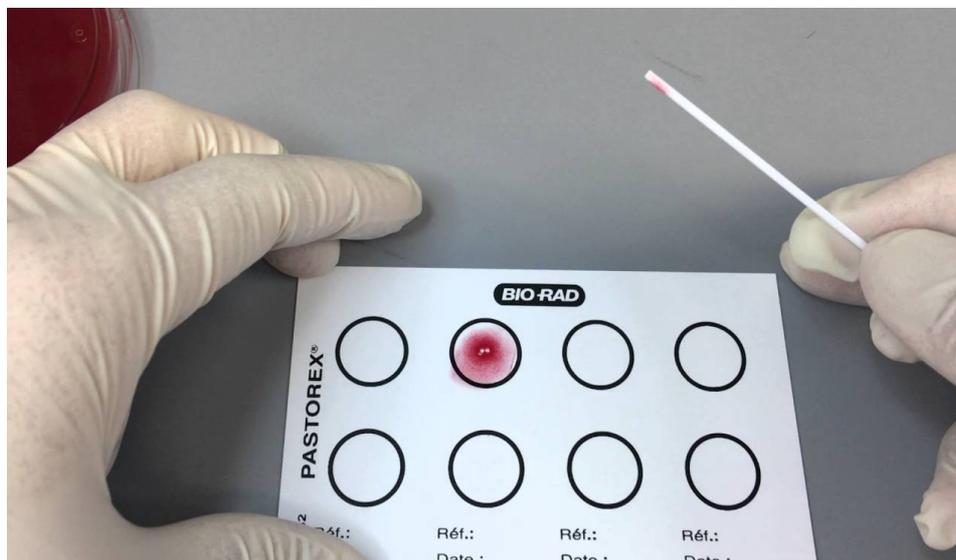


Figure 06 : Identification des staphylocoques par le test staphaurex

III.2-Isolement et identification des bacilles à Gram négatif

Aspect des colonies

Sur le milieu Mac Conkey, les colonies d'entérobactéries sont habituellement lisses, brillantes, de structure homogène (type « smooth » ou S). Cet aspect peut évoluer après cultures successives pour donner des colonies à surface sèche rugueuse (type « rough ou R ». Les *Klebsiella* forment des colonies souvent très muqueuses, larges et luisantes. Les *Proteus* ont tendance à envahir la gélose et à y former un tapis uniforme (Drame ,2001). De plus, Mac Conkey contient un critère de différenciation, le lactose dont l'utilisation est révélée par l'indicateur coloré du milieu, le rouge neutre. Il vire au rose en milieu acide. (Figures 07.08)

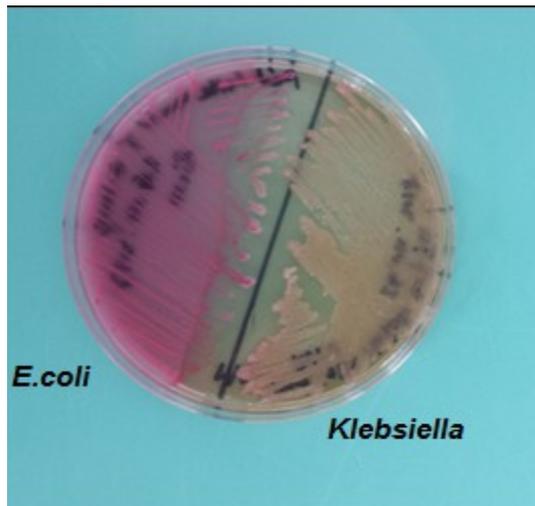


Figure 07: Photo colonies lactose + sur milieu Mac Conkey



Figure 08 : Photo colonies lactose – sur milieu Mac Conkey

Coloration de Gram

La coloration de Gram des colonies isolées sur milieu Mac Conkey nous a permis de donner l'aspect des bactéries, qui est sous la forme de bacilles à Gram négatif (Figure 9).



Figure 09: Image de coloration de Gram (entérobactéries)

Identification par les tests biochimiques classiques

Les tests TSI, citrate, mannitol mobilité, uréase, indole, ONPG nous ont permis d'identifier particulièrement les bactéries de la famille des Enterobacteriaceae.(voir l'annexe 3).

III.3-Isolement et identification des *Pseudomonas aeruginosa*

Aspect des colonies

Après ensemencement sur la gélose Mac Conkey et incubation à l'étuve à 37°C en 24 heures *Pseudomonas* donnent des colonies lactose négative, « œuf sur le plat», les colonies apparaissent verdâtres (due à la production du pigment piocyanine) de 1 à 2 mm de diamètre et possèdent une odeur caractéristique (acacia ou seringa).

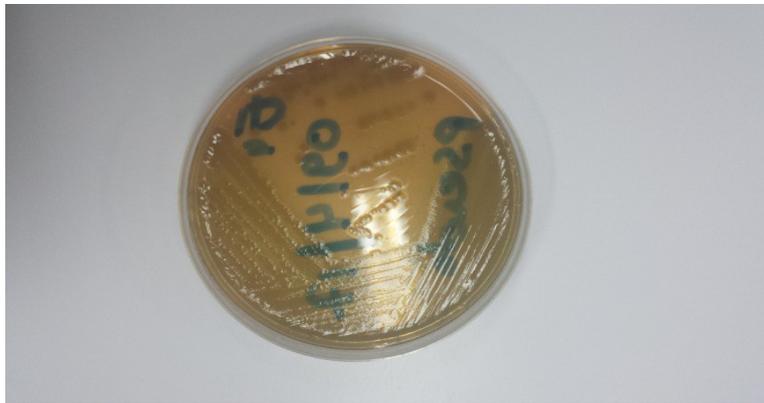


Figure 10: Photo de *Pseudomonas aeruginosa* sur milieu Mac Conkey

-Coloration Gram

La coloration de Gram des colonies isolées du milieu Mac Conkey nous a permis de voir des bacilles Gram négatif colorés en rose et fins droits (Figure 11).



Figure 11 : Image de coloration de Gram de *Pseudomonas aeruginosa*

-Test oxydase

P. aeruginosa possède une oxydase et une catalase positive (figure 12 et 13).



Figure 12: Test catalase *P.aeruginosa* (+)
(+)

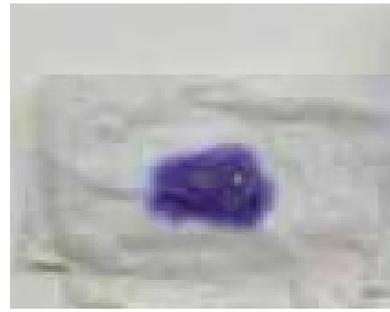


Figure 13: Test oxydase *P.aeruginosa* (+)

L'identification bactérienne réalisée à l'aide des galeries biochimique classique nous a permis de mettre en évidence les principaux caractères biochimiques des souches *P. aeruginosa* .

III .4-Isolement et identification des *Acinetobacter baumannii*

-Aspect des colonies

L'isolement des souches en milieu solide est obtenu sur les milieux dédiés aux bacilles à Gram négatif comme la gélose Mac Conkey. Les colonies apparaissent convexes, luisantes, blanchâtres, muqueuses, lactose négatif (Lambert, 2007).Le diamètre des colonies est de 0,5 à 2,0 mm après 24 heures d'incubation et de 2 à 4 mm de diamètre après 48 heures d'incubation à 37°C (Euzéby, 2010).



Figure 14 : Photo d'*Acinetobacter baumannii* sur milieu Mac Conkey

-Coloration Gram

La coloration de Gram des colonies isolées sur milieu Mac Conkey nous a permis de donner l'aspect des bactéries, qui est sous forme de diplobacilles à extrémité arrondie avec des formes coccoïdes et longues. (Figure 15)

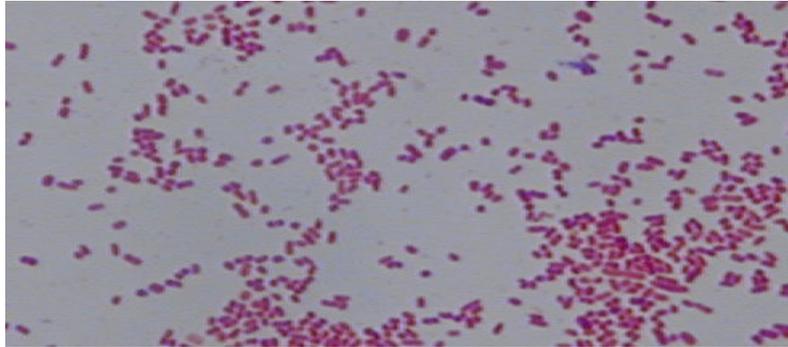


Figure 15: Image de coloration de Gram d'*Acinetobacter baumannii*

-Confirmation du test indole

Le test indole d'*Acinetobacter* révèle une réaction négative (absence d'anneau rouge) à l'ajout du Kovacs.

III.5-Isolement et identification des Streptocoques

-Aspect des colonies

Sur le milieu gélose au sang frais, les colonies de streptocoques incubées pendant 18-24 heures sont reconnues soit par l'hémolyse de type β (complète et à bords nets, détruisant totalement les globules rouges incorporés dans la gélose) qui entoure des colonies de petite taille soit par l'hémolyse de type alpha α se traduisant par une couleur vert très foncé de la gélose rouge au départ (Vangelder et al., 2002).

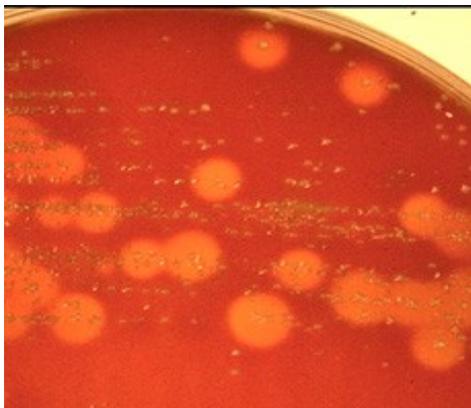


Figure16 : Photo de *Streptococcus* β hémolytique



Figure17 :Photo de *Streptococcus* α hémolytique

-Coloration de Gram

Le streptocoque est un cocci à Gram positif disposés par paires, isolés mais le plus souvent en chaînettes.

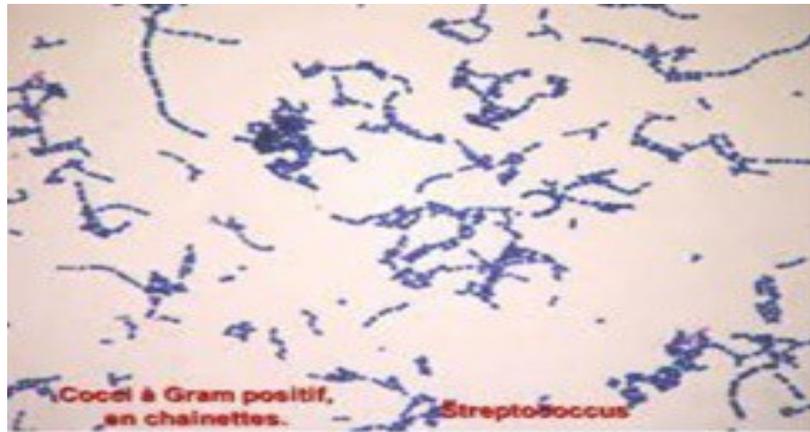


Figure 18 : Gram d'un *streptococcus sp* : cocci à Gram positif disposé en chaînettes

-Test catalase

C'est un test discriminatif qui permet de différencier les bactéries à Gram positif entre elles. Les streptocoques sont catalase négative.

VI. Résultats d'identification bactérienne

Les différentes espèces bactériennes isolées des quatre services sont représentées dans la figure 19.

Figure 19 : Répartition de toutes les souches isolées par service

VI.1-Résultats de l'analyse microbiologique de l'air des services à risques

Sur les 45 prélèvements de l'air, 09 prélèvements représentent la flore mésophile, 09 la flore fongique et 27 la flore bactérienne.

- L'étude quantitative est réalisée par numération des colonies sur la gélose nutritive et exprimée en UFC/4h.
- L'étude qualitative est réalisée par identification bactériologique de toute colonie ayant poussée sur les milieux sélectifs (Mac Conkey, Chapman, Gélose au sang frais) susceptible d'être incriminée dans un processus infectieux. Le tableau VII présente les différentes flores de l'air.

Tableau N°VII. Tableau des différentes flores de l'air

Service	FMAT (UFC)/4h	<i>S.aureus</i>	<i>S.epidermidis</i>	Streptocoques	Bacilles à Gram	Levures et Moisissures UFC
BOP (salle1)	49	présence	Absence	Absence	Absence	07
BOP (salle2)	87	Absence	Présence	Absence	Absence	11
BOP (Salle stérile)	34	Absence	Présence	Présence	Absence	05
Réanimation	134	Absence	Présence	Présence	présence	20
Pédiatrie (couveuse)	03	Absence	Absence	Absence	Absence	07
Pédiatrie (Salle des couveuses) Présence	68	Absence	présence	présence	présence	10
Pédiatrie (salle des malades)	231	Présence	Absence	Présence	présence	15
Oncologie (salle1)	235	Présence	Absence	Présence	présence	21
Oncologie (salle2)	136	Absence	Présence	Absence	Présence	28

VI.1.1- Etude quantitative de l'analyse de l'air

La méthode de sédimentation ne mesure pas de concentration en micro-organismes dans l'air mais bien le nombre d'UFC sédimentées par unité de temps (Pasquarella et *al.*, 2008).

Malgré le manque de précision de la technique utilisée, les résultats ont montré une flore totale et fongique importante en premier lieu au niveau du service d'oncologie (371 FMAT/49 champignons), puis celui de pédiatrie (302 FMAT/32 champignons) et enfin au niveau de réanimation (134 FMAT/20 champignons). Une charge importante aussi a été observée au niveau des différentes salles du bloc opératoire (170 FMAT/23 champignons) alors qu'elles doivent être stériles.

VI.1.2-Etude qualitative de l'analyse de l'air

D'après les isollements sur les milieux sélectifs (Mac Conkey, Chapman, Gélose au Sang Frais), les résultats ont montré une présence de bactéries pathogènes à savoir les staphylocoques dans tous les services ; d'entérobactéries en réanimation, dans les salles de

pédiatrie et dans la salle 1 d'oncologie et une présence remarquable d'autres germes notamment les streptocoques dans tous les services sauf dans les deux salles du bloc opératoire et la couveuse.

VI.1.3-Répartition des souches isolées dans l'air par espèce

18/84 souches de bactéries pathogènes ont été isolées et identifiées sur 45 prélèvements de l'air dont la répartition est de 33.33% (6/18) pour *Streptococcus sp* hémolytique, un même taux de 22.22% (4/18) pour *S. aureus* et *S.epidermidis*, 16.66% (3/18) pour *E. coli* et en dernier *K. pneumoniae* avec un taux de 5.55% (1/18). La figure ci-dessous montre la répartition des différentes espèces bactériennes.

Figure 20 : Répartition des souches de l'air par espèce

VI.1.4-Répartition des souches par service

Parmi les souches isolées en milieu hospitalier, le service de pédiatrie occupe la première place avec 33.33% (06/18) des souches isolées, suivi avec 27.78% (05/18) en oncologie, la figure suivante montre les différents taux de souches par service.

Figure 21. Répartition des souches de l'air par service.

Discussion des résultats de l'air

Au sein des établissements de soins, l'aérobiocontamination varie qualitativement et quantitativement en fonction de leur conception mais également d'un service à l'autre dans un même établissement en fonction du type de soins pratiqués et du statut des patients pris en charge (colonisés, infectés ou sains) (CTIN, 2002).

Dans cette étude, la présence en nombres variés d'une flore mésophile et fongique ainsi que la présence des staphylocoques, d'entérobactéries et de streptocoques au niveau des différents services à risque de l'hôpital de Bouira est peut être due à :

La durée de vie du staphylocoque dans l'air qui très est importante ainsi que le comportement du personnel (mouvement inutile, ouverture des portes) qui provoque l'agitation de l'air ce qui remet les germes en suspension (Mereghetti, 1998).

La desquamation de la peau du personnel est une source principale de contamination particulière de l'air. Cette desquamation est variable d'un individu à l'autre, en fonction du site anatomique et de l'activité. Ces squames (particules de peau liées au renouvellement de l'épiderme, des poils ou des ongles) sont souvent colonisées par la flore commensale de l'homme. La dispersion des squames augmente avec le nombre et les mouvements des individus présents dans la salle (Vichard, 2007).

Les particules et microorganismes apportés par l'air extérieur ou émis à l'intérieur des locaux sédimentent sur les supports inertes (surfaces, matériel, textiles). Lors d'une perturbation de ces supports, il y a remise en suspension dans l'air de particules contenant en général des bactéries ou des spores de champignons (ASPEC, 2008).

Les systèmes de ventilation naturelle et artificielle qui influencent la qualité de l'air ainsi que le nombre de micro-organismes pouvant être présents. Cela concerne les bactéries potentiellement pathogènes comme les streptocoques pyogènes et les staphylocoques dorés mais également pour les spores de moisissures (CSS, 2010).

Les voies respiratoires de l'homme renferment de nombreux microorganismes, et l'homme émet donc en permanence des particules qui contaminent son environnement. A l'intérieur des locaux, l'homme est considéré comme la principale source de microorganismes (Glélé et *al.*, 2009).

Non-conformité du nettoyage effectué : Sachant que le bloc est un endroit inaccessible aux personnels non concernés, on y utilise des filtres pour l'air et des désinfectants puissants tel qu'Anios par vaporisation qui permet une diminution de la contamination de celui-ci mais la présence d'une flore fongique et bactérienne importante peut être expliquée par : une mauvaise filtration de l'air, contamination de l'air par l'équipe opératoire, surplus d'oxygénation périopératoire, utilisation de désinfectants ; fongicides et bactéricides non puissants, ainsi que l'ouverture inutile des fenêtres et portes du bloc opératoire (Glélé et *al.*, 2009).

Sur les 84 souches identifiées dans l'air, 18 souches sont isolées au niveau des différents services de l'hôpital. La plupart des souches proviennent du service de pédiatrie néonatalogie (soit 33.33%).

La diversité microbienne de l'air de l'hôpital a été analysée en utilisant la technique de sédimentation sur l'ensemble des prélèvements. Cette approche nous a permis notamment d'identifier les populations microbiennes des différents services de manière globale. Les profils montrent une diversité des espèces (5 au total). On peut cependant noter des variations des pics soulignant des variations au sein des proportions des différentes espèces dans l'air.

En effet, à l'instar des données issues de la culture des micro-organismes, la microflore de l'air intérieur observé dans les services est dominée essentiellement par des espèces à Gram positif ce qui concorde parfaitement avec l'étude faite par Moletta-Denat (2011). Effectivement, nous avons isolé 44.44% de staphylocoques (8/18) et 33.33% de streptocoques (6/18) de l'air. Le *S. aureus* et le staphylocoque coagulase négative, premier et second micro-organismes les plus fréquemment rencontrés dans l'air, sont des résidents de la peau et des muqueuses (Wilson, 2007). La flore exogène de l'air est principalement des anaérobies, des bactéries Gram-positif dont les *Streptococcus* (Makary, 2013).

Cependant, 22.22% des isollements de l'air étaient représentés par des entérobactéries. On remarquera que les bacilles Gram négatif périssent rapidement, mais que le staphylocoque est beaucoup plus durable. On isole principalement des Cocci Gram positif, peu de BGN (Mirzaii, 2012).

VI.2- Résultats de l'analyse microbiologique des surfaces

Sur les 42/111 prélèvements de surfaces, 35.71% (15/42) concernent le bloc opératoire, 28.57% (12/42) le service d'oncologie, 19.05% (08/42) la pédiatrie et 16.67% (07/42) le service de réanimation.

L'étude quantitative est réalisée par numération des colonies sur la gélose nutritive et exprimée en UFC/25 cm².

L'étude qualitative est réalisée par identification bactériologique de toute colonie ayant poussé sur les milieux sélectifs (Mac Conkey, Chapman, Gélose au sang frais) susceptible d'être incriminée dans un processus infectieux.

Dans cette partie, l'étude qualitative et quantitative est faite pour chaque service.

VI.2.1-Bloc opératoire

Sur les 15/42 (soit 35.71%) prélèvements de surface effectués au niveau du bloc opératoire, 66.67% (10/15) représentent des sites de la salle stérile et 33.33% (5/15) représentent des sites de la salle septique. Le tableau présente les différents sites de prélèvements des surfaces du bloc opératoire.

Tableau N°VIII : Tableau des Résultats de l'analyse microbiologique des surfaces du bloc opératoire

Salles du BOP	Lieu de prélèvement	FMAT (UFC/25cm ²)	<i>S.aureus</i>	<i>S.epi-dermidis</i>	Stépto-coques	Bacille à Gram négatif	Champignons et levures
I. Salle du matériel stérile	II. sol	20	Absence	Absence	Absence	Absence	4
	mur+poignée de la porte	57	Absence	Absence	Absence	Absence	1
	table d'instruments	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence
	étagère d'instruments stérilisés	4	Absence	Absence	Absence	Absence	2
	- pince hémostatique, - pince ORL, - spéculums de Hartmann (diamètre 4, 5, 6 mm)	2	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence

Salle des matériels stériles	pince à disséquer à griffes, Farabeuf, écarteur	7	Absence	Absence	Absence	Absence	1
	kit ciseau chirurgie	1	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence
	boite instruments O.R.L	21	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence
	boite bipolaires	3	Absence	Absence	Absence	Absence	1
	les bipolaires électriques (bistouris électriques)	1	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence
III.	IX. Elect rocar diosc ope	115	présence	Absence	Absence	présence	3
IV.							
V.							
VI.	-Éclairage Berchtold chromophare b	5	présence	Absence	Absence	Absence	Absence
VII.	300 plafonnier urgence						
VIII.	- masque à oxygène						
Salle	-table opératoire	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence
	-table d'instruments						
	- mur	3	Absence	présence	Absence	Absence	1
	-interrupteur						
	-prises						
	-porte						
	-Sol	4	Absence	présence	présence	Absence	1

VI.2.1.1-Etude quantitative des souches isolées du bloc opératoire

Pour les établissements de santé, les niveaux de propreté microbiologique des surfaces des zones 3 et zones 4 sont définis par l'ASPEC-1999 (tableau IX).

Tableau IX : "Valeurs guides" hors activités, après nettoyage (adapté de l'ASPEC-1999)

	Zone à hauts risques infectieux (Zone 3)		Zone à très hauts risques Infectieux (Zone 4)	
	Bactéries	Moisissures	Bactéries	Moisissures
	Unité: UFC/25 cm ²			
Niveau d'action	25	1	10	1

Niveau d'alerte	10	1	5	1
cible	5	< 1	< 1	< 1

D'après les résultats des prélèvements des surfaces obtenus après l'isolement des germes au bloc opératoire dont le but est de suivre le niveau d'hygiène atteint à ce service, et en les comparant aux normes présentées dans le tableau IX ; on peut dire que :

Le niveau de propreté microbiologique du bloc opératoire ne répond pas vraiment aux exigences requises pour certains sites de prélèvement où on remarque un dépassement des normes (<10) de la FMAT notamment sur le mur, le sol et la boîte d'instruments de la salle stérile et l'électro-cardioscope de la salle septique. La présence d'une flore fongique dans les 2 salles n'est pas tolérée vue qu'elle dépasse des fois les normes (<1).

VI.2.1.2-Etude qualitative des souches isolées du bloc opératoire

La qualité de la prestation "entretien des locaux" concerne l'ensemble des surfaces et les équipements mobiliers dans les établissements de soins. Un niveau de propreté visuelle satisfaisant et un faible niveau de contamination des surfaces contribuent à la prévention de la lutte contre les infections nosocomiales. La démarche qualité est une stratégie globale.

On notera dans cette étude qu'une absence de germes pathogènes est confirmée dans la salle stérile dans tous les prélèvements cela sera dû au respect rigoureux des règles d'hygiène et de l'utilisation d'un système d'efflux laminaire ainsi que les UV ce qui n'est pas le cas pour la salle septique.

VI .2.1.2.1-Répartition des souches isolées par espèce sur les surfaces de la salle septique

06 souches de bactéries pathogènes ont été isolées et identifiées dans la salle septique. D'après la figure ci-dessous, *staphylococcus aureus* et *sataphylococcus épidermidis* partagent le même taux de 33.33% (2/6) suivi de *streptococcus sp* hémolytique β, et *Klebsiella pneumoniae* avec la même répartition (16.67%).

Figure 21.Répartition des souches isolées par espèce dans la salle septique

VI.2.2- Service réanimation

07 sites sur 42 (soit 16.67%) des prélèvements de surfaces ont été effectués au niveau du service de réanimation. Le tableau X présente les différents sites de prélèvements des surfaces du service réanimation.

Tableau N°X : Résultats de l'analyse microbiologique des surfaces du service réanimation

Lieu de prélèvement	FMAT UFC/ 25cm ²	<i>S.aureus</i>	<i>S.epidermidis</i>	Entérocoques	Bacille à Gram négatif	Bacille à Gram négatif oxydatif	Champignons et Levures UFC
Sol	1	Absence	Présence	Absence	Présence		2
Mur poignée	Absence	Présence	Absence	Absence	Présence		Absence
- table d'appareils - dinamapbleu - appareil pousse seringue	29	Présence	Absence	Absence	Présence		Absence
- masque à oxygène -bandeau de lit	2	Absence	Absence	Absence	Présence		1
-appareil de respiration	2	Absence	Présence	Absence	Présence		Absence
-lit - table d'instruments	41	présence	Absence	Absence	Absence		2
Appareil de ventilation	2	Absence	Absence	Absence	Présence	1	

VI.2.2.1-Etude quantitative des souches isolées du service de réanimation

Pour le contrôle des niveaux de propreté microbiologique des surfaces de réanimation, on se réfère toujours aux normes définies par l'ASPEC-1999 (tableau IX).

Sur les 07 prélèvements de surface qui ont été effectués au niveau de la réanimation et qui ont pour cible principale, les instruments et appareillages utilisés au sein de ce dernier afin d'évaluer l'état hygiénique de ces surfaces, les résultats ont révélé :

Une présence de flore mésophile dépassant les normes requises (< 25) sur quelques sites à savoir la table d'appareils, le lit et table d'instruments, et une présence fongique dans ce service est à signaler alors qu'elle doit être absente.

VI.2.2.2-Etude qualitative des souches isolées du service de réanimation

Dans ce service, on remarque une présence importante d'entérobactéries suivie de staphylocoques et enfin de bacille à Gram négatif oxydatif cependant on notera une absence totale de streptocoques dans ce service.

VI.2.2.2.1- Répartition des souches isolées par espèce sur les surfaces du service de réanimation

13/84 souches de bactéries pathogènes ont été isolées et identifiées dans ce service dont la répartition est la même pour *S.aureus* et *K. pneumoniae* avec un taux égal de 23.08% (3/13) suivi de *S. épidermidis*, *P.mirabilis* et *P.aeruginosa* avec un même taux de 15.38% (2/13). *E. coli* représente un taux de 7.69% (1/13). La figure ci-dessous résume les résultats.

Figure 23 : Répartition des souches par espèces dans le service de réanimation

VI.2.3-Service pédiatrie

08/42 (soit 19.05%) prélèvements de surface ont été effectués au niveau du service de pédiatrie néonatalogie. La répartition des prélèvements est comme suit : 50% (4/8) représentent des sites de la salle des malades, 37.5% (3/8) représentent des sites de la salle des couveuses et 12.5% (1/8) concerne la couveuse. Le tableau XI présente les différents sites de prélèvements des surfaces du service pédiatrie.

Tableau N°XI : Résultats de l'analyse microbiologique des surfaces du service pédiatrie néonatalogie

Salles de pédiatrie	Lieu de prélèvement	FMAT UFC/25 cm ²	<i>S.aureus</i>	<i>S.epidermidis</i>	strepto-coques	Bacille à Gram négatif	Bacille à Gram négatif oxydatif	Moisissures et champignons
Salle des malades	-sol	221	Présence	Présence	Présence	Présence		1
	-Mur -Poignée -porte	30	Présence	Absence	Absence	Présence		Absence
	-table de lit -table de chevet	24	Présence	Absence	Absence	Présence		1

	- berceau -lit -pied à perfusion	8	Absence	Présence	Absence	Présence	Absence
Salle des couveuses	-Sol	86	Absence	Présence	Absence	Présence	4
	- lavabo -poignée -porte	8	Présence	Présence	Absence	Absence	Absence
	-masque à O2 -appareil couveuse	49	Absence	Présence	Absence	Absence	Absence
couveuse	surface intérieure	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	1

VI.2.3.1-L'étude quantitative des souches isolées du service de pédiatrie néonatalogie

Les résultats des prélèvements des surfaces du service de pédiatrie néonatalogie montrent que la majorité des sites dans les deux salles (des malades et des couveuses) sont d'une hygiène non satisfaisante. La FMAT dépasse largement les normes (<10) (tableau IX) voire indénombrable. La présence de champignon dans ce service à risque n'est pas tolérable.

VI.2.3.2-Etude qualitative des souches isolées du service de pédiatrie néonatalogie

Dans ce service, on notera la présence de tous les germes staphylocoques, entérobactérie, entérocoques et bacille à Gram négatif oxydatif.

VI.2.3.2.1- Répartition des souches isolées par espèce sur les surfaces du service pédiatrie néonatalogie

D'après la figure ci-dessous, *S. epidermidis* est l'espèce la plus fréquemment isolée avec un taux de 31.25% (5/16), suivi de *S.aureus* avec 25% (4/16) suivi de *K.pneumoniae* 12.5% (2/16). Les autres espèces notamment *E. coli*, *Providencia sp*, *Shigella sp*, *Steptococcus sp* hémolytique alpha et *A. baumannii* partagent le même taux de 6.25% (1/16).

Figure 24 : Répartition des souches isolées par espèce des surfaces du service de pédiatrie néonatalogie

VI.2.4- Service oncologie :

12/42 prélèvements de surface (soit 28.57%) ont été effectués au niveau du service d'oncologie. 50% (6/12) sont des sites de prélèvement de la salle 2, 41.67% (5/12) représentent les sites de la salle 1 et 8.33% (1/12) sont des prélèvements d'instruments déposés sur une table du couloir. Le tableau XII présente les différents sites de prélèvements des surfaces du service d'oncologie.

Tableau N° XII : Résultats de l'analyse microbiologique des surfaces du service d'oncologie

Salles d'oncologie	Lieu de prélèvement	FMAT (UFC/25 cm ²)	<i>S.aureus</i>	<i>S.epidermidis</i>	Streptocoques	Entérobactéries	Champignons et levures
X. Salle 1	XI. - sol	2	Absence	Présence	Absence	Absence	Absence
	-Mur -poignée de porte -fenêtre	34	Présence	Absence	Absence	Absence	1
	-lit -bandeau tête de lit	indénombrable	Présence	Absence	Absence	Absence	1
	-pied à perfusion -disjoncteur -télécommande clim	1	Présence	Absence	Absence	Présence	8
	-porte de la salle 1 -interrupteur	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence
XII.		280	Présence	Absence	Absence	Présence	1
XIII.	XVIII. - sol						
XIV.	-Mur -poignée de porte -fenêtre	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence
XV.							

XVI.	-lit -bandeau tête de lit	11	Absence	Présenc e	Absence	Absence	1
XVII • Salle 2	-pied à perfusion -disjoncteur -télécommande clim	70	Absence	Présenc e	Absence	Absence	4
	-porte de la salle 2 -interrupteur	Absence	Absence	Présenc e	Absence	Présenc e	Absence
	-débitmètre de l'oxygène avec le bec -table de malade	7	Absence	Présenc e	Absence	Absence	4
Couloir	-table d'instruments +les instruments	8	Absence	Présenc e	Absence	Absence	2

VI.2.4.1-Etude quantitative des souches isolées du service d'oncologie

Les résultats de l'analyse microbiologique effectuée au sein de ce service montrent que certains sites dans la salle 1 et 2 sont d'une hygiène non satisfaisante et dont la norme de la FMAT (<25) (voire normes tableau IX) est largement dépassée notamment sur le mur et la poignée de porte de la salle 1 et le sol (flore totale indénombrable), et pied à perfusion de la salle 2. Par contre d'autres surfaces ciblées du service ne sont pas chargés en FMAT. La présence de champignons sur certains sites est à signaler.

VI.2.4.2 -Etude qualitative des souches isolées du service d'oncologie

Dans ce service, on notera la présence de deux souches uniquement : les Staphylocoques et les Entérobactéries.

VI.2.4.2.1-Répartition des souches par espèce sur les surfaces du service oncologie

13/84 souches sont isolées et identifiées dans ce service. Les résultats montrent que *S. epidermidis* est l'espèce la plus fréquemment isolée avec un taux de 46.15% (6/13), suivi par *S.aureus* avec un taux de 30.77% (4/13) et un taux égal de 7.69% (1/13) pour les autres espèces. Les résultats sont résumés dans la figure24.

Figure 24. Répartition des souches isolées par espèce du service d'oncologie

Discussion des résultats des surfaces

L'analyse microbiologique des différentes surfaces au niveau des différents services de l'hôpital de Bouira montre que :

Les microorganismes rencontrés sur les surfaces peuvent être issus de la flore endogène du personnel et des patients (flore cutanée résidente et de transit, flore buccale et nasopharyngée, flore intestinale, flore génito-urinaire). De nombreuses études ont montré que des bactéries responsables d'infections nosocomiales parmi lesquelles *Staphylococcus aureus* (Boyce, 2007), *Acinetobacter baumannii* (Enoch, 2008), et *Clostridium difficile* (Riggs, 2007) se retrouvent dans l'environnement de patients porteurs de ces bactéries. Dans ce cas, on retrouve principalement ces micro-organismes sur les surfaces et les objets que les travailleurs de la santé touchent fréquemment avec les mains.

Durant notre étude, 48 souches sont isolées et identifiées au niveau des différentes surfaces dont 33.33% souches issues de la pédiatrie néonatalogie, 27.08% issues de la réanimation. Un même taux a été observé en oncologie et 12.5% issues du bloc opératoire. La plupart des souches proviennent du service de pédiatrie dont 31.25% sont des entérobactéries, 27.08 % des *staphylococcus aureus* et 6.25% *Acinitobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa*. Selon Settouti, 2013, les bactéries résistantes sont courantes dans le milieu hospitalier en pédiatrie et en réanimation. Les plus fréquemment rencontrées sont les souches de *Staphylococcus aureus* et les entérobactéries plus particulièrement *Klebsiella pneumoniae* ce qui coïncide avec nos résultats dont 2 souches ont été isolées en pédiatrie et 3 en réanimation (Settouti, 2013).

D'après les résultats d'isolement, on a trouvé qu'au niveau des surfaces : *S.épidermidis* présente la majeure partie des germes isolés avec un pourcentage de 31.25% suivi en deuxième position de *S.aureus* (doré) avec un pourcentage de 28.08%. *K.pneumoniae* occupe la troisième classe avec 40%, *E.coli* et *p.mirabilis* en quatrième position avec 20%, *P.aeruginosa* en 5^{ème} position avec 13.33%. Dernières positionnées sont *Shigella sp*, *k.oxytoca* et *providencia sp* avec un pourcentage égal de 6.66%. Tandis qu'une

étude sur le « *Contrôle de l'état général d'hygiène Au niveau de service des urgences de L'hôpital de Med Boudiaf de OUARGLA* » en 2004, ont trouvé qu'au niveau des surfaces de l'environnement hospitalier *S.aureus* (doré) présente la majeure partie des germes isolés avec un pourcentage de 83,33%, *S.épidermidis*, *Proteus*, *E.coli* avec un pourcentage de 66,66% et *Pseudomonas* occupe la troisième classe avec 50 % (Bouaziz et Ramdane,2004). Par comparaison avec cette étude on note une large différence concernant la position et le pourcentage des germes au niveau de l'environnement et cela revient probablement aux conditions et les sites de travail.

Pour bien situer notre travail, une deuxième étude sur la « surveillance des germes en cause des IN au service de chirurgie de l'hôpital de TOUGGOURT » d'après laquelle nous avons jugé utile d'aborder le problème ; a trouvé qu'au niveau de l'environnement : Les *Staphylococcus epidermidis* sont classés en première position avec un pourcentage de 44,44%. En deuxième classe vient : *E.coli*, *Pseudomonas*, *S.aureus* avec 11,11 %. présenté par (Madani et Chahed). Par comparaison avec cette étude, on note une similitude concernant la position des souches de *staphylococcus épidermidis* et *staphylococcus aureus* ce qui n'est pas le cas pour *E.coli* et *Pseudomonas*. On remarque également une différence du pourcentage et cela revient aussi aux conditions, au service ciblé et à la différence de l'endroit de travail.

La dominance des Staphylocoques dans nos résultats concorde avec une étude, réalisée par *Lemmen et al.* (2004), sur la répartition des bactéries Gram négatif multi-résistantes par rapport à des bactéries Gram positif dans l'environnement inanimé de l'hôpital. Ils ont montré que le degré de contamination de l'environnement par les bactéries Gram positifs était beaucoup plus étendu que pour les bactéries Gram négatifs. La mise en évidence d'un pourcentage élevé des bactéries issues de la flore cutanée humaine telles que les staphylocoques à coagulase négatif et les *Staphylococcus aureus* reflète une activité humaine intense dans les locaux des services étudiés. D'où l'intérêt d'améliorer les conditions hygiéniques du travail. Cette prédominance pourrait s'expliquer aussi par la capacité de ce germe à adhérer aux surfaces .Agent commensal des mains, très résistant dans le milieu extérieur, sa survie à l'extérieur de l'hôte est de 7 jours (surfaces sèches) à plusieurs mois (milieu humide) et est sensible à de nombreux désinfectants (Otto, 2008).

Pour les entérobactéries, on note que *K. pneumoniae* est l'espèce la plus fréquemment isolée sur les surfaces avec 40 %, suivi par *E. coli* et *P.mirabilis* avec 20% chacune suivi de

K. oxytoca, *Shigella sp*, et *Providencia sp* avec un taux de 6.66%. Les bacilles à Gram négatif oxydatif sont présents avec 20% également (13.33% *Pseudomonas aeruginosa* et 6.66% *Acinetobacter baumannii*). Cela s'explique par ce qui a été rapporté par Kramer et al, 2006 que de nombreuses espèces de bactéries Gram négatif telles que *Acinetobacter spp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Pseudomonas aeruginosa* ou *Shigella spp.* Peuvent survivre sur des surfaces inanimées pendant plusieurs mois (5 semaines à 30 mois). La présence d'*A. baumannii* dans l'environnement de l'hôpital semble la résultante, dans la plupart des cas, d'une contamination secondaire à partir d'un patient infecté. La bactérie est ainsi retrouvée dans l'environnement immédiat du patient (barre de lit, oreillers, draps, rideaux, fauteuil, tables de nuit) (Beggs et al., 2006).

La présence des bacilles à Gram négatif est très élevée dans le service de réanimation 8/18 souches (soit 44.44%) suivi de 6/18 souches (soit 33.33%) en pédiatrie. Plusieurs éléments expliquent la fréquence d'infections nosocomiales dans ce secteur: la fréquence d'utilisation des dispositifs invasifs (cathéters intra vasculaires, ventilation artificielle, sondages urinaires) (Tanguy, 2014). La présence de ces germes pathogènes se traduit par l'acquisition de bactéries de l'environnement (*Pseudomonas*, *Acinetobacter...*), qui sont naturellement résistantes à de nombreux antibiotiques et ont une grande capacité d'acquisition de nouveaux mécanismes de résistance. Elles survivent en milieu hospitalier, favorisées par la pression de sélection qu'exercent les nombreux antibiotiques prescrits, surtout dans les services de réanimation. À partir de l'environnement, elles colonisent les patients, apportées le plus souvent par les mains du personnel (Korinek, 1999).

Dans notre étude, on a noté également la présence de deux souches de *streptococcus sp* sur le sol du bloc opératoire et celui de la pédiatrie. Les germes anaérobies peuvent provenir de l'environnement (sol, eau), mais appartiennent le plus souvent à la flore commensale, endogène normale, de l'homme (Dubreuil, 2003). Cette souche représente 4.16% (2/48) des souches isolées des surfaces. Ce faible taux peut s'expliquer par fragilité, la sensibilité à l'acidité et la nécessité de nombreux facteurs de croissance du genre *Streptococcus* (Fauchère, 2002).

La présence des germes sur les surfaces de l'environnement hospitalier peut être due aussi à la Contamination par les microorganismes de l'environnement qui existent naturellement sur les sols, les objets, dans l'eau, les circuits de climatisation et certains

germes pathogènes ou commensaux d'origine humaine qui survivent bien et résistent dans le milieu extérieur (Squinazi, 1998).

La qualité de l'eau a une implication évidente pour le lavage des mains, le rinçage du matériel et le ménage (Maiga, 2002).

A l'absence d'élimination des matières organiques et les germes éventuellement présents sur ou dans ce Matériel (pas de décontamination), absence de lavage avec un détergent neutre, pas de mise du matériel dans un lieu propre à la fin, les techniques et méthodes d'entretien ne sont pas maîtrisées par le personnel chargé de ceci, les indications des moyens de stérilisation ne sont pas clairement connues par tout le personnel, car ils ne parvenaient pas à définir les températures et les temps normaux pour le poupinel et l'autoclave (Barie, 2005; Karageorgopoulos , 2008).

Certaines bactéries survivent dans un milieu qui leur est hostile par mutation : synthèse d'une nouvelle enzyme ou acquisition d'un mécanisme de résistance à un désinfectant (Widmer et Frei, 2007).

VI.3-Résultats des analyses microbiologiques du linge

Si le contrôle visuel est suffisant pour l'aspect esthétique du linge après le lavage, il est bon d'en vérifier l'efficacité microbiologique au laboratoire.

24/111 prélèvements de linge ont été effectués au niveau de l'hôpital de Bouira répartis comme suit : 41.66% (10/24) représentent le service d'oncologie 29.16% (7/24) le bloc opératoire, 16.66% (4/24) la pédiatrie et 12.5% (3/24) le service de réanimation. Le tableau XIII présente les résultats de l'analyse microbiologique du linge utilisé au niveau des 4 services.

Tableau N°XIII : Les résultats de l'analyse microbiologique du linge

Salles	Lieu de prélèvement	FMAT (UFC/ 25 cm ²)	<i>S.aureus</i>	<i>S.epidermidis</i>	Streptocoques	Bacille Gram Négatif	Champignons et levures
Bloc opératoire Salle Stérile	- tenue bloc	Absence	Absence	présence	Absence	Absence	Absence
	-blouse	17	présence	Absence	Absence	Absence	1
	-casaques	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence
	- champs bloc	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence
	-jersey tubulaire en coton	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence
	Compresses 1	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence
	Compresses 2	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence
XIX. Réani	-drap	2	Absence	présence	Absence	Absence	1
	- blouse infirmière	3	Absence	présence	Absence	Absence	2
	Compresses	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence
Pédiatrie	- drap	14	présence	Absence	Absence	présence	2
	-rideau	2	présence	Absence	Absence	Absence	1
	-taie d'oreiller	24	présence	Absence	Absence	présence	4
	-blouse	1	présence	Absence	Absence	présence	1
Oncologie Salle 1	- drap lavé et placé le jour même	8	présence	Absence	Absence	Absence	1
	-rideau	1	Absence	présence	Absence	Absence	1

	-blouse infirmière 1	5	présence	Absence	Absence	Absence	1
	-taie d'oreiller Propre	Absence	présence	Absence	Absence	Absence	Absence
Oncologie Salle 2	-drap lavé et placé le jour même	Absence	présence	Absence	Absence	Absence	Absence
	-rideau	6	présence	Absence	Absence	Absence	2
	-blouse infirmière 2	Absence	présence	Absence	Absence	Absence	Absence
	-taie d'oreiller Propre	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence
	Compresse 1	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence
	Compresse 2	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence

VI.3.1-Etude quantitative des souches isolées du linge des 4 services

Les critères microbiologiques du linge sont en fonction de son usage d'après le projet de norme européenne NF EN 14065 Décembre 2016 qui définit deux catégories : le linge propre et le linge de qualité microbiologique maîtrisée.

- le linge propre est défini comme présentant une contamination inférieure à 12 UFC / 25 cm² en fin de traitement à la blanchisserie
- le linge de qualité microbiologique maîtrisée est un linge pour lequel on ne tolère aucun germe hospitalier à l'origine des infections nosocomiales dans cette marge de 12 UFC / 25 cm².

En comparant nos résultats avec la valeur de la norme européenne NF EN 14065 (12 UFC), nous remarquerons qu'ils sont conformes et qu'ils ne dépassent pas les normes (<12 UFC/ cm²) de propreté microbiologique requises à part 3 sites de prélèvement (blouse du bloc opératoire, et drap et taie d'oreiller du service de pédiatrie). La présence de flore fongique dans les différents services a été remarquée ce qui n'est pas recommandé.

VI .3.2-Etude qualitative des souches isolées du linge des 4 services

D'après les isolements sur les milieux sélectifs (Mac Conkey, Chapman, Gélose au Sang Frais), les résultats ont montré une présence de bactéries pathogènes à savoir les staphylocoques dans tous les services ; d'entérobactéries en pédiatrie seulement et une absence d'autres germes notamment les streptocoques et les bacilles à Gram négatif oxydatif dans tous les services.

Les casques, les champs du bloc, le jersey tubulaire en coton ainsi que les compresses utilisées lors des interventions chirurgicales ou lors des soins sont stériles et ne présentent aucune contamination.

VI.3.2.1-Répartition des souches isolées du linge par espèce dans les différents services

18/84 souches ont été isolées et identifiées dans les 4 services. Nos résultats montrent que *S.aureus* est l'espèce la plus fréquemment isolée avec un taux de 61.11% (11/18), suivi par *S. epidermidis* avec 22.22% (4/18) puis un même taux de 5.55% pour *K.pneumoniae*, *Providencia sp* et *Shigella sp*. Les résultats sont résumés dans la figure 26.

Figure 26. Répartition des souches isolées du linge par espèce

VI.3.2.2-Répartition des souches isolées du linge par service

Parmi les souches isolées du linge en milieu hospitalier, les services de pédiatrie et d'oncologie occupent la première place avec un taux égal de 38.89% (7/18) suivi aussi avec un taux égal de 11.11% (2/18) en réanimation et dans la salle stérile du bloc opératoire. La figure suivante montre les différents taux de souches isolées par service.

Figure 27 : Répartition des souches isolées du linge par service.

Discussion des analyses microbiologiques du linge

Les résultats de l'analyse du linge montrent que les conditions de stérilisation n'ont pas été respectées dans les 4 services et dans les différents points du linge. Les prélèvements nous ont permis d'isoler 18 souches pathogènes 38.89% (7/18) un taux égal issu de la pédiatrie et de l'oncologie et un même taux de 11.11% (2/18) issu de la réanimation et le bloc opératoire. Cette dominance des souches dans les 2 premiers services est le reflet de la présence d'un nombre élevé de l'espèce *Staphylococcus aureus* (doré) qui se rencontre en surface et sur les particules en suspension, et peut donc se retrouver sur du linge même propre (Charlemagne 2005).

4 souches de *Staphylococcus aureus* ont été prélevées sur des blouses (4 blouses sur 5) du personnel hospitalier. Une étude réalisée sur la contamination des blouses blanches médicales a montré que les poignets et les poches sont les parties les plus contaminées. 25% des blouses des soignants sont porteuses de *Staphylococcus aureus*, surtout manches et poches (Wong et al., 1991). 65% des soignants et 42% du personnel de ménage contaminent leurs blouses en s'occupant d'un patient porteur de SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline) (Boyce et al., 1997).

Une autre étude publiée dans l'[*American Journal of Infection Control*](#) révèle que, plus de 60 % des uniformes analysés étaient contaminés. Plus inquiétant encore, sur les 238 blouses, 27 étaient porteuses de souches bactériennes multi-résistantes, dont le fameux staphylocoque doré, retrouvé sur huit uniformes. 80 % des bactéries qui se retrouvent sur le linge viennent des manipulations post-lavage. Selon les établissements, le linge est touché au moins dix fois entre le repassage et la distribution. Ces infections manu portées sont les plus

courantes, sans compter celles véhiculées par l'environnement dans lequel le linge est transporté ou rangé (sols, plafonds, ventilation, chariots, etc.) (Wiener-Well, 2011).

Durant notre étude, on a pu identifier d'autres souches sur le linge notamment les *staphylococcus epidermidis* (4/18), *Klebsiella pneumoniae* (1/18), *Shigella sp* (1/18), et *providencia sp* (1). La contamination de la literie se fait par la flore de l'environnement (sédimentation ou mouvements de particules aéroportées) et par la flore bactérienne du patient (peau, liquides biologiques), la présence sur le linge de déchets (urines, selles, nourriture...), dans une atmosphère chaude et humide, favorise le développement des microorganismes (Aboki, 2006) rapporte aussi que le linge est contaminé par les bactéries d'origine cutanée : staphylocoques et les bactéries d'origine digestive : *Klebsiella sp*. (Figarella, 2001 ; Carencio, 2010).

Cependant d'autre source sont à l'origine de la contamination du linge dans les établissements de santé. En effet, le linge traité à la blanchisserie, est déjà contaminé avant sa réception à la stérilisation (humidité, multiples manipulations, croisement des circuits sale et propre, matériels et conditions de transport inadaptés etc.). La blanchisserie a un rôle essentiel à jouer dans la prévention des infections nosocomiales liées au linge. Mais elle peut aussi contribuer à leur diffusion. Les locaux sont en effet humides, chauds, avec un taux d'empoussièrement élevé. Le linge est lui-même souvent humide à son arrivée. Tous ces éléments favorisent la multiplication bactérienne, surtout pendant la période de stockage. Les bactéries hospitalières les plus dangereuses et notamment celles qui sont multi-résistantes, se rencontrent en fonction de leur habitat préférentiel, facilement dans le cycle du linge: dans l'eau, la vapeur d'eau, les aérosols (Charlemagne, 2005).

La dureté de l'eau utilisée provoque la diminution de la température de stérilisation (Partis et al ., 1998).

L'association de l'utilisation des tambours perforés et des locaux de stockage inadéquats qui peuvent être une source de contamination après stérilisation (Settoui, 2013).

Le linge est véhiculé à l'intérieur des établissements et, en ce sens, il peut constituer un facteur de risque dans un environnement à risque. Il se charge en microorganismes et les transporte (Aboki, 2006)

Le linge est facilement et très rapidement contaminé lorsqu'il est en contact avec le malade. Il peut être contaminant dans son circuit d'évacuation voire dans son circuit propre lorsqu'il se trouve être accidentellement contaminé si des normes et procédures écrites n'existent pas ou ne sont pas respectées. Cette contamination peut être également liée soit à une insuffisance de lavage car on ne stérilise bien que ce qui est propre et sec, soit à une rupture de la chaîne au cours du circuit propre du linge (Charlemagne, 2005).

Bibliographie

A

- Aboki C.** (2006).Mémoire de l'École Nationale de la Santé Publique la fonction linge au service d'une démarche qualité : L'exemple du Centre hospitalier du bois petit. Pp 33-36.
- Adjidé C.C., BiendobM., Rousseaub F., Hamdad-Daoudib F., Thomasb D., Lauransb G. et al.** (2006). *Escherichia coli* producteurs de bêtalactamases à spectre étendu : de nouvelles menaces nosocomiales. *Pathologie Biologie*; **54** :510-517.
- Aggoune M .et al.** (1996).Fiches techniques de recommandations en hygiène : 11-44.
- Al Akoum M., Duprat S., Lidove A. et Rundstadler Y.** (2004). Modélisation aéraulique de salles d'opération. *ITBM-RBM* ; **25** : 107–112.
- Alfandari L.S.** (1997).Infections nosocomiales. Epidémiologie, critères du diagnostic, prévention et principe du traitement. Impact internal : *Maladies infectieuses* ; (4): 161- 168.
- Arvidson S., Fischetti V.A., Novick R.P., Ferretti J.J., Potrnoy D.A.et Rood J.I.** (2000). Extracellular enzymes in Gram-positive pathogens. *American Society for Microbiology*: 85-379.
- ASPEC** (Salles propres, environnements maîtrisés et zones de confinement). (2008). La biocontamination - Salles propres, environnements maîtrisés et zones de confinement. 266 P.
- Atif M.L., BezzaouchaA., Mesbah S., Djellato S., Boubechou N.et Bellouni R.** (2006). Evolution of nosocomial infection prevalence in an Algeria university hospital (2001 to 2005).*Médecine et Maladies Infectieuses*; **36**: 423-8.
- Atif M.L., Sadaoui F., Bezzaoucha A., Kaddache C.A., Boukari R., Djelato S.et al.** (2010).Reduction of nosocomial pneumonia using surveillance and targeted interventions in an Algerian neonatal intensive care unit. *Infection Control and Hospital Epidemiology*; **30**: 712-713.
- Avril J.L, Dabernat H., Denis F.et Monteil H.** (1992). Bactériologie Clinique. 2^{ème}édition. Ellipses. Paris. Pp: 149-151.
- Avril J.L., Dabernat H., Denis F.et Monteil H.** (2000). Bactériologie clinique. 3^{ème} édition. Ellipses. Paris. 602 p.
- Audurier A. et De Micco P.** (1998). Les CLINS et les unités d'hygiène hospitalière. *In*. Hygiène Hospitalière. Ed. Presses Universitaires de Lyon. Lyon. Pp : 135-156.

B

Barie P.S. (2005).Surgical site infections.*SurgClin North Am*, **85**(6):1115-35.

- Baron E.J., Pfaller M., Tenover F.C., Yolken R.H. et Murray P.R.** (1995). Manual of clinical microbiology Graveniz, AV. *Acinetobacter baumannii*, *Alcagenes*, *Moraxella*, and other non-fermentative bacteria. In: Manual of clinical microbiology: American Society for Microbiology. 520 P.
- Beggs C., Kerr K., Snelling A. et Sleight P.** (2006). *Acinetobacter spp.* and the clinical environment. *Indoor Built Environ* ; **15**(1) : 19-24.
- Belhaj-Soulami O.** (2010). Surcoute de l'infection nosocomiale en réanimation médicale au CHU Ibn Rochd (à propos de 10 cas). Thèse en médecine. Université sidi Mohammed ben Abdellah faculté de médecine et de pharmacie. Pp: 38-39.
- Ben Redjeb S., Ben Hassen A., Hammami A. et Kechrid A.** (2000). Epidémiologie des résistances bactériennes en Tunisie. "Résistance aux antibiotiques". *Press. Méd.* 1-5.
- Berthelot P., Grattard F., Mallaval F.O., Ros A., Lucht F. et Pozzetto B.** (2005). Epidemiology of nosocomial infections due to *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* and *Stenotrophomonas maltophilia*. *Pathology Biology*; **53**(6): 341-8.
- Bertou A., Chapuis C. et Hajjar J.** (2000). Relations entre contamination et environnement hospitalier. In : Vigilance Environnement : Contrôles microbiologiques de l'environnement hospitalier. Hygiènes. **8**(3) :142-146.
- Bloomfield S.F. et Scott E.** (1997). Cross-contamination and infection in the domestic environment and the role of chemical disinfectants. *J Appl Microbiol* ; **83**:1-9.
- Bosi C.** (2000). Analyse Bactériologique de l'Environnement Hospitalier. Précis de Bactériologie Clinique. Ed. ESKA. Pp. 408-437.
- Botterel F., Faibis F., Chevalier C., Delisse C., Fiacre A., Dubois A. et Demachy M.C.** (2004). Intérêts et limites de la surveillance des infections nosocomiales à partir du laboratoire de microbiologie : expérience du CHG de Meaux. *Pathologie Biologie*; **52**: 469-473.
- Bouaziz S. et Ramdane A.** (2005). Contrôle de l'état général d'hygiène Au niveau de service des urgences de L'hôpital de Med Boudiaf. Mémoire de fin d'étude. Pp : 34-66.
- Boyce J.M., Potter-Bynoe G., Chenevert C. et King T.** (1997). Environmental contamination due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: possible infection control implications. *Infect Control Hosp Epidemiol*; **18**: 622-7.
- Boyce JM.** (2007). Environmental contamination makes an important contribution to hospital infection. *J Hosp Infect.* Jun; 65. Suppl 2:50-4. Review

C

- Carenco P.** (2010).Médecin Hygiéniste au CH d'Hyères La fonction linge dans les établissements de santé : éléments d'approche méthodologique.Union Des Responsables de Blanchisserie Hospitaliere, Ministère de la santé. 120P.
- Carling P.C., Parry M.F. et Von Beheren S.M.** (2008).Identifying Opportunities to Enhance Environmental Cleaning in 23 Acute Care Hospitals. *Infect Control HospEpidemiol*; **29**(1):1-7.
- Cavallo J. D., Antoniotti G., Baffo N. y., Condrais G. S., Hajjar J., Horn C., Le Gouhir C., Le Guyader A., Le jeune B., Mounier M. et Salomon V.** (2002). Surveillance Microbiologique de l'Environnement dans les Etablissements de Santé Air, eaux et surfaces. Direction de L'Hospitalisation et de L'Organisation des Soins, CTIN. 70 P.
- CCLIN-OUEST (Centres de Coordination de lutte contre les Infection Nosocomial).** (2002).Hygiène et prévention du risque infectieux dans les établissements d'hébergement pourpersonnesâgées.Disponible:<https://www.google.dz/search?q=cclin+ouest+2002&oq=CCLIN-OUEST>.
- CCLIN SUD-EST (Coordination de la lutte contre les infections nosocomiales).**(2004). Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux, disponible: http://cclin-sudest.chu-lyon.fr/Doc_Reco/guides/FCPRI/Sommaire.htm.
- Charlemagne P.**(2005) . Thème : Contribution à l'amélioration de l'hygiène hospitalière par un traitement optimal du linge du bloc opératoire : cas de l'hôpital principal de Dakar au Sénégal. Mémoire de fin d'étude. DESS Gestion Hospitalière, ISS, CESAG; 30-36.
- Chettas et Merabet.** (2000).Désinfection en milieu hospitalier .Ecole paramédicale. Ouargla. Pp : 10-11.
- Chouitar M.** (2004). Contribution au développement de l'hygiène hospitalière au Maroc, INAS. 67 P.
- Courvalin P.** (2006).Vancomycin resistance in gram-positive cocci.*Clin Infect Dis off Publ Infect Dis Soc Am*; 42 Suppl **1**:S25-34.
- CSS (Conseil Supérieur de la Santé).** (2010).Recommandations en matière de contrôles bactériologiques de l'environnement dans les institutions de soins. Bruxelles: CSS. Avis n° 8364.
- CTIN.** (2002).Surveillance microbiologique de l'environnement dans les établissements de santé - Air, eaux et surfaces. Ministère chargé de la santé.
- CTNIN (Comité Technique National des Infections Nosocomiales).** (1999). 100 Recommandations pour la Surveillance et la Prévention des Infections Nosocomiales.2ème édition.121P.

D

D'agata E.M.C., Venkataraman L., Degirolami P. et Samor M.(1999).Molecular Epidemiology of Ceftazidime –Resistant Gram-Negative Bacilli on Inanimate Surfaces and their Role in Cross-Transmission during Nonoutbreak periods.*J Clin Microbiol*;37(9):3065-3067.

Dancer S.J. (2004). How do we assess hospital cleaning? A proposal for microbiological standards for surface hygiene in hospitals.*J Hosp Infect*; **56**:10-15.

Darbord J.C. et al. (2003) .Désinfection et stérilisation dans les établissements de soins : guide pratique, savoir et pratiques infirmières, 5ème édition. 267 P.

Delarras C. (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Lavoisier, Paris. 476P.

Denis F., Ploy M.C., Martin C. et al. (2007). Bactériologie médicale. 2^{ème} Edition. Ellipses. Paris. 573 P.

Dominique G., Valence B .et al.(2013). Études supérieures de stérilisation Hospitalière, document d'information.

Drame B.(2001). Micro méthode d'identification et d'étude de la sensibilité des entérobactéries : Intérêts thérapeutiques. Thèse en Pharmacie. Dakar. 86P.

Dubos R. (2012). Résistance aux antibiotiques : une impasse thérapeutique ? Implications nationales et internationales .Séance thématique inter-académique; Académie nationale de médecine, Académie nationale de Pharmacie, Académie vétérinaire de France ;**12** :1-6.

Dubreuil L. (2003). Les infections à anaérobies et leur traitement: arguments microbiologiques. Médecine thérapeutique, -john-libbey- eurotext.fr.

E

Enoch D.A., Summers C., Brown N.M., Moore L., Gillham M.I., Burnstein R.M. et al. (2008). Investigation and management of an outbreak of multidrug-carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in Cambridge, UK.*J Hosp Infect* ;**70**(2):109-18.

Euzeby J.P. (2010). : Abrégé de Bactériologie Générale et Médicale à l'usage des étudiants de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. Le texte original est librement disponible sur: <http://www.bacteriologie.net/generale/resistancenaturelle.html>

F

Fauchère J.L. et Avril J.L.(2002).Bactériologie générale et médicale. Ed ellipses, Paris. Pp: 213-217.

Figarella I. J., Guy L. et Terret M. (2001). Microbiologie générale et appliquée. Pp : 18-262.

Fikri Ben Brahim. (2006). Cours d'hygiène hospitalière, INAS.

French G.L., Otter J. A., Shannon K.P., Adams N.M.T., Watling D., et Parks M.J. (2004). Tackling contamination of the hospital environment by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): a comparison between conventional terminal cleaning and hydrogen peroxide vapour decontamination. Pp. 32-34.

G

Garnier F. et Denis F. (2007). Bactériologie médicale : Techniques usuelles : Cocci à Gram positif. Ed Masson. Pp .251- 254.

Gassier J., Le neures K. et Peruzza E. (2006). Guide aide-soignant. Ed Masson. Paris. Pp 424-431.

Gerard F. (2005). Cours d'hygiène hospitalière de 1ère IG, HENaC, département paramédical, Namur. Pp. 126-149.

Giamarellou H., Antoniadou A. et Kanellakopoulou K. (2008). *Acinetobacter baumannii*: a universal threat to public health? *International Journal Antimicrobial Agent*; **32**:106-119.

Glélé L.S. A., Fournel I., Tiv M. et Cêtre J.C. (2009). Emissions de microorganismes dans les établissements de santé. Salles propres - Qualité de l'air en bloc opératoire. (61): 21-26.

Goldstein F.W., Pean Y., Rosato A., Gertner J. et Gutmann L. (1993). Characterization of ceftriaxone-resistant Enterobacteriaceae: a multicentre study in 26 French hospitals. Vigil'Roc Study Group. *J Antimicrob Chemother*; **32**(4):595-603.

Griethuysen A.V., Bes M., Etienne J., Zbinden R. et Kluytmans J.

(2001). International Multicenter Evaluation of Latex Agglutination Tests for Identification of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbio* ;**39**(1): 86–89.

H

Habzi A. et Benomar S. (2001). Les infections nosocomiales néonatales. *J Pédiatre Puériculture* ; **14**:419-24.

Hafiane M. R. (2008). Différentes méthodes de typage des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées des patients atteints de mucoviscidose. Various typing methods of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from cystic fibrosis patients. *Médecine et maladies infectieuses*; **38**(5): 238-247.

Hamza R. (2010). Epidémiologie des infections associées aux soins. *Revue Tunisienne d'Infectiologie* ; **4**: 1 – 4.

Hota B. (2004). Contamination, dis infection, and Cross- Colonization: Are Hospital Surfaces Reservoirs for Nosocomial Infection ?. *Clin Infect Dis*; **39** :1182-1189.

Huart C. (2011).Le traitement de l'air en milieu hospitalier Place des unités mobiles : expérience en Oncologie pédiatrique au CHU de Poitiers. Thèse en médecine. Pp : 54-59.

Hugard L. (2003). Hygiène et soins infirmiers .2ème ed. Pp : 6-49.

J

Joly B. et Reynaud A. (2002). Entérobactéries : Systématique et méthodes de diagnostic. Ed TEC & DOC et Ed médicales Inter Nationales. Paris. 356 P.

K

Kac G., Podglajen I., Vaupré S., Colardelle N., Buu-Hoi A. et Gutamann L. (2004).Molecular epidemiology of extended – spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* isolated from environmental and clinical specimens in a cardiac surgery intensive care unit. *Infect Control HospEpidemiol*; **25**(10):852-855.

Karageorgopoulos D.et Falagas M. (2008).Current control and treatment of multi drugresistant *Acinetobacter baumannii* infections; **8** (12): 751-762.

Keeling C.L.et Bohlmann J.(2006). Diterpene resin acids in conifers. *Phytochemistry*; **67**: 2415-2423.

Korinek M. (1999). Mesures de lutte contre les bactéries multirésistantes en réanimation ; *Revue Médecine thérapeutique* ;**5**(1): 59-64

Kramer A., Schwebket I.et Kampf G. (2006).How long do nosocomial pathogens persist.

Krembel C. (1998).Le linge à l'hôpital. In. Hygiène Hospitalière. Ed. Presses Universitaires de Lyon. Lyon. Pp. 431-436on inanimate surfaces ? *BMC Infect Dis* ; **6**:130-138.

L

Lambert T. (2007). *Acinetobacter*. In : **Denis F., Ploy M.C., Martin C., Bingen E. et**

Le Minor C. et Richard C. (1993). Notes techniques. In. Méthodes de laboratoire pour l'identification des entérobactéries. Institut pasteur. Paris. 217 P.

Lemmen SW., Hafner H., Zolldann D., Stanzel S., Lutticken R. (2004). Distribution of multi-resistant Gram-negative versus Gram-positive bacteria in the hospital inanimate environment. *Journal of Hospital Infection* **56**, 191–197

Liassine N. (2000). Problème des pathogènes à Gram négatif résistants aux antibiotiques en milieu hospitalier. *Schweiz Med Wochenschr* .**130**: 1930-1936.

Lucet J. C. et Astagneau P. (1998). Transmission des infections nosocomiales .Principe et prévention. *In* : Infections nosocomiales et environnement hospitalier. Ed Flammarion. Paris. 215P.

M

Maiga B. (2002). Pratiques d'hygiène hospitalière dans les structures sanitaires : Hôpital Gabriel Touré, Hôpital régional de Sikasso, CNOS, Centre de Santé référence de la commune IV de Bamako. Thèse de doctorat. Pp: 13-22.

Mandell G.L., Bennett J.E.et Dolin R. (2005). *Pseudomonas aeruginosa. Principles and Practice of Infectious Diseases*.2587- 2615.

Makary M.A.et Martin A. (2013). The power of video recording: taking quality to the next level. *JAMA* ; **309** (15):1591-1592.

Michel M.C. (2012). Infection nosocomiale à *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline chez un patient adulte hospitalisé. *Pharmactuel*; **46** (1) : 1-23.

Margot P.et Chantal G.(2009).Les infections nosocomiales - Agir ensemble pour des milieux cliniques sains et sécuritaires, La gestion des risques 1ère partie .1-19.

Marsaudon E. (1998). Les infections hospitalières, Que sais-je. N° 3386, PUF.

Mayer K.et Opal S. (2000). Medeiros A Mechanisms of antibiotic resistance. *In*: Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Vol 2. 5th edition, Churchill Livingstone.Pp: 236-253.

Mee-Marquet N.V., Blanchard M., Domelier A.S.et Quentin R. (2004). Survey Study Group of the Relais d' Hygiène du Centre: Virulence and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains isolated from various origins. *Pathologie Biologie*; **52**: 579–583.

Mereghetti L. (1998). Surveillance et contrôle de l'environnement hospitalier. *In*. Hygiène Hospitalière. Ed. Presses universitaires de Lyon. Lyon. Pp. 337-346.

Mesaros N., Nordmann P., Plésiat P., Roussel-Delvallez M., Van Eldere J., Glupczynski Y.et Van Bambeke F.(2007). *Pseudomonas aeruginosa*: résistance et options thérapeutiques à l'aube du deuxième millénaire .*Antibiotiques* ; **9**(3), 189-198.

Mirzaii M., Emaneini M., Maleknejad P., Jonaidi N., Fooladi A.A.I., Aligholi M., Jabalameli F., Halimi S., Taherikalani M. et Kasaeian A. (2012). Distribution of bacterial contamination in a teaching hospital in Tehran — A special focus on *Staphylococcus aureus*. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* ; **59**(1):1-11 .

Moletta-Denat M., Carquet E., Fouillouse S., Ritoux M., Draghi. et Robine E. (2011). Caractérisation de la diversité microbienne de l'air d'un hôpital. N°76.

N

Neely A.N. et Maley M.P. (2002). Survival of enterococci and staphylococci on hospital fabric and plastic. *J Clin Microbiol* ; **38**: 724 -726.

O

Otter J., Yezli S., Salkeld J. et French G. (2013). Evidence that contaminated surfaces contribute to the transmission of hospital pathogens and an overview of strategies to address contaminated surfaces in hospital settings. *Am J Infect Control*; **41**: S6–S11.

Otto M. (2008). Staphylococcal biofilms. *Curr top Microbiol Immunol*; **322**: 207-228.

P

Partis S., Lebas J., Hermelin I. et Mazaud P. (1998). Stérilisation. *In. Infections nosocomiales et environnement hospitalier*. Ed. Flammarion. Paris. Pp.135-141.

Pasquarella C., Albertini R., Dallaglio P., Saccani E., Sansebastiano G.E. et Signorelli C. (2008). Air microbial sampling: the state of the art. **64**(1):79-120.

R

Ramplng A., Wiseman S., Davis L., Hyett A.P., Walbridge A.N., Payne G. C. et Cornaby A.J. (2001). Evidence that hospital hygiene is important in the control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Hosp Infect*; **49**:109-116.

Raoult A. (2004) .Hygiène et soins infirmier. Pp : 57-205.

Rebiahi A. (2012). Caractérisation de souches de *Staphylococcus aureus* et étude de leur antibiorésistance au niveau du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen. Thèse de doctorat.

Reed D., Kemmerly. et Sandra A. (2009). Infection Control and Prevention: A Review of Hospital-Acquired Infections and the Economic Implications. *Ochsner J. Spring*; **9**(1): 27–31.

Richard k. (2005). Génomique fonctionnelle in vivo de l'oxydoréductase PA 3498 chez *Pseudomonas aeruginosa*. Maitrise en microbiologie – immunologie. Mémoire en médecine Université Laval Québec. Pp : 44-56.

Riggs M.M., Sethi A.K., Zabarsky T.F., Eckstein E.C., Jump R.L. et Donskey C.J. (2007). Asymptomatic carriers are a potential source for transmission of epidemic and non epidemic *Clostridium difficile* strains among long-term care facility residents. *Clin Infect Dis*; **45**(8):992-8.

Rouch M. (2009). Mémoire de l'Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique – Quatrième partie : Santé et sécurité au travail, livre II : Dispositions applicables aux lieux de travail.

Rouillon S., Ourdanabia S., Jamart S., Hernandez C. et Meunir O. (2006). Etude de l'efficacité d'un produit détergent désinfectant pour sols et surfaces sur les souches bactériennes isolées à partir de l'environnement hospitalier. *Pathol Biol* ; **54** :325-330.

Rundstadler Y. et Di majo P. (2002). Lutter contre la contamination au bloc opératoire. *ITBM-RBM* ; **23** : 180- 185.

Rutala W.A. et Weber D.J. (2001). Surface disinfection: should we do it? *J Hosp Infect*; **48**:S64-S68.

Ruty D. (1998). « Les méthodes de stérilisation », revue Soins n°623, Ed. Masson, Paris. Pp: 7-12.

S

Settouti C. N. (2013). Surveillance du risque infectieux en unité de néonatalogie E.H.S mère -enfant de Tlemcen "2009 –2010". Thèse de Doctorat En Sciences Médicales. 221p

Squinazi F. (1998). L'eau à l'hôpital. In. Hygiène hospitalière. Ed. Presses universitaires de Lyon. Lyon. Pp : 213-239.

T

Tanguy M. (2014). Prise en charge d'une épidémie en réanimation médicale au CHU De D' Angers. Thèse de Doctorat en médecine. Pp : 19-39.

Touati A. (2001). Caractérisation des phénotypes de résistance des entérobactéries aux β -lactamines isolées en milieu hospitalier : cas de l'hôpital d'Amizour. Thèse de magister en microbiologie, université A/Mira. Bejaia. P : 25.

V

Vangelder E., Bec A., Dehecq E., Quequjay J., Houze D. et Ferrant L. (2002). Evaluation du Strep B OIA®, une méthode de détection rapide du portage de *streptocoque B* chez la femme enceinte. *Annales de Biologie clinique* ; **60** (2) : 226-8.

Veyssier P. et Domart Y. (1996). Infections nosocomiales. Ed Masson. Paris. Pp : 1-82.

Vichard P. (2007). Aérobiocontamination des blocs opératoires : bilan des « salles blanches». Cahier d'enseignement de la SOFCOT.281-295.

W

Widmer A.F. et R. Frei.(2007). Decontamination, disinfection, and sterilization *in* Manual of clinical microbiology 9th edition (ASM press) ; **1**.Pp: 65-84.

Wilson J., Ramboer I. et Suetens C. (2007).Hospitals in Europe Link for Infection Control through Surveillance (HELICS).Inter-country comparison of rates of surgical site infection--opportunities and limitations.*J Hosp Infect*; **65** Suppl 2:165–70.

[Wiener-Well Y., Galuty M., Rudensky B., Schlesinger Y., Attias D., Yinnon A.](#) (2011). Nursing and physician attire as possible source of nosocomial infections. *American Journal of Infect Control*; **39** (7): 537-622

Wolfgang M. C., Kulasekara B. R. et al.(2003).Conservation of genome content and virulence determinants among clinical and environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*; **100**(14): 8484-8489.

Wolk D.M. et Dunne W.M. (2011). New Technologies in Clinical Microbiology.*Journal of Clinical Microbiology* ; **49**: 62-67.

Wong D., Nye K. et Hollis P. (1991) . Microbial Flora on Doctor's white coats.*BMJ*; 303: 1602-4.

Wylie J. L. et Nowicki D. L. (2005). Molecular Epidemiology of Community and Health Care-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Manitoba, Canada.*Journal of Clinical Microbiology*; **43**: 2830–2836.

Y

Yakar V. (1998). « La stérilisation centrale », revue Soins n°623, Ed. Masson, Paris. Pp.16-18.

Z

Zeana C., Larson E., Sahni J., Wu F. et Della-Latta P.(2003). The Epidemiology of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: Does the community represent a reservoir?.*Infect Control Hosp Epidemiol* ; **24**(4):275-279.

Zerrouk H. (2013). Evaluation de l'implantation du comité de lutte contre les infections nosocomiales au niveau du Centre Hospitalier Régional El Idrissi de KENITRA. Mémoire de Mastère. Ecole Nationale de Santé Publique, Royaume du Maroc. Pp : 15-22.

Annexe 1

Tableau N°I : Milieux et matériel utilisés dans notre travail

*Matériel utilisé :	<ul style="list-style-type: none"> - Ecouvillons stériles. - Boîtes Pétri. - Anse de platine - Pipette Pasteur. - Lame et lamelle. - Tube à essai. - Portoirs. - Tube sec, tube à vis. - Etuve réglée à 37°. - Autoclave. - Microscope -pince -bec Bensen -cartes de réaction pastorex jetables -Agitateur vortex - Bâtonnets d'échantillonnage et d'homogénéisation
* Milieux et solutions utilisés :	<ul style="list-style-type: none"> - Eau physiologique stérile. -bleu de méthylène -alcool -fuscine -violet de Jensen -Luggol -réactif staphorex (Latex contrôle) Latex de test -réactif oxydase -Réactif covacs -Disques OMPG -eau oxygénée -huile d'immersion -Gélose nutritive -milieu Chapman -Gélose au sang frais -milieu Mc Conkey
* Milieu d'enrichissement :	-Bouillon nutritif
* Milieux d'identification :	<ul style="list-style-type: none"> -milieu EMB -Gélose ss -milieu TSI -Milieu citrate de Simmons -Milieu mannitol mobilité -Milieu urée indole

Annexe 2

Composition des milieux de culture (pour 1l d'eau distillée) (Le Minor et Richard, 1993)

Gélose nutritive

- Extrait de viande.....1 g
- Extrait de levure.....1 g
- Peptone.....5 g
- Agar – Agar.....15 g
- Eau distillée.....1000 ml

Bouillon nutritif

- Extrait de viande.....1 g
- Extrait de levure.....1 g
- Peptone.....5 g
- Eau distillée.....1000 ml
- pH7,2

Gélose Chapman

- Extrait de viande1 g
- Peptone de caséine et de.....10 g
viande
- Chlorure de sodium.....75 g
- Mannitol.....10 g
- Agar –Agar.....15 g
- Rouge de phénol.....0,025g
- PH.....7,6

Hektoen :

- Peptone-protéose.....12.0 g.
- Extrait de levure3.0 g.
- Lactose.....12.0 g
- Saccharose.....12.0 g.
- Salicine.....2.0 g.
- Citrate de fer 3 et d'ammonium....1.5 g.
- Sels biliaires.....9.0 g.
- Fuchsine acide.....0.04 g.

-
- Bleu de bromothymole.....0.065g.
 - Agar.....14 g
 - PH7.5.

Mueller –Hinton (gélose) :

- Infusion de viande de bœuf.....300g
- Amidon de maïs.....1.5 g.
- Agar.....17.0 g.
- Peptone de caséine17.5 g.
- PH.....7,4.

Gélose Mac conkey

- Peptone de caséine..... 17 g
- Crisal violet..... 0.001 g
- Crisal violet..... 0.001 g
- Rouge neutre..... 0.03 g
- Chlorure de sodium5 g
- Mélange de sels biliaires..... 1.5 g
- Lactose.....10 g
- Peptone de viande..... 3 g
- PH.....7.4

Gélose TSI

- Extrait de viande de bœuf..... 3 g
- Extrait de levure..... 3 g
- Peptone tryptique..... 20 g
- Chlorure de sodium..... 5 g
- Citrate ferrique..... 0.3 g
- Thiosulfate de sodium.....0.3 g
- Lactose..... 10 g
- Glucose.....1 g
- Saccharose..... 10 g
- Rouge de phénol..... 0.05 g
- Agar.....12 g
- PH.....7 ,4

Citrate de Simmons :

- Citrate de sodium.....1.0 g.
- Bleu de bromothymole.....0.08 g.
- Chlorure de sodium5.0 g.
- Sulfate de magnésium.....0.2 g.
- Hydrogénophosphate de potassium1.0 g.
- Dihydrogénophosphate d'ammonium.....1.0 g.
- Agar15.0 g.
- PH.....7,1.

Urée- Indole :

- L- tryptophane.....3 g.
- Phosphate monopotassique..... 1 g
- Phosphate bipotassique..... 1 g
- Chlorure de sodium5 g
- Urée..... 20 g
- Alcool à 90° 10 ml
- Rouge de phénol..... 0.025 g
- PH.....7

Réactifs de la coloration de Gram**Violet de gentiane:**

- Phénol..... 2.0 g
- Violet de gentiane..... 1.0 g
- Éthanol à 90° 10 ml
- Eau distillée..... 100 ml

Lugol:

- Iodure de potassium..... 2.0 g
- Iode métalloïde..... 1.0 g
- Eau distillée 300 ml

Alcool (éthanol)**Fuschine de ziehl:**

- Fuchine basique..... 1.0g

-Phénol.....	5.0 g
-Éthanol à 90°.....	10 ml
-Eau distillée	100 ml

Annexe 3:

Tableau N°2 : Les principaux caractères utilisés dans l'identification des germes

Gram	TSI	Citrate de Simmons	Mannitol Mobilité	Urée indole	ONPG						
Bacille Gram (-)	Glu	Lac	H2S	-	Mannitol +	Mobilité +	urée -	indole +	+		<i>E.Coli</i>
	+	+	-								
Bacille Gram (-)	+	+	-	+	+	-	+	+/-	+		<i>Klebsiella</i>
Bacille Gram (-)	+	-	-	-	-	-	-	+/-	+/-		<i>Shigella</i>
Bacille Gram (-)	+	-	+/-	+/-	+	+	+	+/-	-		<i>Proteus</i>
Bacille Gram (-)	+	-	-	+	/	+	- + +	+ +	-		<i>Providencia</i>
Bacille Gram (-)	+	-	-	+	/	+	+/-	-	/		<i>Pseudomonas</i>
Bacille Gram (-)	+	-	-	+	-	-	+	-	-		<i>Acinetobacter</i>

Résumé

La mise en place d'une surveillance microbiologique de l'environnement hospitalier est une activité dont le volume d'actes est très variable selon les équipes.

L'objectif principal de cette étude était d'isoler et de caractériser des bactéries pathogènes à partir de l'air, des surfaces et du linge dans quelques services à risque à l'hôpital de Bouira afin de mesurer le niveau d'hygiène au sein de cet établissement.

Durant l'étude, nous avons recueilli 111 prélèvements où on a identifié, par des méthodes microbiologiques et biochimiques, 84 isolats appartenant à neuf genres bactériens : *Staphylococcus* (60.71%), *Klebsiella* (11.90%), streptocoques (9.52%), *Escherichia* (5.95%), *proteus* (3.58%), *Providencia* (2.38%), *Pseudomonas* (2.38%), *Shigella* (2.38%), et *Acinetobacter* (1.19%). La répartition des bactéries par service a montré une prédominance dans le service de pédiatrie néonatalogie, suivie par les services d'oncologie, de réanimation, et enfin du bloc opératoire.

Mots-clés : Environnement, hôpital, Contrôle microbiologique, prélèvements d air, surfaces, linge, méthodes microbiologiques et biochimiques.

Summary

The setting up of a microbiological surveillance of the hospital environment is an activity whose volume of acts varies greatly according to the teams.

The main objective of this study was to isolate and characterize pathogenic bacteria from air, surfaces and linen in some services at risk in the Bouira hospital in order to measure the level of hygiene in the breast Of this establishment.

During the study, we collected 111 samples using microbiological and biochemical methods to identify 84 isolates belonging to the bacterial genus: *Staphylococcus* (60.71%), *Klebsiella* (11.90%), streptococci (9.52%), *Escherichia* (5.95 %), *Proteus* (3.58%), *Providencia* (2.38%), *Pseudomonas* (2.38%), *Shigella* (2.38%), and *Acinetobacter* (1.19%). The distribution of bacteria by department showed a predominance in the pediatric department (neonatology), followed by the services of oncology, resuscitation, and finally the operating room.

Keywords: Environment, hospital, microbiological control, air sampling, surfaces, linen, Microbiological and biochemical methods.

□□□□□□

إن المراقبة الميكروبيولوجية لبيئة المستشفى تكون مختلفة على حسب النشاط داخل المؤسسة و أن الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو عزل وتوصيف البكتيريا الممرضة ، انطلاقا من الجو و الأسطح والملابس في بعض الأجنحة الخطيرة في مستشفى البويرة لقياس مستوى النظافة في تلك المؤسسة .

وخلال هذه الدراسة ، جمعنا 111 عينة التي تم تحديدها بأساليب ميكروبيولوجية وأخرى كيميائية . لدينا 84 نتيجة ايجابية ، كما سمحت لنا هذه الدراسة من عزل 60.71 % العنقودية ، الكلبسيلا 11.90 % ، المكورات العنقودية 9.52 % ، اشريشيا كولي 5.95 % ، بروتيويس 3.58 % ، بروفندسيا 2.38 % ، الزائفة 2.38 % ، الشجيلا 2.38 % ، الراكدة 1.19 % . اظهر التوزيع التصاعدي لنسبة البكتيريا بتصدر جناح الأطفال ، ثم يليه الأورام ، العناية المركزة ، وأخيرا غرفة العمليات .

□□□□□□□□ □□□□□□ : البيئة ، المستشفى ، المراقبة الميكروبيولوجية، عينات من الجو والأسطح والملابس ، الطرق الميكروبيولوجية والبيوكيميائية .

