

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE
DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud Mammeri

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة مولود معمري

كلية الطب تيزي وزو



ⵜⴰⵎⴻⵔⴰⵏⵜ ⵏ ⵓⵎⵓⵔⵓⵎⵎⵉⵔⵉ ⵏ ⵓⵏⵉⵎⵓⵏⵉⵏ ⵏ ⵓⵔⵓⵏⵉⵏ ⵏ ⵓⵏⵉⵎⵓⵏⵉⵏ

FACULTE DE MEDECINE

Département de Pharmacie

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

N° D'ORDRE :

Présenté et soutenu Publiquement le :27 Juin 2018

En vue de l'obtention du Diplôme de Docteur en Pharmacie

Thème

Validation du bionettoyage audit des pratiques,
actions correctives actions préventives (CAPA)

CHU TIZI-OUZOU

Réalisé par :

TARZI MERIEM

ZITOUNI SOUMIA

Promotrice: Dr KESSAL FETTA

Co-Promotrice: Dr MAKHLOUFI A

Membres du jury :

Pr AZZAM AMINA	MCAHU	Faculté de Médecine	UMMO	Président de jury
Dr MOUHOUB LATIFA	MAHU	Faculté de Médecine	UMMO	Examinatrice
Dr KESSAL FETTA	MAHU	Faculté de Médecine	UMMO	Promotrice

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2017/2018

DEDICACE

Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donnée

La force, la volonté et la patience durant toutes mes années d'études.

A mes très chers parents : voici enfin le fruit de tant d'année de sacrifice et de patience.

Certes, vous ne compreniez pas grande chose à ces études qui ne finissent jamais, mais cette confiance que vous avez toujours placée en moi vous a à tout instant convaincu du sérieux du travail que j'accomplissais. Je vous suis entièrement reconnaissante pour cette inestimable compréhension. Ce travail est avant tout le vôtre. Que Dieu vous préserve, vous accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et vous protège de tout mal.

A mes chères frères Amar et Islam et ma sœur Ikram.

A toute ma grande famille « mes grand-mères, mes oncles et tantes, à mes cousins »

A mes proches amis : Chahi, Linda, Hlima, Tina, Hayat et Meriem, Nesrine pour les instants de joie partagés en leur compagnie, leurs gentillesse, leur assistance et leur soutien.

A mon ami proche : Zaki

A mon : binôme et Meilleure amie MIMI

SOUMI

A Dieu le tout puissant, le clément, qui m'a guidé sur le bon chemin.

A ma très chère mère affable, honorable aimable : tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager. Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon très chère Père : aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation et ma formation.

A mes frères et sœurs : Lamia, Souad, Fati, Rabia, Fateh, Khadi et Ismail Pour leur support continu, soutien, encouragement.

A mes chers amis, collègues de la faculté de pharmacie UMMTO : Soumi, Chahi, Linda, Tina, Ahlem, Meriem et Hayet un grand merci pour les encouragements, la solidarité durant toutes ces années de pharmacie. Vous avez traversé les mêmes épreuves que moi et vous seuls comprenez la difficulté mais surtout la beauté du métier de pharmacien. A tous, je souhaite de réussir dans le domaine que vous avez choisi.

MIMI

Remerciement

Nous remercions, tout d'abord, Dieu, le tout Puissant, le Miséricordieux, qui nous a donné la force et la volonté pour élaborer ce travail.

Nous adressons nos vifs remerciements et notre gratitude :

*A notre promotrice **Dr KESSAL FETTA**, maîtresse assistante hospitalo-universitaire en pharmacie galénique à l'université de Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, pour l'encadrement scientifique et méthodologique qu'elle nous a assuré, votre encouragement, votre aide attentive, les conseils qui nous a orientés aux résultats de nos ambitions souhaitées pour la réussite.*

*Nous adressons également nos sincères remerciements à **Dr MAKHLOUFI AMEL**, assistante en épidémiologie et Médecine préventive.*

*Nous remercions également **Pr AZZAM AMINA**, Professeur en Microbiologie à l'université de Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou pour leur accueil chaleureux et l'aide qu'elle nous a apporté pour mener à bien ce travail. On la remercie aussi d'avoir accepté de présider le jury.*

*Merci à vous **Dr MOUHOU B LATIFA** de nous avoir fait l'honneur d'examiner ce mémoire. Veuillez accepter, l'assurance de notre estime et profond respect.*

*Merci à vous les **chefs de services Réanimation Médicale Dr Taleb** et toute son équipe. Nous remercions également le **chef de service de Néonatalogie** et toute son équipe.*

*Nous ne manquerons pas de remercier **Dr CHERRIFI**, et l'ingénieur de laboratoire **Mm Hamdad** de ainsi que toute l'équipe du service Microbiologie pour leur compréhension et leur gentillesse.*

Enfin, nous remercions toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce projet de fin d'étude.

TABLE DES MATIERES

Liste des abréviations

Liste des Tableaux

Liste des Figures

Introduction générale.....01

Objectifs.....03

Première Partie : Revue Bibliographique

Chapitre I : Risque Infectieux

1. Définition du risque infectieux.....	04
2. Définition d'une infection nosocomiale.....	06
3. Notion de zoning dans le milieu hospitalier.....	07
4. Les bactéries les plus fréquemment impliquées dans les infections nosocomiales et retrouvées dans l'environnement hospitalier.....	08

Chapitre II : Hygiène Hospitalière

1. Historique sur l'hygiène hospitalière.....	13
1.1. Dans le monde.....	13
1.2. En Algérie.....	14
2. Définition de l'hygiène hospitalière.....	16
3. Les mesures d'hygiène hospitalière.....	16
3.1. Les précautions standards.....	16
3.1.1. Lavage et/ou désinfection des mains.....	16
3.1.2. Équipements de protection individuelle.....	17
3.1.3. Désinfection de matériel.....	18
3.1.4. Bionettoyage des surfaces.....	18
3.1.5. Gestion des déchets.....	18
3.2. Les précautions complémentaires.....	18
3.2.1. Les précautions complémentaires d'hygiène type gouttelette.....	19
3.2.2. Les précautions complémentaires d'hygiène type aéroporté.....	19
3.2.3. Les précautions complémentaires d'hygiène type contact.....	19

Chapitre III : Bionettoyage des surfaces en milieu hospitalier

1. Définition du bionettoyage.....	21
2. Les techniques de bionettoyage.....	21
2.1. Technique manuelle de bionettoyage.....	21
2.1.1. Etapes de la procédure de bionettoyage manuel.....	21
2.1.2. Facteurs influençant le bionettoyage manuel.....	22
2.2. Bionettoyage à la vapeur.....	23
2.2.1. Le principe de bionettoyage à la vapeur.....	23
2.2.2. Les avantages de la méthode vapeur.....	24
2.2.3. Petite revue des études réalisées l'avis du comité scientifique (SFHH).....	25

Chapitre IV : Biocide désinfectant et sensibilité bactérienne

1. Définition d'un produit biocide désinfectant.....	27
2. Règlementation.....	27
3. Critères de choix d'un biocide désinfectant.....	28
4. Activité bactéricide des biocides désinfectants.....	28
5. Détermination de l'activité antimicrobienne des biocides désinfectants.....	29
6. Classification des principes actifs anti microbiens.....	29
6.1. Produits à action létale non spécifique.....	29
6.1.1. Oxydants.....	29
6.1.2. Halogènes et dérivés.....	30
6.1.3. Acides et bases.....	30
6.1.4. Alcools.....	31
6.1.5. Aldéhydes.....	31
6.2. Produits à action létale spécifique.....	31
6.2.1. Ammoniums quaternaires.....	31
6.2.2. Biguanides.....	32
6.2.3. Dérivés phénoliques.....	32
7. Spectre d'activité des désinfectants.....	33
8. Sensibilité bactérienne aux agents antimicrobiens notion de résistance et de tolérance.....	33
8.1. Définition de la résistance bactérienne.....	34
8.2. Type de résistance.....	34
8.2.1. Résistance intrinsèque.....	35
8.2.2. Résistance acquise.....	35

Chapitre V : Validation d'un protocole de désinfection et nettoyage

1. Conditions pré requises à la validation.....	38
1.1. Niveau de propreté à atteindre.....	38
1.2. Qualification des locaux et des équipements.....	38
1.3. Qualification du personnel.....	38
1.4. Qualification des agents de nettoyage et désinfection.....	39
1.5. Qualification du matériel de désinfection.....	39
1.6. Procédures de nettoyage et de désinfection.....	39
2. Contrôle des processus de nettoyage et de désinfection.....	39
2.1. Contrôle des opérations de nettoyage.....	39
2.2. Contrôle des opérations de désinfection (prélèvement des surfaces).....	40
2.2.1. Méthodes directes.....	40
2.2.2. Méthodes indirectes.....	41
2.3. Analyse des prélèvements.....	41
2.3.1. Méthodes par culture.....	41
2.3.2. Méthodes d'observation.....	41
2.3.3. Méthodes chimiques.....	41
2.3.4. Méthodes biologie moléculaire.....	42
3. Plan général de la validation de bionettoyage et/ou de désinfection.....	42
4. Etapes de validation d'un protocole de désinfection.....	43
5. Rapport de la validation du protocole de bionettoyage et de désinfection.....	43
6. Suivi de la validation du bionettoyage.....	44
7. Actions correctives et préventives.....	44
8. Revalidation du bionettoyage.....	44

Partie pratique

Chapitre 1 : Matériels et Méthodes

1. Type et période d'étude.....	48
2. Lieu d'étude.....	48
3. La population de l'étude.....	48
4. Collecte des données	48
5. Déroulement de l'étude	49
5.1. La distribution du questionnaire	49
5.2. Un audit d'observation.....	50
5.3. Réalisation des prélèvements des surfaces.....	50
5.4. Culture des prélèvements	50
5.5. Identification des cultures obtenues	50
5.6. Contrôle qualité des produits biocides désinfectants.....	51
5.7. Evaluation de l'activité antimicrobienne des produits biocides désinfectants	51
6. Critères de jugement.....	52
7. Matériels.....	52
7.1. Matériel consommable utilisé pour questionnaire et audit d'observation....	52
7.2. Matériel utilisé pour la réalisation des prélèvements de surface	52
7.3. Matériel utilisé pour isolement et identification des germes	52
7.4. Matériel utilisé pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne des biocides désinfectants.....	52
8. Considérations éthiques.....	53
9. Saisie et analyse statistique des données.....	53
9.1. Analyse univariée.....	54

Chapitre 2 : Résultat

1. Résultat statistique d'étude CAP sur hygiène hospitalière et bionettoyage.....	55
1.1. Description de la population	55
1.2. Répartition selon les connaissances du personnel sur l'hygiène hospitalière....	57
1.3. Connaissances sur l'Hygiène des lieux et de l'environnement	61
2. Résultats de l'audit d'observation sur le bionettoyage	72
3. Résultat de prélèvement des surfaces	74
4. Résultat de l'valuation de l'activité antimicrobienne des produits biocides	77
4.1. Résultat Contrôle qualité des produits biocides désinfectants	77
4.2. Résultats de Test de sensibilité des germes isolés vis-à-vis des produits biocides désinfectants.. ..	78

Chapitre III : Discussion83

Conclusion, CAPA (actions correctives, actions préventives)86

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Liste des Abréviations

AFNOR : Agence Française de Normalisation
ADBAC : Alkyle diméthyle benzyle ammonium
ADH : Arginine dihydrolase
AMH : Agar de Mueller Hinton
API : Appareil et procédé d'identification
ATCC : Amrican type culture collection
ATMAC: Tri méthyle alkyle ammonium
ATP: Adénosine triphosphate
BGT : Bouillon Glucosé Tamponné
CAP : Connaissances Attitudes et Pratiques
CAQ : Composés d'ammonium quaternaire
CES : Certificat d'étude spéciales en Science Médicales
DAS : Déchets d'activités de soins
DADMAC : Les composés de diméthyle di-alkyle ammonium
DD : Détergent-désinfectant
DNase : Désoxyribonucléase
EN : European Norm
FHA : Friction hydroalcoolique
GEL : Gélatine
GLU : Glucose
GN : Gélose nutritif
GS : Gélose au sang
H2S : Sulfure d'hydrogène
HAS : Haute autorité de santé
ID : immunodéprimé
IND : Indole
INSP : Institut national de santé publique
IPA : Institut pasteur d'Algérie

LDC : Lysine décarboxylase
LPS : Lipopolysaccharidiques
MAL : Malonate
MAN : Mannitol
MH : Müller Hinton
NAM : N-acétylmuramique
NF : Norme française
NIT : Nitrate
ODC : Ornithine décarboxylase
OMS : Organisation mondiale de la santé
ONPG : Orthonitrophényl
PCR : Polymerase Chain Reaction
PDV : Le plan documentaire de validation
RHA : Rhamnose
RI : Risque infectieux
RM : Rouge de méthyle
SAC : Saccharose
SEMEP : Service d'épidémiologie et de médecine préventive
SHA : Solution hydroalcoolique
SOR : Sorbitol
SLD : Salle de rééducation Maternité
SSR : Soins de Suite et réadaptation
SSPI : Salle de Surveillance Post-Interventionnelle
SP : Espèce
TSA : Tryptocaséine soja
TSI : Tri sugar Iron
VP : Voges Proskauer
ufc/ml : Unité faisant colonie par
XYL : Xylosus

Liste des Tableaux

Tableau I : Classification des locaux pour les établissements de santé.....	07
Tableau II : Etude sur l'efficacité de la méthode (bionettoyage à la vapeur)	25
Tableau III : limites de la méthode (bionettoyage à la vapeur)	26
Tableau IV : Spectre d'activité des principales familles de désinfectants Familles Spectre d'activité.....	33
Tableau V : Répartition de personnels soignants selon le respect de la tenue réglementaire au service Néonatalogie, Réanimation médicale, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018.....	58
Tableau VI : Représentation de ressources présentes au service Réanimation Médicale, Néonatalogie, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018.....	68
Tableau VII : Représentation de la confrontation des connaissances rapportées du personnel d'entretien et les pratiques observé par l'Audit.....	71
Tableau VIII : Répartition des germes isolés par prélèvements et par site au niveau du service Néonatalogie.....	75
Tableau IX : Répartition des germes isolés par prélèvements et par site au niveau du service Réanimation Médicale.....	76
Tableau X : Représentation des diamètres d'inhibition de Surfanios® vis-à-vis des espèces microbiennes testées.....	78
Tableau XI : Diamètres en mm des zones d'inhibition de croissance microbienne vis-à-vis de Cleanisept® (2% , 3%,7.5%) ;.....	79
Tableau XII : Diamètres en mm des zones d'inhibition de croissance microbienne vis-à-vis de Cleanisept® (10%, 20%,30%) ;.....	80

Liste des Figures

Figure 1 : Chaine épidémiologique des IN.....	06
Figure 2 : les différents types de lavage des mains.....	17
Figure 3 : Diagramme des 6M.....	37
Figure 4 : Schématisation des étapes de la validation d'un protocole de désinfection.....	43
Figure 5 : Mise en place d'actions correctives.....	45
Figure 6 : Arbre décisionnel de validation de bionettoyage.....	47
Figure 7 : Répartition de professionnels de santé selon le sexe au service Néonatalogie, Réanimation Médicale, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018.....	55
Figure 8 : Répartition de professionnels de santé selon l'âge au service Néonatalogie, Réanimation Médicale, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018.....	56
Figure 9 : Répartition de personnels soignants selon leurs catégories professionnelles au service Réanimation médicale, Néonatalogie, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018.....	56
Figure 10 : Représentation graphique des réponses de professionnels de santé selon connaissance sur l'importance de l'HH au service Néonatalogie, Réanimation Médicale, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018.....	57
Figure 11 : Représentation graphique des réponses de personnels soignants sur le principal mode de transmission des germes au service Néonatalogie, Réanimation Médicale, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018.....	59
Figure 12 : Représentation graphique de professionnels de santé selon leurs connaissances sur l'hygiène des mains au service Néonatalogie, Réanimation Médicale, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018).....	60
Figure 13 : Représentation graphique des réponses de professionnels de santé selon leurs Connaissances sur la SHA et le lavage des mains au service Réanimation Médicale, Néonatalogie, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018.....	61
Figure 14 : Représentation graphique de professionnels de santé selon la durée minimale de la friction des mains au service Réanimation Médicale, Néonatalogie, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018.....	62
Figure 15 : Représentation graphique des réponses de professionnels de santé selon leur connaissance sur l'hygiène des lieux de travail au service de Néonatalogie, Réanimation Médicale, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018.....	63
Figure 16 : Représentation graphique des réponses de personnels d'entretien sur leur respect des recommandations générales au service Néonatalogie, Réanimation Médicale, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018.....	64
Figure 17 : Représentation graphique des réponses de personnels d'entretien selon leur respect des recommandations sur l'utilisation sur le produit au service Néonatalogie, Réanimation Médicale, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018.....	65

Figure 18 : Représentation graphique réponses de personnels d’entretien sur leur formation, les difficultés et le respect de la technique de bionettoyage au service Néonatalogie, Réanimation Médicale, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018.....	66
Figure 19 : Représentation graphique de personnels d’entretien selon leurs réponses sur le contrôle de bionettoyage au service Néonatalogie, Réanimation Médicale, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018.....	67
Figure 20 : Représentation graphique des réponses de personnels d’entretien selon les difficultés rencontrées lors de l’entretien des locaux au service Néonatalogie, Réanimation Médicale, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018.....	68
Figure 21 : Répartition de personnels d’entretien selon leur respect des recommandations générales de bionettoyage au service Néonatalogie, Réanimation Médicale, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018.....	69
Figure 22 : Répartition de personnels d’entretien selon le respect de la technique de bionettoyage au service Néonatalogie, Réanimation Médicale, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018.....	70
Figure 23 : Répartition de personnels d’entretien selon le respect de temps de contact et dilution au service Néonatalogie, Réanimation Médicale, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018..	70
Figure 24 : Le nombre total des prélèvements au niveau des deux service Néonatalogie et Réanimation Médicale.....	73
Figure 25 : Représentation graphique selon le niveau de contamination globale des sites contrôlés au niveau de service de Néonatalogie et de Réanimation Médicale.....	74
Figure 26 : Représentation graphique des germes isolés selon la coloration de Gram au niveau de service de néonatalogie et de réanimation médicale.....	74
Figure 27 : Répartition des germes isolés après identification complète (tests enzymatiques, galerie biochimique) au niveau de service de Néonatalogie et de Réanimation Médicale ...	75
Figure 28 : Activité antimicrobienne de Surfanios® et Cleanisept® à des concentrations (2%, 3% et 7.5%) sur les souches ATCC (a : <i>E. coli</i> /b : <i>Staphylocoque</i> / c : <i>Pseudomonas</i>).....	77
Figure 29 : Activité antimicrobienne de Surfanios® sur <i>Staphylococcus aureus</i> (a), <i>Klebsiella pneumoniae</i> (b), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (c), <i>Acinetobacter baumannii</i> (d).....	77
Figure 30 : Activité antimicrobienne de Cleanisept à des concentrations (2%, 3% et 7.5%) sur <i>Staphylococcus aureus</i> (a), <i>Klebsiella pneumoniae</i> (b), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (c), <i>Acinetobacter baumannii</i> (d).....	78
Figure 31 : Activité antimicrobienne de Cleanisept à des concentrations (10%, 20% et 30%) sur <i>Staphylococcus aureus</i> (a), <i>Klebsiella pneumoniae</i> (b), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (c), <i>Acinetobacter baumannii</i> (d).....	78

Introduction générale

L'hygiène hospitalière (HH) et la lutte contre les infections nosocomiales demeurent une préoccupation constante en pratique médicale dans le monde entier. Elles constituent des éléments essentiels de promotion de la santé par une contribution à la qualité des soins et à la sécurité des patients.

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), plus de 1,4 millions de personnes dans le monde souffrent de complications infectieuses induites par les soins. Les infections nosocomiales (IN) sont parmi les principales causes de mortalité des patients, tout âge confondu, notamment pour les plus vulnérables d'entre eux.

Dans certains pays en développement, la proportion de ces complications infectieuses dépasse 25% des malades hospitalisés. [1]

En Afrique, les infections nosocomiales représentent la troisième cause de mortalité maternelle, la deuxième cause de mortalité néonatale précoce et la première cause de morbidité postopératoire [2].

Les causes sont nombreuses et peuvent incriminer les surfaces, matériels, environnement direct ou indirect ainsi que le personnel.

À l'hôpital, les surfaces susceptibles d'entrer en contact avec le patient soit directement, soit indirectement par l'intermédiaire de dispositifs médicaux ou les mains des personnes peuvent constituer des réservoirs microbiens.

Toutes les espèces bactériennes isolées à partir de ces surfaces ne sont pas obligatoirement pathogènes mais la flore constituée par l'activité humaine comme les bactéries de la flore cutanée ou des flores muqueuses peuvent être responsables d'infections associées aux soins.

Les surfaces sont pour cette raison nettoyées et désinfectées (le bionettoyage). La périodicité de bionettoyage se fait selon le principe de zoning.

De nombreux produits biocides (désinfectants) sont utilisés quotidiennement en milieu hospitalier. Cependant,

Qu'en est-il de l'usage de ces biocides sur la résistance des bactéries ?

Qu'en est-il de procédures adaptées pour réaliser le bionettoyage ?

Qu'en est-il des démarches du personnel et du suivi des bonnes pratiques d'hygiène hospitalière ?

Un tas de questions interminables auxquelles on ne pourrait répondre facilement sans preuves tangibles sur le terrain.

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre démarche ; par le biais de ce travail, nous apportons un ensemble de décisions et suggestions d'un point de vue pharmaceutique d'une part en passant par le choix de la procédure adéquate et l'application des pratiques d'assurance qualité comme outil décisionnel et du point de vue microbiologique d'autre part en validant ou non des procédures préétablies à la suite d'une série d'investigation qui a duré plus de 2mois.

Des résultats et leurs discussions sont décortiqués avec intérêts en présence des chefs de services concernés, du pharmacien en particulier le microbiologiste et de l'épidémiologiste dans l'optique d'intégrer dans les pratiques d'hygiène hospitalière une démarche d'assurance qualité permettent de valider chaque décision et chaque acte pharmaceutique ou médicale, d'audit périodique en matière d'hygiène hospitalière dirigés par une équipe de travail pluridisciplinaire médicale paramédicale et pharmaceutique afin de venir au bout de ce problème mondiale.

Objectifs

Objectif principal :

Évaluer les connaissances, attitudes et pratiques du personnel de santé vis-à-vis de l'hygiène hospitalière et plus précisément du bionettoyage et les bonnes pratiques d'utilisation des produits biocides désinfectants.

Objectifs secondaires :

Évaluer les connaissances en matière de bionettoyage ainsi que les méthodes utilisées ;

Mettre en place des procédures de validation des pratiques et des procédés de bionettoyage ;

Contrôler l'efficacité du bionettoyage par des prélèvements effectués sur des surfaces désinfectées ;

Déterminer l'efficacité des produits biocides désinfectants utilisés afin d'évaluer leur activité antimicrobienne in vitro ;

Proposer des actions correctives et préventives pour assurer l'hygiène des locaux et minimiser les risques de contamination (patient-environnement hospitalier) ;



REVUE

BIBLIOGRAPHIQUE



CHAPITRE I :

RISQUE

INFECTIEUX



La contamination d'un site anatomique donné par des micro-organismes (MO) et la multiplication de ceux-ci, qui aboutit à la colonisation de ce site, sont les étapes préalables au déclenchement d'une infection.

La survenue d'une infection est le plus souvent multifactorielle et dépend de l'inoculum infectieux, de la virulence du MO, de la rupture des barrières cutané-muqueuses à l'occasion de manœuvres invasives et de la réceptivité du patient (patient immunodéprimé (ID), âgé, alité, etc.) [3].

Dans ce contexte, la question qui se pose pour étudier les relations entre IN et environnement hospitalier est :

L'environnement constitue-t-il un réservoir pour les MO impliqués dans les IN ?

On vous répondra aisément par l'affirmatif mais faudrait-il le prouver. C'est ce que nous allons vous exposer comme démarche dans ce manuscrit.

1. Définition du risque infectieux

Le risque infectieux (RI) peut se définir ainsi : « causes potentielles liées à une contamination microbiologique qui peuvent entraîner des conséquences infectieuses ».

A l'hôpital, le RI est omniprésent, cependant il ne survient pas de façon mathématique. Ce risque est variable, en effet plusieurs éléments doivent être réunis pour sa survenue : l'agent infectieux, l'hôte et éventuellement l'environnement. Il se concrétise à travers un processus qui se déroule en trois temps successifs :

Premier temps : la contamination

Elle se traduit par la présence d'un MO en faible quantité et sans manifestation clinique décelable. Le MO responsable peut être une bactérie, un virus, un champignon, un parasite ou un Agent Transmissible Non Conventionnel (type prion). Il entre en contact avec l'hôte, en l'occurrence, la personne soignée, l'environnement pouvant favoriser la dissémination de l'agent infectieux.

- **Mode de transmission :**

En milieu hospitalier, la transmission peut se faire par contact direct ou indirect

-Transmission par contact direct : favorisée par les mains du personnel soignant, qui jouent en effet un rôle important dans le transfert passif des MO d'un malade à l'autre.



- *Transmission par contact indirect* : les objets et les matériaux présents à l'hôpital peuvent servir de support de transmission. Des autres modes de transmission existent quoiqu'ils jouent un rôle moins important dans l'hôpital, c'est le cas par exemple de la transmission par voie aérienne qui peut affecter des patients particulièrement susceptibles (patients en salle d'opération, ou sévèrement ID) et de la transmission par l'intermédiaire d'un support contaminé (nourriture, liquide de perfusion...) qui s'observe sporadiquement dans le cadre d'épidémies [4].

- **Mécanismes de transmission**

La transmission peut se faire par auto infection, hétéro infection, xéno infection ou par exo infection (figure1).

L'auto-infection : elle s'observe lorsque le malade s'infecte par ses propres germes soit in situ, soit à partir de l'environnement immédiat comme la surface de la peau, les vêtements et les lits. Ces infections sont dues généralement aux germes saprophytes qui deviennent pathogènes à la suite d'une antibiothérapie itérative ou d'un traitement immunosuppresseur. Les complications infectieuses respiratoires liées au décubitus et ses conséquences sur le drainage des voies aériennes peuvent être des auto- infections [5].

L'hétéro-infection : c'est la contamination d'un patient par les germes d'un autre patient transmis de manière indirecte

La xéno-infection : la contamination du patient est causée par des germes importés au sein de la structure de soins par l'admission de nouveaux malades, plus rarement de personnel ou des visiteurs porteurs d'une maladie infectieuse.

L'exo-infection : elle résulte d'une défaillance de type erreur ou à une insuffisance dans les procédures d'asepsie[6].

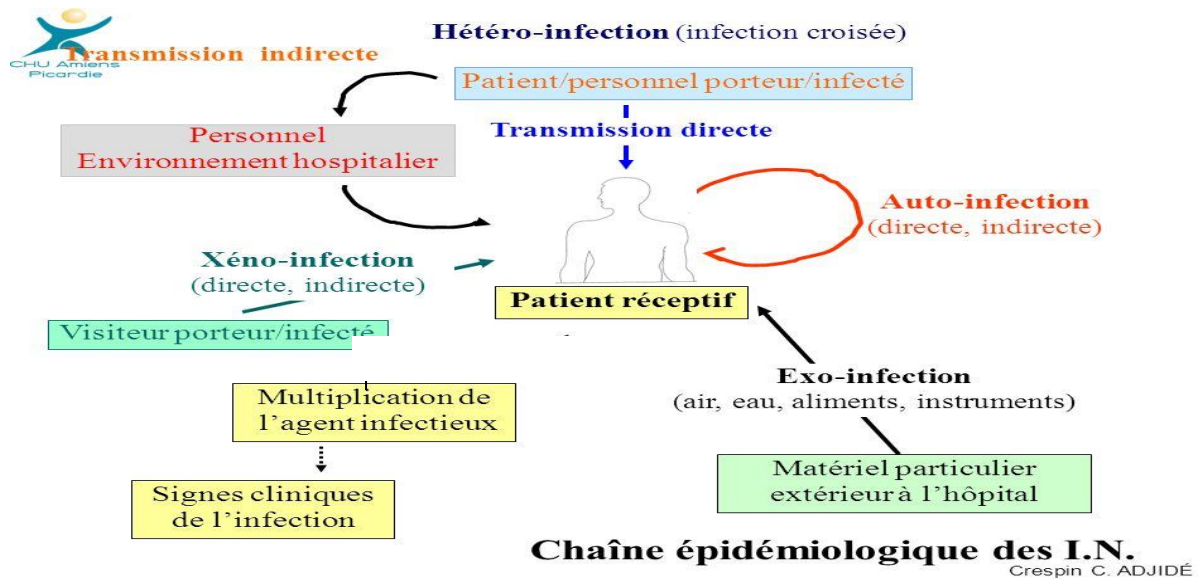


Figure 1 : Chaîne épidémiologique des IN

Deuxième temps : la colonisation

Elle se définit par la présence d'un type MO, en grand nombre et sans manifestation clinique décelable. Il s'agit d'un phénomène de multiplication de l'agent infectieux en cause qui survient en phase préliminaire de l'infection. Les hygiénistes parlent alors de colonisation ou de portage.

Troisième temps : l'infection

Elle est mise en évidence par la présence d'un type de MO, en grand nombre, associée à des manifestations cliniques et/ou biologiques, mais elle peut être parfois asymptomatique [3].

2. Définition d'une infection nosocomiale

Classiquement, on parle d'infection hospitalière ou IN.

L'étymologie du terme « nosocomiale » datant de 1845, évoque deux notions un peu différentes : coté latin, le mot *nosocomium* signifie l'hôpital, coté grec (*noso* : maladie et *komeion* : soigner), rattachant plus simplement à l'acte de soins [7].

« Une infection est dite nosocomiale si elle apparaît au cours ou à la suite d'une hospitalisation et si elle était absente à l'admission à l'hôpital » [8].



Lorsque la situation précise à l'admission n'est pas connue, un délai d'au moins 48 heures après l'admission (ou un délai supérieur à la période d'incubation lorsque celle-ci est connue) est communément accepté pour distinguer une infection d'acquisition nosocomiale d'une infection communautaire. Toutefois, il est recommandé d'apprécier, dans chaque cas douteux, la plausibilité du lien causal entre hospitalisation et infection. Pour les infections du site opératoire, on considère comme nosocomiales les infections survenues dans les 30 jours suivant l'intervention, ou, s'il y a mise en place d'une prothèse ou d'un implant, dans l'année qui suit l'intervention » [9].

3. Notion de zoning dans le milieu hospitalier

Une zone à risque de biocontamination est un lieu défini et délimité dans lequel les sujets et/ou les produits sont particulièrement vulnérables aux particules viables ou inertes (norme NF S 90-351).

Tableau I : Classification des locaux pour les établissements de santé [7].

Zone 1	Zone 2	Zone 3	Zone 4
Absence de risque	Risque faible à modéré	Risque important	Risque élevé
Halls Bureaux Services administratifs Services techniques Services logistiques Circulation verticale (Ne donnant pas accès aux unités de soins)	Sanitaires Vestiaires Zone de stockage du linge souillé, déchets Consultation Service psychiatrie Salle de rééducation (SLD) service de Maternité Soins de Suite et réadaptation (SSR) Circulation verticale (donnant accès aux unités de soins) Circulation horizontale	Urgence Salle de Surveillance Post-Interventionnelle (SSPI) Service de pédiatrie Service de chirurgie Service de médecine hémodialyse Radiologie Exploration fonctionnelle Endoscopie Salle de naissance Soins intensifs Salle d'autopsie	Néonatalogie Réanimation Salle d'opération Secteur interventionnel Service de brûlés Unité protégée hématologie Chambre à flux laminaire



4. Les bactéries les plus fréquemment impliquées dans les infections nosocomiales et retrouvées dans l'environnement hospitalier

Deux types de bactéries peuvent être retrouvés dans l'environnement des patients :

- Bactéries d'origine humaine (peau, muqueuses) parmi lesquelles des bactéries multirésistantes aux antibiotiques comme *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline, les entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre élargi ou les Enterococcus résistants à la vancomycine [10].

- Bactéries d'origine environnementale dont certaines ont de fréquentes résistances naturelles aux antibiotiques, notamment les bacilles à Gram négatif comme *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* [10] .

Lorsque les patients sont colonisés et surtout lorsqu'il existe une infection patente, leur environnement immédiat est en général fortement contaminé par ces MO [11] .

La survie et éventuellement la multiplication de ces bactéries conditionnent la nature, l'importance de la colonisation environnementale et la capacité de l'environnement à devenir un réservoir dans lequel le micro-organisme persiste et éventuellement une source à partir de laquelle le MO va pouvoir être transmis. Cette survie dans l'environnement, favorisée par la formation de biofilm au niveau des surfaces, varie selon les bactéries et la nature des surfaces contaminées [7].

Ces bactéries peuvent être regroupées en :

➤ **Les Cocci Gram positifs :**

- **Les Staphylocoques :** Le genre *Staphylococcus* appartient à la famille des

Micrococaceae qui regroupe des espèces bactériennes constituées des cellules arrondies (Cocci) à Gram positif, immobiles, disposées en amas, à la façon d'une grappe de raisin.

Les principaux caractères biochimiques : Catalase (+), aérobies facultatifs dont faisant fermenter les glucides, Arginine - dihydrolases (ADH) (+)[12].

La plupart des espèces rencontrées sont opportunistes (*S. epidermidis*, *S. saprophyticus*), d'autres peuvent être occasionnellement pathogènes (*S. aureus*).

Pour leur classification : l'opposition entre « Staphylocoque doré pathogène » et



« Staphylocoque blanc non pathogène » est historique et insuffisante car elle ne correspond pas à la réalité [13].

Les espèces à coagulase négative :

- Habituellement commensales de la peau ou saprophytes.
- Leur pouvoir pathogène est loin d'être négligeable. *S. epidermidis* est la plus souvent rencontrée.

On distingue aujourd'hui :

L'espèce *Staphylococcus aureus* :

- produit de la coagulase (enzyme capable de coaguler le plasma).
- Elle est très souvent responsable d'infections pyogènes graves[14] .

- **Les Streptocoques** : la famille des *Streptococaceae* regroupe les genres :

Streptococcus, *Enterococcus*, *Lactococcus*. Rassemblant des Cocci Gram (+) souvent disposés en chaînettes.

Les caractères biochimiques sont particulièrement intéressants :

- L'absence de catalase : cette particularité permet de différencier *Staphylococcus* de *Streptococcus*.
- Les bactéries du genre *Streptococcus* : sont fragiles, sensibles à l'acidité et nécessitent de nombreux facteurs de croissance [12].

➤ Les bacilles Gram négatifs :

- **Les Entérobactéries** :

Les *Entérobactériaceae* ou Entérobactéries sont une vaste famille de bactéries qui sont rencontrées tous les jours en bactériologie médicale [12].

- ✓ **E. coli** : Bacille Gram (-) appartenant à la famille des *Entérobactériaceae*. C'est un hôte normal du tube digestif de l'homme et des animaux, sa présence dans l'environnement est le témoin d'une contamination fécale c'est pourquoi on procède systématiquement à sa détection dans les eaux d'alimentation[13] .



Les principaux caractères biochimiques : Glucose (+), Lactose (+), ONPG (+), Indole (IND) (+), Voges Proskauer (VP) (-), Urée (-), Sulfure d'hydrogène (H₂S) (-)[15].

- ✓ **Citrobacter** : ils sont des bacilles Gram négatif, anaérobies facultatifs, mobiles sont isolés à partir de l'eau, égouts, aliments et les fèces de l'homme et des animaux. Ils sont considérés comme des hôtes normaux du tube digestif ; ils peuvent survivre facilement dans l'eau. Les modes de transmission on a : transmission fécal-orale, aliments contaminés, contamination inter humaine, transmission d'une mère à son enfant. Et les principaux caractères biochimiques : Glucose (+), Lactose (+), Orthonitrophényl (ONPG) (+), Indole (-), VP (-), Mobilité (+), Urée (+), H₂s (+/-)[13].

- ✓ **Le groupe KES : Klebsiella - Enterobacter - Serratia.**

Elles ont une réaction de VP positive que l'on préfère de signer aujourd'hui comme groupe des KES.

❖ **Klebsiella :**

Est un germe très répandu dans la nature (l'eau, le sol, la poussière) est une commensale du tube digestif (l'oropharynx). Il peut être présent sur les mains du personnel et sur les objets de l'environnement hospitalier [12].

Le portage digestif de Klebsiella est plus important chez les malades hospitalisés que dans la population normale, sur les mains du personnel et sur les objets de l'environnement dans les services hospitaliers. Donc la transmission des Klebsiella d'un malade à l'autre est habituellement manuelle.

Les principaux caractères biochimiques : Lact (+), ONPG (+), VP (+), Indole (+/-), Urée (+), Klebsiella présente un pouvoir glucidolytique intense, sont attaqués le glucose avec gaz, lactose, saccharose, mannitol [13].

❖ **Enterobacter :**

Les espèces du genre Enterobacter sont généralement mobiles. Sont des hôtes habituels du tube digestif [12].

Ce sont des pathogènes opportunistes trouvés dans l'environnement hospitalier.

E. cloacae et *E. aerogenes* sont les plus souvent isolés. Les principaux caractères biochimiques : Gaz en glucose, ONPG (+), Indole (-), Urée (-) [13].



❖ **Serratia :**

Les *Serratia* sont des bacilles mobiles et protéolytiques et produisent de nombreuses enzymes. Deux espèces sont fréquemment rencontrées en bactériologie médicale [12].

Les principaux caractères biochimiques : Lactose (-), ONPG (+), H₂S (-) protéolyse intense et rapide (c'est la seule Entérobactérie hydrolysant facilement la gélatine en 24 heures), lipase (+), désoxyribonucléase (DNase) (+) [13].

✓ **Proteus - Providencia :**

Au sein de la famille des **Entérobactériaceae**, le groupe *Proteus-Providencia* se distingue essentiellement par les 2 caractères suivants : Présence d'un tryptophane - désaminase (TDA) et envahissement constant de la gélose nutritive (GN) à 10% d'agar par les formes mobiles à 22 c°.

Les caractères biochimiques : en plus des caractères biochimiques communs, citons la production de gaz peu abondante lors de la fermentation du glucose, l'absence de fermentation du lactose, ONPG (-) et Lysine décarboxylase (LDC) (-)[13].

✓ **Salmonella :**

Il est classique de distinguer les *Salmonella* responsables de fièvre typhoïde et paratyphoïde des autres sérotypes dites *Salmonella* mineures ou ubiquistes ou non typhoïdique [12].

Les caractères qui permettent d'identifier une *Salmonella* sont : L'absence de fermentation du lactose, l'absence de bêta-galactosidase, d'urée et de production d'indole ces bactéries sont mobiles, produisent de l'H₂S et ont une lysine-décarboxylase mais des exceptions existent pour certaines espèces [13].

✓ **Shigella :**

Les *Shigella* sont toujours immobiles, caractérisés par leur faible activité métabolique.

Le seul réservoir est le tube digestif, elles sont présentes dans la matière fécale des malades ou des porteurs sains (convalescents, entourage des maladies).

Les disséminations de la maladie se fait habituellement par des aliments ou de l'eau de boisson contaminée par des matières fécales.



Les caractères biochimiques : la plupart des caractères biochimiques des *Shigella* sont négatifs insistons sur l'absence quasi générale de gaz en milieu sucré et sur l'absence de LDC.

Quelques caractères peuvent être positifs selon les sérotypes : Indole, ONPG, Mannitol est toujours positif, Rouge de méthyle (RM) [12].

✓ **Pseudomonas :**

Le genre *Pseudomonas* comprend des bacilles à Gram (-) habituellement fins, rectilignes ou plus rarement incurvés :

- Mobiles grâce à une ciliature polaire.
- Cultivant bien sur milieux ordinaires.
- Aérobie stricts (oxydase +).
- Possédant un métabolisme glucidique de type oxydatif.
- Gélatinase (+) -Nitrate réductase (+) -Lécithinase (+)[16].

✓ **Acinetobacter :**

Acinetobacter.spp est un coccobacille à Gram (-) non fermentatif ubiquitaire en diplococcoïdes. Cette morphologie est identique à celle des *Moraxella* mais la réaction d'oxydase, qui est négative avec *Acinetobacter* sépare les deux genres.

Acinetobacter spp est un genre retrouvé dans les sols, l'eau potable les eaux de surface ainsi *Acinetobacter baumannii* est l'espèce la plus souvent en cause dans les infections chez l'homme retrouvée au sein de la flore cutanée commensale de 25 % des individus.

Les principaux caractères biochimiques : Urée (-), Indole (-), tryptophane désaminase (TDA) (-), LDC (-), H₂S (-), ils utilisent les glucides rarement, Oxydase (-), Nitrate (-).

Elle est très répandue dans l'environnement hospitalier et peut se développer dans les solutions antiseptiques dans les savons liquides et coloniser les appareils médicaux, les mobiliers, les sols. les souches peuvent être véhiculés par le personnel [17].



CHAPITRE II :

HYGIENE

HOSPITALIERE



Au lieu de s'ingénier à tuer les microbes dans les plaies, ne serait-il pas plus raisonnable de ne pas en introduire ? (Pasteur).

Cette citation nous rappelle l'importance de la prévention de la survenue d'une infection nosocomiale, par l'application des mesures d'hygiène à savoir le respect des précautions standards et l'hygiène de l'environnement hospitalier par l'ensemble de professionnel de santé.

Il s'agit là, de lutter contre un problème universel. Lorsqu'elles sont contractées dans un établissement de soins ou dans le cadre de la prise en charge médicale.

Ces infections entraînent une lourde charge à la fois pour les patients, leurs familles mais aussi pour la société [18].

1. Historique sur l'hygiène hospitalière

1.1. Dans le monde

L'hygiène hospitalière (HH) est un thème d'actualité mais pas du tout nouveau. C'est au XIV^{ème} siècle que deux médecins d'Espagne musulmane annoncèrent pour la première fois la notion de contagiosité, recommandant d'isoler les malades et de détruire le linge avec lequel ils avaient été en contact.

Aux débuts du XIX siècle la naissance d'infectiologie et les travaux de pasteur établissant la nature microbienne des infections ont permis de codifier les règles d'hygiène, d'asepsie et d'antisepsie, en plus de progrès d'anesthésie, la chirurgie se pratiquait par succès.

En 1846, Semmelweis (obstétricien autrichien) démontre l'importance du lavage des mains dans la prévention des infections hospitalières et des fièvres puerpérales lors des accouchements[19].

En 1866, LISTER (chirurgien) propose l'utilisation d'acide phénique dans les plaies et pour la chirurgie, base de l'antisepsie.

De 1885 à 1900, la mortalité opératoire en chirurgie abdominale va passer de 50% à 12%

L'utilisation des gants en salle d'opération, en 1889 se doit à Halstead, un chirurgien américain.

Le XXe siècle sera marqué par la découverte des antibiotiques, En 1940, utilisation des antibiotiques dans le traitement des infections et guérison des maladies infectieuses. Cela entraînera un relâchement dans l'hygiène hospitalière.

En 1950-1960, grandes épidémies d'infections hospitalières (staphylocoques).



En 1973, cadre réglementaire concernant la prévention des infections hospitalières (les premiers comités de lutte contre les infections sont créés).

En 1988, création des CLIN (comité de lutte contre les infections nosocomiales) qui sont rendus obligatoires dans les hôpitaux.

Durant les années 1990, plusieurs pays européens ont commencé à mettre en place des réseaux nationaux voire régionaux de surveillance des infections acquises à l'hôpital.

La plupart de ses réseaux étaient basée sur le modèle du système national de surveillance des infections nosocomiales (NNIS) des centers of disease control and prévention (CDC) américains. Les plus grands projets sont : le Projet EURONIS (Surveillance des infections nosocomiales dans les unités de soins intensifs en Europe) soutenu par l'UE et le projet HELICS (Hospital in Europe Link for infection Control through Surveillance) était une association internationale des réseaux régionaux et nationaux organisée par les coordinateurs de ces réseaux, sans pour autant remplacer les initiatives locales et nationales.

En 1992, 1er plan de lutte contre les IN [20].

1.2. En Algérie

En Algérie, la législation en matière d'hygiène hospitalière a commencé à partir du début des années 80, suivi d'une cascade de textes réglementaires. En effet, la loi a fait obligation de commission d'hygiène interne dans chaque établissement de santé. Elle était chargée d'élaborer un programme de surveillance concernant l'hygiène et l'entretien des équipements, des locaux, des allées, des cours et des jardins.

C'est en 1985 qu'il y'a eu l'avènement de la loi n°85-05 du 16/02/1985 relative à la protection et à la promotion de la santé et notamment son article 215 qui stipule l'application des normes de prescription de construction, d'hygiène et de sécurité des équipements. Dans la même année, les SEMEP (service d'épidémiologie et de médecine préventive) ont été créés et parmi leurs rôles, le contrôle de l'hygiène hospitalière.

En 1988, un guide technique, qui est toujours d'actualité, a été élaboré avec la coopération française.

La réhabilitation du service public dans les établissements du secteur de la santé a été ordonnée en 1994 et le texte réglementaire stipule la désignation d'un comité d'hygiène hospitalière et une série de mesures réglementant l'hygiène du milieu.



En 1996, un réseau de surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques a été créé en partenariat entre l'OMS et l'IPA (Institut Pasteur d'Algérie).

En 1998, il y a eu création de deux comités nationaux ; le comité national de la formation en hygiène hospitalière et le comité national d'hygiène hospitalière. Ce dernier a été chargé de définir les éléments d'une politique de santé en matière d'HH et de mettre en place un programme de prévention des infections hospitalières. Dans la même année, des comités de lutte contre les IN (CLIN) ont été créés au niveau de chaque établissement de santé.

En 2000, sous l'égide de l'institut national de santé publique (INSP), un projet de programme national de lutte contre les IN, sans suite, a été élaboré, dans l'objectif de réduire de 50%, la prévalence des IN en 5 ans. Un programme euro-méditerranéen (Noso-Med) a été mis en place dans l'objectif de réaliser des audits et des enquêtes sur la base de protocoles standardisés, afin d'obtenir des données permettant d'établir les comparaisons. Au cours de cette année, pour une meilleure approche du problème et pour la formation continue des praticiens, il a été mis en place un certificat d'étude spéciales en Science Médicales (CES) en hygiène hospitalière.

En 2002, une série de textes réglementaires a été élaborée notamment, l'obligation de la vaccination contre l'hépatite B et la prévention des hépatites virales, du VIH (Virus immunodéprimé humain) et des accidents exposant au sang (AES) en pratique dentaire.

En 2003, les modalités de gestion des déchets d'activités de soins (DAS) ont été définies.

A partir de 2004, l'utilisation du savon en pain, dans les blocs opératoires, est interdite et son remplacement avec savon liquide avec distributeur automatique est préconisé.

En 2005, il y a eu la première enquête nationale de prévalence des IN et le remplacement des deux comités nationaux (le comité national de la formation en hygiène hospitalière et le comité national d'hygiène hospitalière) par le comité de lutte contre les IN.

En 2008, la gestion de la filière d'élimination des DAS a été instaurée.

En 2013, il y a eu instruction sur la gestion de la filière d'élimination des déchets d'activité de soins à RI [21].

En 2015, la sortie des directives nationales relative à l'hygiène de l'environnement dans les établissements de santé publics et privés.



2. Définition de l'hygiène hospitalière

Elle concerne la lutte contre les infections en milieu hospitalier, elle permet de réduire les risques iatrogènes liés tant au matériel qu'aux locaux ou au personnel qui gravite autour du patient hospitalisé [22] .

Comme elle peut se définir comme l'ensemble des mesures de protection à mettre en œuvre pour lutter contre les risques et les nuisances aux quels sont exposés les malades, le personnel et les visiteurs en milieu hospitalier et en particulier contre le RI [23].

3. Les mesures d'hygiène hospitalière

3.1. Les précautions standards

Précautions « Standard » : sont des recommandations générales d'hygiène à appliquer pour tout patient quel que soit son statut infectieux visent à Protéger patients et personnels vis à vis du risque de transmission des agents infectieux lors de contact avec le sang, les liquides biologiques et tout autre produit d'origine humaine.

3.1.1. Lavage et/ou désinfection des mains

Le lavage des mains qui est considéré comme la première mesure de prévention des IN, Il peut s'agir du :

- Lavage simple des mains dont l'objectif est de prévenir la transmission manu portée et éliminer la flore transitoire.
- Lavage antiseptique des mains dont les objectifs consistent à éliminer la flore transitoire et à diminuer la flore commensale. Geste invasif et mise en œuvre de techniques d'isolement septique ou aseptique, soin au technique aseptique (exemple : sondage urinaire, cathétérisme périphérique)[24].

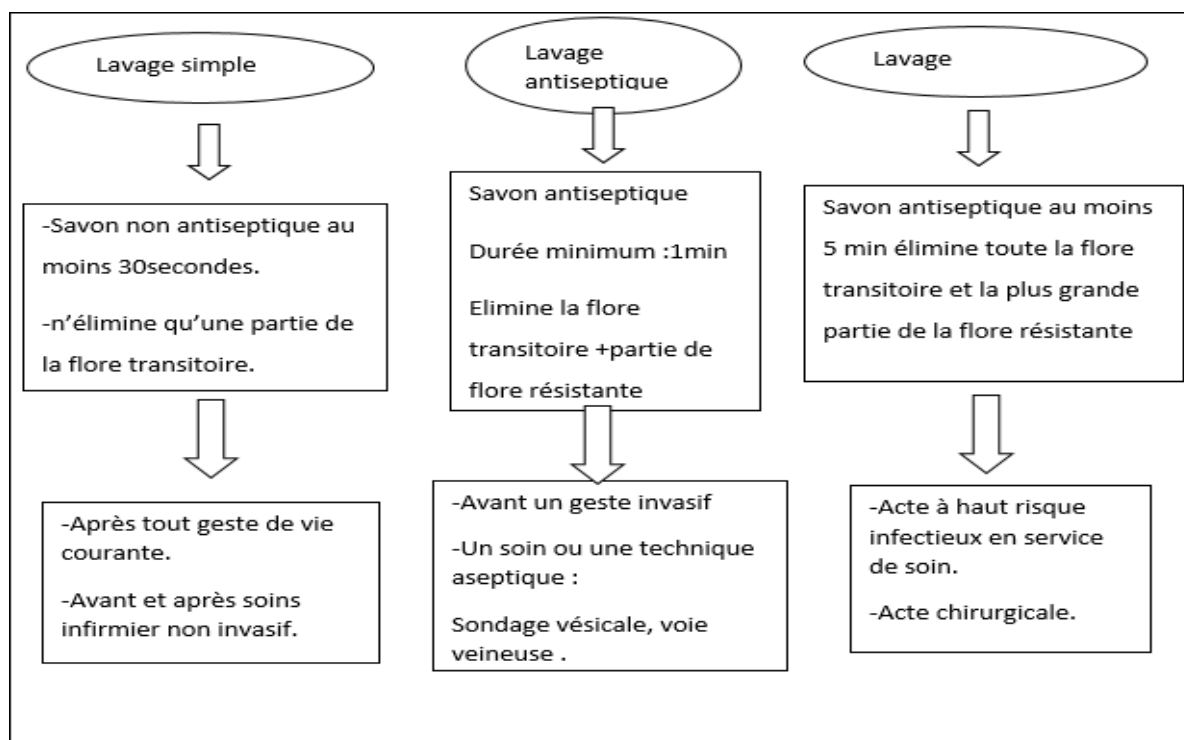


Figure 2 : les différents types de lavage des mains

3.1.2. Équipements de protection individuelle

➤ Le port des gants :

Les gants doivent être changés entre deux patients, deux activités. Les gants doivent être portés s'il y a un risque de contact avec du sang ou tout autre produit d'origine humaine, les muqueuses ou la peau lésée du patient, notamment à l'occasion de soins à risque de piqûre (hémoculture, pose et dépose de voie veineuse, chambres implantables, prélèvements sanguins ...) [25].

Et lors de la manipulation de tubes de prélèvements biologiques, linge et matériel souillés, lorsque les mains du soignant comportent des lésions [26].

➤ Le port de surblouses, lunettes, masque :

Il est nécessaire si les soins ou si les manipulations exposent à un risque de projection ou d'aérosolisation de sang ou tout autre produit d'origine humaine : aspiration, endoscopie, actes opératoires, autopsie, manipulation de matériel et linge souillés...

Le port de masques et de lunettes est impératif dans les situations où il existe un risque d'aérosols et de projections de gouttelettes à partir de liquides biologiques ou de sécrétions.



Des tabliers efficaces ou sur blouses doivent être portés en cas de risque d'éclaboussures par du sang, liquides biologiques, sécrétions, excréments et en cas de souillure visible. Ils doivent être changés une fois par jour [25].

3.1.3. Désinfection de matériel

Matériel de soins : le gros matériel (respirateurs, machines d'hémodialyse, oxygénateurs, nutripompes, appareil de radiologie incubateurs) doit être nettoyer et désinfecté entre deux utilisations et soumis à des contrôles bactériologiques, le petit matériel doit être de préférence jetable si non doit être nettoyée, rincé et désinfecté ou stérilisé [23].

3.1.4. Bionettoyage des surfaces

L'hygiène des locaux, est une action antimicrobienne réalisée avec un désinfectant et qui touche l'air ambiant, les surfaces. Elle est constituée de la désinfection du sol et de plafond, la désinfection des murs surtout de chambre du malade est salle d'opération.

-Les locaux doivent être largement aérés, éclairés et ensoleillés et les bonnes règles architecturales respectées pour que l'hôpital soit peut contaminable, peu contaminé et facilement décontamination.

- Les locaux doivent être entretenus et nettoyés régulièrement, Le rythme et les modalités du bionettoyage doivent être diversifiées selon la nature des locaux [27].

3.1.5. Gestion des déchets

En Algérie, le ministère de l'aménagement du territoire et de l'environnement s'est penché de façon précise sur la gestion des déchets hospitaliers et a décrété une réglementation en vigueur depuis 2003. Le ministère de la santé et de la réforme hospitalière a suivi le programme de l'environnement et a complété les textes législatifs par un certain nombre d'instructions. L'institut national de santé publique a lancé une enquête sur la gestion des déchets d'activités de soins publiée en 2009 dans laquelle de nombreuses défaillances ont été constatées à l'échelle nationale [23] .

3.2. Les précautions complémentaires

Les Précautions Complémentaires d'Hygiène (PCH) ont pour but de faire barrière à la diffusion d'un agent infectieux connus ou présumés à partir d'un patient ou de son environnement immédiat[28] .



3.2.1. Les précautions complémentaires d'hygiène type gouttelette

- Porter un masque chirurgical ou masque de soins à proximité du malade et pour les soins directs.
- Réaliser une friction ou un lavage simple suivi d'une friction en cas de mains souillées en fin de prise en charge du malade.
- Hygiène des mains et port de masque par le malade lorsqu'il se déplace.
- Isolement géographique en cas d'épidémie et à discuter au cas par cas en fonction de l'évaluation du risque de transmission.
- Information et hygiène des mains des visiteurs.

3.2.2. Les précautions complémentaires d'hygiène type aéroporé

- Porter un masque respiratoire spécifique avant d'entrer dans la chambre.
- Aérer la chambre plusieurs fois par jour.
- Chambre individuelle obligatoire.
- Porte fermée.
- Limitation maximale des visites.

3.2.3. Les précautions complémentaires d'hygiène type contact

- Porter un tablier à usage unique lors des soins directs au malade.
- Privilégier le matériel dédié au malade.
- Réaliser une friction, ou un lavage simple suivi d'une friction en contact de mains souillées, après tout contact avec le malade ou son environnement proche et enfin de prise en charge du malade.
- Hygiène des mains du malade lorsqu'il se déplace.
- Changement des protections et réfection des pansements lors de déplacements.
- Isolement géographique : à discuter au cas par cas en fonction de l'évaluation du risque de transmission et en cas d'épidémie.
- Information et hygiène des mains des visiteurs [29].



CHAPITRE III :
BIONETTOYAGE
EN MILIEU
HOSPITALIER



En tous lieux, l'entretien des locaux se fait dans un souci de confort et d'hygiène de base, C'est là un principe adopté par tous depuis la révolution sanitaire du XIXème siècle. Les spécificités de l'activité hospitalière font des établissements de santé des lieux particuliers où l'entretien des locaux est tenu de poursuivre un objectif supplémentaire : éviter que l'environnement soit vecteur de transmission croisée de germes indésirables d'un individu à un autre.

Et c'est logiquement dans les locaux hospitaliers les plus à risque, parce qu'on y réalise des gestes invasifs ou qu'on y accueille des patients fragiles, que doivent être mises en œuvre les techniques de bionettoyage les plus efficaces [30].

1. Définition de bionettoyage

Le bionettoyage est un procédé de nettoyage pour zone à risque permettant de réduire momentanément la bio contamination, ce terme désigne l'ensemble des opérations réalisées en milieu hospitalier afin d'assainir un environnement [31].

Le bionettoyage permet de réduire, voire de supprimer les MO présents dans un milieu de contamination, à l'aide d'un détergent suivi d'un désinfectant ou d'un détergent-désinfectant (DD) en une seule opération[32].

2. Les techniques de bionettoyage

2.1. Technique manuelle de bionettoyage

Cette technique consiste en deux étapes principales : la décontamination ou la pré désinfection (nettoyage et rinçage) et la désinfection, ces procédés sont effectués à l'aide des produits détergents et désinfectants.

2.1.1. Etapes de la procédure de bionettoyage manuel

Le processus de bionettoyage comporte plusieurs opérations distinctes mais totalement liées les unes aux autres. En ce sens que le résultat définitif ne sera acceptable que si toutes les étapes sont correctement exécutées [5] .

Pré-désinfection

Elle permet d'éviter la fixation des matières organiques par la contamination du personnel et la contamination de l'environnement[33].



✓ **Nettoyage**

Un nettoyage efficace permet d'abaisser la charge microbienne initiale et d'éliminer les matières organiques. Le nettoyage conjugue l'action physico-chimique du produit et l'action mécanique du brossage et du rinçage [34].

✓ **Rinçage intermédiaire**

Le rinçage intermédiaire permet dans un premier temps de détacher les souillures les plus tenaces grâce à l'utilisation de la haute pression. Dans un deuxième temps, le complexe « détergent-support moussant-souillure » est éliminé des surfaces, à cet instant, une autre partie importante du nettoyage a été réalisée : la surface présente un aspect de propreté, non seulement visuel, mais également au toucher[35].

✓ **Désinfection**

La désinfection a pour but d'éliminer les micro-organismes encore présents sur les surfaces. Certaines bactéries se stabilisent à quelques nanomètres de la surface, d'autres produisent des substances permettant une adhérence plus difficilement réversible (biofilm). Cette phase consiste en l'application d'un produit autorisé, à action désinfectante. Ce produit, pour être actif, doit pouvoir atteindre les MO dans tous les endroits où ils peuvent encore se trouver (bon pouvoir mouillant) [35].

✓ **Rinçage final**

Éliminer les traces de solution désinfectante, par utilisation d'eau l'eau potable, par un jet à basse pression, ou une aspersion ou une circulation d'eau, après avoir laissé agir le désinfectant[36].

À l'issue de l'étape de désinfection, tout doit être mis en œuvre pour éviter la recontamination, le rinçage final doit être abondant pour éliminer tout résidu de produit et la qualité de l'eau doit être adaptée au niveau des exigences déterminées [34].

2.1.2. Facteurs influençant le bionettoyage manuel

L'efficacité d'un nettoyage dépend de différents paramètres :

✓ **La concentration**

La concentration finale d'utilisation du produit est très importante car une dilution trop élevée se traduit par une inefficacité totale, À des concentrations supérieures à ce seuil, mais inférieures à celui optimal, préconisé par le fabricant, se situe la zone dans laquelle la croissance et la multiplication des micro-organismes sont freinées. À ce niveau correspond le phénomène d'accoutumance ou d'adaptation des bactéries à des doses sub-létales de produit [35] .



✓ La température

L'action thermique influence sur le résultat qualitatif de l'activité de nettoyage et de désinfection. Cette propriété est recherchée en thermo désinfection, mais une température trop élevée peut augmenter la toxicité des produits par émanation de vapeurs toxiques.

En règle générale, une augmentation de la température augmente l'activité du produit désinfectant [37].

✓ Temps de contact

Le temps de contact entre le produit et la surface peut être modifié. En effet, si une durée insuffisante diminue l'action bactéricide du produit, celle-ci augmente en fonction du temps de contact[35].

✓ L'action mécanique

L'action mécanique permet de décoller les salissures et les micro-organismes de leur support et de les évacuer soit par rinçage[37].

2.2.Bionettoyage à la vapeur

Plusieurs études expérimentales ont démontré l'efficacité biocide de la méthode vapeur mais peu d'études en situation l'ont confirmée.

Les normes classiques d'évaluation de l'action biocide d'un produit chimique sur une surface ne sont pas adaptées à ce procédé physique, néanmoins, une norme récente datant de mai 2009 devrait permettre de qualifier les nettoyeurs vapeur (**NF 72-281**).

Quoiqu'il en soit, nul ne douterait de l'effet létal de la vapeur d'eau sous pression puisqu'il s'agit du procédé de référence pour stériliser le matériel chirurgical par autoclave.[38]

2.2.1. Le principe de bionettoyage à la vapeur

La vapeur est le gaz provenant du changement d'état physique de l'eau liquide ou solide.

Ce procédé assure les deux étapes de bionettoyage en parallèle :

La désinfection : par l'apport conjugué d'eau et d'une grande quantité de chaleur provoque la dénaturation irréversible des protéines bactériennes par hydrolyse de liaison.

Pour être efficace, le nettoyeur vapeur doit donc produire une vapeur ayant une température en sortie d'environ 140°C avec une pression de 4 à 6 bars.

Le nettoyage : la vapeur produite est exempte de sels minéraux contenus dans l'eau or l'eau pure est un solvant naturel redoutable pour l'élimination des matières organiques et minérales.



Cette eau agit comme un tensio-actif ,de plus, la vapeur est projetée sous pression (effet mécanique)[39].

2.2.2. Les avantages de la méthode vapeur

La vapeur nettoie bien : la vapeur neutralise les charges statiques des salissures et ne laisse aucun dépôt calcaire, elle élimine aussi le biofilm.et pénètre dans les moindres recoins

Respect de l'environnement : pas d'effluent chimique, uniquement de l'eau (en faible quantité),

Pas de risque allergique (pas de contact avec des produits chimiques donc port de gants non obligatoire).

Argumentaire économique : achat d'une machine et l'utilisation pendant des années en comparant le cout des milles produits consommés [40] .

2.2.3. Petite revue des études réalisées L'avis du comité scientifique de la SFHH

- En 2004, le comité scientifique de la société française d'hygiène hospitalière (SFHH) concluait « à l'activité bactéricide et lévuricide (activité sur *Candida albicans*) de la méthode vapeur qui répond en termes d'activité détergente et désinfectante aux exigences requises pour la désinfection des sols et des surfaces (bionettoyage). À partir de ces études :

Tableau II : étude sur l'efficacité de la méthode (bionettoyage à la vapeur) [41].

Etude	Micro-organisme	Résultats	Condition de réalisation
Essais réalisés par l'IRM en 2000	<i>P.aeruginosa</i> <i>Aspergillus niger</i>	Bactéricidie fongicidie selon NF T72-281	Aucune information sur la distance d'application
Essais réalisés par BG en 2002	<i>P.aeruginosa</i> +biofilm complexe	Bactéricidie (=4.7 Log) et détergence (protéine adhérees ≥ 60%)	
Essais réalisés par BG en 2002	<i>Mycobacterium avium</i>	Norme NF T72-281	Temps d'application d'une seconde et une distance entre source de la vapeur



			et le support de 3 mm
	Souillures complexes (mélange des substances organiques et minérales et <i>S. aureus</i>)	Réduction de 98% des protéines initialement présent	

- Etude de l'efficacité et limites des nettoyeurs vapeurs en milieu hospitalier

Tableau III: limites de la méthode (bionettoyage à la vapeur) [42] .

Objectifs	Résultat pour 1m ² traité en 2 minutes	Résultat pour 2 et 4 m ² en 2 minutes	Résultat pour 6m ² traités en 2 minutes
-----------	---	--	--

Comparaison effet biocide d'un nettoyeur vapeur VS un détergent-désinfectant classique	Efficacité supérieure du nettoyeur vapeur	Efficacité équivalente des 2 méthodes	Efficacité supérieure de produit Détergent-désinfectant
---	---	---------------------------------------	---



CHAPITRE IV :

BIOCIDES

DESINFECTANTS ET

RESISTANCE

BACTERIENNE



La résistance bactérienne aux biocides est étudiée depuis les années 1950 [43]. La capacité des MO à s'adapter de façon très rapide à leur environnement, en développant une résistance aux éléments extérieurs agressifs est aujourd'hui bien connue [44]. Les bactéries deviennent de plus en plus résistantes face aux biocides qui ne détruisent que partiellement la flore bactérienne [45].

1. Définition d'un produit biocide désinfectant

Sont des produits utilisés pour la désinfection des milieux inertes dans des conditions définies, un désinfectant contient au moins un principe actif doué de propriétés antimicrobiennes et dont l'activité est déterminée par un système normatif reconnu [46].

Ce produit doit satisfaire aux normes AFNOR (Agence Française de Normalisation) de base de bactéricide (norme française NF 152 ou European Norm EN 1040 et NFT72 170 ou 171) [47].

Il peut en outre présenter des caractéristiques supplémentaires :

- ✓ Fongicide
- ✓ Virucide
- ✓ Sporicide.

2. Règlementation (voir Annexe I)

3. Critères de choix

Pour assurer une bonne désinfection le principe actif doit répondre aux exigences suivantes :

- Large spectre d'activité et action durable.
- Posséder une efficacité maximale.
- Avoir une toxicité minimale pour l'utilisateur.
- Utilisation possible dans les différentes conditions de PH et de dureté de l'eau.
- Action non corrosive sur les supports.
- Actif à faible concentration.
- Etre biodégradable à 90%.
- Etre peu coûteux. [48]



4. Activité bactéricide des biocides désinfectants

D'une manière générale l'activité d'un biocide désinfectant peut être définie in vitro par deux valeurs : La concentration minimale (CMI), plus faible concentration de produit inhibant totalement en 18 ou 20 heures la multiplication des MO et la Concentration Minimale Létale (CML), plus faible Concentration de produit capable de détruire un certain nombre de cellules microbiennes dans un temps déterminé. La CML est définie pour chaque MO [49].

Ainsi, selon L'AFNOR la bactéricide ou la concentration minimale bactéricide (CMB) est la plus faible concentration de composé engendrant 5 réductions décimales d'une population initiale de 10 ufc/ml en 5 minutes à 20C°. La détermination de la CMB répons à des protocoles standardisés décrit par les normes T72-150 ou plus récemment par la norme NF-EN 1040 [50]. Cette mesure permet donc de connaitre le spectre d'activité des désinfectants afin de pouvoir les sélectionner en fonction de l'usage souhaité et du MO à éliminer [51].

5. Détermination de l'activité antimicrobienne des biocides désinfectants

Quelle que soit l'entité microbienne considérée et la molécule désinfectante utilisée, on sait aujourd'hui que l'action des biocides peut se caractériser par les trois phases suivantes :

Adsorption des désinfectants à la surface de l'enveloppe microbienne : ce phénomène est de nature physicochimique dépendant notamment de la concentration et de mouvement brownien des bactéries.

Pénétration de l'agent antimicrobien dans la cellule : la solubilité, ionisation et l'encombrement stérique des molécules antibactériennes ont des facteurs clés de cette phrase.

Action de l'agent actif : elle peut avoir lieu au niveau des différentes cibles cellulaires possibles, telle que la membrane cytoplasmique dont l'altération de structure provoque des organisations du métabolisme, une fuite de substance, dégénérescence de la cellule et finalement ça mort, ou encor le cytoplasme et plus précisément les protéines cytoplasmiques, les acides nucléiques ou les ribosomes. Ainsi pour être actif, l'agent antimicrobien doit pouvoir s'absorber sur l'enveloppe microbienne et la traverser. Ces phénomènes sont donc forcément dépendants d'une part de la composition de la paroi bactérienne et d'autre part de la structure de la molécule désinfectante [52] .



6. Classification des biocides désinfectants

Comme indiqué précédemment, ces agents antimicrobiens peuvent être classés en deux groupes. Les produits potentiellement létaux et ceux, non létaux, mais inhibiteurs de croissance [53].

Le premier groupe se divise lui-même en deux catégories :

-Les composés chimiquement très réactifs tels que l'eau oxygénée, les halogénés, les acides et bases fortes, les aldéhydes, se caractérisant par une action brutale, rapide, temporaire et souvent non spécifique.

-Des composés chimiquement stables à action plus spécifique. Ce groupe comprend entre autres les ammoniums quaternaires, Les dérivés phénoliques, la chlorhexidine et ses dérivés.

7.1. Produits à action létale non spécifique

7.1.1 Oxydants

Les oxydants sont des composés qui agissent sur les MO par libération d'oxygène qui entraîne la production d'hypochlorite ou de radicaux hydroxyles. On retrouve, entre autres, le peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée) (Annexe II) et l'acide peracétique (Annexe III) [54].

-Acide peracétique :

L'acide peracétique, ayant un large spectre microbicide, trouve quant à lui un usage élargi puisqu'il est recommandé dans la désinfection des endoscopes, en remplacement du glutaraldéhyde. On l'obtient par l'action de l'eau oxygénée sur l'anhydride acétique selon l'équation suivante :



Il n'existe pratiquement pas à l'état pur et se présente sous forme de solution aqueuse en mélange avec l'acide acétique et le peroxyde d'hydrogène [51].

➤ Facteurs influençant l'activité

L'activité est meilleure à pH acide et fortement réduite en présence de matières organiques [55].

7.1.2. Halogènes et dérivés

Le chlore peut être utilisé sous trois formes différentes :

Le chlore gazeux Cl_2 , stocké sous pression en phase liquide.

L'hypochlorite de sodium, ou eau de javel NaOCl (liquide), (Annexe IV).

L'hypochlorite de calcium $\text{Ca}(\text{ClO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (solide).



Dans les trois cas, la mise en contact du désinfectant avec l'eau à traiter donne le véritable agent de désinfection : l'acide hypochloreux HClO [56].

➤ **Propriétés physico-chimiques**

L'acide hypochloreux HClO étant un acide faible, il se dissocie partiellement en anions hypochlorites (ClO^-). L'acide hypochloreux et l'ion hypochlorite sont en concentration équimolaire. Les concentrations relatives de ces composés varient de manière significative en fonction de la température, mais aussi du pH [56].

➤ **Facteurs influençant l'activité et la stabilité**

- La concentration en chlore actif :
 - Plus le titre en chlore est élevé, plus l'activité est importante en règle générale ;
 - Plus le produit est concentré, moins le produit est stable : l'extrait de Javel à 48° chlorométrique se conserve seulement trois mois, l'eau de Javel à 12° chlorométrique peut se conserver jusqu'à 6 mois.
- Les matières organiques, les savons, l'ammoniaque et les dérivés azotés réduisent le pouvoir antimicrobien[55] .

7.1.3 Acides et bases

L'efficacité de ces composés est liée aux concentrations en ions H et OH.

Les ions H agissent sur les liaisons aminoacides des acides nucléiques, modifiant le PH cytoplasmique et précipitant les protéines.

Les ions OH. En saponifiant les lipides membranaires entraînent la destruction de ces structures [57].

7.1.4 Alcools

Parmi les différents types d'alcools les plus utilisés, on trouve les molécules d'éthanol (alcool éthylique) (Annexe V) et d'isopropanol (alcool isopropylique) [58].

➤ **Facteurs influençant l'activité**

Son hydratation facilite la pénétration dans les cellules bactériennes.

Son efficacité est réduite en présence de matières organiques, il coagule les protéines.

Délai d'action : 2 minutes à condition que la peau soit maintenue humide.

Durée d'action : activité antimicrobienne brève car l'alcool est très volatil [55].



7.1.5 Aldéhydes

Les aldéhydes en association avec des ammoniums quaternaires représentent près de 80% des désinfectants employés en milieu hospitalier pour des opérations de désinfection des surfaces et des équipements et dispositifs médicaux à basse température [59].

Cette molécule antimicrobienne est active sur les formes végétatives et des bactéries ainsi que sur les virus en dénaturant des acides nucléiques et des protéines [60].

Cette famille regroupe 3 produits principaux :

- Formaldéhyde (Annexe VI)
- Glutaraldéhyde (Annexe VII)

7.2 Produits à action létale spécifique

7.2.1. Ammoniums quaternaires

Actuellement, les composés d'ammonium quaternaire (CAQ) sont la principale classe de tensioactifs cationiques utilisés comme ingrédients dans des produits assouplissants, des agents antistatiques, des désinfectants, des biocides, détergents. Les trois CAQ les plus fréquemment détectés dans les environnements naturels sont les composés de diméthyle di-alkyle ammonium (DADMAC) et de tri méthyle alkyle ammonium (ATMAC) et d'alkyle diméthyle benzyle ammonium (ADBAC).

En raison de leur pouvoir détergent, les ammoniums quaternaires (Annexe VIII) entrent dans la composition de nombreuses préparations commerciales : produits détergents-désinfectants pour les sols, les surfaces [61].

➤ Propriétés physico-chimiques

Grâce à leurs propriétés tensioactives, les ammoniums quaternaires sont des agents mouillants, émulsionnants et solubilisant. Les solutions sont légèrement moussantes avec formation de micelles.

Les ammoniums quaternaires sont incompatibles avec les détergents anioniques, avec lesquels ils forment des précipités insolubles dans l'eau et avec de nombreux agents comme les dérivés halogénés ou encore certains phénoliques. Par ailleurs, ils sont compatibles avec l'alcool [54].

➤ Facteurs influençant l'activité

- L'activité des ammoniums quaternaires est diminuée par les matières organiques et par l'eau dure.



- Ils sont plus actifs à pH neutre ou légèrement alcalin (entre 7 et 11) et aucune activité à pH <3,5).
- Leur activité augmente avec la température [55].

7.2.2 Biguanides

Les biguanides sont utilisés généralement sous forme de digluconate ou de diacétate de Chlorhexidine [51]. (Annexe IX)

➤ Facteurs influençant l'activité

- Les protéines et les matières organiques diminuent l'activité.
- Les minéraux, l'eau dure et un pH > 8 provoquent une précipitation de la chlorhexidine.
- L'association avec les ammoniums quaternaires et l'alcool potentialise l'activité [55].

7.2.3 Dérivés phénoliques

Le phénol est constitué d'un noyau aromatique sur lequel est greffée une fonction hydroxyle.

➤ Propriétés physico-chimiques

Du fait de leur nature lipophile, les composés phénoliques (Annexe X) sont peu solubles dans l'eau et de ce fait, souvent associés à des savons anioniques et alcalins qui en facilitent la solubilisation. La structure et la substitution de ces phénols influencent largement leurs propriétés antibactériennes. Quatre facteurs principaux influencent cette activité : la longueur de la chaîne de ramification, la position de cette chaîne, la nature de l'halogène dans le cas des halogénophénols et l'encombrement du noyau.

Les molécules présentant le plus d'intérêt sont les halogénophénols comme le chlorophénol, les acides-phénols et les polyphénols [54].

➤ Facteurs influençant l'activité

- L'activité des dérivés phénoliques est diminuée par les matières organiques et par l'eau dure.
- les dérivés phénoliques sont faiblement solubles dans l'eau, en augmentant le pH des solutions, la solubilité augmente, mais les propriétés antibactériennes sont diminuées.
 - les substances interférentes en quantité importante, telles que les matières organiques, les protéines ou l'eau dure, peuvent diminuer l'activité des dérivés phénoliques.
 - l'addition de surfactifs anioniques et alcalins augmente la stabilité des solutions.
 - l'activité augmente avec la température.



8. Spectre d'activité des désinfectants

La plupart des désinfectants modernes sont des mélanges complexes de substances chimiques. Ils ont une activité satisfaisante sur les bactéries et les virus.

Tableau IV : Spectre d'activité des principales familles de désinfectants Familles Spectre d'activité. [54]

Famille de désinfectant	Spectre d'activité							
	GRA M +	GRA M _	Mycobactérie	Levures	Moisissures	Virus nus	Virus enveloppés	Spores
Halogénés chlorés (eau de javel)	+	+	+	+	+	+	+	+
Aldéhydes glutaldehyde	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxydant (acide peracétique)	+	+	+	+	+	+	+	+
Alcool	+	+	+	+/-	+/-	+/-	+	-
Phénol	Activités variables selon le composé							
Tensioactif ammoniums quaternaires	+	+/-	-	+	+	+/-	+	-
Biguanides	+	+	+/-	+	+/-	+/-	+	-

Légende : (+) Produits actifs (+/-) Produits inconstamment actifs (-) produit inactif

9. Sensibilité bactérienne aux agents antimicrobiens notion de résistance et de tolérance

9.1. Définition de la résistance bactérienne

Un micro-organisme est considéré « résistant » à un produit lorsque sa concentration minimale inhibitrice (CMI) est plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce. En fait, une souche est dite « résistante » lorsque la concentration de désinfectant qu'elle est capable de supporter est plus élevée que la concentration que l'on peut atteindre in vivo à la suite d'un traitement [62].

9.2. Type de résistance

Deux types de résistance aux antimicrobiens peuvent alors être distingués : la résistance intrinsèque et la résistance acquise.



9.2.1. Résistance intrinsèque

➤ La paroi bactérienne a GRAM positif :

Si l'on considère la paroi des bactéries à Gram positif, on peut noter qu'elle est principalement constituée du peptidoglycane, elle-même formée de chaînes polysaccharidiques linéaires dont l'unité de base est une alternance régulière de deux sucres aminés, la N-acétylmuramique (NAM) liés à un peptide [63].

Ce peptidoglycane assure la rigidité de la cellule et représente 30 à 50% du poids sec de la paroi cellulaire. A ce peptidoglycane, sont associés, en quantité moindre, d'autres polymères dispersés, en particulier des acides teichoïques, téichuroniques, lipotéichoïques et des protéines de surfaces [64].

➤ La paroi bactérienne à GRAM négatif :

La paroi des bactéries à Gram négatif généralement plus mince, est quant à elle constituée du peptidoglycane, recouvert d'une membrane externe dans laquelle peuvent s'insérer des protéines, des lipoprotéines et des lipopolysaccharidiques (LPS), extrêmement hydrophile, est orientée vers l'extérieur des cellules. Il est à noter que certaines bactéries à Gram négatif peuvent s'avérer être très hydrophobes, caractère relié à la présence de protéines de surface.

Par conséquent, les différences de composition de l'enveloppe bactérienne entre bactéries à Gram positif et à Gram négatif mais également au sein d'une même espèce bactérienne entraînant une sensibilité variable des MO aux agents désinfectants. Ainsi l'enveloppe des bactéries à Gram positif ne possède pas de récepteurs spécifiques ou de perméases facilitant la pénétration des biocides dans les cellules [65].

Concernant les bactéries à Gram négatif la membrane externe de la paroi peut jouer un rôle de barrière vis-à-vis des agents chimiques [49].

Il est à noter que chez les bactéries à Gram négatif les petites molécules antimicrobiennes hydrophiles pourront pénétrer dans les cellules par la voie hydrophile via les porines [63].

Alors que les composés lipophiles tel que les ammoniums quaternaires emprunteront la voie hydrophobe (diffusion à travers la membrane par les lipides et les lipopolysaccharides) [49].

La cible de la plupart des désinfectants étant la membrane cytoplasmique, la résistance intrinsèque peut donc être corrélée avec son degré de protection. Ainsi, la présence d'une enveloppe externe (bactérie Gram négatif), d'une couche de cires (mycobactéries) ou de tunique



sporales augmentera généralement la résistance des cellules microbiennes aux désinfectants [49] .

Il est à noter que la résistance naturelle des bactéries aux biocides peut également être due à la présence de système enzymatique tel que la catalase ou la super oxyde dismutase chez E. Coli permettant de détruire l'agent oxydant avant que la dégradation bactérienne n'ait eu lieu ou participant aux mécanismes de réparation cellulaire. D'autres systèmes enzymatiques pompes d'efflux, permettent le « rejet » des agents désinfectants hors de la cellule [65].

9.2.2. Résistance acquise

La résistance acquise est due à un événement imprévisible qui, au sein d'une espèce, a pour conséquence l'apparition d'une ou plusieurs souches ayant une résistance plus élevée à un antimicrobien. Une sélection de cette souche est ainsi possible quand les concentrations d'utilisation habituelles du produit sont inférieures à la concentration active. Ce phénomène étant connu et doit donc être surveillé[66].

➤ La résistance chromosomique :

Il s'agit d'une mutation stable et héréditaire d'un gène du chromosome et le produit du gène muté est ainsi lui-même modifié. Généralement, la résistance est acquise lorsque la mutation concerne un ou plusieurs gènes structuraux de la cellule, codant soit pour un élément cible de l'antimicrobien, soit pour un élément de fixation ou de pénétration du désinfectant. Ainsi, le mécanisme biochimique de base de la résistance chromosomique bactérienne peut être lié à une modification de la membrane cellulaire empêchant ainsi la fixation et la pénétration du produit [66].

➤ La résistance extra-chromosomique ou résistance plasmidique :

Elle est liée à la synthèse de protéines additionnelles et non à une modification des constituants normaux de la bactérie. Les bactéries porteuses de plasmides sont normales alors que les bactéries résistantes par mutation sont souvent fragilisées. Aussi, les bactéries porteuses de plasmides ne sont pas ou peu contre-sélectionnées en l'absence d'antimicrobien [55].



CHAPITRE V :

VALIDATION DE

BIONETTOYAGE



La validation de bionettoyage est la démonstration de l'efficacité des méthodes de bionettoyage pour permettre de réduire à un niveau acceptable tous les résidus contaminants. La validation inclus le procédé de bionettoyage, des équipements utilisés mais également les temps de stockage propre des équipements pour vérifier l'absence de prolifération microbienne.

Elle s'appuie sur la collecte et l'évaluation de données scientifiques, techniques et d'observations, dans le but de déterminer si le plan de nettoyage et de désinfection envisagé permet ou non de maîtriser le danger [36].

La validation est une exigence réglementaire mais elle doit être également une démarche volontaire pour garantir la qualité, la sécurité et la maîtrise des procédures. Un bionettoyage efficace est la clé de l'assurance de la qualité. Un bionettoyage inefficace peut conduire à un risque infectieux.

En industrie pharmaceutique, il est possible de résumer les différentes sources de contamination par la méthode 6M (figure 3). Cette méthode permet de rechercher et de présenter de manière simple les différentes causes possibles d'un problème. Cette méthode est très utilisée en production pour la résolution de problèmes afin de trouver les roots cause et de proposer les solutions adaptées pour éviter la récurrence des problèmes.

Elle peut facilement être transposable en milieu hospitalier, dans notre cas nous recherchons comme objectif un bionettoyage réussi et absence de risque infectieux et nous incriminons dans un premier temps soit une procédure de bionettoyage mal exécuté ou bien une dilution de produit biocide inefficace.

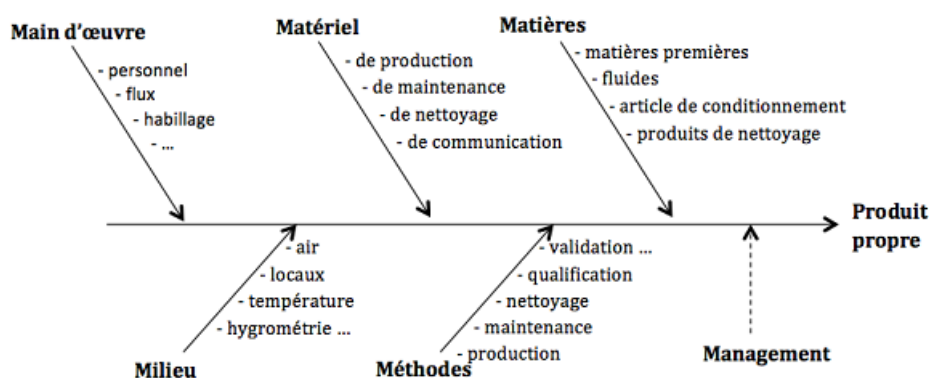


Figure 3 : Diagramme des 6M.



✓ **Les méthodes de type quantitatif**

Elles fournissent un résultat chiffré, sur une échelle continue à partir de la mesure d'un signal en relation directe avec une quantité (analyte, molécule, substance) ou une activité donnée de l'analyte (enzymes).

✓ **Les méthodes de type qualitatif**

Le résultat de ce type de méthode n'apporte pas d'information sur la quantité de l'analyte (cellule ou organisme), mais seulement sur sa présence ou son absence (positif/négatif), ou l'identification de la caractéristique recherchée [67].

1. Conditions pré requises à la validation.

Avant de réaliser une validation de procédé de nettoyage, certaines étapes préalables doivent être réalisées, on parle de prérequis [68] .

1.1.Niveau de propreté à atteindre

Avant d'envisager toute validation, il faut définir les niveaux de propreté à atteindre en fonction du niveau de risque pour le produit, les opérateurs et l'environnement, ainsi que les moyens les mieux adaptés à la mise en œuvre de la validation [69] .

1.2.Qualification des locaux et des équipements

Avant la validation, il faut s'assurer que les fonctionnalités des équipements intervenant lors de la désinfection sont qualifiées et que les caractéristiques environnementales des locaux sont spécifiées et maîtrisées : température, pression, hygrométrie[69].

1.3.Qualification du personnel

La qualification du personnel est obligatoire selon les BPF. Le personnel participant aux activités de validation doit avoir reçu une formation appropriée. La démarche de qualification du personnel consiste à déclarer ou à confirmer la capacité d'une personne à occuper un poste de façon autonome. De plus, les opérateurs doivent avoir le niveau de formation théorique et pratique adéquat. Cette qualification est d'autant plus importante que la désinfection comporte des étapes manuelles. Les opérateurs devront être formés, évalués et faire l'objet d'une requalification périodique[70].



1.4. Qualification des agents de nettoyage et désinfection

Les agents de nettoyage doivent être achetés auprès de fournisseurs sélectionnés ou agréés par l'entreprise. Ceux-ci doivent transmettre pour les agents de nettoyage, en fonction de leur utilisation, une documentation comprenant la composition qualitative, les données de sécurité, le mode d'emploi, la méthode de dosage et la méthode de recherche des traces.

Les fournisseurs doivent aussi garantir la constance de la qualité des agents de nettoyage [70].

1.5. Qualification du matériel de désinfection

Qualifier un matériel, c'est prouver que ce matériel est adapté au mode de nettoyage, qu'il n'altère pas la surface à nettoyer et ne génère ni ne transfère de contaminants. Le matériel de nettoyage est sélectionné en fonction du niveau de risque pour l'environnement. Il doit être adapté aux surfaces à nettoyer, si nécessaire réservé à l'usage exclusif de secteurs bien déterminés[71].

1.6. Procédures de nettoyage et de désinfection

La procédure est la première étape documentaire de la mise sous assurance qualité du procédé de nettoyage et désinfection. Elle donne les informations détaillées et séquentielles du procédé. Elle doit être claire et précise afin de garantir la reproductibilité du nettoyage effectué par différents opérateurs [69].

2. Contrôle des processus de nettoyage et de désinfection

2.1. Contrôle des opérations de nettoyage

Les opérations de nettoyage (ou détergence) visent à éliminer les souillures telles que les protéines d'origine animale ou végétale qui constituent des facteurs favorisant le développement bactérien (substrat nutritif pour les micro-organismes). Par ailleurs, la présence de protéines sur une surface peut réduire l'efficacité des désinfectants par piégeage des molécules actives. Par conséquent, avant toute opération de désinfection, il convient de réaliser un nettoyage (ou détergence) minutieux [72], D'un point de vue pratique, plusieurs méthodologies existent :

➤ **Contrôle visuel** Le contrôle visuel représente sans aucun doute, dans la routine, une méthode d'évaluation importante du succès du nettoyage. Mis en évidence d'absence de résidus organiques, absence de traces de minéraux, le degré de rangement, la présence d'éléments inutiles, etc. Cependant, la seule méthode de "contrôle visuel" ne suffit pas à évaluer avec fiabilité le succès d'un procédé de nettoyage [36].



- Test rapide de détection de protéines/sucre réducteurs Avec des bandelettes/stylo à usage unique, résultat semi-quantitatif en moins de 10 min. Interprétation facile des résultats par virage coloré basé sur la réaction du biuret [36].
- Utilisation d'un colorant Dans l'eau de rinçage des surfaces, qui laisse une coloration aux endroits où des souillures sont encore présentes [36].
- ATP-métrie méthode rapide qui permet de contrôler la qualité du nettoyage en temps réel et donc de retoucher si nécessaire. Toutes les cellules vivantes contiennent de l'ATP (Adénosine TriPhosphate). Le dosage de cette molécule par une méthode de fluorescence permet donc d'avoir rapidement une idée de quantité de souillures présentes, souillures organiques et microorganismes [36].

2.2. Contrôle des opérations de désinfection (prélèvement des surfaces)

Il existe deux types d'échantillonnage jugés acceptables : l'échantillonnage direct de la surface qui se fait par écouvillonnage et l'échantillonnage indirect par utilisation de solutions de rinçage. L'idéal consiste généralement à associer les deux méthodes, particulièrement dans le cas où certaines pièces d'équipement ne sont pas assez accessibles pour permettre un échantillonnage direct des surfaces [73].

2.2.1. Méthodes directes

Il s'agit de réaliser une empreinte de la contamination par utilisation d'un dispositif permettant d'appliquer une gélose sur la surface à analyser. Il existe plusieurs méthodes de prélèvement[74].

➤ Pétrifilm

Il est composé de deux feuillets perméables et contient, sous forme déshydratée, le milieu de culture associé à un agent gélifiant. La quantité de milieu disponible pour la croissance bactérienne est faible dans le cas du Pétrifilm et ne s'applique pas sur les surfaces non planes, Il en est de même que la boîte de contact [75].

➤ Les lames gélosées

Elles sont constituées d'une lame de plastique biface de 10cm² environ et recouverte d'une gélose nutritive. Dans certains cas, les deux faces de la lame sont équivalentes, alors que dans d'autres cas elles contiennent des milieux différents [76].



➤ **La boîte de contact**

C'est une boîte en plastique de 15 à 25 cm² de surface, contenant une gélose nutritive coulée de manière à former un ménisque convexe de 1 à 2 mm d'épaisseur qui entraînera au cours du prélèvement une partie des germes présents sur la surface [76].

2.2.2. Méthodes indirectes

Elles nécessitent une ou deux étapes intermédiaires réalisées le plus souvent au laboratoire de microbiologie. Les principales méthodes indirectes sont l'écouvillonnage et le frottis :

➤ **L'écouvillonnage**

Cette méthode consiste en un prélèvement d'une surface déterminée avec un écouvillon en cellulose, stérile et humide. Cette technique permet de rechercher toutes les flores désirées et autorise des dénombrements [75].

➤ **Chiffonnage**

Une variante à l'écouvillon est l'utilisation de chiffonnettes.

2.3. Analyse des prélèvements

Qu'il s'agisse de quantifier ou d'identifier les espèces présentes sur un échantillon, les différentes méthodes d'analyse microbiologique existantes sont relativement nombreuses et variées. Ainsi, le choix d'une technique préférentiellement à une autre dépend généralement du temps et du coût de réalisation, mais aussi de l'objectif de l'étude [77].

2.3.1. Méthodes par culture : La culture de micro-organismes peut être réalisée en amont de toute technique d'analyse permettant l'évaluation quantitative et/ou qualitative de micro-organismes.

2.3.2. Méthodes d'observation : Les méthodes d'observation, macro ou microscopique permettent d'estimer quantitativement des populations microbiennes par dénombrement direct (cellules, propagules fongiques, etc.), par coloration plus ou moins spécifique ou par marquage fluorescent suivi d'analyses d'images. L'identification fongique est possible jusqu'au niveau du genre ou de l'espèce par reconnaissance de caractères morphologiques typiques.

2.3.3. Méthodes chimiques : Les méthodes chimiques permettent l'analyse de divers paramètres liés aux micro-organismes. Elles sont le plus souvent utilisées afin d'estimer l'activité métabolique et donner ainsi une information sur la toxicité potentielle d'une population microbienne présente sur un substrat. Généralement, ce type d'analyse repose sur le principe de l'évaluation de composés chimiques issus de cellules microbiennes.



2.3.4. Méthodes biologie moléculaire : Les méthodes d'analyse utilisant la technologie de biologie moléculaire reposent sur le principe de l'isolement de séquences ADN ou d'ARN précises, de manière à cibler un gène et/ou un phénotype particulier, caractéristique d'une espèce, d'un genre ou d'une famille d'organismes.

Depuis sa découverte dans les années 80 par K. Mullis, la réaction de polymérisation en chaîne (PCR en anglais), est devenue un outil quasiment incontournable de la caractérisation des micro-organismes [78] .

3. Plan général de la validation de bionettoyage et/ou de désinfection

Le plan documentaire de validation (PDV) doit être un document bref, clair et concis. Il présente les activités de validation des procédures de bionettoyage, qualification des équipements et utilités. Il doit comporter au minimum les données suivantes :

- Politique de validation.
- Structure organisationnelle des activités de validation de nettoyage et de désinfection.
- Relevé des équipements et procédés de nettoyage et désinfection à valider.
- Format de la documentation à utiliser pour les protocoles et les rapports de VND.
- Planification et programmation.
- Maîtrise des changements.
- Référence aux documents existants. Il en découle une procédure générale de validation de VND qui indique comment se déroulera la validation en général.

4. Etapes de validation d'un protocole de désinfection Les différentes étapes de validation d'un protocole de désinfection sont illustrées dans la figure 3 :

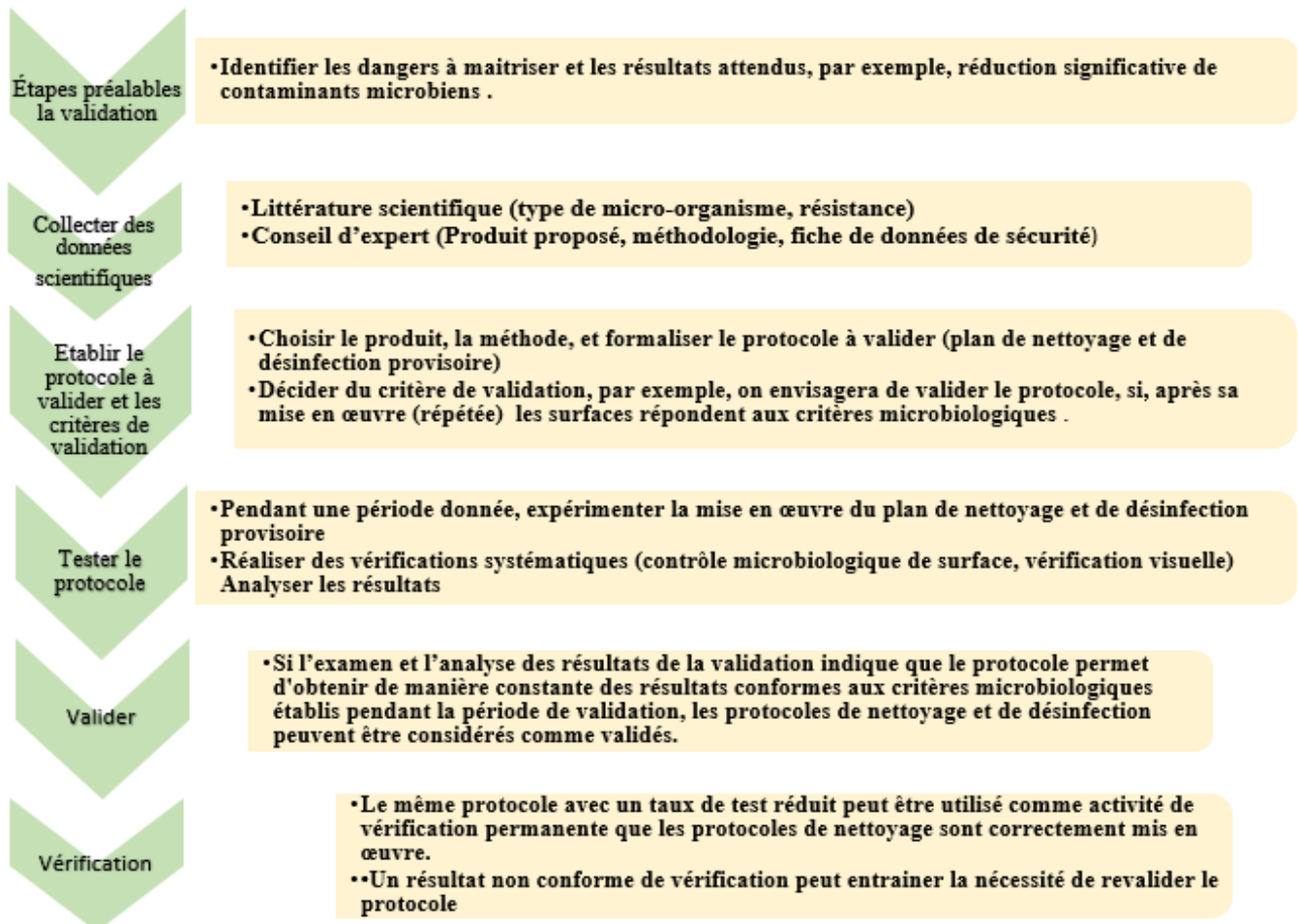


Figure 4 : Schématisation des étapes de la validation d'un protocole de désinfection

5. Rapport de validation du protocole du bionettoyage et de désinfection

Ce document a pour fonction d'analyser les données brutes dans le but de prendre une décision ou de traduire une tendance. Il est rédigé en rappelant le principe de la validation, les critères d'acceptation et en tenant compte des éventuelles déviations par rapport au protocole initial.

Les résultats doivent être présentés de façon synthétique et doivent donner lieu à une analyse. Les conclusions doivent être claires et objectives. Elles doivent conduire à des propositions et des recommandations pour améliorer, changer ou entériner les procédures de nettoyage et désinfection. Au terme de la validation, la procédure de nettoyage doit être mise à jour ou confirmée [69].



6. Suivi de la validation de nettoyage

Les procédures de nettoyage doivent être suivies dans des intervalles appropriés après la validation afin d'assurer que ces procédures sont efficaces quand elles sont utilisées en routine. Le suivi de la validation peut se réaliser selon deux grands axes :

✓ Le contrôle des résultats

Les résultats doivent donner lieu à un enregistrement pour permettre une analyse de tendance. Ces contrôles peuvent également mettre en évidence une dérive du procédé de nettoyage, cette éventualité devant donner lieu à la mise en application d'actions correctives.

✓ Le contrôle des moyens

La qualité de la désinfection repose sur une bonne application des procédés, c'est pourquoi, en plus des contrôles, le suivi doit inclure des audits de désinfection. Ceux-ci permettent de vérifier que les moyens humains et matériels mis en œuvre sont toujours adéquats (suivi de qualification du matériel, de formation du personnel) [69].

7. Actions correctives et préventives

Le suivi de la validation permet, dans certains cas, de mettre en évidence des non conformités dans le procédé de nettoyage et désinfection. Ces dérives doivent donner lieu à une enquête et à la mise en œuvre d'actions correctives. Si les actions correctives portent sur les modalités d'application du procédé telles que le temps de nettoyage mal appliqué et les dérives dans la technique de nettoyage manuel, ce procédé est conservé et la validation reste valable. En revanche, si les actions correctives conduisent à modifier le procédé lui-même ou les conditions dans lesquelles la validation a été faite, elles doivent donner lieu à une nouvelle validation, changement de matériel ou d'agent de nettoyage par exemple[69].

8. Revalidation

La validation de nettoyage et désinfection doit être renouvelée périodiquement selon une fréquence qui tient compte des spécificités liées à l'activité ou ponctuellement lors d'un changement d'équipement d'un désinfectant ou de la procédure de désinfection elle-même. Lorsqu'aucun changement important est intervenu au niveau du statut validé, un examen attestant que les installations, systèmes, équipements et procédés satisfont aux exigences prescrites tient lieu de revalidation [71].

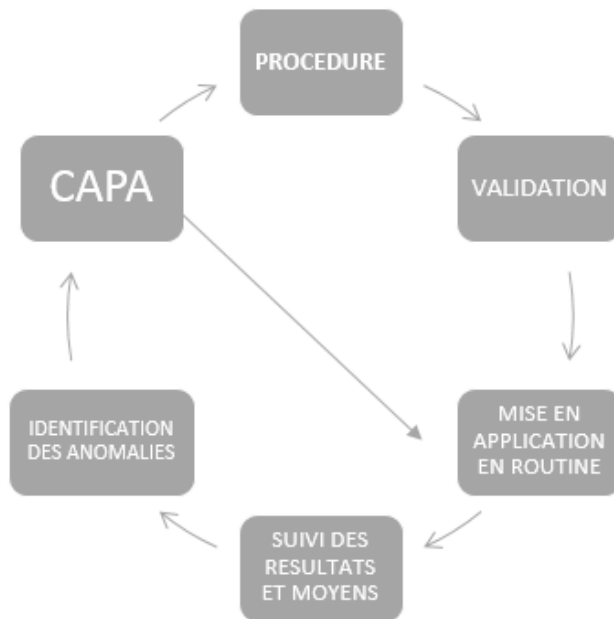


Figure 5 : Mise en place d'actions correctives



PARTIE PRATIQUE



Cette partie est organisée en 3 sections selon une planification qui répond aux objectifs de la thématique à savoir « validation du bionettoyage, audit des pratiques, actions correctives et préventives ».

Pour entamer une validation, une approche PDCA (Plan, Do, Check and Act) appliquée au secteur hospitalier est primordial avec comme outil diagnostic des méthodes qualitatives attestant ou non la présence ou absence de germes hospitaliers pathogènes.

C'est un concept d'assurance qualité et maîtrise du risque habituellement appliquée en milieu industriel que nous aimerions mettre en pratique dans ce travail.

La première partie qui consiste en un audit d'observation des pratiques accompagné d'un questionnaire des connaissances, des attitudes et pratiques au niveau des services Réanimation Médicale et Néonatalogie classés en Zone 4, dont l'objectif est de prendre connaissance de la bonne exécution de la méthode mais aussi des causes potentielles de la survenue d'une infection nosocomiale.

La deuxième partie consiste en des prélèvements aux niveau de sites différents, les plus proches du patient, au niveau des deux services avec 3 prélèvements par site après chaque procédure de bionettoyage. L'isolement et identification des germes nous permet comme outil diagnostic de valider ou non sur le plan microbiologique l'opération du bionettoyage. Notons que nous avons fait des prélèvements après exécution de la même procédure de nettoyage à 3 reprises. Une revalidation est nécessaire dans le cas où les résultats ne sont pas concluants.

A l'issue de ces deux étapes, nous pouvons ou non valider la procédure de bionettoyage (par les produits biocides ou par la méthode à la vapeur pour chaque surface et pour chaque service).

Pour la 3^{ème} partie, nous avons décidé d'appliquer le diagramme d'ISHIKAWA (diagramme causes à effet) remettant en cause l'efficacité des produits biocides (cleanisept® et surfanios®) dans le cas où la méthode n'est pas validée en recherchant par la méthode de diffusion des disques la concentration minimale inhibitrice et la comparant à celle indiquée dans la fiche technique du produit.

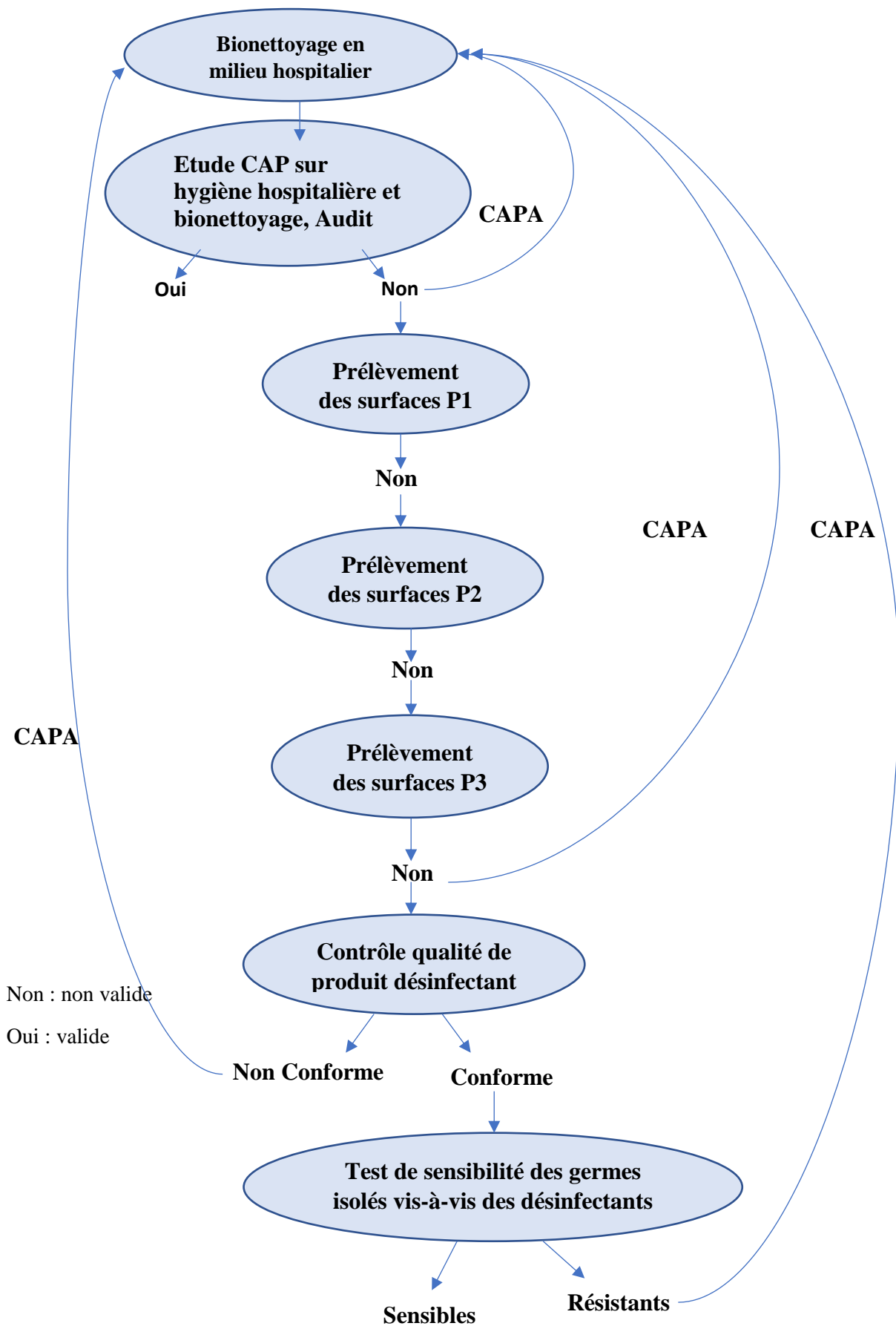


Figure 6 : Arbre décisionnel de validation de bionettoyage



CHAPITRE I : MATÉRIELS ET MÉTHODES





1. Type et période d'étude

Il s'agit d'une étude descriptive prospective portant sur l'évaluation des connaissances attitudes et pratiques (CAP) du personnel soignant sur le bionettoyage et les produits biocides ainsi qu'un contrôle microbiologique des surfaces hebdomadaire pour la validation de bionettoyage et contrôle de l'efficacité des produits biocides du Centre Hospitalo-universitaire(CHU) de Tizi-Ouzou, durant une période de deux mois, allant du Mars 2018 au Mai 2018.

2. Lieu d'étude

L'étude a été menée dans deux services de zones 4 (zone à haut risque) le service de Néonatalogie et Réanimation Médicale de C.H.U du Tizi-Ouzou.

3. La population de l'étude

Sont concernés par l'étude, tous les professionnels de santé de service Réanimation Médicale et Néonatalogie durant la période allant du Mars 2018 à Mai 2018.

4. Collecte des données :

4.1. L'étude C.A.P : Les données ont été recueillies sur la base d'un questionnaire préétabli (Annexe XI) administré pour tous les professionnels de santé des deux services, l'audit a été réalisé sur la base d'une fiche d'observation (Annexe XII) réalisée auprès des personnels d'entretien (Infirmier de santé public, agents) exerçant de 08H à 16H.

Le questionnaire préétabli comportait des paramètres regroupés sous plusieurs volets :

✓ **Volet identification**

- Age, sexe-catégorie professionnelle.

✓ **Volet connaissances générales sur l'hygiène hospitalière**

- Importance d'HH.

- Mode de transmission des germes.

- Respect des précautions standards (port de tenue réglementaire, hygiène des mains).

✓ **Volet hygiène des mains**

- La pratique et la formation sur l'hygiène des mains.



- Connaissances sur la SHA et le lavage des mains.

-Technique de la désinfection des mains.

✓ **Volet hygiène des locaux**

-Connaissance générale sur l'hygiène des locaux.

- Respect des recommandations générales.

- Connaissance sur le produit (Détergent- désinfectant).

-La technique de bionettoyage.

- les difficultés rencontrées lors de l'entretien des locaux.

✓ **Fiche d'audit d'observation :**

-Respect des recommandations générales (respect préalable, désinfection des mains (avant /après) le bionettoyage, port de tenue réglementaire).

-Respect de la technique de bionettoyage (Essuyages humides des surfaces, étapes de lavages et le temps de séchage).

- Respect de temps de contact et dilution des produits utilisés (Produits Biocides Désinfectant).

4.2. L'évaluation et le contrôle de l'efficacité de bionettoyage

- Réalisation des prélèvements.

- Identification des MO.

4.3. Evaluation de l'activité antimicrobienne des produits biocides désinfectants (méthode de diffusion des disques)

✓ **Contrôle qualité des produits biocides désinfectants.**

✓ **Test de sensibilité des souches bactériennes isolées vis-à-vis de produits biocides désinfectants.**

5. Déroulement de l'étude :

Après des autorisations écrites déposées auprès du médecin-chef de Service de la Réanimation Médicale et de la Néonatalogie, la collecte de données s'est effectuée durant les jours ouvrables pendant une durée de deux mois, allant du Mars 2018 à Mai 2018, de 08H à 16H, elle s'est intéressée à :



5.1. La distribution du questionnaire pour tout le personnel soignant des deux services.

5.2. Un audit d'observation pour contrôler le déroulement de bionettoyage effectué au niveau des deux services (personnel responsable d'entretien).

5.3. Réalisation des prélèvements des surfaces :

Trois prélèvements de surfaces ont été effectués hebdomadairement en trois sites différents, (les prélèvements ont été effectués sur les surfaces les plus proches du patient) après l'activité du personnel et après la procédure de bionettoyage :

Les sites prélevés étaient pour le service de Néonatalogie (S1 : table réanimation, S2 : la couveuse, S3 : berceau).

Pour le service de Réanimation Médicale (S1 : lit du patient, S2 : table, S3 : chariot).

En règle générale, les prélèvements au niveau des sols et murs ne présentent pas d'intérêt dans notre étude.

Les analyses microbiologiques ont été effectuées au Laboratoire de microbiologique du CHU Tizi-Ouzou.

✓ **Technique de Prélèvement des surfaces**

Les prélèvements de surface ont été faits par la technique d'écouvillonnage qui consiste à frotter chaque point de prélèvement avec un écouvillon stérile préalablement humidifié dans (bouillon glucosé tamponné (BGT)).

5.4. Culture des prélèvements

Chaque écouvillon a été immergé dans un Bouillon BGT, incubé à $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 18 h, les germes retrouvés sont isolés dans les 3 milieux (Hektoen-Chapman - Gélose au sang (GS) à 37°C) (Annexe XIII), la lecture des résultats est effectuée après 24h.

5.5. Identification des cultures obtenues

Un examen macroscopique est appliqué principalement sur la gélose Hektoen, basé sur la recherche de caractéristiques suivantes : la pigmentation, l'aspect de surface, l'aspect des bords de colonies, la consistance, l'opacité et la fermentation du lactose.

✓ **Etat frais**

Ce test permet une identification des bactéries par La morphologie particulière de certaines espèces aussi que la mobilité.



✓ **Coloration de GRAM**

C'est la coloration de base en bactériologie, elle permet une classification des bactéries selon leur affinité tinctoriales : Gram. (Annexe XIV).

✓ **Identification biochimique**

Le schéma général de l'identification des bactéries est montré en (Annexe XV).

a- Identification biochimique des Bacilles Gram Négatif (BGN)

- Recherche de l'oxydase
- API 20^e

b- Identification des Staphylocoques

- Test catalase
- Test coagulase
- API STAPH

5.6. Evaluation de l'activité antimicrobienne des produits biocides désinfectants (méthode de diffusion des disques)

✓ **Contrôle qualité**

-Préparation des suspensions bactériennes

Elle se fait à partir de colonies présentes au niveau des milieux de culture et à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques sont prélevées et mises dans 3ml d'eau physiologique stérile. La suspension bactérienne est bien homogénéisée, avec une densité optique de 625 nm.

- Préparation des disques

Les disques sont fabriqués à partir du papier buvard, avec un diamètre de 6mm par l'emporte-pièce. Ensuite, ces disques sont stérilisés à l'autoclave à 132°C pendant 35 min, puis stockés à une température ambiante.

- Ensemencement

L'ensemencement doit se faire en moins de 15 min après la préparation de l'inoculum.

L'ensemencement est réalisé à l'aide d'écouvillon stérile, trempé dans la suspension bactérienne correspondante, le milieu de culture utilisé pour étudier l'activité antibactérienne est l'Agar de Mueller Hinton (AMH).



-Préparation des dilutions

Une série de dilutions de désinfectant (Cleanisept®) est réalisée (2% ,3%,7.5%).

-Dépôt et imprégnation des disques

Des disques de papier buvard (3disques/boite) sont déposés à l'aide d'une pince stérilisée au bec benzène sur les milieux gélosés préalablement ensemencés, puis les imbibés par une goutte de désinfectant. Les boites sont maintenues à température ambiante pendant 30min pour que le désinfectant puisse diffuser ; et incubées à l'étuve à 37°C pendant 24 h. Expression des résultats à la sortie de l'étuve, l'absence de la croissance microbienne se traduit par un halo translucide autour du disque, identique à la gélose stérile, les résultats sont exprimés exclusivement à partir de la mesure du diamètre des halos d'inhibitions en mm .

✓ Test de sensibilité des germes isolés vis-à-vis de biocides désinfectants (Cleanisept® -Surfanios®)

Le test est réalisé avec la même façon que contrôle qualité mais on avait testé d'autres concentrations plus élevées (10%,20%,30%).

5. Critères de jugement :

- Durée minimale d'efficacité de la solution hydroalcoolique= 30 seconde ;
- Respect du temps de contact des produits utilisés = 15 minutes ;
- Respect de la dilution des produits utilisés = 3% (30 ml dans 1L) ;
- Respect des précautions standards et complémentaires en hygiène hospitalière selon les directives nationales d'hygiène hospitalière et internationales (OMS) ;
 - Hygiène des mains.
 - Port de gants adaptés.
 - Tenue réglementaire.
- Respect des recommandations générales de bionettoyage selon les directives nationales d'hygiène hospitalière et internationales (OMS) ;
 - Désinfection des mains avant et après le bionettoyage.
 - Port des gants.
 - La tenue réglementaire.
 - Respecter un ordre logique dans le déroulement des opérations (commencer par les locaux les moins contaminés, aller du propre vers le sale et du haut vers le bas, nettoyer toujours avant de désinfecter).



- Respect des techniques de bionettoyage ;

- Respect des techniques d'essuyage humide
- Respect de technique de lavage des surfaces
- Respect des étapes de lavage
- Respect de temps de séchage

-Résultats de la méthode des disques (selon la classification de PONCE et al, 2003) ;

La sensibilité des souches aux différents agents antimicrobiens a été classée en fonction de diamètre d'inhibition comme suit :

Extrêmement sensible : $D \geq 20$ mm

Sensible : $15 \text{ mm} \leq D \leq 19 \text{ mm}$;

Intermédiairement sensible : $9 \text{ mm} \leq D \leq 14 \text{ mm}$

Non sensible : $D \leq 8 \text{ mm}$

6. Matériels

Cette étude est menée par deux étudiantes en 6^{ème} pharmacie en fin de cycle, sur la base d'un questionnaire préétabli et un audit d'observation en collaboration directe avec le service de microbiologie du CHU Nedir Mohamed de Tizi Ouzou et la faculté de médecine ainsi que le service d'épidémiologie et médecine préventive du CHU Tizi Ouzou.

6.1.Matériel consommable utilisé pour questionnaire et audit d'observation

Utilisation du papier consommable, imprimante, micro-ordinateur.

6.2.Matériel utilisé pour la réalisation des prélèvements de surface

Ce matériel comporte les écouvillons stériles humidifiés avec le BGT.

6.3.Matériel utilisé pour isolement et identification des germes

Le matériel de routine usuel d'un laboratoire de microbiologie tel que : l'autoclave ($121 \pm 3^\circ\text{C}$), le bec bunsen - Boîtes Pétri- Anse de platine- Microscope- Pipette Pasteur- Lame et lamelle- Tubes à essai- Portoirs- Etuve réglée à 37° - des disques d'antibiotiques.



- Eau physiologique stérile- BGT (Milieu d'enrichissement) - milieux d'isolement (Chapman-Hektoen) - Galerie biochimique classique- galerie API 20E -API Staph-les réactifs (Chlorure de fer III(TDA), NaOH ou KOH(VP1) et Alpha-Naphtol(VP2), Réactif Kovacs (IND)-Nitrate I -Nitrate 2).

6.4. Matériel utilisé pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne des biocides désinfectants (méthode de diffusion des disques)

✓ Matériels pour préparation de suspension bactérienne :

Pour contrôle qualité :

Souches bactériennes ATCC (*E. Coli*, *Staphylocoque*, *Pseudomonas*).

Pour le test de sensibilité :

Quatre bactéries de pouvoir pathogène prélevées au niveau de service Réanimation Médicale (*Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* et *Staphylococcus aureus*).

Témoins de densité 635nm- eau distillée stérile- pipette pasteur- tubes stériles.

✓ Matériels Pour préparation des dilutions de produit :

Produit biocide désinfectant utilisés au CHU Tizi-Ouzou (le Surfianos®, Cleanisept®), Becher-éprouvette graduées de 10 ml et 5 ml -tube à essais- eau distillée.

✓ Matériels Pour préparation des disques :

Papier buvard- un emporte-pièce - un autoclave.

✓ Matériels utilisés Pour dépôt des disques :

Pince stérilisée-micropipette de 100 microlitre.

✓ Matériels utilisés Pour ensemencement :

Boites pétri milieu Mueller Hinton, écouvillons stériles.

7. Considérations éthiques

Nos données ont été recueillies et traitées dans le strict respect du secret professionnel.



8. Saisie et analyse statistique des données

La saisie des données collectées a été effectuée sur le logiciel Microsoft Excel 2016, logiciel IBM SPSS statistics version 21.

9. Analyse univariée

Les variables quantitatives ont été exprimées en moyenne et en écart –type de la moyenne et les variables qualitatives en nombre N et en pourcentage.



RESULTATS



1. Résultat statistique d'étude CAP sur hygiène hospitalière et bionettoyage

1.1. Description de la population

Cette étude a été réalisée auprès de professionnel de santé exerçant au niveau des deux services Néonatalogie et Réanimation Médicale du CHU Tizi-Ouzou.

Au total 70 professionnels de santé ont participé à l'étude soit un taux de participation globale de 73.7 %, dont 35 professionnel de service de Néonatalogie, soit un taux de participation de 77.7% et 35 professionnel de service de Réanimation Médicale soit un taux de participation de 70 %.

- Répartition selon le sexe :

Dans cette étude, 75% des participants sont de sexe féminin, avec un sexe ratio de 0.49 (1H/2F), une prédominance de féminine aux alentours de 70% observée dans les deux services Néonatalogie, Réanimation Médicale (Figure 7).

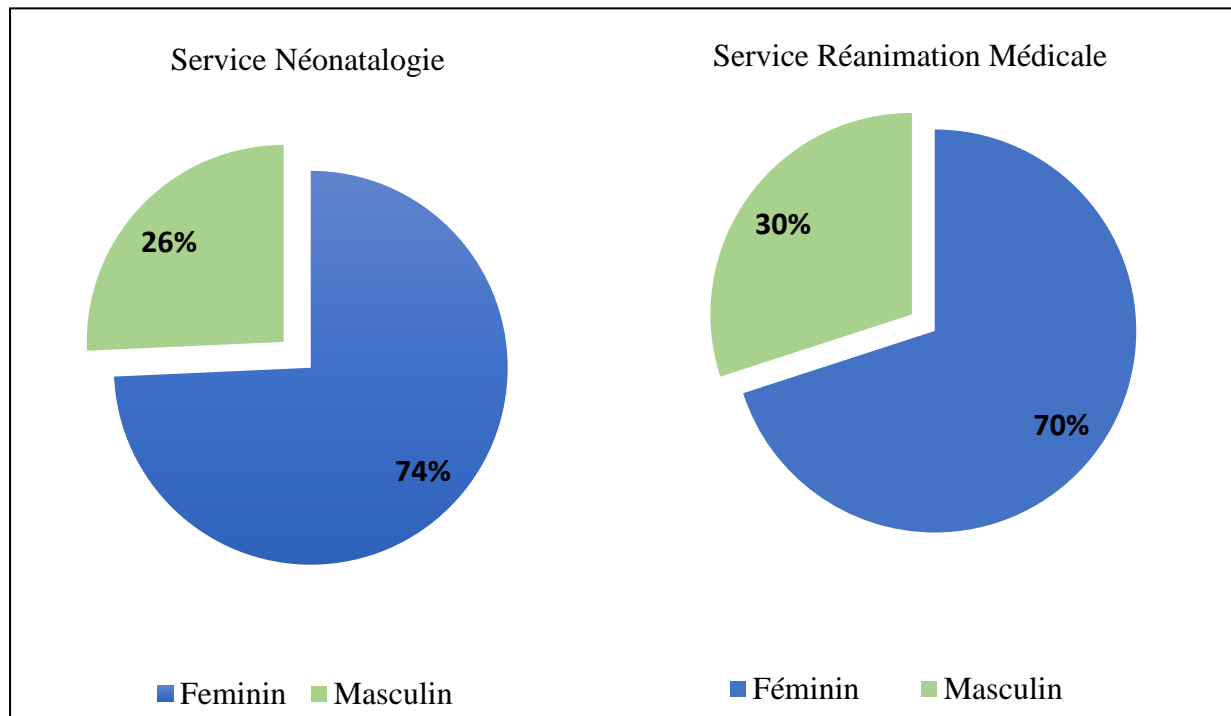


Figure 7 : Répartition de professionnels de santé selon le sexe au service Néonatalogie, Réanimation Médicale, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018.



- Répartition selon l'âge

La moyenne d'âge des participants (professionnels de santé) a été de 31.33 ± 7.25 ans

Allant de 20 à 44 ans, la classe d'âge prédominante a été de 25-30 ans, pour les deux services (figure 8).

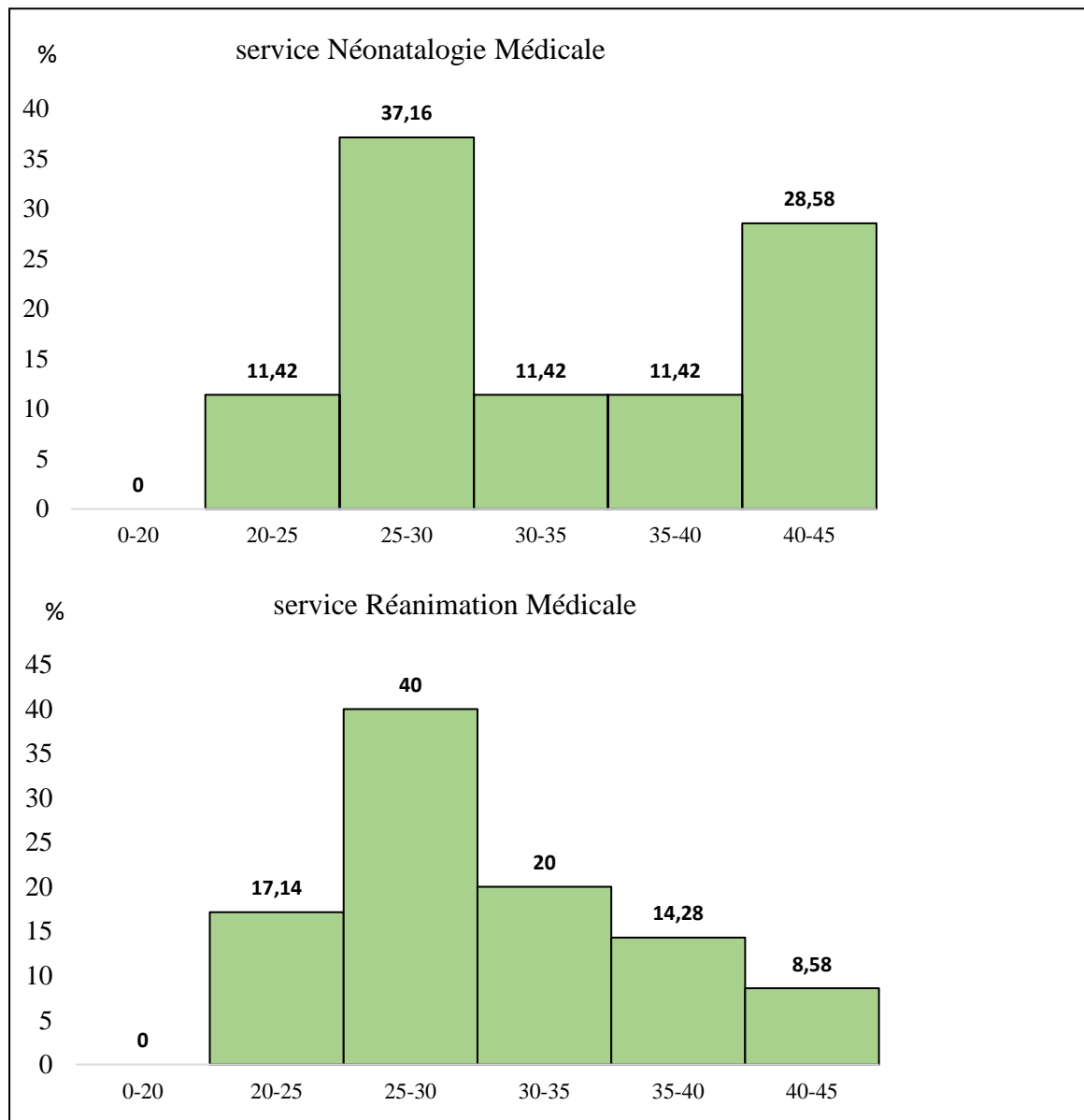


Figure 8 : Répartition de professionnels de santé selon l'âge au service Néonatalogie, Réanimation Médicale, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018.



• Répartition selon la catégorie professionnelle :

Parmi les professionnels de santé des deux services, 14% (5 professionnels d'entretien pour chaque service) s'occupent de bionettoyage et de l'hygiène du milieu (Figure 9).

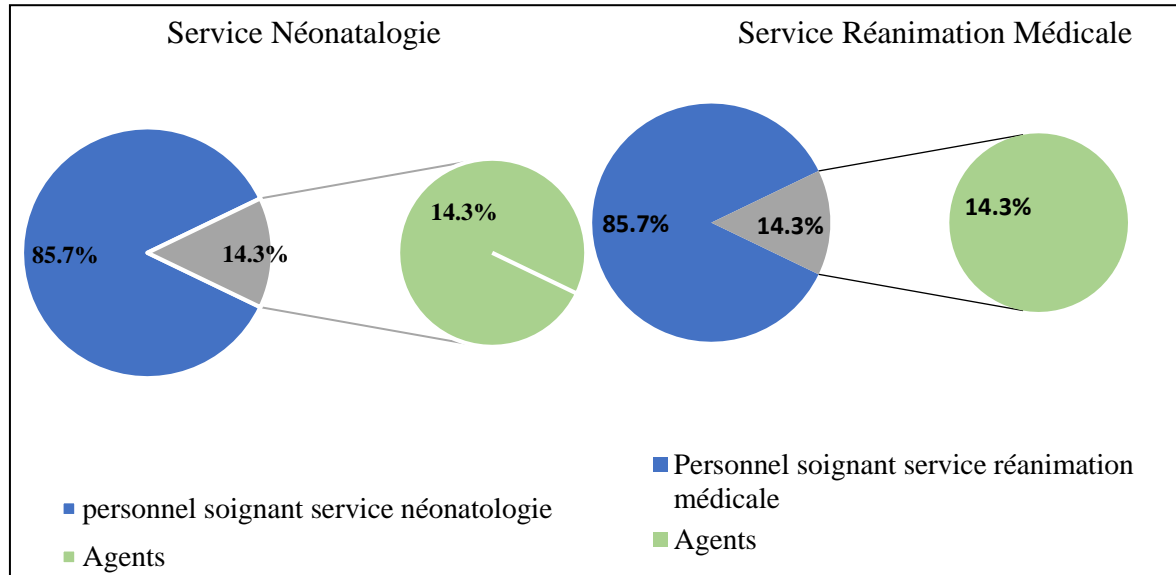


Figure 9 : Répartition de personnels soignant selon leurs catégories professionnelles au service Réanimation Médicale, Néonatalogie, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018.

1.2. Répartition selon les connaissances de personnels sur l'hygiène hospitalière

• Répartition selon la connaissance de l'importance d'hygiène hospitalière :

Au minimum trois quart des participants dans chaque service ont répondu qu'ils ont une connaissance suffisante sur l'hygiène hospitalière et son importance (Figure 10).

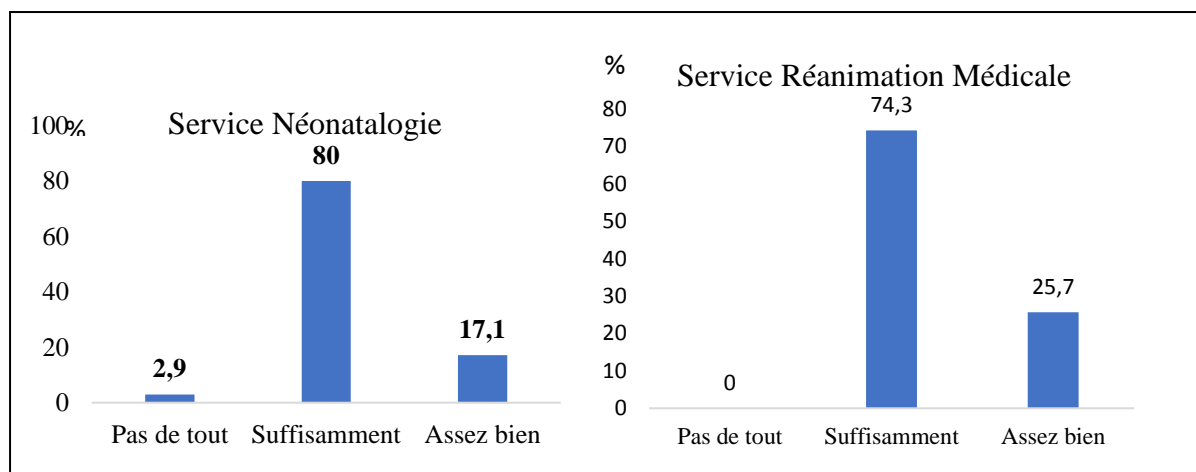


Figure 10 : Représentation graphique des réponses de professionnels de santé selon connaissance sur l'importance de l'HH au service Néonatalogie, Réanimation Médicale, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018.



- **Mode de transmission des germes :**

La majorité de personnels soignants des deux services a estimé que le principal mode de transmission croisée des germes entre les patients était manuporté (Figure 11).

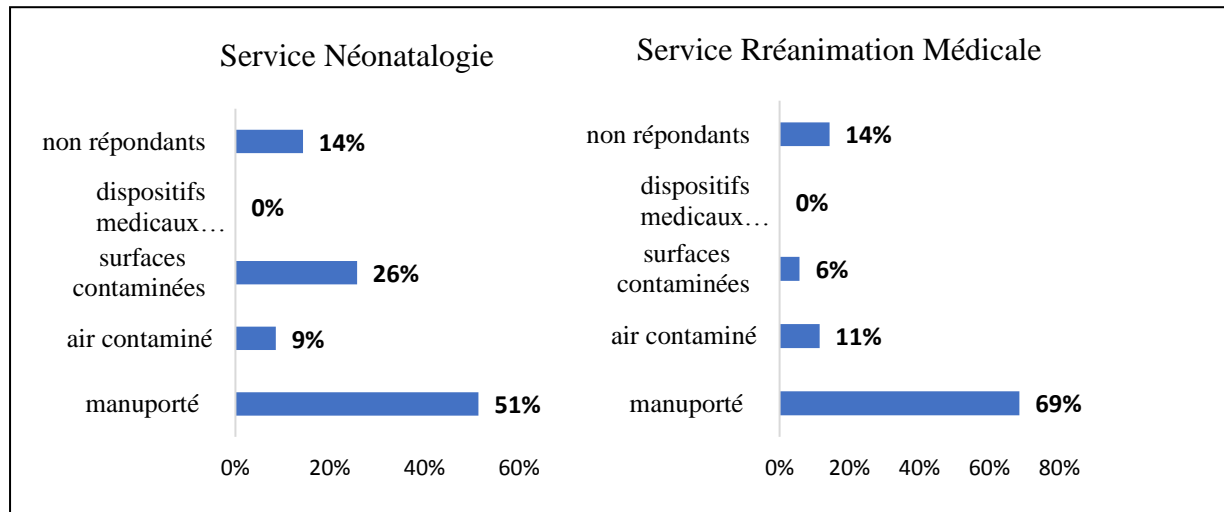


Figure 11 : Représentation graphique des réponses de personnels soignants sur le principal mode de transmission des germes au service Néonatalogie, Réanimation Médicale, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018.

- **Le respect des précautions standards :**

-Le port de la tenue réglementaire :

Parmi les personnels soignants enquêtés dans les deux services, près de deux tiers (63.5%) portaient toujours des gants et des blouses.

Tableau V : Répartition du personnels soignants selon leur respect de la tenue réglementaire au service Néonatalogie, Réanimation médicale, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018.

	Service Néonatalogie			Service Réanimation Médicale		
	Toujours (%)	Souvent (%)	Rarement (%)	Toujours (%)	Souvent (%)	Rarement (%)
Port de gants	67	30	3	60	27	13
Port des blouses	97	3	0	93	7	0
Port des bavettes	8	42	50	27	53	20

-Connaissances sur l'hygiène des mains :

Seulement 34 % du personnels soignants enquêtés de Néonatalogie ont affirmé qu'ils ont reçu une formation sur l'hygiène des mains contre 60% au service de Réanimation Médicale.



La totalité voire la majorité de personnels des deux services ont affirmé le respect des pré requis, les indications du lavage des mains et utilisation de la solution hydro alcoolique (Figure 12).

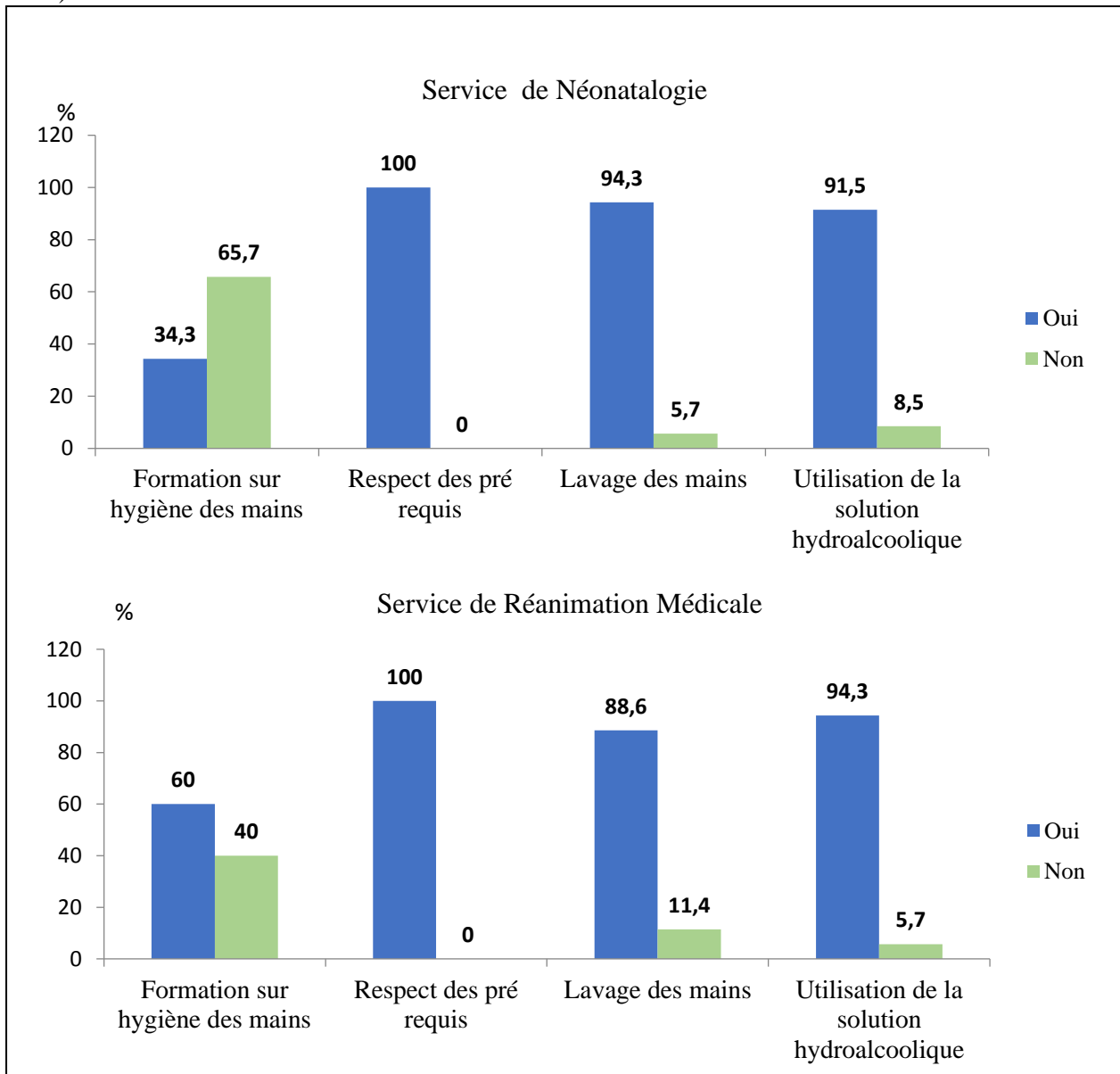


Figure 12 : Représentation graphique de professionnels de santé selon leurs connaissances sur l'hygiène des mains au service Néonatalogie, Réanimation Médicale, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018).

- **Selon leurs Connaissances sur la SHA et le lavage des mains :**

Au service de Néonatalogie au tour de trois quart (74,3%) de personnels soignants ont confirmé la facilité d'utilisation de la SHA et ont infirmé l'efficacité de SHA, un tiers du personnel jugeant que le lavage doit précéder l'utilisation de la SHA.



Au service de Réanimation Médicale seulement 30% du personnels soignants ont confirmé la facilité d'utilisation de la SHA et deux tiers ont approuvé l'efficacité de SHA, 45% du personnel jugent que le lavage doit précéder l'utilisation de la SHA.

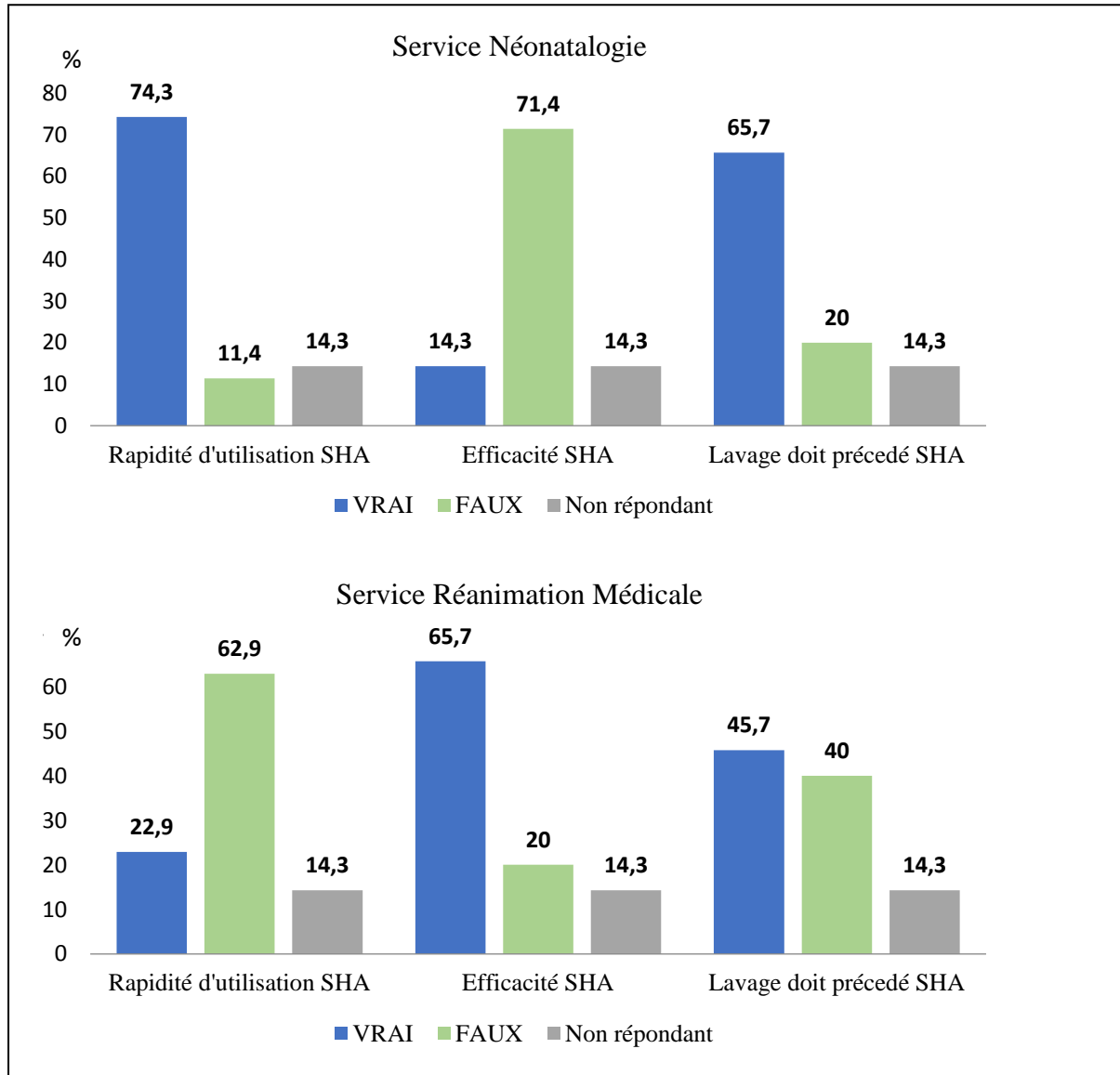


Figure 13 : Représentation graphique de professionnels de santé selon leurs Connaissances sur la SHA et le lavage des mains au service Réanimation Médicale, Néonatalogie, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018.

- **Selon la durée minimale nécessaire de la friction hydro alcoolique :**

La moitié (53%) de personnels soignants de Néonatalogie et un tiers (30%) de personnels de santé de Réanimation Médicale ont affirmé que la durée minimale nécessaire de la friction hydro alcoolique est de 30 secondes (Figure 14).

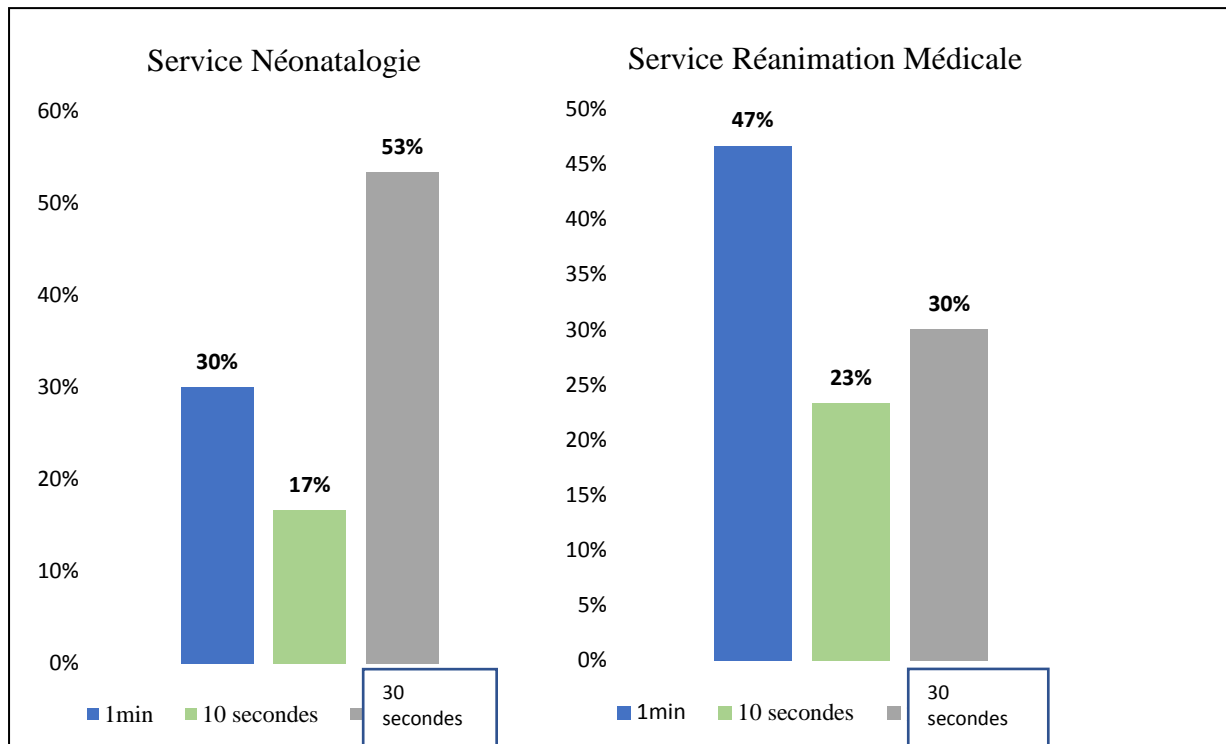


Figure 14 : Représentation graphique de professionnels de santé selon la durée minimale de la friction des mains au service Réanimation Médicale, Néonatalogie, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018.

1.3. Connaissances sur l'Hygiène des lieux et de l'environnement :

La majorité de personnels soignants des deux services ont estimé que les lieux de travail étaient nettoyés.

Un peu plus de la moitié de personnels soignants des deux services ont confirmé leurs connaissances sur les produits utilisés.

Le non-respect de temps de contact produit/surface a été rapporté dans 71.4% des réponses en Réanimation Médicale et seulement dans la moitié des cas le temps de séchage été respecté.



Figure 15 : Représentation graphique de professionnels de santé selon leur connaissance sur l'hygiène des lieux de travail au service de Néonatalogie, Réanimation Médicale, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018.

✓ **Selon le respect des recommandations générales de bionettoyage**

Au service de Néonatalogie 80% de personnels d'entretien avaient l'habitude de désinfecter leurs mains avant et après le bionettoyage et respecter le port de gants, alors que seulement 40% ont respecté le port de la tenue réglementaire.

Au service de Réanimation Médicale 60% de personnels d'entretien avaient l'habitude de désinfecter leurs mains avant et 100% après le bionettoyage, alors que seulement 20% des cas respectaient le port de gants et le port de la tenue réglementaire.

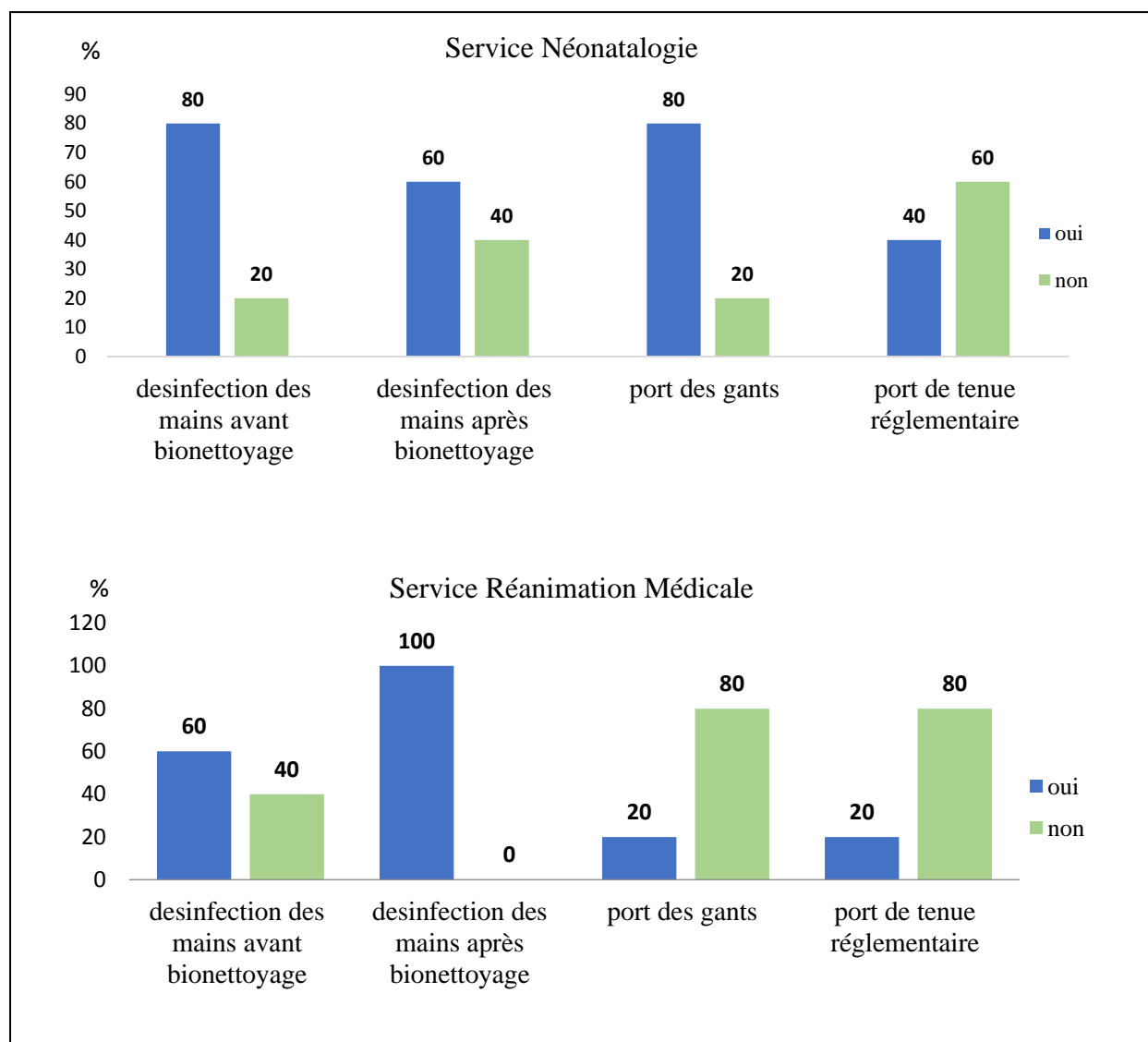


Figure 16 : Représentation graphique des réponses de personnels d’entretien selon leur respect des recommandations générales au service Néonatalogie, Réanimation Médicale, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018.

✓ **Connaissance sur le produit biocide désinfectant**

$\frac{3}{4}$ de personnels d’entretien n’ont pas eu une formation sur les produits désinfectants mais la majorité d’entre eux ont répondu qu’ils respectaient la dilution dans l’eau tiède et le temps de contact selon le cercle de Sinner.

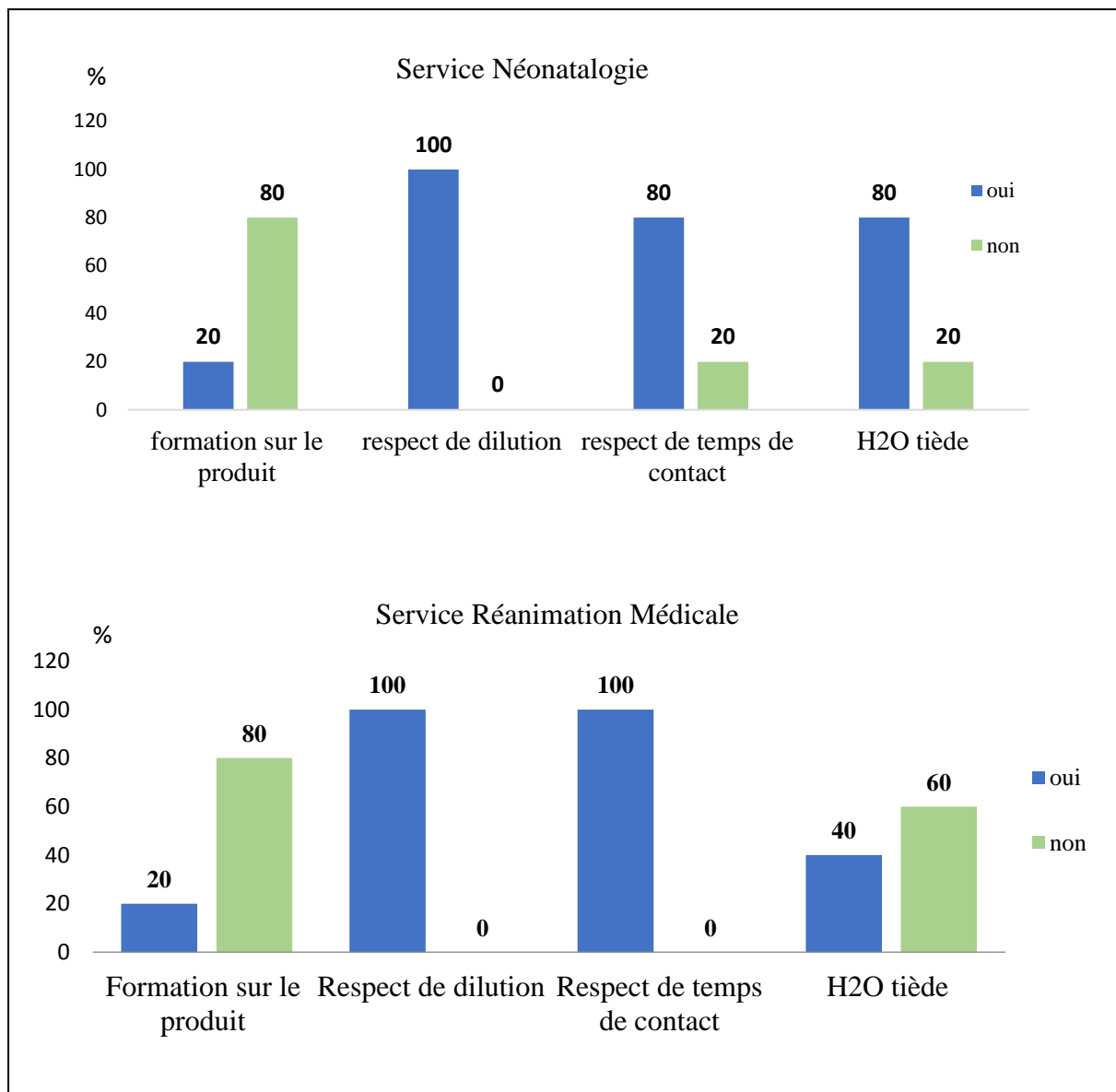


Figure 17 : Représentation graphique des réponses de personnels d’entretien selon leur respect sur le produit au service Néonatalogie, Réanimation Médicale, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018.

✓ **La technique de bionettoyage**

Les personnels d’entretien interrogés ont affirmé qu’ils ont besoin d’une formation sur le bionettoyage et ont rapporté leurs difficultés aux techniques de bionettoyage dans les deux services.

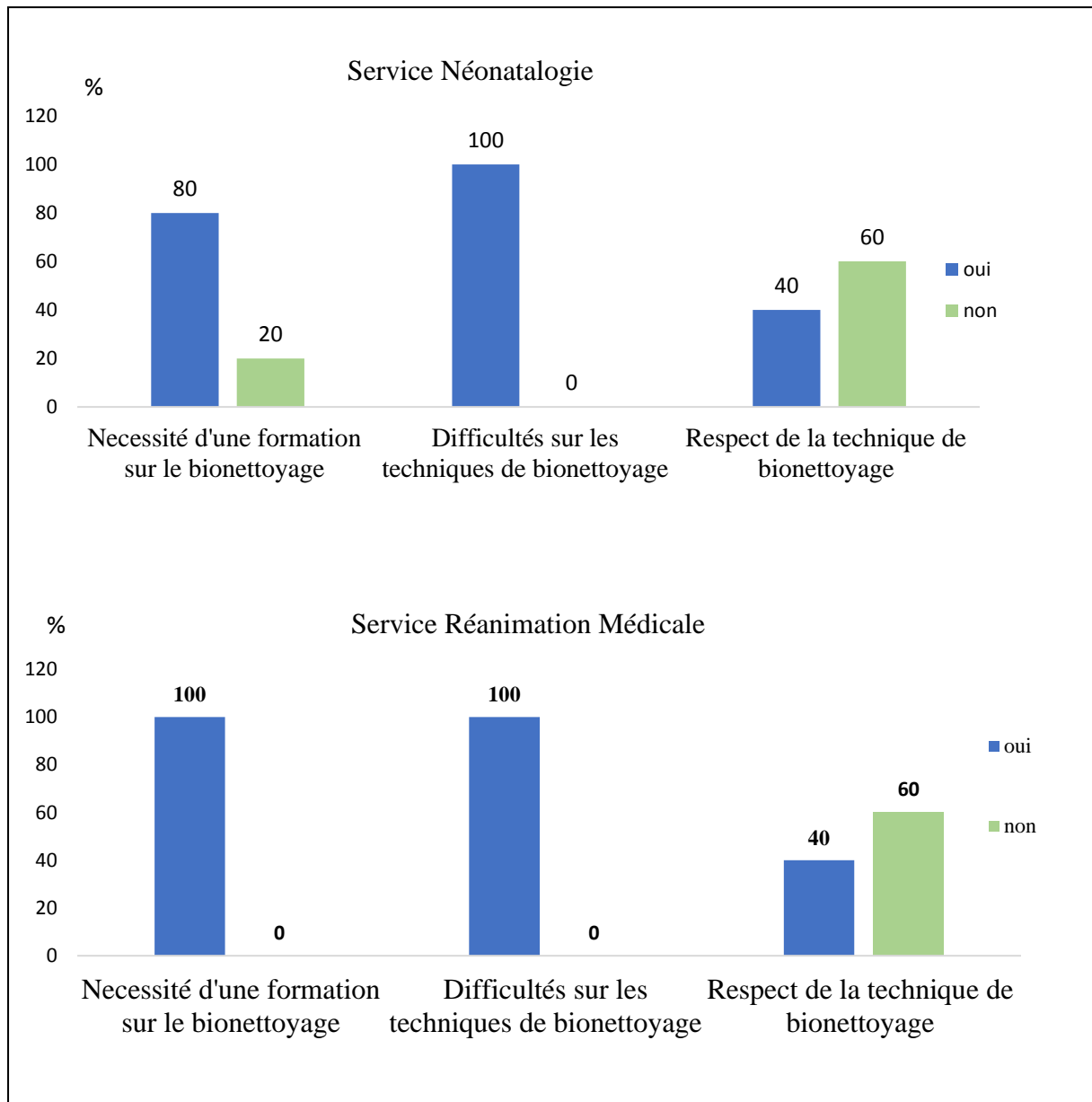


Figure 18 : Représentation graphique des réponses de personnels d’entretien sur la formation, les difficultés et le respect de la technique de bionettoyage au service Néonatalogie, Réanimation Médicale, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018.

- Chez 80% de personnels d’entretien n’ont pas consulté de protocole de bionettoyage, Le contrôle macroscopique et microscopique des procédures du bionettoyage a été respecté dans 100% des cas au service de Néonatalogie et seulement dans 40% des cas au niveau de la Réanimation Médicale.

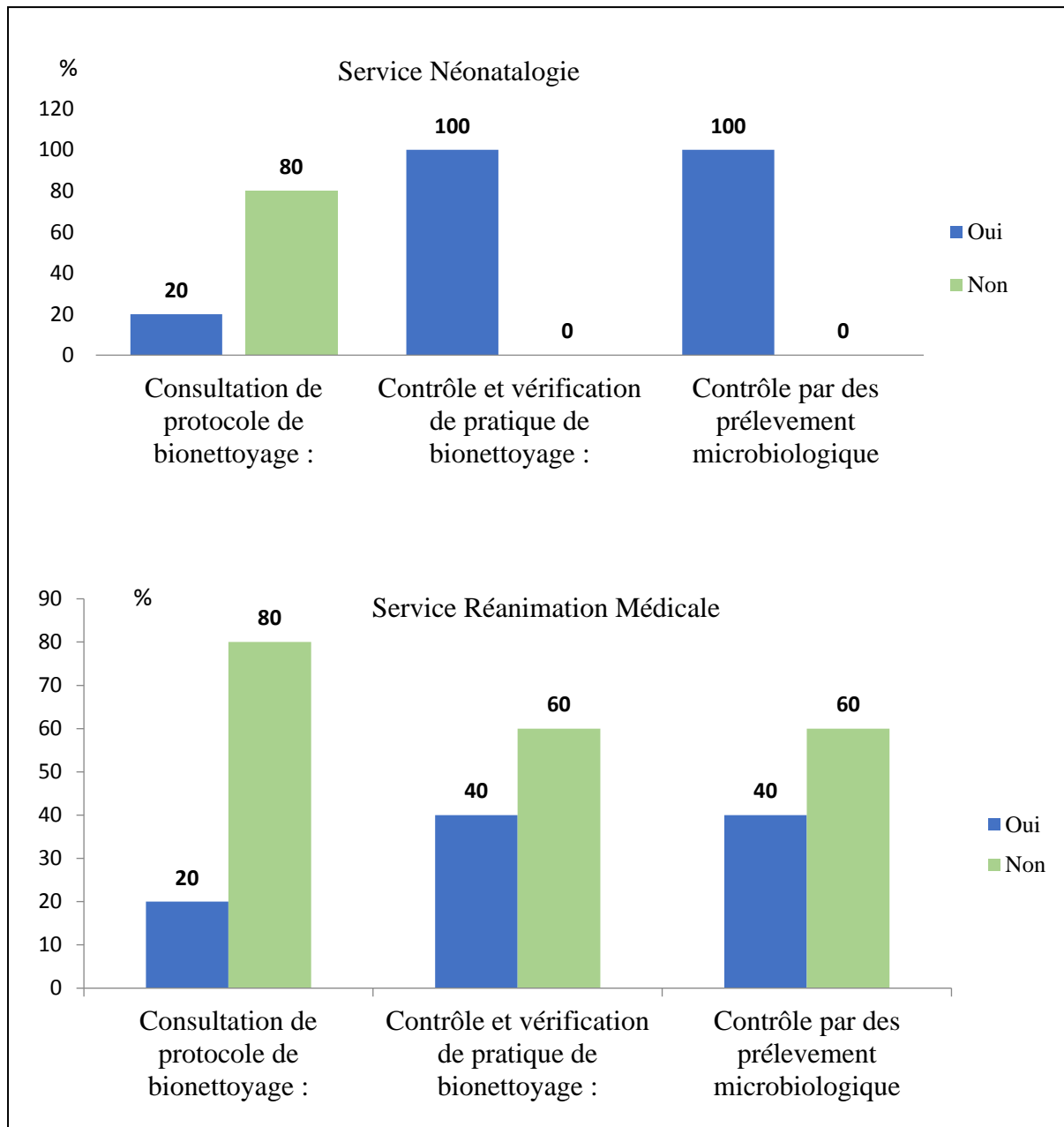


Figure 19 : Représentation graphique des réponses de personnels d’entretien sur le contrôle de bionettoyage au service Néonatalogie, Réanimation Médicale, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018.

✓ **Les difficultés rencontrées lors de l’entretien des locaux**

80% de personnels d’entretien ont trouvé des difficultés lors de l’entretien des locaux dont principalement le manque des produits détergents- désinfectants, suivi du manque du personnel et enfin le manque de temps.

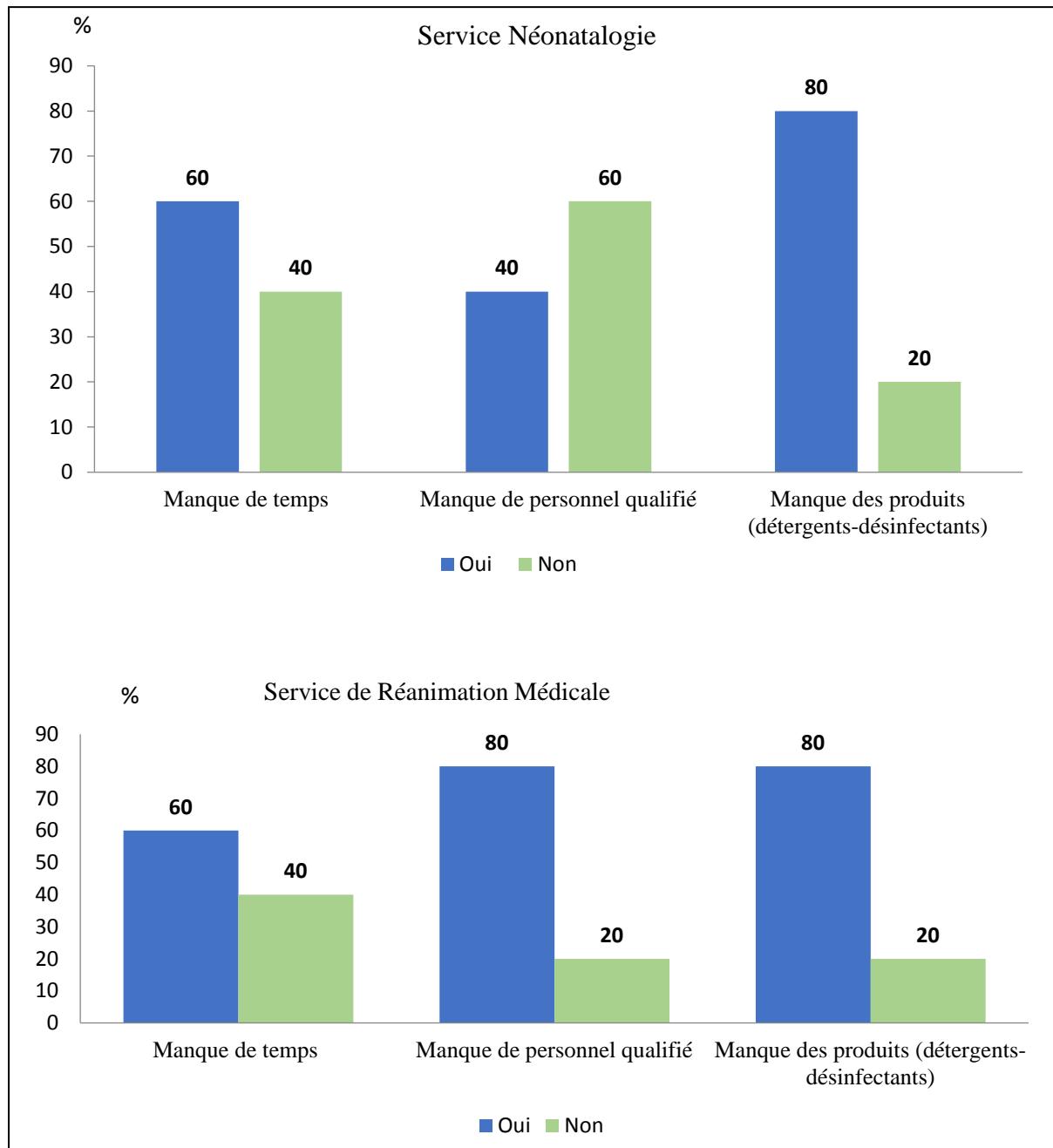


Figure 20 : Représentation graphique des réponses de personnels d’entretien sur les difficultés rencontrées lors de l’entretien des locaux au service Néonatalogie, Réanimation Médicale, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018.



2. Résultats de l'audit d'observation sur le bionettoyage

✓ Résultats de l'audit de ressources par service

Tableau VI : Représentation de ressources présentes au service Réanimation Médicale, Néonatalogie, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018.

	Service Néonatalogie	Service Réanimation Médicale
Gants manchettes	Présent	Présent
Bavettes	Présent	Présent
Poste de lavage + savon	Présent	Présent
SHA	Présent	Présent
Désinfectant	Présent (Eau de javel)	Présent (Eau de javel)
Détergent-désinfectant	Présent (Surfanios®)	Présent (Surfanios®, Cleanisept® dilué à 3%)
Nettoyeur à la vapeur	Présent	Absent



✓ Respect des recommandations générales de bionettoyage

Tous les items ont été respectés par l'ensemble des audités sauf pour la désinfection des mains avant le bionettoyage au service de Réanimation Médicale, le port de gants était respecté mais pas le type de gants recommandé (c.à.d. de type ménagé a manchette).

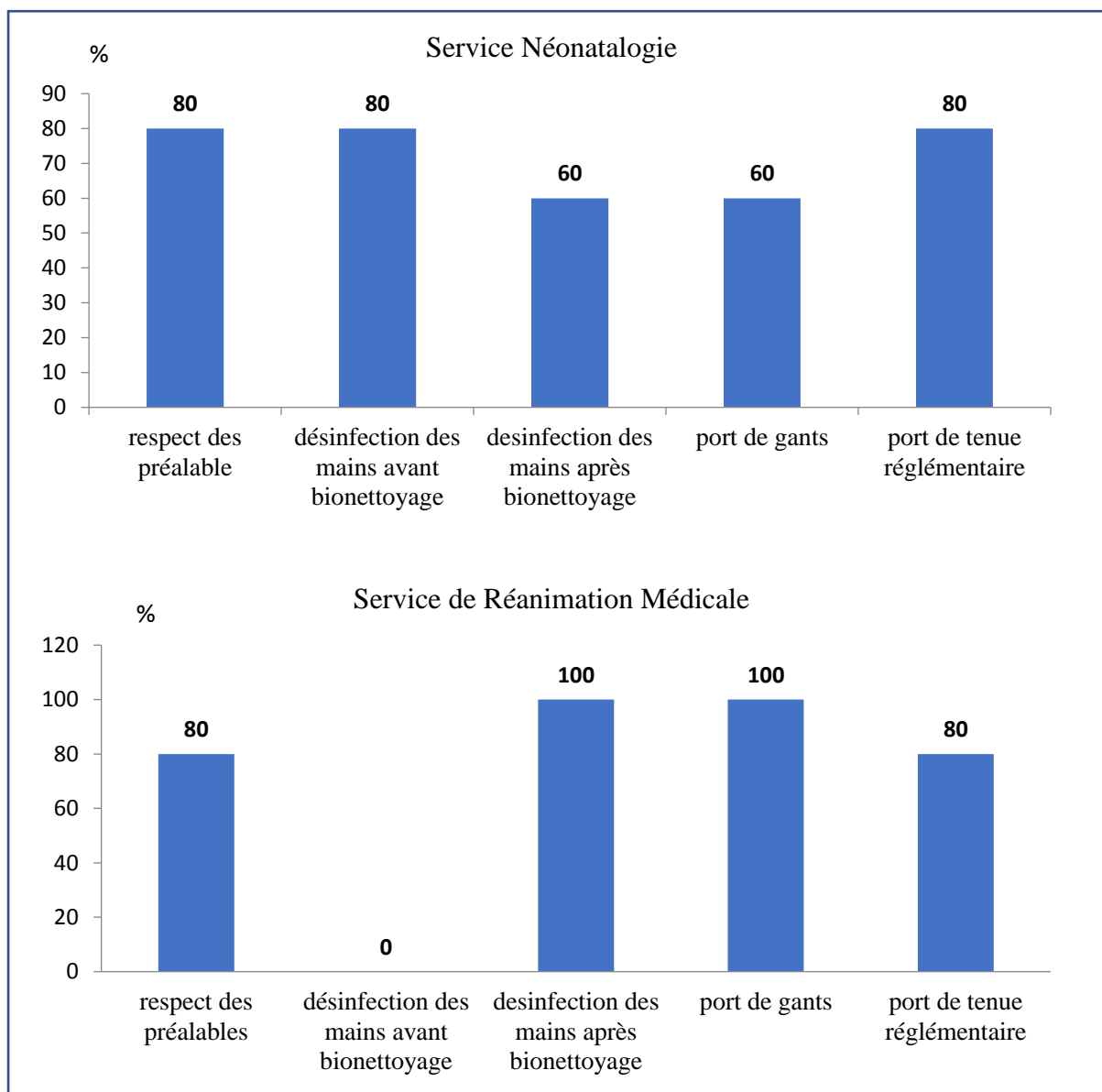


Figure 21 : Répartition de personnels d'entretien selon leur Respect des recommandations générales de bionettoyage au service Néonatalogie, Réanimation Médicale, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018.



✓ **Respect de la technique de bionettoyage**

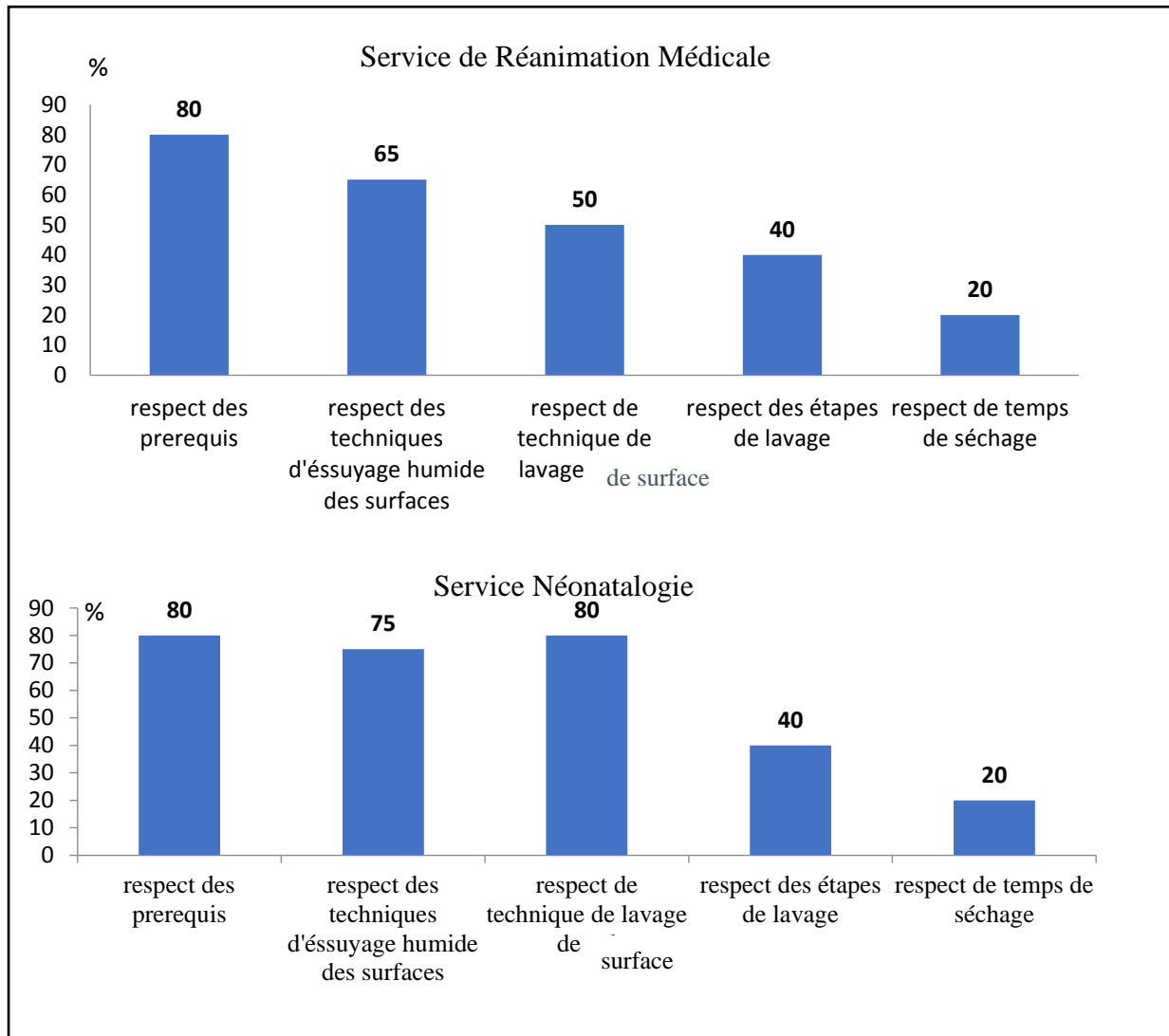


Figure 22 : Répartition de personnels d’entretien selon leur respect de la technique de bionettoyage au service Néonatalogie, Réanimation Médicale, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018.

✓ **Respect de temps de contact et de dilution des produits biocides désinfectants**

L’ensemble du personnel d’entretien ne respectait pas la dilution et le temps de contact des produits biocides désinfectants.

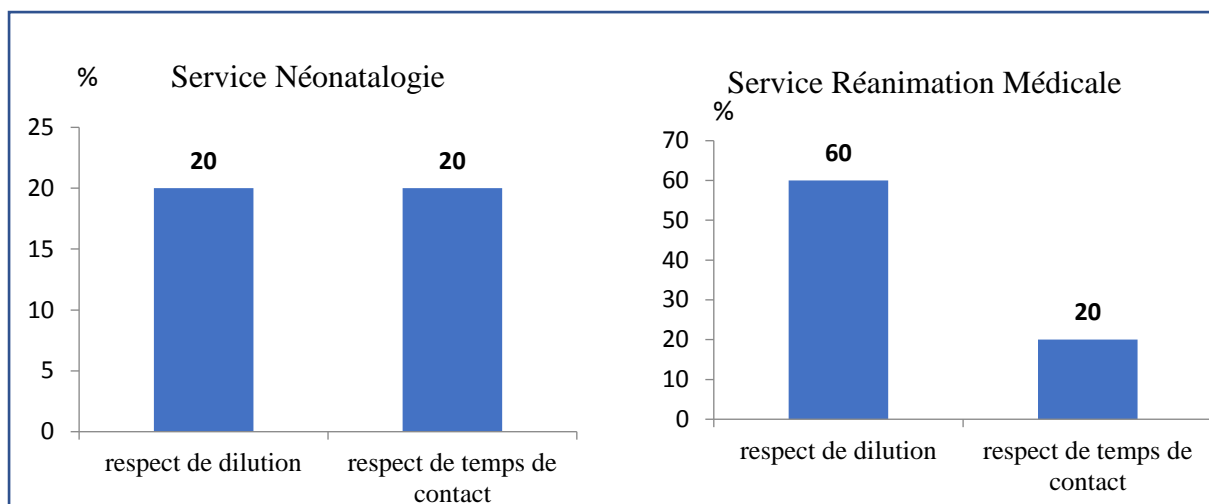


Figure 23 : Répartition de personnels d'entretien selon leur respect de temps de contact (produit/surface) et dilution de produit au niveau de Service Néonatalogie, Réanimation Médicale, CHU Tizi-Ouzou, Mars 2018.

- **Confrontation des connaissances rapportées du personnel d'entretien et les pratiques observé par l'Audit :**

La majorité de personnels a rapporté leur respect aux recommandations générales aux deux services, alors que la désinfection des mains avant le bionettoyage n'a pas été observé chez la totalité de personnels d'entretien au service de Réanimation Médicale.

Pour le port de la tenue réglementaire et le port de gants, les taux observés ont été plus élevés que les taux rapportés par le personnel des deux services.

Les techniques de bionettoyage (les étapes de lavage et du temps de séchage) ont été respecté dans les deux services.

La majorité voire la totalité de personnels d'entretien des deux services ont confirmé leur connaissance et leur respect pour la dilution et le temps de contact des produits biocides alors que cela il a été observé que dans seulement 20% des cas.

N.B : Au service de réanimation médicale la dilution des produits biocide a été réalisée par les surveillants médicaux.

**Tableau IX :** Représentation de la confrontation des connaissances rapportées de personnels d'entretien et les pratiques observé par l'Audit

Procédés		Service de Néonatalogie		Service de Réanimation Médicale	
		Connaissance (%)	Pratique (%)	Connaissance (%)	Pratique (%)
le respect des recommandations générales de bionettoyage	Respect des préalables	80	80	60	80
	Désinfection des mains avant	80	80	60	00
	Désinfection des mains après	60	60	100	100
	Port de tenue réglementaire	40	80	20	80
	Port des gants	80	60	20	100
le respect de la technique de bionettoyage	Respect des prérequis	/	80	/	80
	Respect de technique d'essuyage	80	75	60	65
	Respect des techniques de lavage	40	80	40	50
	Respect des étapes de lavage	40	40	40	40
	Respect du temps de séchage	60	20	60	20
Respect de la dilution et temps de contact produit	Respect de dilution de produit	100	20	100	60
	Respect de temps de contact de produit	80	20	100	20



3. Résultat des prélèvements des surfaces

Au total 18 prélèvements de surfaces ont été effectués dans les deux services à raison d'un prélèvement hebdomadaire réalisé en trois sites différents après bionettoyage, répartis comme suit :

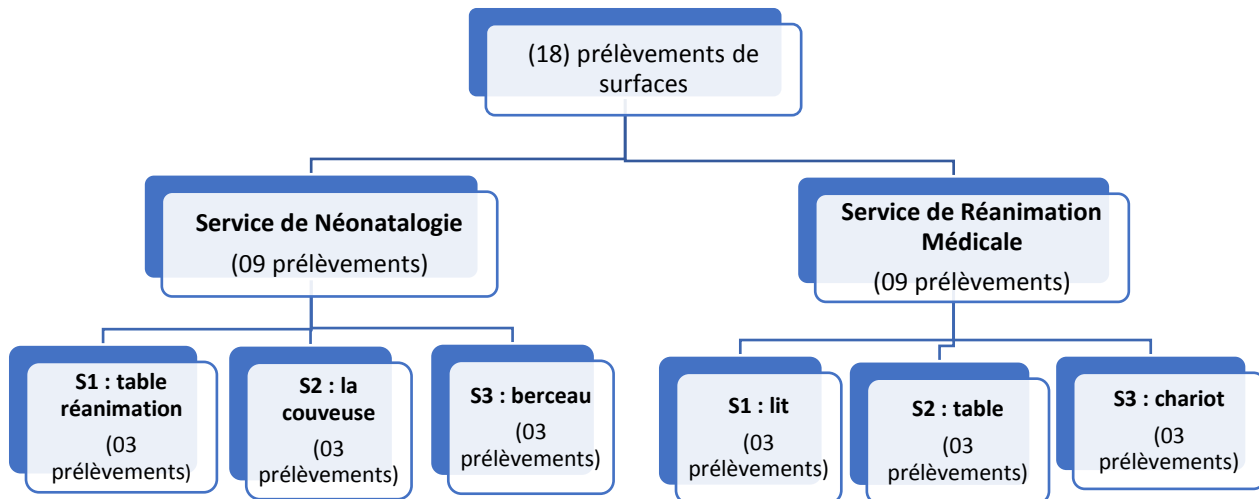


Figure 24 : Le nombre total des prélèvements au niveau des deux service Néonatalogie et Réanimation Médicale.

3.1. Répartition selon le niveau de contamination globale des sites contrôlés : Sur l'ensemble des sites contrôlés, soit un pourcentage de contamination de 67 % au niveau de service Néonatalogie et de 100% au niveau de service de Réanimation Médicale.

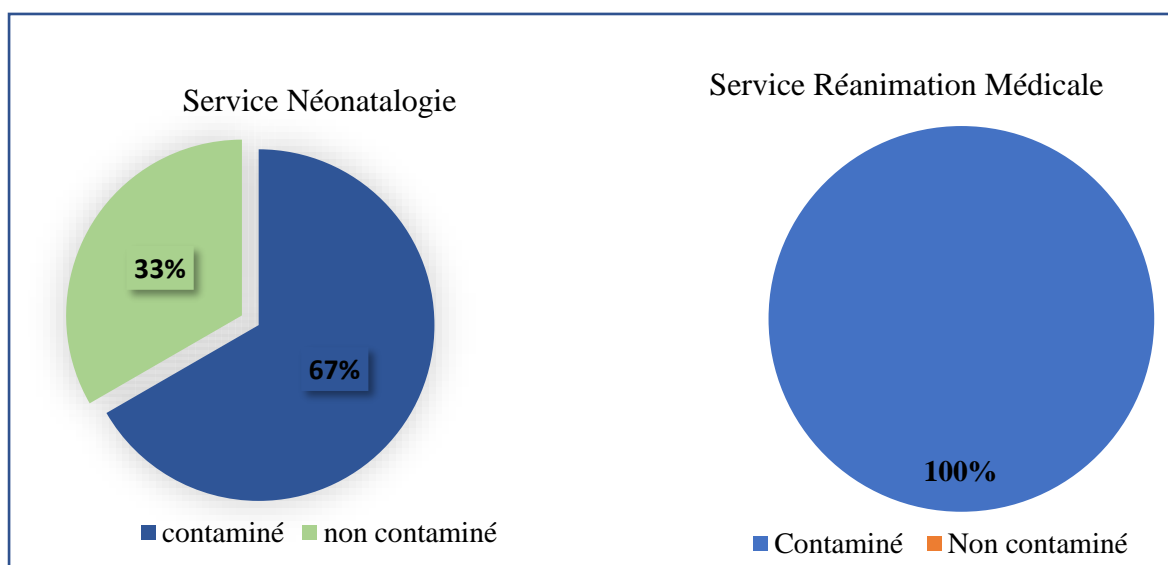


Figure 25 : Représentation graphique selon le niveau de contamination globale des sites contrôlés au niveau de service de Néonatalogie et de Réanimation Médicale



3.2. Selon les germes isolés

✓ Répartition des germes isolés en fonction de coloration GRAM

L'identification par coloration de Gram a montré que les bactéries à Gram positif (BGP) étaient les plus fréquemment isolées, soit un pourcentage de (60%) au niveau des deux services.

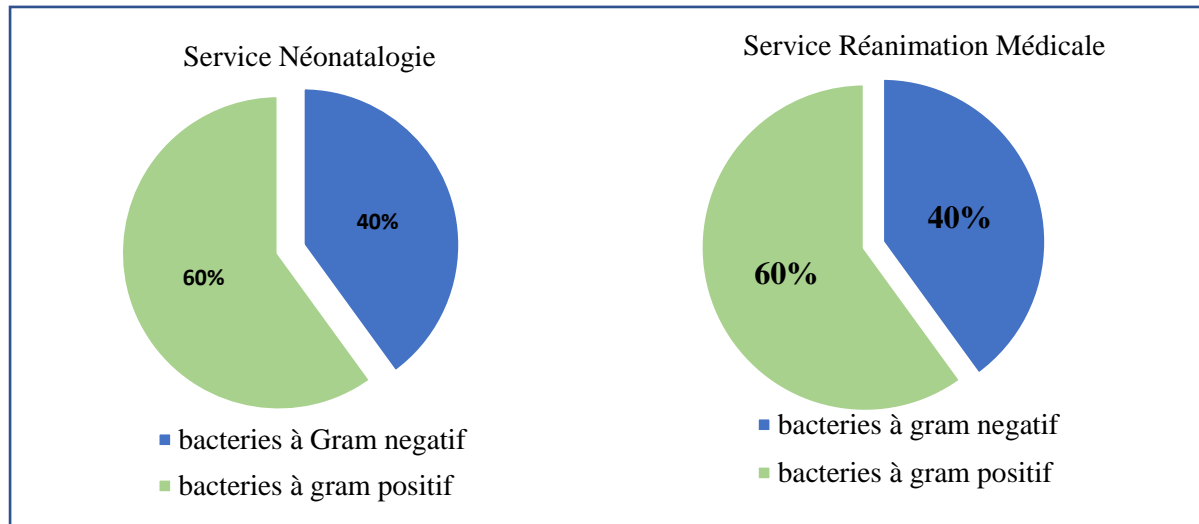


Figure 26 : Représentation graphique des germes isolés selon la coloration de gram au niveau de service de Néonatalogie et de Réanimation Médicale

✓ Selon l'identification complète des germes isolés

Le genre *Staphylococcus* (*Staphylococcus coagulase négatif*, *Staphylococcus aureus*) était le plus fréquemment retrouvé soit un taux de 40 % pour les deux services.

- Au niveau de service Néonatalogie :

Klebsiella pneumoniae et *Serratia liquifaciens* ont été isolés dans 20 % des cas.

- Au service de Réanimation Médicale :

Acinetobacter baumannii et le *Pseudomonas aeruginosa* ont été isolés dans 13 % des cas.

Klebsiella pneumoniae a été isolé dans 7% des cas.

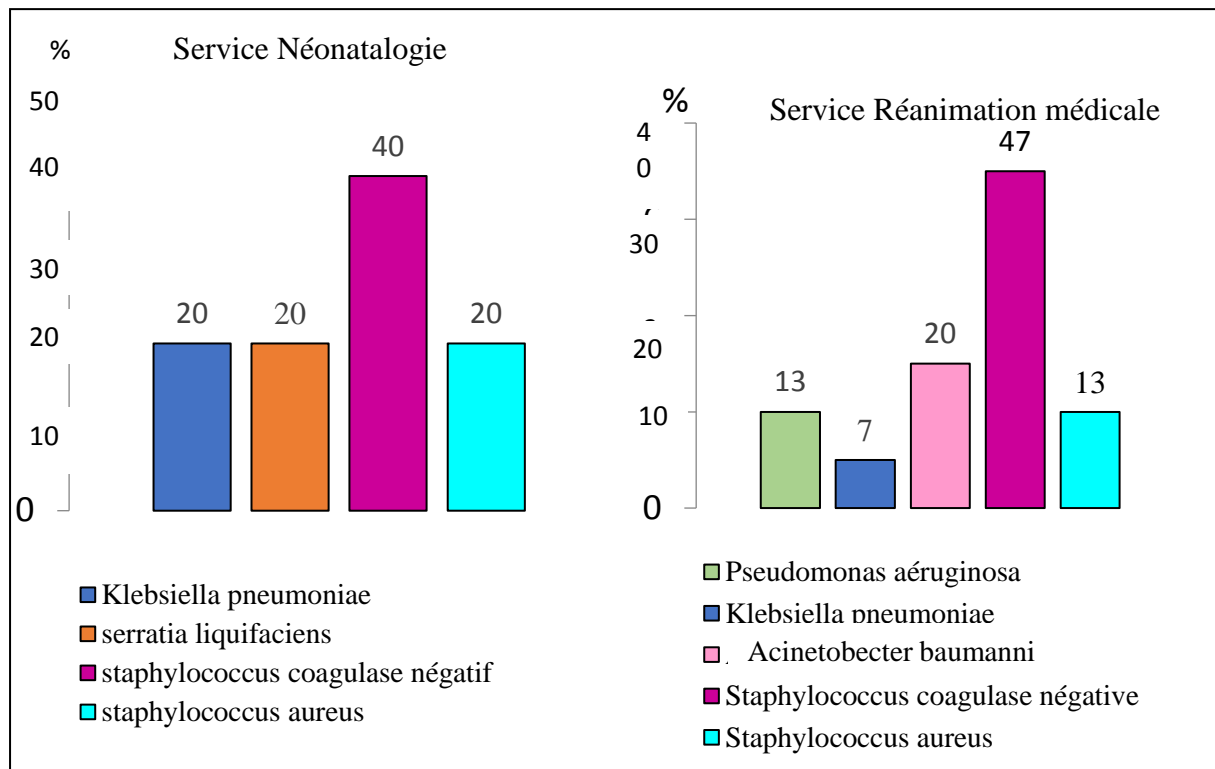


Figure 27 : Répartition des germes isolés après identification complète (tests enzymatiques, galerie biochimique, antibiogramme) au niveau de service de Néonatalogie et de Réanimation Médicale

✓ Selon l'identification complète des germes isolés par prélèvements et par site

Au service de Néonatalogie

Absence des germes isolés au niveau des couveuses, au niveau de la table de réanimation et du berceau les *Staphylococcus* ont été retrouvés dans tous les prélèvements et *Klebsiella*, *Serratia* dans deux prélèvements sur trois pour chaque site.

Tableau VIII : Répartition des germes isolés par prélèvements et par site au niveau du service Néonatalogie

Sites de prélèvements	de	1 ^{er} Prélèvement	2 ^{ème} Prélèvement	3 ^{ème} Prélèvement
Table de réanimation nouveau-né	de pour	- <i>Klebsiella pneumoniae</i> . - <i>Staphylococcus coagulase négatif</i> .	- <i>Staphylococcus aureus</i> .	- <i>Serratia liquefaciens</i> . - <i>Staphylococcus Lentus</i> (<i>coagulase négatif</i>)



Couveuse	-Absence des germes.	-Absence des germes.	-Absence des germes.
Berceau	- <i>Klebsiella pneumoniae</i> . - <i>Staphylococcus coagulase négatif</i> .	- <i>Staphylococcus aureus</i> .	- <i>Serratia liqefaciens</i> . - <i>Staphylococcus xylosoles</i> (<i>coagulase négatif</i>)

Au service de Réanimation Médicale

Tous les sites des prélèvements étaient contaminés, les germes isolés *Staphylococcus* et *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella* retrouvés sont des germes de l'environnement hospitalier, pour la *Klebsiella*, ce germe est retrouvé dans tube digestif (orofecale) mais aussi dans le sol et l'eau, tous les germes isolés sont à transmission manuportée.

Tableau IX : Répartition des germes isolés par prélèvements et par site au niveau du service Réanimation Médicale.

Sites des prélèvements	1 ^{er} Prélèvement	2 ^{ème} Prélèvement	3 ^{ème} Prélèvement
Lit de malade	- <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . - <i>Staphylococcus aureus</i> .	<i>Acinetobacter baumannii</i> . - <i>Staphylococcus coagulase négatif</i> .	- <i>Acinetobacter baumannii</i> . <i>Staphylococcus aureus</i>
Table	- <i>Staphylococcus coagulase négative</i>	- <i>Staphylococcus coagulase négatif</i> .	- <i>Staphylococcus lentus</i> (<i>Coagulase négatif</i>)



Chariot	<i>-Pseudomonas aeruginosa</i> <i>-Staphylococcus coagulase négative.</i>	<i>-Klebsiella pneumoniae.</i> <i>-Staphylococcus coagulase négatif.</i>	<i>-Acinetobacter baumannii</i> <i>-Staphylococcus lentus(coagulase négatif)</i>
----------------	--	---	---

4. L'évaluation de l'activité antimicrobienne des biocides désinfectants (méthode de diffusion des disques)

Cette méthode a été utilisée pour mettre en évidence le pouvoir antibactérien de désinfectant vis-à-vis de souches bactériennes, la sensibilité de ces bactéries vis-à-vis des biocides désinfectants utilisés se traduit par une zone translucide autour des disques imprégnés de biocide désinfectant : Cleanisept® : (Annexe XVII)

Surfanios® : (Annexe XVIII)

La Lecture des résultats se fait selon la classification PONCE et al, 2003.

4.1. Contrôle qualité des produits biocides désinfectants

Toutes les souches ATCC sont sensibles à la Surfanios® (dilué) et à Cleanisept® à partir de concentration 3%.

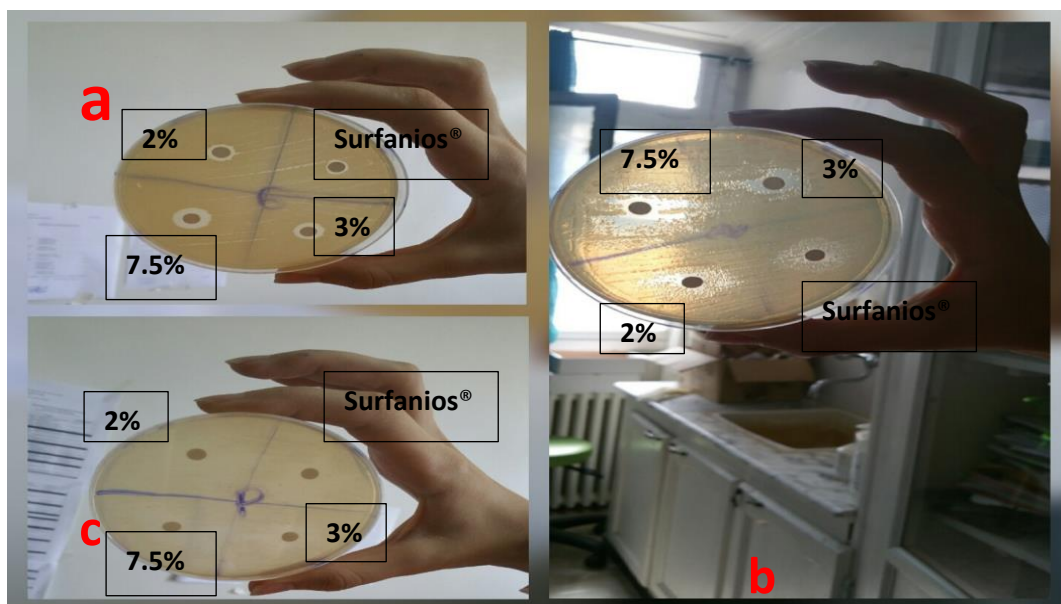


Figure 28 : Activité antimicrobienne de Surfanios® et Cleanisept® à des concentrations (2%, 3% et 7.5%) sur les souches ATCC (a : *E. coli* / b : *Staphylocoque* / c : *Pseudomonas*)



4.2. Test de sensibilité des germes isolés vis-à-vis de produits biocides désinfectants

Surfanios® :

Ces résultats montrent que *Staphylococcus aureus* est intermédiairement sensible à l'action de Surfanios® (9mm de diamètre), tandis que les autres germes (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*) sont résistants.

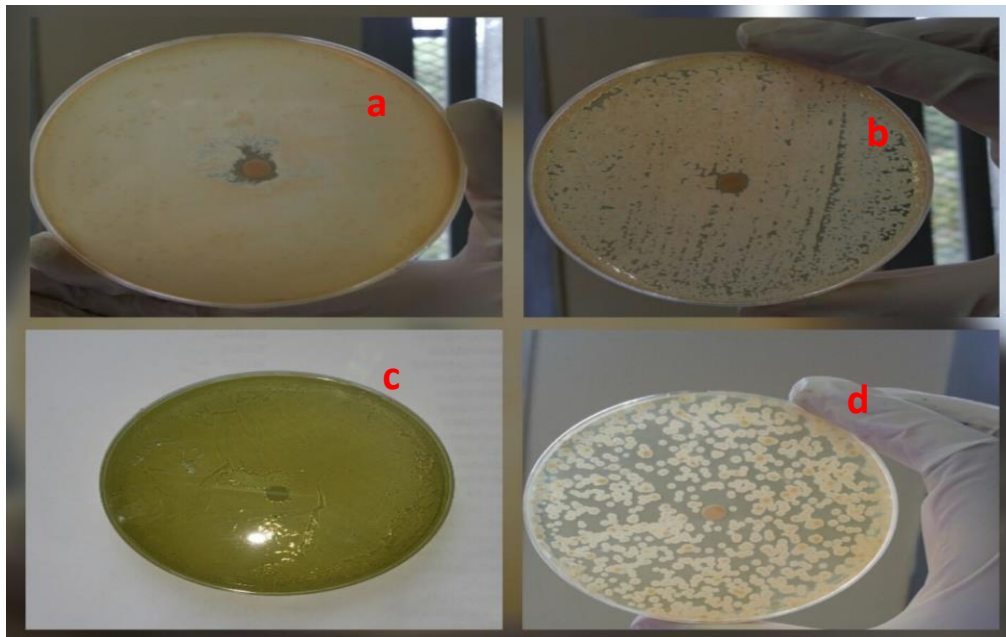


Figure 29 Activité antimicrobienne de Surfanios® sur *Staphylococcus aureus* (a), *Klebsiella pneumoniae* (b), *Pseudomonas aeruginosa* (c), *Acinetobacter baumannii* (d)

Tableau X : Représentation des diamètres d'inhibition de Surfanios® vis-à-vis des espèces microbiennes testées

		<i>Klebsiella pneumoniae</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Acinetobacter Baumannii</i>	
		D (mm)	Résultat	D	Résultat	D	Résultat	D	Résultat
Surfanios®	Sans dilution	7	Négatif	9	Positif	6	Négatif	7	Négatif

**Pour Cleanisept® dilué à 2%. 3%. 7.5%**

Le *Staphylococcus aureus* est sensible à l'action de Cleanisept® (2%, 3%), *Acinetobacter baumannii* est intermédiairement sensible tandis que *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniaea* sont résistants.

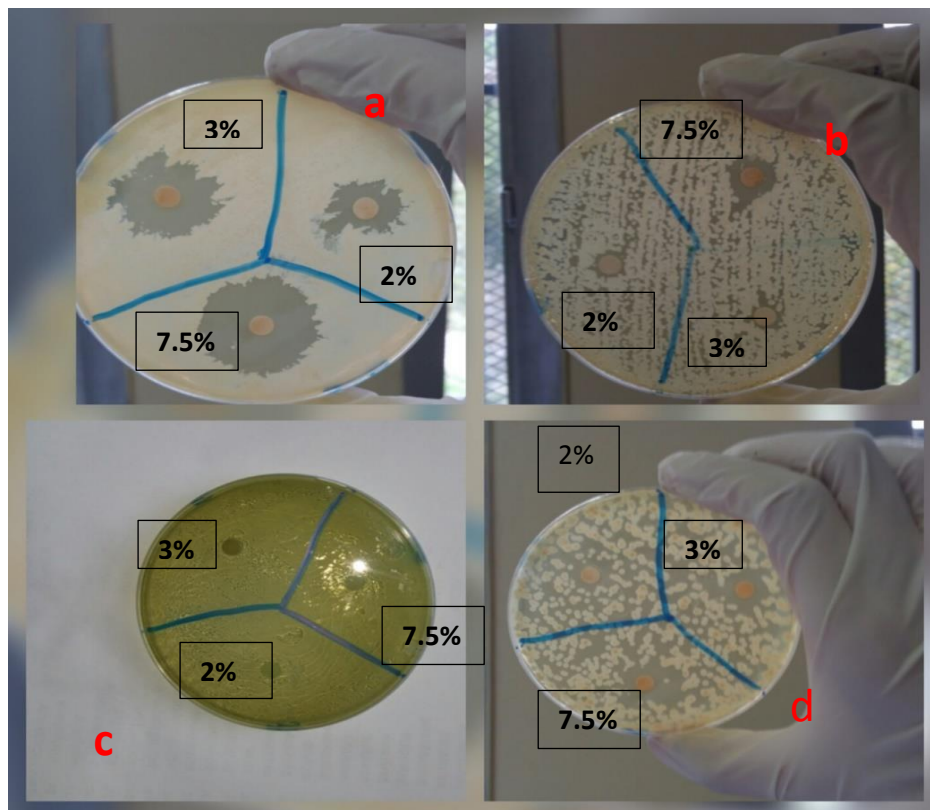


Figure 30 : Activité antimicrobienne de Cleanisept® à des concentrations (2%, 3% et 7.5%) sur *Staphylococcus aureus* (a), *Klebsiella pneumoniae* (b), *Pseudomonas aeruginosa* (c), *Acinetobacter baumannii* (d) .

Tableau XI : Diamètres d'inhibition de Cleanisept® vis-à-vis des espèces microbiennes testées

		<i>Klebsiella pneumoniae</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Acinetobacter baumannii</i>	
		D (mm)	Résultat	D	Résultat	D	Résultat	D	Résultat
Cleanisept®	2%	7	Négatif	16	Positif	6	Négatif	13	Positif
	3%	7	Négatif	22	Positif	6	Négatif	14	Positif

**Pour Cleanisept® dilué à 10%. 20%. 30%**

A des concentrations de 7,5 %, 10 %, 20 % et 30 %

Le *Staphylococcus aureus* est extrêmement sensible à l'action de Cleanisept® à ces concentrations.

Pour les autres germes à Gram négatif, leur sensibilité à ce produit augmente avec l'élévation de la concentration.

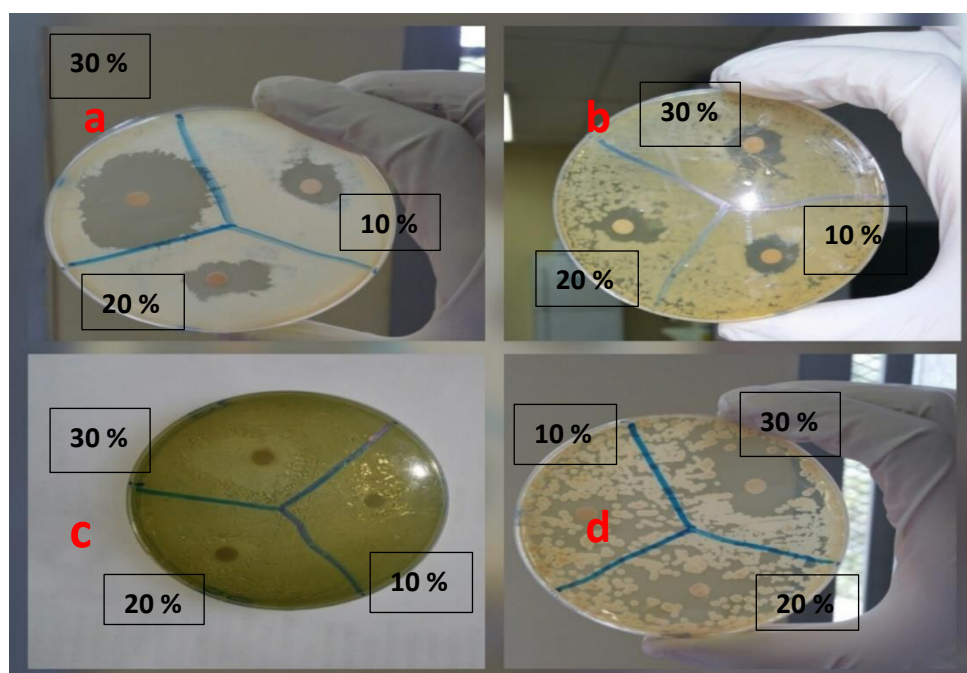


Figure 31 : Activité antimicrobienne de Cleanisept® à des concentrations (10%, 20% et 30%) sur *Staphylococcus aureus* (a), *Klebsiella pneumoniae* (b), *Pseudomonas aeruginosa* (c), *Acinetobacter baumannii* (d) .

Tableau XII : Représentation des diamètres d'inhibition de Cleanisept® vis-à-vis des espèces microbiennes testées

		<i>Klebsiella pneumoniae</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Acinetobacter baumannii</i>	
		D (mm)	Résultat	D	Résultat	D	Résultat	D	Résultat
Cleanisept®	7.5%	10	Positif	27	Positif	9	Positif	16	Positif
	10%	14	Positif	30	Positif	9	Positif	16	Positif
	20%	18	Positif	33	Positif	17	Positif	33	Positif
	30%	23	Positif	55	Positif	33	Positif	38	Positif



DISCUSSION DES RESULTATS

L'implication directe de l'environnement hospitalier dans la survenue des infections nosocomiales est discutée et reste difficile à évaluer. Certains considèrent que son rôle est négligeable, d'autres pensent au contraire qu'il sert de relais dans les transmissions croisées. La réduction de ces infections impose la mise en œuvre d'une maîtrise de l'environnement, ciblée sur des actions simples et pertinentes et reposant sur le nettoyage et la désinfection quotidienne des locaux, associés à la surveillance microbiologique de l'environnement.

Au terme de cette étude, le niveau des connaissances en matière d'hygiène hospitalier exprimé par les réponses, attitudes et pratiques du personnel soignant des deux services été moyen à médiocre pour certains items audités tel que le respect des indications et de la technique de lavage des mains, la friction par la solution hydroalcoolique, le port de gants et de tenue réglementaire, et le respect des techniques de bionettoyage des surfaces ainsi que les connaissances sur la bonne utilisation des produits (respect de la dilution, temps de contact et temps de séchage).

➤ Au niveau du service de Néonatalogie :

L'absence des germes au niveau des couveuses dans les trois prélèvements peut être justifiée par l'isolement total des couveuses de toute contamination extérieure portée soit par le visiteur ou bien les professionnels de santé qui ont respecté les précautions standard de l'hygiène hospitalière (port de tenue à usage unique et la désinfection des mains).

La surface limitée de la couveuse facilite la réussite de la nouvelle technique de bionettoyage (nettoyage à la vapeur) car l'efficacité de cette dernière est inversement proportionnelle à la surface nettoyée [44].

Au niveau du berceau et de la table de réanimation :

Ces 2 surfaces peuvent être contaminées soit par les mains des mamans ou bien du personnel soignant mais la présence des germes juste après la désinfection pose problème à étudier et pour cela nous avons collecté des informations sur le type des germes retrouvés et leur sensibilité à la chaleur (désinfection à la vapeur).

-les Staphylocoques sont des germes de la flore cutanée (manuportés), leur multiplication est favorisée par l'humidification du milieu donc la technique à la vapeur, le non-respect de temps de contact et la distance (surface /nettoyeur vapeur) ainsi le non-respect de temps de séchage vont favoriser la persistance de ce germe.

-Serratia et Klebsiella : ces espèces font partie des entérobactéries qui présentent une résistance aux agents Physicochimiques, elles peuvent survivre des mois dans l'eau distillée et se multiplier dans des solutions antiseptiques : ammoniums quaternaires et chlorhexidine. Elles se multiplient bien à +4°C, elles sont inactivées par la chaleur humide à 121 °C pendant au moins 20 min et la chaleur sèche à 165-170 °C pendant 2 heures [80] .

D'après l'audit d'observation ce temps de contact n'était pas respecté.

➤ Au niveau du service de Réanimation Médicale

La présence des germes au niveau de toutes surfaces est due à une contamination provoquée par le personnel soignant ou bien les visiteurs car les chambres ne sont pas isolées et elles sont souvent exposées à tous les types de contamination (directe et indirecte).

Mais la présence de ces germes juste après la désinfection peut être dû au non-respect de la procédure de bionettoyage déjà constaté par l'audit d'observation (absence de l'étape de décontamination et de rinçage et le passage directement à l'application d'un produit detergent-desinfectant). On doit également intervenir sur la propreté de la surface car la présence de salissures (graisses, sucres, calcaires, etc.) peut interférer sur l'efficacité du pouvoir du désinfectant et la formation de biofilm et ce qui explique la prédominance des bactéries a Gram négatif. La première étape de la désinfection nécessite donc un nettoyage. L'étape du nettoyage est très importante car selon la documentation, celle-ci permettrait de réduire de 80 % la charge environnementale en micro-organismes.

Nous constatons également l'inefficacité de la méthode bionettoyage utilisée en incriminant dans un premier temps les dilutions utilisées, nous avons donc entamé une étude sur l'efficacité de la dilution utilisée (à savoir 3 %). Cette concentration a été testée sur des souches sauvages et a révélé une certaine sensibilité.

Les biocides désinfectants sont des agents antimicrobiens, donc les bactéries peuvent développer une résistance acquise vis-à-vis de ces produits c'est ce que nous avons pu prouver après réalisation de tests de sensibilité après la réalisation de test de sensibilité des germes isolés vis-à-vis des produits biocides désinfectants par méthode de diffusion des disques,

Les résultats montrent une excellente activité du désinfectant Cleanisept à base d'ammonium quaternaire sur les souches environnementales de *Staphylococcus aureus*.

En revanche, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* et *Klebsiella pneumoniae* souvent responsables d'infections nosocomiales, peuvent être considérés comme des espèces peu sensibles à ce produit et nécessite plutôt une politique générale de rotation des principes actifs à l'hôpital, ou bien une utilisation de concentrations plus importantes.

En effet, la destruction de ces espèces dans l'environnement proche du malade est certainement indispensable, ces espèces ont une grande capacité d'adaptation aux conditions environnementales et l'utilisation d'un produit biocide à des doses sub-létales constitue un des facteurs favorisant l'émergence de souches résistantes.

Dans notre étude, le *staphylococcus aureus* isolé de l'environnement hospitalier n'a été détecté résistant aux désinfectant utilisé dans conditions habituelles de son utilisation. Cette information nous rassure quant à la pérennité de l'efficacité d'un produit utilisé depuis des années dans notre hôpital, pour cette espèce bactérienne, nous n'observons pas d'adaptation des souches aux principes actifs du produit, Notons néanmoins que la souche isolée de l'environnement provienne des flores cutanées humaine et est par conséquent, constamment renouvelée, apportée par de nouveaux patients.

Pseudomonas aeruginosa et *Acinetobacter baumannii* et *Klebsiella pneumoniaea*, leur origine est essentiellement environnementale et elles participent à la flore hospitalière dont la résistance aux désinfectants nécessite d'être surveillée.

Les concentrations actives ou dilutions cibles sur ces espèces bactériennes sont très importantes et permettent de garantir une certaine « marge de sécurité ». Néanmoins, les concentrations en principe actif biocide varient probablement énormément sur les surfaces au moment de leur utilisation et on n'est donc pas à l'abri d'un contact de bactéries avec des doses sub-léthales du produit favorisant ainsi l'émergence des résistances.

Comme on peut expliquer cette résistance plus élevée des bactéries à Gram négatif par rapport aux bactéries a Gram positif par une résistance naturelle due à la présence d'une membrane externe qui constitue une barrière difficile à traverser par ce désinfectant à base d'ammonium quaternaire, pour que ce dernier atteint sa cible d'action (phospholipides membranaires).

Mais d'après le contrôle qualité et la sensibilité des bactéries des Gram négatif et Gram positif on peut dire que la cause principale de cette résistance est le développement d'une résistance acquise vis à vis de produits utilisés lorsqu'ils sont exposés fréquemment à des concentrations inférieures proches de la concentration recommandée (concentration sub-létale).

Dans cette étude des contraintes et des biais ont été rencontrés à savoir :

- La contrainte rencontrée sur le terrain (le retard de la remise de questionnaire par les soignants ainsi que leur disponibilité)

- Biais d'information

Le biais inévitable de l'étude est le biais d'information et subjectivité des réponses du professionnel de santé

Bais induit par la présence des enquêteurs ; le changement de comportement des attitudes et des pratiques de certain professionnel

Conclusion et recommandations : (actions correctives -actions préventives)

Pour éviter toute défaillance du côté hygiène et diminuer les risques infectieux dans le milieu hospitalier nous proposons les solutions suivantes :

- Respecter les recommandations et les bonnes pratiques d'hygiène
- Sensibiliser le personnel et les responsables du service sur l'importance et le respect de la désinfection ;
- Réaliser systématiquement un bionettoyage et une désinfection selon un protocole adéquat validé par une recherche scientifique ;
- Alternier périodiquement les désinfectants pour ne pas favoriser l'installation de souches multi résistantes
- Changement de principe actif :
 - Choix d'un produit efficace et moins toxique avec un cout raisonnable, Devant le manque d'efficacité de certains traitements, voire la réduction de sensibilité de certains micro-organismes.
 - Ainsi, des formulations comme le peroxyde d'hydrogène associé à des ions argent (Sanosil®) sont de plus en plus proposées et utilisées en désinfection. L'association de ces deux composants permet d'obtenir un effet biocide considéré comme synergique et donc une meilleure élimination des microorganismes. D'après les données du fournisseur, le Sanosil® agit sur de nombreux microorganismes (bactéries à Gram positif et négatif, virus, spores, levures, amibes) et aurait aussi une activité sur le biofilm. Son usage est ainsi répandu dans de nombreuses industries (agroalimentaires, cosmétiques) ou structures (hôpitaux, tours aérofrigorifères...) ainsi qu'en établissement thermal. Dans le secteur du traitement de l'eau, il est proposé aussi bien pour la désinfection de l'eau que des surfaces en contact avec l'eau (canalisation, stockage, robinets et fontaines) et connaît un fort succès lié à sa biodégradabilité [79].
- Modifier la technique de bionettoyage et utilisation d'une technique automatisée au lieu d'une méthode manuelle comme la désinfection à la vapeur qui a été testée sur des

micro-organismes résistantes au désinfectant et montre une sensibilité à cette technique, mais son efficacité dépend du temps de contact de la vapeur d'eau sur les surfaces à traiter, et dépend de la vitesse d'application du nettoyeur sur la surface à traiter, dans le cas des surfaces importantes, la contrainte d'un temps de contact minimal peut s'avérer difficile à respecter par les personnels. En revanche pour les surfaces réduites ou difficilement accessibles au nettoyage par lingette, ce procédé pourrait être retenu.

En guise de notre travail, il serait intéressant de :

- Mener une étude permettant de localiser les gènes de résistance des souches isolées ;
- Trouver d'autres alternances pour les désinfectants, notamment des surfaces ;
- Evaluer l'efficacité des désinfectants selon le temps de contact et la concentration (étude quantitative et qualitative en utilisant un densitomètre) .
- Evaluer l'efficacité des désinfectants sur un biofilm
- Evaluer l'efficacité des désinfectants sur d'autres germes notamment les champignons
- Mesurer l'efficacité de l'association et la synergie des désinfectants ;
- Etudier l'effet des facteurs pouvant d'amplifier l'action antimicrobienne des désinfectants.
- Synthétiser de nouvelles molécules chimiques bioactives ayant un pouvoir antimicrobien.
- Instaurer une culture du management et gestion de risque en milieu hospitalier.
- Instaurer des procédures écrites et validées par une équipe de professionnel en matière d'hygiène hospitalière.
- Instaurer des actions préventives en cas de changement de méthodes ou d'agents antimicrobiens.
- Faire des campagnes de validation et ou de revalidation de la méthode de bionettoyage avec rapport dans le cadre de l'amélioration continue des pratiques.
- Selon le diagramme d'Ishikawa, planifier des formations qualifiantes pour le personnel d'hygiène hospitalière.

Bibliographie :

- [1] Organisation mondiale de la santé (OMS). Recommandations de l'OMS pour l'hygiène des mains au cours des soins. 2009; 1-68. nedaovano.
- [2] GUINEE. Ministère de la Santé Publique. Direction Nationale des Etablissements Hospitaliers et Soins. Atelier régional sur la sécurité hospitalière et la lutte contre les infections nosocomiales. Conakry : 6 au 8 mai 2008. nedaovano.
- [3] R. MAGIS, G. DUCCEL : « L'appréciation du risque et sa gestion », Techniques Hospitalières N°617, juin 1997. nedaovano.
- [4] Épidémiologie des infections nosocomiales en milieu de réanimation Thèse N° 040/10, UNIVERSITE SIDI MOHAMMED BEN ABDELLAH FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE. nedaovano.
- [5] Etude de l'efficacité de procédures de nettoyage et de désinfection des surfaces dans une unité de transformation laitière artisanale : cas G.I.E De NGUEKOKH. Mémoire de diplôme d'étude approfondies de productions animales UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR, faculté des Sciences et Technique ; N°7. nedaovano.
- [6] Construction d'un score prédictif du risque nosocomial pour des patients de réanimation, Spécialité ÉPIDÉMIOLOGIE, ECONOMIE DE LA SANTÉ ET PRÉVENTION, THÈSE Pour obtenir le grade de DOCTEUR De L'UNIVERSITE DU DROIT ET DE LA SANTE - LILLE. nedaovano.
- [7] Veysier P., Domart Y., Liebbe A. M Infections nosocomiales. 2ème édition Masson. 2008 : 95 – 109. nedaovano.
- [8] Gilles Brucker, Novembre 1998. Infections nosocomiales et environnement hospitalier. pp : 6-12-22-23-24. nedaovano.
- [9] Recommandations pour la surveillance et la prévention des infections nosocomiales - CTIN - 1999. nedaovano.
- [10] Talon D. The role of the hospital environment in the epidemiology of multiresistant bacteria. J Hosp Infect 1999 ; 43 : 13-17. nedaovano.
- [11] Weber DJ, Rutala WA. Role of the environmental contamination in the transmission of vancomycin-resistant enterococci. Infect Control Hosp Epidemiol 1997 ; 18 : 306-9. nedaovano.
- [12] JEAN-Louis FAUCHER / JAEN-Loup. Avril 2002. Bactériologie générale et médicale. pp :199,214-239,244-249-252-260-298-306-307. nedaovano.
- [13] C. Pilet, JL. Bourdon, b. toma, n. marchal, c. balbastre. Bactériologie médicale et vétérinaire pp : 38-53-55-152-166-167-190-170-171-230-248. nedaovano.
- [14] Sylvie Giot, Hervé Gomila, Micheline Le Heurt, Isabelle Pividori, Septembre 2002. nedaovano.
- [80] Avril, 1992 ; Mahlen, 2011

- [15] JEAN-Louis FAUCHER / JAEN-Loup. Avril 2002. Bactériologie générale et médicale. pp :199,214-239,244-249-252-260-298-306-307. nedatováno.
- [16] Charles Nauciel – Masson – Pris 2000-Bactriologie médicale .pp : 83-86-65,68-125-203. nedatováno.
- [17] [www.bacteria.cict.fr / bacdico / systematique / annexen. htm](http://www.bacteria.cict.fr/bacdico/systematique/annexen.htm). nedatováno.
- [18] INSTITUT PASTEUR ,Histoire de l'hygiène, Disponible sur : [http://www.hygieneeduc.com/fr/profs/histoire/sci data/frame1.htm](http://www.hygieneeduc.com/fr/profs/histoire/sci_data/frame1.htm). nedatováno.
- [19] Louis Destouches (Louis-Ferdinand Céline) ,La vie et l'œuvre de philippe ignace Semmelweis 1818-1865 ,Thèse de Médecine (1924). nedatováno.
- [20] Avril J-L, Carlet J. Les infections nosocomiales et leur prévention. Ellipes, 1998, Chapitre 1, Chapitre 1,33-7 (HH ds l M). nedatováno.
- [21] Benhabyles, Hached N, Guerchani M K. Histoire de l'hygiène hospitalière en Algérie. [www.docstoc.com/ doncs / 13041615/Diapositive-1](http://www.docstoc.com/doncs/13041615/Diapositive-1). nedatováno.
- [22] Alain Raoult, Février 2004 .Hygiène et soins infirmier, pp : 57-98-188-200, 205. nedatováno.
- [23] Misnistr de la santé, Hygiène hospitalier. Acte de séminaire d'Alger, Novembre 1986 ; pp : 30-33-54-77-75. nedatováno.
- [24] Société française d'hygiène hospitalière (SF2H). Recommandations pour l'hygiène des mains, 2009. nedatováno.
- [25] Siegel JD, Rhinenart E, Jackson M, Chiarello L, TheHealthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). Guidelines for isolation precautions: preventing transmission of infectious agents in healthcare settings, 2007. nedatováno.
- [26] Ministère de la Santé français, Haut Conseil de la santé publique (HCSP), Société française d'hygiène hospitalière (SF2H). Surveiller et prévenir les infections associées aux soins, 2010. nedatováno.
- [27] C.CLIN sud-ouest. Guide français pour la formation de nouveaux professionnels en établissements de soins. nedatováno.
- [28] Société Française d'Hygiène Hospitalière. Prévention de la transmission croisée : précautions complémentaires contact. Consensus formalisé d'expert. 2009. (NosoBasse n°24184) [http://www.sfh.net/telechargement/recommandations_preventiontransmissioncroiseeS FHH.pdf](http://www.sfh.net/telechargement/recommandations_preventiontransmissioncroiseeSFHH.pdf). nedatováno.
- [29] Société Française d'Hygiène Hospitalière. Prévention de la transmission croisée : précautions complémentaires contact. Consensus formalisé d'expert. 2009. (NosoBasse n°24184) http://www.sfh.net/telechargement/recommandations_preventiontransmissioncroiseeS FHH.pdf. nedatováno.

- [30] Jean-Christophe HILAIRE , Cadre de santé, Service de Prévention du Risque Infectieux Centre Hospitalier de Versailles. nedatováno.
- [31] Commission centrale des marchés GPEM/SL n° 5670. nedatováno.
- [32] Guide pour la formation de nouveaux professionnels en établissements de soins CCLIN Sud Ouest. nedatováno.
- [33] GOULLET D, LYON, 2004 .PR désinfection, désinfection et stérilisation des dispositifs médicaux du matériel hôtelier : organisation générale, CCLIN. nedatováno.
- [34] MENARD J.,1998 . Guide de bonnes pratique de désinfection des dispositifs médicaux ; comité Technique National des infections nosocomiales , Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France ,section prophylaxie des maladies transmissibles. nedatováno.
- [35] SALVAT G. ET COLIN P. ,1995. Le nettoyage et la désinfection dans les industries de la viande en Europe. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., 14 (2), 313-327. nedatováno.
- [36] LE ROUX, 2013. Efficacité des opération de Nettoyage et désinfection dossier technique « nettoyage et désinfection » , dans le cadre de l'action collective, CRITT Agroalimentaire PACA. nedatováno.
- [37] DUCRUET L, 2010. Bon usage des désinfectants. Saint Genis Laval. nedatováno.
- [38] Alin&as Lettre d'information du CCLIN Sud-Est destinée aux Acteurs de la Lutte contre les Infections Nosocomiales & Associées aux Soins , Janvier 2011 n°1, Page 1. nedatováno.
- [39] AFNOR. Norme NF T27-281. Procédés de désinfection des surfaces voie aérienne. Détermination de l'activité bactéricide fongicide, levuricide et sporicide.2009. nedatováno.
- [40] Braux, A. Lagier, M.-C. Passet-Gros, S. Ducki, J. Shum, P. Andrini, T. Debillon, J. Croizé, M.-R. Mallaret, Entretien des incubateurs de néonatalogie à l'aide d'un générateur de vapeur. Hygiènes16 : 241-247, 2008. nedatováno.
- [41] Braux, A. Lagier, M.-C. Passet-Gros, S. Ducki, J. Shum, P. Andrini, T. Debillon, J. Croizé, M.-R. Mallaret, Entretien des incubateurs de néonatalogie à l'aide d'un générateur de vapeur. Hygiènes16 : 241-247, 2008. nedatováno.
- [42] O. Meunier, C. Meistermann & A. Schwebel – Laboratoire d'hygiène hospitalière, H.U. de Strasbourg – Pathologie Biologie mai 2009. nedatováno.
- [43] EUROPEAN COMMISSION, Directorate---General for Health&Consumers, Assessment of the Antibiotic Resistance Effects of Biocides, Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks SCENIHR, Janvier2009. nedatováno.
- [44] BRIANDET R, FECHNER L, NAITALI M, DREANNO C, Biofilms, quand les microbes s'organisent, Carnets de Sciences, Editions Quae, 2012. nedatováno.

- [45] SMITH K, HUNTER IS., Efficacy of common hospital Biocides with biofilms of multi--drug resistant clinical isolates, in J Med Microbiol 2008; 57:96673. nedatováno.
- [46] Les antiseptiques et les désinfectants A. Dauphin, C.H Mazin, Edition Arnette, Paris 1994. nedatováno.
- [47] Antiseptie et désinfection J. Fleurette, J. Freney, M.E Reverdy, Editions ESKA 1995. nedatováno.
- [48] Guide de bonnes pratiques de désinfection des dispositifs médicaux CTIN 1998. nedatováno.
- [49] Joly B. La résistance microbienne à l'action des antiseptiques et désinfectants. Dans : antiseptie et désinfection, Fleurette J., Freney J. et Reverdy M.E. (Eds). Editions Eska, pp 52-65. nedatováno.
- [50] Anonyme. 1997. Norme AFNOR NF EN 1276. Antiseptiques et désinfectants chimiques -Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité bactericide des antiseptiques et des désinfectants chimiques utilisés dans le domaine agro-alimentaire, dans l'industrie, dans les domaines domestiques et en collectivité. nedatováno.
- [51] LAWIN, 2016. Choix des désinfectants à l'hôpital : expérience du bloc opératoire central, Faculté de médecine et de pharmacie ; UNIVERSITE MOHAMMED V – RABAT ; pour l'obtention du doctorat en pharmacie, thèse N:127. nedatováno.
- [52] Massicotter L, Hilmen M. and Silverman. 1988. Cell, 54, pp 345. nedatováno.
- [53] Crémieux A. et Freney J. 1995. Bases fondamentales de l'action antimicrobienne des antiseptiques et des désinfectants : les mécanismes d'action antimicrobienne. Dans : Antiseptie et désinfection Fleurette J., Freney J. et Reverdy M.E., Editions Eska, pp 23-37. nedatováno.
- [54] GELLER C, 2010. Développement d'une méthode originale pour l'évaluation de l'activité virucide des antiseptiques – désinfectants. nedatováno.
- [55] C. CLIN, MAI 2000. Antiseptiques et désinfectants, Paris-Nord. nedatováno.
- [56] DEVILLIERS C., 2011. Dégradation chimique du PE et influence sur le comportement, l'endommagement et la rupture en fluage : Application à la durabilité d'une canalisation sous pression. PARIS TCHEC Institut des sciences et technologies École doctorale n° 432 : Sciences des Métiers de l'Ingénieur. nedatováno.
- [57] Maris p. 1995. Modes of action disinfectants. In : Disinfectants : actions and applications, McDaniel H.A ; ed ; Revue Scientifique et technique de l'Office International d'Épizooties, 14, pp 47-55. nedatováno.
- [58] MASSICOTTE R., 2009. PH. D. Environnement. Désinfectants et désinfection en hygiène et salubrité: principes fondamentaux. Santé et services sociaux. Québec. nedatováno.

- [59] ALFORT, 2009, Risques sanitaires liés à la présence de formaldéhyde, avis de l'Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail, Saisine Afsset n°2004/016. nedatováno.
- [60] BERGHMANS L, 2006. Recommandations de biosécurité relatives au traitement et aux méthodes d'inactivation des déchets biologiques contaminés. nedatováno.
- [61] C.CLIN Paris-Nord - Mai 2000. nedatováno.
- [62] DALI A. AB., 2015. Infection nosocomiale à bactéries multi résistantes en réanimation adulte à l'EHUO : profil épidémiologie, facteurs de risque et facteurs pronostiques, UNIVERSITE D'ORAN Ahmed BENBELLA. nedatováno.
- [63] Hancock I.C 1991. Microbial Cell Surface Architecture .In Microbial Cell Surface Analysis :Structural and physicochemical Methods ,eds ;pp 21-59. nedatováno.
- [64] Neidhardt F.C ; Ingraham J.L et Schaechter M.1994.physiologie de la cellule bacterienne : une approche moléculaire.Masson,487p. nedatováno.
- [65] Russell A.D.1997.plasmide and bacterial resistance to biocide .Journal of Applied Microbiology,82,155-165. nedatováno.
- [66] ALLION, 2004. Environnement des bactéries et sensibilité aux biocides : Mise au point d'une technique rapide pour déterminer in situ l'efficacité bactéricide d'agents antimicrobiens, pour obtenir le grade de Docteur de l'ENSIA, Ecole Doctorale Agriculture Biologie et Santé. nedatováno.
- [67] BRANGER M, 2014. Démarche qualité en hématologie : application à la maîtrise du processus analytique de la numération formule sanguine, Décret n° 2012-172. nedatováno.
- [68] KHORMAN AB, 2014. Validation de la méthode de nettoyage NEP au sein du domaine agricole. nedatováno.
- [69] CONTE L., 2003. Validation des procédés de nettoyage ~ application à un cas concret dans l'industrie pharmaceutique, pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, BP 403, 54001 NANCY Cedex, France. nedatováno.
- [70] LEDOUX CHLOE,2014. Analyse de risques appliquée à la validation du nettoyage des équipements de fabrication de médicaments aérosols ; Thèse de diplôme d'états de docteur en pharmacie ; UNIVERSITE DE ROUEN. nedatováno.
- [71] TERTRAISE K ., 2003. Validation du nettoyage et de la décontamination d'un mélangeur OLASA 1000, Thèse de diplôme d'états de docteur en pharmacie UNIVERSITE DE NANTES FACULTE DE PHARMACIE. nedatováno.
- [72] GARRY, Septembre 2011. Validation des opérations de nettoyage et désinfection en IAA, Process propre agro-alimentaire, Salles Propres n° 0075. nedatováno.
- [73] MOURNA H ,2010 . Validation de nettoyage des équipement de production des formes pâteuses, THÈSE En vue de l'obtention du DOCTORAT en PHARMACIE ,Thèse

N :39,UNIVERSITE MOHAMMED V FACULTE DE MEDICINE ET PHARMACIE
-RABAT. nedatováno.

- [74] ANSES, MARS 2014. Suivi de la réalisation et de l'efficacité des opérations de nettoyage et désinfection des surfaces, des matériels et des locaux, Fiche-outil pour un guide des bonnes pratiques d'hygiène ,. nedatováno.
- [75] SOW, 2003, efficacité du nettoyage et de la désinfection du matériel et des ~ surfaces de production dans l'industrie de traitement de poissons: ·cas de Sénégal pêche ; MEMOIRE DE DIPLOME D'ETUDES APPROFONDIES DE PRODUCTIONS ANIMALES PRESENTE ; UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR ;N°6. nedatováno.
- [76] MANGO, 2005. Etude de l'efficacité de procédures de nettoyage et de désinfection des surfaces dans une unité de transformation laitière artisanale : cas G.I.E De NGUEKOKH. Mémoire de diplôme d'étude approfondies de productions animales UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR, faculté des Sciences et Technique ; N°7. nedatováno.
- [77] QUEBEC, 2008. Guide d'échantillonnage à des fins d'analyses environnementales: Cahier – Généralités, Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques, 29 29p. nedatováno.
- [78] VERDIER T, 2015. Élaboration de revêtements pour matériaux de construction visant à lutter contre la prolifération microbienne à l'intérieur des bâtiments : efficacité et mode d'action, THÈSE En vue de l'obtention du DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE, Délivré par : l'Université Toulouse III - Paul Sabatier. nedatováno.
- [79] www.sanosil.com
- [80] Avril, 1992 ; Mahlen, 2011



LES ANNEXES

Annexe I : Les directives des biocides

1-2 : La directive 98/8/CE

❖ les sociétés responsables de la mise sur le marché d'une substance active ou d'un produit biocide sont les fabricants, les importateurs, ou tout autre responsable de la mise sur le marché.

❖ Principe de reconnaissance mutuelle des autorisations : Le système d'autorisation est basé sur le principe de reconnaissance mutuelle des autorisations car les standards utilisés pour évaluer les produits sont communs à l'ensemble des Etats Membres. Selon ce principe, un produit biocide qui est déjà autorisé dans un Etat membre sera normalement autorisé dans un autre Etat membre dans les mêmes termes, sauf si des circonstances locales justifient une décision différente. La reconnaissance mutuelle n'est pas automatique : une demande doit être faite dans les autres Etats dans lesquels la mise sur le marché est souhaitée par la société.

❖ Etapes à suivre par une société souhaitant mettre sur le marché un produit biocide :
- Identifier précisément les usages pour lesquels le produit est destiné, et ainsi le(s) type(s) de produit biocide parmi les 22 catégories listées dans le règlement n°528/2012/UE (ex : un insecticide ménager fait partie du type de produit.

2. Vérifier si les substances actives présentes pour être utilisée dans ce type de produit sont bien en évaluation dans le programme d'examen européen (consulter le tableau de suivi du programme d'examen). Si la substance n'a pas été ou n'est plus dans ce programme d'examen, alors sa mise sur le marché et son utilisation sont interdites aux fins biocides. Il n'est alors pas possible de s'en servir comme substance active dans un produit biocide.

3. Vérifier si la substance active est toujours en évaluation :

Les dispositions du régime transitoire s'appliquent à ce produit

4. Vérifier si la substance a fait l'objet d'une décision :

- Si la décision est positive, alors la substance est inscrite à l'annexe I, IA ou IB de la directive biocide. Il faut constituer le dossier de demande d'autorisation de mise sur le marché

- Si la décision est négative, une décision d'interdiction est prise au niveau européen, et il faut retirer du marché tout produit biocide contenant cette substance active.

Le Règlement 528-2012 :

Le Règlement 528-2012 abroge et remplace la directive 98/8CE. Il prend les objectifs de l'ancienne directive en améliorant le niveau de protection de la santé et de l'environnement, en

encourageant la mise sur le marché de produits moins toxiques et en améliorant les procédures d'autorisation de mise sur le marché.

Les dispositions de ce texte s'appliquent :

- Depuis le 1er septembre 2013
- Aux substances actives et aux produits biocides
- Aux articles traités (article 58 du règlement) : « toute substance, mélange ou tout article qui a été traité avec un ou plusieurs produits biocides ou dans lequel un ou plusieurs produits biocides ont été délibérément incorporés ».

Les grands principes du dispositif biocide restent les mêmes, mais de nouvelles dispositions ont été adoptées afin de permettre une meilleure réalisation des objectifs poursuivis par le cadre réglementaire européen, à savoir un renforcement de la protection de l'homme et de l'environnement ainsi qu'une meilleure harmonisation du marché.

Ainsi :

- les substances les plus dangereuses (cancérogènes, mutagènes, toxiques, susceptibles de causer des troubles de la fertilité, persistantes bioaccumulables et toxiques) seront interdites.
- les articles traités avec des produits biocides seront soumis à disposition d'étiquetage, et les articles importés auront obligatoirement dû être traités avec des substances approuvées en Europe.

Concernant les substances actives très préoccupantes, il existe des dérogations aux interdictions quand :

- Les risques liés à l'utilisation des produits les contenant sont négligeables
- Le produit est indispensable pour combattre un risque grave pour la santé ou l'environnement
- Leur interdiction aurait des conséquences négatives disproportionnées au regard des risques que leur utilisation présente.

Le règlement prévoit différents types de procédures pour l'autorisation de mise sur le marché

- o Demande d'autorisation aux autorités nationales compétentes en vue de vendre un produit sur leur territoire. Pour cela, 3 possibilités existent :
- o L'autorisation uniquement nationale : cette procédure est prévue lorsque le produit est mis ou serait sur le marché d'un seul Etat membre. L'autorisation octroyée n'est valable que sur le marché de cet Etat membre ;
- o La reconnaissance mutuelle simultanée (article 34) : cette procédure est prévue lorsque le produit est mis ou serait mis sur le marché de plusieurs Etats membres. Dans ce cas, le

demandeur désigne un Etat membre de référence faisant l'évaluation pour l'ensemble des Etats impliqués. Sur la base du rapport d'évaluation et du projet de décision, les autres Etats dits « concernés » devront indiquer s'ils autoriseront le produit dans les mêmes termes, s'il y a des divergences de vues sur l'évaluation ou si des adaptations locales sont nécessaires.

o La reconnaissance mutuelle séquentielle : cette procédure est prévue pour un produit déjà autorisé dans un ou plusieurs autres Etat membres avec les exigences du règlement, et que la société souhaite par la suite (ex : 6 mois après, 2 ans après, ou 5 ans après etc.) mettre son produit sur le marché d'un ou plusieurs autres Etats. Le processus simplifié de reconnaissance mutuelle séquentielle s'applique alors, en vue d'obtenir les autorisations dans les autres Etats.

- Procédure simplifiée d'autorisation: possibilité pour des produits avec des caractéristiques favorables pour la santé et l'environnement, devant contenir uniquement des substances listées à l'annexe I du règlement et devant remplir des conditions définies. La procédure d'autorisation est simplifiée et accélérée, et le produit autorisé par un Etat peut être mis sur le marché de tous les Etats membres sans besoin d'autre autorisation, mais uniquement en faisant une notification auprès des autres Etats avant sa mise sur leur marché.

-Demande d'autorisation de l'Union européenne : elle doit se faire à l'ECHA, en indiquant l'Etat membre souhaité pour réaliser l'évaluation qui sera renvoyée à l'ECHA. Le Comité des Produits Biocides de l'ECHA émet ensuite un avis, à la suite duquel la Commission européenne décide ou non d'accorder l'autorisation. Si l'autorisation est donnée, elle est valable sur tout le territoire de l'Union européenne. Cette possibilité d'autorisation de l'Union s'ouvrira progressivement à l'ensemble des produits biocides (d'ici 2020), sauf ceux concernant certains types de produits ou pour les produits contenant des substances très préoccupantes normalement visées par l'exclusion.

Une plateforme centrale de traitement de toutes les demandes relatives aux produits biocides a été mise en service le 1er septembre 2013.

Cette plateforme est le R4BP (Registre des produits biocides) :

Le fonctionnement de R4BP est détaillé dans ce guide :

Il est toujours obligatoire de faire une déclaration auprès des centres antipoison ou auprès des organismes désignés par les autorités des Etats membres dans lesquels le produit est commercialisé. En France, cela reste l'INRS via le portail Synapse.

Un article ayant été traité avec un biocide ne pourra être mis sur le marché européen que si la ou les substances actives avec lesquelles il a été traité sont approuvées au niveau européen du bois traité contre l'attaque des insectes ou des moisissures). Des dispositions spécifiques d'étiquetage sont également prévues.

Le nouveau règlement prévoit des règles spécifiques de prises en comptes des nanomatériaux biocides: obligation d'étiquetage des produits contenant des biocides sous forme de nanomatériaux, évaluation spécifique des risques liés à ces mêmes nanomatériaux biocides, obligation d'étiquetage des articles traités avec des nanomatériaux biocides.

Annexe II :Tableau récapitulatif sur le peroxyde d'hydrogène

Peroxyde d'hydrogène		
Identification		N°CAS : 7722-84-1 H ₂ O ₂
Usages		Intermédiaire de synthèse, désinfectant, agent de blanchiment, industrie alimentaire (emballage), industrie pharmaceutique (lentille de contact)
Mode d'action		Oxydant, inhibition enzymatique et modifications des protéines structurales
Toxicité	Aigue	Catégorie4 (nocif en cas d'ingestion et d'inhalation) Corrosion cutanée catégorie 1A
	Chronique	Risque de dermatoses et irritations pulmonaires Plaques pigmentaires cutanées jaunes /chamois Non CMR (groupe3 du CIRC)
Spectre d'activité		Le peroxyde d'hydrogène est bactéricide, actif sur <i>Mycobacterium tuberculosis</i> à des concentrations de 6% à 10 % (30 volumes), fongicide, lentement sporicide et virucide.
Précautions/recommandations		Irritant pour la peau partir de 6% et possible brûlure/corrosion à partir de 35% Décomposition rapide (température, pH, radiations, contaminants divers)
Conduite à tenir si incident		Si ingestion : si inférieur ou égale à 10 volumes (peu dangereux) rincer et diluer à l'eau, consulter un médecin, dans les autres cas d'hospitalisation et /ou CAP Si inhalation : aérer et repos, consulter un médecin Si contact cutané : rincer et laver à l'eau et au savon, consulter si symptôme Si contact oculaire : rincer abondamment, consulter un ophtalmologiste

Annexe III : Tableau récapitulatif sur l'acide peracétique(LAWIN, 2016) / (C.CLIN 2000) / www.inrs.fr/fichetox

Acide peracétique	
Identification	N° :79-21-0 C₂H₄O₃
Usages	Désinfectant et stérilisant (agroalimentaire et milieu médical), agent blanchissant, industrie chimique
Mode d'action	Oxydant (libération oxygène, altération des lipides, des acides nucléiques, des membranes cellulaires et des systèmes enzymatiques)
Spectre d'activité	Bactéricide à faible concentration. Les activités fongicides (sur les levures et les <i>Aspergillus spp.</i>), Virucide et sporicide sont rapides.
Toxicité	Aigue
	Chronique
Toxicité environnementale	
Score de transfert/Score de qualité	
Précaution/recommandations	
Conduite à tenir si incident	

Annexe IV : Tableau récapitulatif sur l'hypochlorite de sodium

Hypochlorite de sodium		
Identification		N°CAS : 7681-52-9NaOCL
Usages		Désinfectant, Détachant, blanchissant, désodorisant
Mode d'action		Dénaturation des protéines par oxydation, arrêt du métabolisme et mort cellulaire
Toxicité pour la santé humaine	Aigue	Corrosion cutanée catégorie 1B (si concentrés, les dilutions d'usage courant sont peu dangereuses)
	Chronique	Dermatose non CMR
Toxicité environnementale		Danger aigu pour le milieu aquatique catégorie 1 Non PBT, Non vPvB
Précautions/recommandation		Eviter si dermatose chronique Préparer les dilutions à partir des formes à 2,6% (moins dangereux et plus stable dans le temps avant dilution) Ne pas réaliser de mélange (sauf si <1% de chlore actif) protège la peau lors de manipulation de forme concentrées
Conduite à tenir si incident		Si ingestion ; rincer et diluer à l'eau sauf si solution concentrée et/ou quantité importante Si inhalation : aérer et repos, consulter un médecin Si contact cutané : rincer et laver à l'eau et au savon, consulter si symptôme Si contact oculaire : rincer abondamment, consulter un ophtalmologiste si douleur et/ou solution concentrée (>2,6%)

(CCLIN, 2000) / (DEVILLIERS, 2011) / www.inrs.fr/fichetox

Annexe V : Tableau récapitulatif sur l'éthanol

<u>Éthanol</u>		
Identification	N°CAS : 64-17-5 C2H6O	
Usages	Nombreux, matière première en synthèse, solvants, carburants, désinfectants	
Spectre d'activité	<ul style="list-style-type: none"> - Bactéricide et actif sur Mycobacterium tuberculosis - Fongicide faiblement - Virucide de façon variable. - Non sporicide 	
Mode d'action	<ul style="list-style-type: none"> -Dénaturation des protéines en présence d'une petite quantité d'eau, facilitant la pénétration de l'alcool et limitant l'évaporation - Inhibition des enzymes membranaires et cytoplasmiques 	
Toxicité	Aigue	Lésions oculaires catégorie2 (irritant) Irritation respiratoire faible, Effet déprimeur du SNC par voie orale et respiratoire
	Chronique	Dermatose irritative (sèchement de la peau, eczéma) Cancérigène et reprotoxique de catégorie 1, 2,3(par voie orale) Mutagène de categorie2 Perturbateurs endocrinien avéré
Score de danger/score de qualité		Danger : 2.5/20 Qualité : 8/10
Facteurs influençant l'activité		- Les matières organiques réduisent fortement l'activité.
Précautions d'emploi		<ul style="list-style-type: none"> - Recommander le port d'une tenue de protection (masque, gants) lors de la pulvérisation. - Ne pas pulvériser sur des composants électriques ou électroniques. - Protéger les surfaces et appareils sensibles à l'alcool. - Respecter les règles de sécurité concernant le stockage du produit. - S'assurer de la comptabilité produit / appareil afin d'éviter tout risque d'explosion.

(C.CLIN 2000) / (MASSICOTTE, 2009) / www.inrs.fr/fichetox

Annexe VI :Tableau récapitulatif sur le formaldéhyde

Formaldéhyde	
Identification	Gaz très volatil
Usage	<ul style="list-style-type: none">- désinfection terminale des locaux hors présence humaine pour les maladies à déclaration obligatoire.- désinfection des surfaces- la conservation de pièces anatomiques et la préparation du liquide de Bouin.
Spectre d'activité	<ul style="list-style-type: none">- bactéricide à des concentrations élevées et plus efficace sur les bactéries à Gram -- sporicide : temps de contact prolongé- fongicide- virucide : action plus lente sur les virus nus- inefficace sur les prions (cf circulaire de décembre 1995)
Paramètres influençant l'activité	Concentration, température, humidité (l'efficacité du formol augmente avec l'humidité 60 à 80%), temps de contact (2h), présence de substances interférentes (les aldéhydes sont inhibés par les protéines)
Contre-indication	Ne pas utiliser pour la désinfection des dispositifs médicaux en contact avec l'œil.
Toxicité	Larmolement, irritation des yeux, irritations des voies aériennes, OAP, la valeur limite d'exposition est égale à 1 ppm* [1]
Précautions recommandation	<ul style="list-style-type: none">- Protection du personnel (gants, lunettes, masques...)- Protection de l'environnement :- ne pas mélanger à l'eau chaude (dégagement de formaldéhyde gazeux)- assurer l'étanchéité des locaux : calfeutrage soigneux- Respecter les incompatibilités avec les matériaux :- les caoutchoucs peuvent se craqueler- les résines peuvent être dissoutes

Annexe VII : Tableau récapitulatif sur le glutaraldéhyde

Glutaraldéhyde		
Identification	Liquide très réactif, N°CAS : 111-30-8 C ₅ H ₈ O ₂	
Usages	Industrie chimique (synthèse), imagerie médicale (révélateur), désinfection par trempage des dispositifs médicaux thermosensibles stérilisant et désinfectant de haut niveau des sols et surfaces	
Spectre d'activité	Bactéricide, fongicide, sporicide à pH légèrement alcalin (7.5 – 8.5) virucide, inefficace sur les Prions.	
Mode d'action	Puissant agent réducteur, réaction avec les groupements aminés R-NH. Dénaturation des acides nucléiques et inhibition des systèmes enzymatiques entraînant la mort cellulaire	
Toxicité pour la santé humaine	Aigue	Toxicité aigüe catégorie 3 (toxique par inhalation et par contact cutané) Corrosion cutanée catégorie 1B Lésion oculaires graves catégorie 1
	Chronique	Sensibilisation respiratoire catégorie 1 Sensibilisation cutanée catégorie 1 Non CMR (peu d'études chez l'homme)
Toxicité environnementale	Non PBT, Non vPvB Danger aigue pour le milieu aquatique catégorie 1	
Précautions/recommandations	Produit à éviter	
Conduite à tenir si incident	Si ingestion : rincer et diluer avec l'eau, ne pas faire vomir, hôpital Si inhalation : aérer et repos, consulter si symptômes et /ou quantités importantes Si contact cutané : rincer et laver à l'eau et au savon, consulter si symptômes Si contact oculaire : rincer abondamment, consulter un ophtalmologiste	

Annexe VIII : Tableau récapitulatif sur l'ammonium quaternaire

Ammonium quaternaire				
Identification		BKC	DDAC	TMAC
Usages		Pharmacie : spermicide, désinfectant...), agent nettoyant à action désinfectante, agent de traitement anti-mousses, industrie cosmétique (adoucissant...), industrie chimique, hydrofuge, industrie nautique		
Mode d'action		<p>Amphiphile, Tension sur la membrane avec changement de perméabilité puis rupture membranaire.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Fixation par les groupements « - » de la surface de la cellule bactérienne, modifiant la perméabilité membranaire. - Inhibition des protéines enzymatiques, dénaturation des lipoprotéines, déstructuration des protéines (conformations). - Adsorption sur de nombreux matériaux. - Diminution de l'activité par les matières organiques et par l'eau dure. - Augmentation de l'activité à pH neutre et à température élevée. 		
Spectre d'activité		<ul style="list-style-type: none"> - Bactériostatiques sur les Gram - et bactéricides sur les Gram + - Activité variable sur les virus enveloppés, nulle sur les virus nus, - Fongistatique, aucune action sporicide 		
Toxicité pour la santé humaine	Aigue	Toxicité aigüe	Corrosion cutanée	Catégorie4 (orale)
	Chronique	Non CMR Sensibilisant Non sensibilisant	Non CMR Non sensibilisant	Catégorie3 (cutané) corrosion cutanée1C lésions oculaires C1
Facteurs influençant l'activité		<ul style="list-style-type: none"> - L'activité est diminuée par les matières organiques et par l'eau dure - Ils sont plus actifs à pH neutre ou légèrement alcalin (entre 7 et 11) et aucune activité à pH <3,5). - Leur activité augmente avec la température. 		
Précautions d'emploi		<p>Ils sont incompatibles avec :</p> <ul style="list-style-type: none"> - les détergents anioniques, les ions calcium, magnésium et nitrates, - d'autres dérivés halogénés, acides et la plupart des phénoliques. <p>Ils sont hémolytiques et curarisants par voie orale.</p>		

Annexe IX : Tableau récapitulatif sur les biguanides

Les biguanides		
Mode d'action		-A faible dose : Perte des constituants cytoplasmiques par Désorganisation de la bicouche lipidique. -A forte dose : Précipitation des protéines et acides nucléiques.
Spectre d'activité		- Bactéricide sur Gram positif et gram négatif - Peu actif sur les mycobactéries, seules les solutions alcooliques ont une action sur les mycobactéries. - Non sporicide, non virucide. - Une résistance acquise a été décrite
Toxicité	Aigue	Par voie orale : Les organes cibles identifiés sont les poumons, le foie, les reins et le tractus gastro-intestinal. Par inhalation : entraîne une respiration laborieuse. Par voie cutanée : légers œdèmes, En effet, une opacité cornéenne, des lésions conjonctivales non réversibles.
	Chronique	Par voie orale : les effets non néoplasiques. Par inhalation : des bronchites, une inflammation de la trachée, des altérations histologiques telles que métaplasies épithéliales du larynx, des bronchites et des pneumonies.
Précautions d'emploi		- ne pas mettre en contact avec l'oreille moyenne, le cerveau. - toute association est interdite avec d'autres désinfectants. - absorption par coton, polyéthylène, polypropylène. - incompatibilité avec les dérivés anioniques.
Facteurs influençant l'activité		-L'activité est diminuée par les matières organiques et l'eau dure. - les dérivés phénoliques sont faiblement solubles dans l'eau. En augmentant le pH des solutions, on augmente la solubilité, mais les propriétés antibactériennes sont diminuées. -L'association avec les ammoniums quaternaires et l'alcool potentialise l'activité, elle augmenteaussi avec la température.
Les indications		-désinfection des sols et des surfaces. -la pré-désinfection des instruments.

Annexe X : Tableau récapitulatif sur les phénols

Les phénols		
Identification	N°CAS : 108-95-2 C ₆ H ₆ O	
Mode d'action	<p>-A concentration élevée, il y a un effet léthal :</p> <p>Les dérivés phénoliques pénètrent dans la cellule et précipitent les protéines cellulaires.</p> <p>-A faible concentration, il y a inhibition de la multiplication cellulaire en inactivant les systèmes enzymatiques et altèrent la membrane cytoplasmique laissant s'échapper les constituants cellulaires.</p>	
Spectre d'activité	<ul style="list-style-type: none"> - Bactéricides pour les bactéries à Gram positif et à Gram négatif. - Peuvent être actives sur les mycobactéries et les virus. - ils sont fongicides. -le phénol est bactériostatique à faible concentration (0,2 %) et bactéricide à une concentration supérieure à 1%. <p>Les composés phénoliques sont généralement :</p> <ul style="list-style-type: none"> -Non virucides selon la norme AFNOR, mais peuvent avoir une action efficace sur les virus enveloppés (VIH). - Non sporicide. -Inactifs sur les prions. 	
Toxicité	Aigue	<p>Effets neurologiques, des troubles respiratoires et des atteintes hépatiques et rénales retardées.</p> <p>Des effets caustiques sur la peau et de graves lésions oculaires. Des troubles digestifs, neurologiques et cutanés.</p>
	Chronique	<p>Des troubles digestifs (vomissements, difficulté à avaler, ptyalisme, diarrhée, anorexie), nerveux (maux de tête, évanouissement, vertiges, troubles mentaux) et cutanés (érythèmes, eczémas). Ces symptômes sont connus sous le nom de marasme phéniqué hépatique et rénal.</p>

Annexe XI : le questionnaire utilisé pour étude CAP sur bionettoyage

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE MINISTERE DE LA
SANTÉ DE LA POPULATION ET DE LA REFORME HOSPITALIERE**

Centre Hospitalo-universitaire
De Tizi-Ouzou
Faculté de médecine
Département de pharmacie

**QUESTIONNAIRE C.A.P (CONNAISSANCES ATTITUDES PRATIQUES) SUR BIONETTOYAGE ET
LES PRODUITS BIOCIDES**

I. Donnés sociodémographiques professionnelles

Age : Sexe : Femme Homme

✓ **Catégorie professionnelle :**

Médecin Pharmacien agent de-soignant

Cadre supérieur paramédical Technicien

Autre :

I. Connaissances des personnels sur hygiène hospitalière :

1. En général :

✓ **Avez-vous de connaissances et des informations sur l'hygiène hospitalière et son importance dans votre service ?**

Pas du tout Suffisamment assez bien

✓ **Parmi les propositions suivantes, quel est le principal mode de transmission croisée des germes entre les patients ?**

Mains du personnel soignant en absence d'hygiène des mains

Air circulant dans l'établissement

Exposition des patients a des surfaces contaminées

Utilisation de dispositifs médicaux non invasifs

1.1 Concernant le respect des précautions standards :

• **Le port de la tenue réglementaire et des équipements de protection :**

Portez- vous des gants Toujours Souvent Rarement

Portez- vous des blouses Toujours Souvent Rarement

Portez-vous des bavettes Toujours Souvent Rarement

• **Hygiène des mains :**

✓ **Avez-vous suivi une formation Sur hygiène des mains ?**

Oui non

- ✓ **Parmi les situations suivantes, lesquelles convient-il d'éviter, si elles devaient favoriser la colonisation microbienne des mains ?**

-Port de bijoux -Présence de lésions cutanées -Port d'ongle artificiels

Utilisation régulière d'une crème

- ✓ En général vous effectuer un lavage des mains avant de la friction par la solution hydro alcoolique ?
Oui non
- ✓ **Utilisez-vous habituellement une solution hydro alcoolique pour hygiène des mains ?**
Oui non
- ✓ **Parmi les propositions suivantes a propos de friction hydro alcoolique ou de lavage des mains au savon et à l'eau lesquelles sont correctes ?**

-La friction hydro alcoolique est plus rapide que le lavage au savon et à l'eau ?

Vrai faux

-La friction hydro alcoolique est plus efficace contre les germes que le lavage au savon et l'eau ?

Vrai faux

-Il est recommandé de procéder au lavage puis à la friction hydro alcoolique ?

Vrai faux

- ✓ **La durée minimale nécessaire de la friction hydro alcoolique des mains pour éliminer les germes présents sur votre main ?**

30 secondes 3 secondes 1 minute 10 secondes

2. Hygiène des Lieux et de l'environnement :

Le lieux et l'environnement du service sont-ils désinfectés et bien nettoyer correctement ?

Oui Non

- ✓ **Si oui à quelle fréquence ?**

.....fois /Jourfois/ SemaineFois / mois

- ✓ **Savez-vous quels sont les produits utilisez ?**

Oui non

- ✓ **Si oui : avez-vous des informations sur le temps de contact produit/surface ?**

Oui non

- ✓ **Si oui : ce temps est-il respecté ?**

Oui non

- ✓ **Les surfaces sont-elles séchées après leur nettoyage ?**

Oui non

Questionnaire pour les utilisateurs des produits biocides (agents d'entretien) :

- ✓ **Désinfectez-vous les mains avant le bionettoyage ?**

Oui non

✓ **Désinfectez-vous les mains après le bionettoyage ?**

Oui non

✓ **Portez-vous des gants ?**

Oui non

✓ **Portez-vous de tenue à usage unique stérile ?**

Oui non

✓ **Pour l'entretien des sols en service de soins, j'utilise :**

Un détergent un Détergent-désinfectant

✓ **Vérifiez-vous que le produit est autorisé pour l'usage envisagé (vérifier l'étiquette du produit).**

Oui non

✓ **Je prépare le Détergent-désinfectant de surface en diluant « Cleanisept »**

30 ml pour 1 litres d'eau 20 ml dans 1L d'eau

20 ml dans 20 litres d'eau dose de produits dans le seau plein d'eau

✓ **Le temps de contact entre produit et surface**

Moins d'une min **• Pour « Cleanisept »**
5 min 2h pas important

30 min **• Pour « DESOGERME DSVA »**
action brève plus de 2h Aucune idée

1h **• Pour « DESCOSEPT »**
30 min 60 secondes Aucune idée

✓ **Lors de la préparation des solutions d'entretien,**

J'utilise de l'eau très chaude (50°C) j'utilise de l'eau froide (20°C)

J'utilise de l'eau tiède (30°C) sans importance

✓ **Avez-vous suivi une formation sur les techniques de nettoyage-désinfection ?**

Oui non

Avez-vous une procédure à suivre pour la préparation du chariot de nettoyage ?

Oui non

✓ **Avez-vous des difficultés sur les techniques de Bionettoyage ?**

Oui non

✓ **Pour l'entretien des surfaces hautes j'applique la règle :**

Du plus propre au plus sale du plus sale au plus propre
du plus bas au plus haut plus haut au plus bas

✓ **Avez-vous suivi une formation sur l'utilisation des produits désinfectants ?**

Oui non

✓ **Avez-vous des difficultés sur l'utilisation des produits d'entretien ?**

Oui non

- ✓ **Pensez-vous qu'une formation supplémentaire/complémentaire serait nécessaire pour une meilleure utilisation des produits d'entretien ?**

Oui

non

- ✓ **Pensez-vous avoir besoin d'information concernant l'utilisation des produits d'entretien ?**

Oui

non

- ✓ **Consultez-vous les protocoles de nettoyage ?**

Toujours

souvent

rarement

- ✓ **Les protocoles de nettoyage vous paraissent-ils claire et compréhensible ?**

Très clair

peu clair

pas du tout clair

- ✓ **Contrôles et vérification des pratiques sont-ils effectués ?**

Oui

non

- ✓ **-Comment s'effectue ce contrôle ?**

-Visuellement par suivi simple des étapes du protocole

-Prélèvements microbiologiques du milieu (des surfaces)

Quelles sont vos difficultés rencontrées lors de l'entretien des locaux ?

Manque de temps

Manque de personnel qualifié

Manque de connaissance sur les techniques de nettoyage-désinfection

Manque des produits (détergents-désinfectants)

Annexe XII : Fiche d'audit d'observation

	Oui : Présent	Non : Absent	Pas de conclusion possible
I : Préalable			
Désinfection des mains avant et après le bionettoyage			
Présence de gel hydro-alcoolique dans la salle d'examen			
Tenue à usage unique stérile			
Changement de linge tout les jours			
Fréquence de bio nettoyage par jour			
II : Fiche des ressources			
Présence de détergent			
Type de détergeant		
Présence de désinfectant			
Type de désinfectant		
Autres produits utilisés		
Lire l'étiquette et la FDS du (ou des) produits(s) utilisé(s)			
Respect les préconisations d'utilisation du produit			
Appliquer la préparation (la dilution)			
Le délai pour l'application de l'action			
La durée d'action			
Pratique du port d'équipement protecteur			
Ne pas boire, ni manger, ni fumer pendant toute la durée de l'application			
Disponibilité de la solution hydro alcoolique			
III : PREREQUIS			
Aérer la pièce			
Utilisation de poubelles appropriées			
Respect de l'ordre de déroulement des opérations suivantes : Commencer par des locaux moins contaminés Commencer du haut par le bas Commencer par le propre vers le sale Nettoyage avant désinfection			
IV : Technique			
Essuyage humide des surfaces			
Balayage (humide, sec, aspiration)			
Lavage mécanique			
Lavage manuel			
La technique se termine t'elle par la désinfection			
Présence d'appareil de stérilisation dans les locaux			

Annexe XIII : les milieux utilisés dans l'étape d'isolement des germes

a) Chapman : Milieu sélectif pour l'isolement des *Staphylococcus*

Composition en grammes par litre d'eau distillée

Peptone.....	11
Extrait de viande.....	1
NaCl.....	75
Mannitol.....	10
Rouge de phénol.....	0,025
Agar.....	15
pH = 7,5	

Lecture :

Après 24 à 48 heures à 37°C en aérobiose : une culture permet d'orienter l'identification vers le genre *Staphylococcus*.

- Colonies jaunes : acidification par fermentation du mannitol : bactéries mannitol +.
- Colonies rouges : absence d'acidification du milieu, donc absence de fermentation mannitol : bactéries mannitol –

b) Milieu Hektoen : Milieu sélectif pour l'isolement des bactéries à Gram négatif

Composition : en grammes par litre d'eau distillée

Peptone.....	12
Extrait de levure.....	3
NaCl.....	5
Sels biliaires.....	9
Thiosulfate de sodium.....	5
Citrate de fer ammoniacal.....	1,5
Lactose.....	12
Salicine.....	2
Saccharose.....	12
BBT.....	0,002
Fuchsine acide.....	0,1
Agar.....	14
pH final = 7,5	

Lecture :

Après 24 heures à 37°C en aérobiose, en général

1°) Utilisation des glucides:

- Colonies saumon: lac +
- Colonies bleu-vert: lac-

c) Milieu GS :Milieu riche non sélectif pour l'isolement des bactéries

Composition : en grammes par litre d'eau distillée

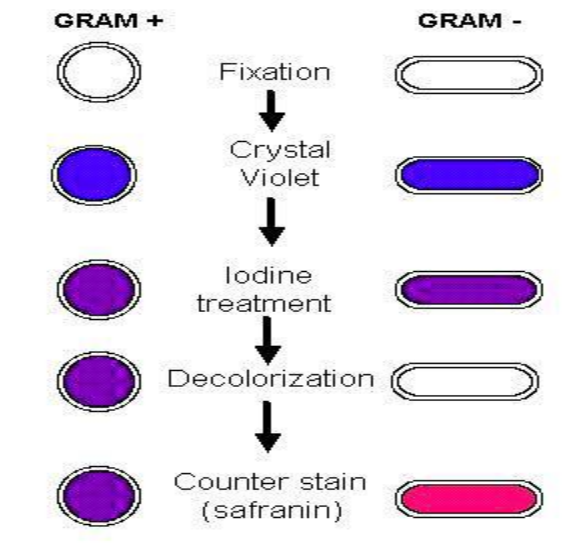
Mélange spécial de peptones.....	23
Amidon.....	1
NaCl.....	5
Agar.....	10
Sang de mouton.....	50 mL
pH final = 7,3	

Lecture : Après 24 à 48 heures à 37°C, en aérobiose (éventuellement atmosphère enrichie en CO₂) ou anaérobiose ou micro-aérophilie

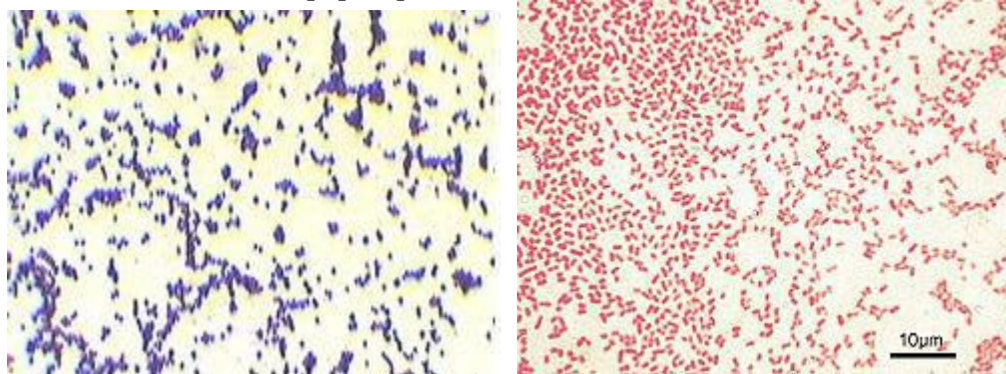
Comme la gélose au sang frais, permet la culture des bactéries exigeantes, mais aussi, bien-sûr, la culture des bactéries non exigeantes. La présence de culture sur un tel milieu ne permet donc en aucun cas de dire que la souche est exigeante ! (il faudrait, pour cela, pouvoir constater en parallèle l'absence de culture sur un milieu de base).

Annexe XIV : Identification bactériologique

1- Les étapes de la coloration de Gram :



2- Observation microscopique après la coloration de Gram



Vue microscopique de Cocci Gram positif

Vue microscopique de Cocci gram négatif

Annexe XV : Identification biochimique et lecture des résultats

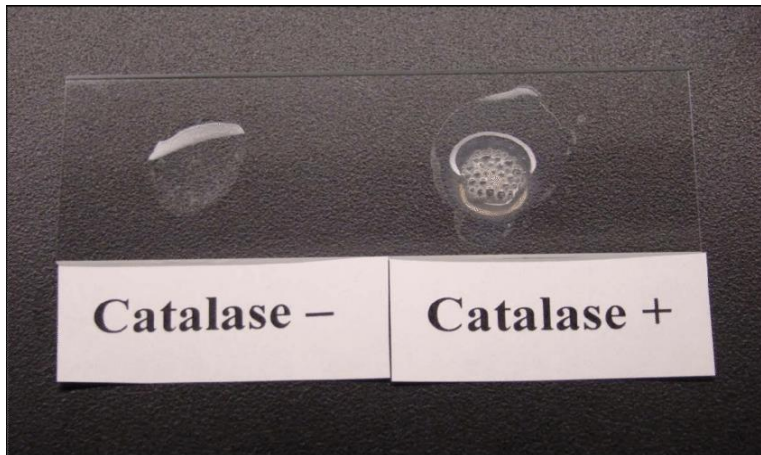
- Test d'oxydase :



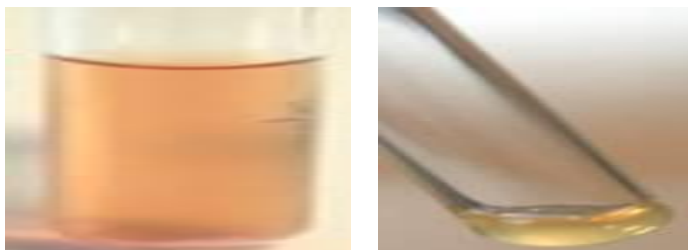
Test d'oxydase négatif

Test d'oxydase positif

- Test de la catalase



- Test Coagulase



Négatif

positif

- Tests métabolique : **La galerie api 20^E**



Négatif

Positif

위에 제시된 컬러판독표는 참고용입니다. 자세한 내용은 설명서의 판독표를 참조하시기 바랍니다.

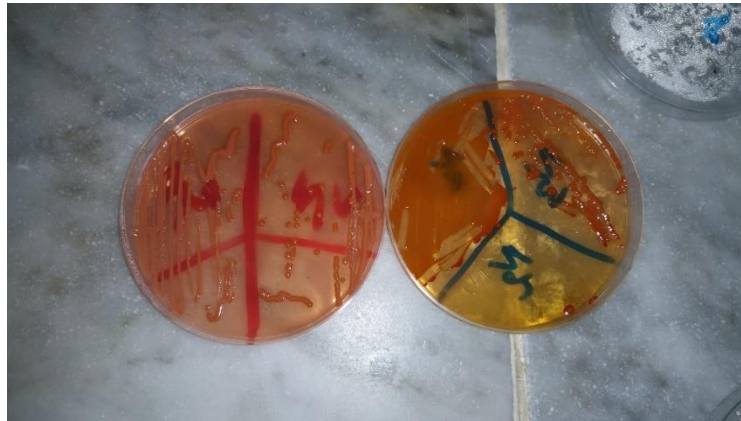
Annexe XVI : Résultats de prélèvement des surfaces

✓ Le 1^{er} prélèvement

Après 24 heures d'incubation à 37°C sur des milieux non sélectifs (gélose sang cuit) et des milieux sélectifs (Hektoen et Chapman) précédemment ensemencées par les échantillons prélevés des 3 surfaces On avait remarqué une Présence des colonies sur les 3 milieux au niveau de table de réanimation et le berceau.

• Sur Hektoen :

L'aspect des colonies sur milieu Hektoen est en relation de la capacité des microorganismes à fermenter le lactose mis dans le milieu. Cela conduit à une production d'acide qui abaisse le pH et modifie l'indicateur de pH placé dans le milieu qui vire du vert au jaune-oronge, grosses colonies muqueuses, bombées, lactose (+), ayant un aspect d'une goutte de miel, avec une tendance à la confluence.



Les colonies ainsi trouvées ont été suivi par des autres tests d'identification (examen microscopique -oxydase-galerie biochimique)

-L'examen microscopique :

Etat frais :

L'observation microscopique montre des bacilles immobiles courts.


Coloration de Gram :

Les résultats obtenus par observation microscopique après coloration de Gram, montre que les souches se présentent sous forme de bacilles ou diplobacilles colorées en rose. Donc ce sont des bacilles à Gram négatif.

-Tests enzymatiques :

Par ailleurs, les tests enzymatiques effectués sur les colonies bactériennes ont révélé une réaction négative de l'oxydase (**oxydase -**) (**photo**) chez les espèces isolées.

Tableau 1 : Résultat de la lecture du test d'oxydase.

Observation	Interprétation	Conclusion
	La bactérie n'est pas capable d'oxyder le Ndiméthyl Paraphénylène diamine.	La bactérie ne possède pas l'activité oxydase, elle est dite oxydase- .

-La galerie biochimique classique :

Tableau 2 : Résultats de la lecture du milieu citrate de Simmons.


Observation	Interprétation	Conclusion
	- Milieu citrate de Simmons Après 24 h d'incubation on a remarqué qu'il y a eu une alcalinisation du milieu, d'où le virage du bleu de bromothymol du vert au bleu (tube 2, figure 14), donc la souche K.P utilise le citrate comme seule source de carbone.	La bactérie possède une citrate perméase Elle est dite citrate +

Tableau 3 : Résultats de la lecture du milieu TSI



Observation	Interprétation	Conclusion
	La bactérie fermente le lactose ainsi que le saccharose, il y a eu une acidification dans la pente et le culot, d'où le virage du rouge de phénol au jaune avec présence des bulles d'air et absence de noircissement du milieu car il n'y a pas eu de production de sulfure d'hydrogène (H ₂ S). Donc la souche est : lactose et saccharose (+), glucose (+), gaz (+), H ₂ S (-)	La bactérie fermente les 3 sucres le glucose, saccharose et lactose Pas de production de H ₂ S

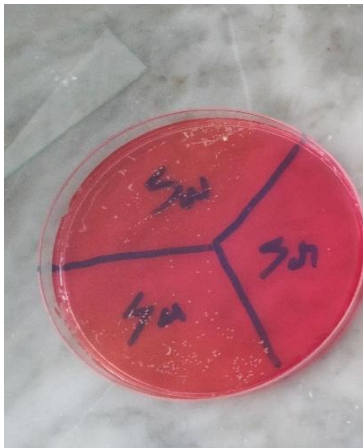
Tableau 4 : Résultats de la lecture du milieu indole

Observation	Interprétation	Conclusion
	<p>Les bactéries ne dégradent pas tryptophane. Absence anneau rouge qui remonte en surface.</p>	<p>Absence d'anneau rouge donc la bactérie est dite indole -</p>

Résultats de la lecture de l'API 20^E : (photo)



- **Sur milieu Chapman :**



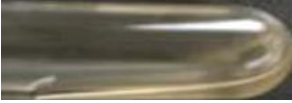
Les colonies isolées sur le milieu Chapman ont été suivies par un (examen microscopique et test de coagulase) :

-Examen microscopique :

Après coloration différentielle de Gram d'une culture jeune prélevée a partie de milieu Chapman a révéle, la présence des Cocci, colorés en violette (à Gram positif).

-

Tableau 5 : Résultats de la lecture test coagulase

Observation	Interprétation	Conclusion
	Absence de coagulation du plasma en présence des bactéries	La bactérie est de type coagulase négatif

✓ 2^{ème} prélèvement :

- **Sur Hektoen :**

Absence des colonies au niveau des 3 surfacesensemencées.

- **Sur milieu Chapman :**




Les colonies isolées sur le milieu Chapman (berceau) ont été suivies par un (examen microscopique et test de coagulase)

-Examen microscopique :

Après coloration différentielle de Gram d'une culture jeune prélevée a partie de milieu Chapman a révéle, la présence des Cocci, colorés en violette (à Gram positif).

Tableau 6 : Résultats de la lecture test coagulase

Observation	Interprétation	Conclusion
	Présence de coagulation du plasma	La bactérie est de type staphylococcus aureus

✓ **3eme prélèvement :**

• **Sur Hektoen :**

Des grandes colonies de forme ronde, de 3 à 4 mm de diamètre et d'aspect muqueux.

Les colonies ainsi trouvées ont été suivi par des autres test d'identification (examen microscopique -oxydase-galerie biochimique)

-L'examen microscopique :

-Etat frais :


Par réalisation d'un état frais, on observe des bactéries qui sont mobiles.

-Coloration de Gram :

Après coloration différentielle de Gram d'une culture jeune prélevée a partie de milieu Hektoen a révélé, la présence des bacilles, colorés en roses (à Gram négatif), immobile.

Par ailleurs, les tests enzymatiques effectués sur les colonies bactériennes ont révélé une réaction négative de l'oxydase (**oxydase -**) chez les espèces isolées.

Tableau 7: Résultat de la lecture du test d'oxydase.

Observation	Interprétation	Conclusion
	La bactérie n'est pas capable d'oxyder le N-diméthyl Paraphénylène diamine.	La bactérie ne possède pas l'activité oxydase, elle est dite oxydase- .

-Résultats de la lecture de l'API 20^E :

Pour confirmer le résultat révèle par la galerie on va tester la résistance de germe à la colistine.


• **Sur milieu Chapman :**

Les colonies isolées sur le milieu Chapman ont été suivies par un (examen microscopique et test de coagulase)

Examen microscopique :

Après coloration différentielle de Gram d'une culture jeune prélevée a partie de milieu Chapman a révélé, la présence des Cocci, colorés en violette (à Gram positif).

Tableau 8 : Résultats de la lecture test coagulase

Observation	Interprétation	Conclusion
	Absence de coagulation du plasma en présence des bactéries	La bactérie est de type coagulase négatif

-Une galerie API® Staph

Nous avons permis d'identifier les espèces de staph à coagulase négative précédemment isolées



Isolement et identification des bactéries au niveau de service de Réanimation Médicale

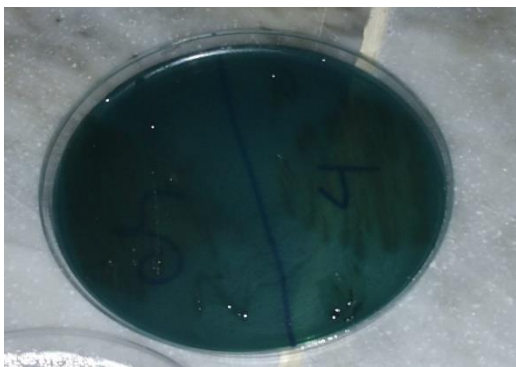
✓ Le 1^{er} prélèvement

Après 24 heures d'incubation à 37°C sur des milieux non sélectifs (gélose sang cuit) et des milieux sélectifs (Hektoen et Chapman) précédemment ensemencées par les échantillons prélevés des 3 surfaces. On a remarqué une présence des colonies sur les 2 milieux au niveau des 3 surfaces sur milieu Chapman et la surface 1 et 3 (lit et chariot) sur Hektoen.

• Sur Hektoen :

Après 24 heures d'incubation, les colonies apparaissent isolées de grande taille avec un aspect bombé au centre pigmentation, verte diffusant dans toute la boîte de pétri. De plus une odeur caractéristique (aromatique)

Les caractères culturels observés après l'isolement orientent l'identification vers le *Pseudomonas aërogenosa*.



Les colonies ainsi trouvées ont été suivies par des autres tests d'identification (examen microscopique -oxydase-galerie biochimique)

-L'examen microscopique :

-Etat frais :

Sous microscope optique à l'objectif 40, la présence des bactéries sous forme de bâtonnets très mobiles.

-Coloration de Gram :

L'examen microscopique après coloration différentielle de Gram a révélé, la présence de petits bacilles colorés en roses (à Gram négatif).

Par ailleurs, les tests enzymatiques effectués sur les colonies bactériennes ont révélé une réaction positive de l'oxydase (**oxydase +**) et (**catalase +**) (**photo**) chez les espèces isolées.

Tableau 10 : Résultat de la lecture du test d'oxydase.


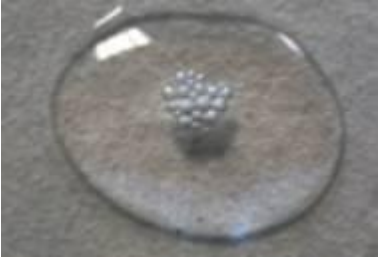
Observation	Interprétation	Conclusion
	Apparition d'une tache violette La bactérie est capable d'oxyder le N-diméthyl Paraphénylène diamine.	La bactérie possède l'activité oxydase, elle est dite oxydase+

Tableau 11 : Résultat de la lecture du test catalase

Observation	Interprétation	Conclusion
	Dégagement de bulles de gaz La décomposition de peroxyde d'hydrogène par la catalase bactérienne	La bactérie possède l'activité catalase, elle est dite Catalase positif

-Résultats de la lecture de l'API 20^E : (photo)



- **Sur milieu Chapman :**





Les colonies isolées sur le milieu Chapman ont été suivies par un (examen microscopique et test de coagulase) :

Examen microscopique :

Après coloration différentielle de Gram d'une culture jeune prélevée a partie de milieu Chapman a révélé, la présence des Cocci, colorés en violette (à Gram positif), en amas (grappe de raisin)

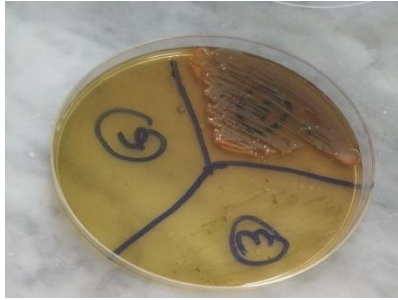
Tableau 12 : Résultats de la lecture test coagulase

Observation	Interprétation	Conclusion
Le lit 	Présence d'une coagulation de plasma	La bactérie est staphylococcus aureus
Table et chariot 	Absence de coagulation du plasma en présence des bactéries	La bactérie est dite coagulase négatif

✓ **Le 2eme prélèvement**

Après 24 heures d'incubation à 37°C sur des milieux sélectifs (Hektoen et Chapman) précédemment ensemencées par les échantillons prélevés des 3 surfaces. On avait remarqué une Présence des colonies sur les 2 milieu au niveau des 3 zones sur milieu Chapman et la zone 1 et 3 sur Hektoen.

- **Sur Hektoen : (annexe)**



➤ Le lit :

L'aspect des colonies sur milieu Hektoen est en relation de la capacité des microorganismes à fermenter le lactose mis dans le milieu. Cela conduit à une production d'acide qui abaisse le pH et modifie l'indicateur de pH placé dans le milieu qui vire du vert au jaune-oronge, grosses colonies muqueuses, bombées, lactose (+), ayant un aspect d'une goutte de miel, avec une tendance à la confluence.

Les colonies ainsi trouvées ont été suivi par des autres tests d'identification (examen microscopique -oxydase-galerie biochimique)

-L'examen microscopique :

-Etat frais :

L'observation microscopique montre des bacilles immobiles courts.


-Coloration de Gram :

Les résultats obtenus par observation microscopique après coloration de Gram, montre que les souches se présentent sous forme de bacilles ou diplobacilles colorées en rose. Donc ce sont des bacilles à Gram négatif.

-Test enzymatiques :

Par ailleurs, les tests enzymatiques effectués sur les colonies bactériennes ont révélé une réaction négative de l'oxydase (**oxydase -**) (**photo**) chez les espèces isolées.

Tableau 13 : Résultat de la lecture du test d'oxydase.

Observation	Interprétation	Conclusion
	La bactérie n'est pas capable d'oxyder le Ndiméthyl Paraphénylène diamine.	La bactérie ne possède pas l'activité oxydase, elle est dite oxydase- .

La galerie biochimique classique :

Tableau 14 : Résultats de la lecture du milieu citrate de Simmons.


Observation	Interprétation	Conclusion
	<p>- Milieu citrate de Simmons Après 24 h d'incubation on a remarqué qu'il y a eu une alcalinisation du milieu, d'où le virage du bleu de bromothymol du vert au bleu (tube 2, figure 14), donc la souche K.P utilise le citrate comme seule source de carbone.</p>	<p>La bactérie possède une citrate perméase Elle est dite citrate +</p>

Tableau 15 : Résultats de la lecture du milieu TSI


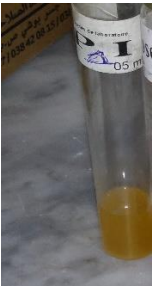
Observation	Interprétation	Conclusion
	<p>La bactérie fermente le lactose ainsi que le saccharose, il y a eu une acidification dans la pente et le culot, d'où le virage du rouge de phénol au jaune avec présence des bulles d'air et absence de noircissement du milieu car il n'y a pas eu de production de sulfure d'hydrogène (H₂S). Donc la souche est : lactose et saccharose (+), glucose (+), gaz (+), H₂S (-)</p>	<p>La bactérie fermente les 3 sucres le glucose, saccharose et lactose Pas de production de H₂S</p>

Tableau 16 : Résultats de la lecture du milieu indole

Observation	Interprétation	Conclusion
	<p>Les bactéries ne dégradent pas tryptophane. Absence anneau rouge qui remonte en surface.</p>	<p>Absence d'anneau rouge donc la bactérie est dite indole -</p>

-Résultats de la lecture de l'API 20^E : (photo)



➤ **Le chariot :**

Les colonies apparaissent lisses, circulaires, convexes avec une couleur bleu-vert.

Les colonies ainsi trouvées ont été suivi par des autres test d'identification (examen microscopique -oxydase-galerie biochimique)

-L'examen microscopique :

-Etat frais :

Les bactéries ont Une forme particulière (chainette), et elle est immobile

-Coloration de Gram :

L'examen microscopique après coloration différentielle de Gram d'une culture a révélé, la présence de petits bacilles ou coccobacilles, colorés en roses (à Gram négatif), à extrémités arrondies pouvant être isolés, regroupés par deux ou bien en courtes chainettes (**figure 2**).

Par ailleurs, les tests enzymatiques effectués sur les colonies bactériennes ont révélé une réaction positive de l'oxydase (**oxydase +**) et (**catalase +**) (**photo**) chez les espèces isolées.

Tableau 17 : Résultat de la lecture du test d'oxydase.



Observation	Interprétation	Conclusion
	La bactérie n'est pas capable d'oxyder le Ndiméthyl Paraphénylène diamine.	La bactérie ne possède pas l'activité oxydase, elle est dite oxydase-

Tableau 18 : Résultat de la lecture du test catalase

Observation	Interprétation	Conclusion
	La bactérie catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂) en H ₂ O et O ₂ (visible par formation de bulles).	La bactérie possède la catalase, elle est dite catalase+ .

-Résultats de la lecture de l'API 20^E : (photo)




• **Sur milieu Chapman :**

Les colonies isolées sur le milieu Chapman ont été suivies par un (examen microscopique et test de coagulase) :

Après coloration différentielle de Gram d'une culture jeune prélevée a partie de milieu Chapman a révélé, la présence des Cocci, colorés en violette (à Gram positif), en amas (grappe de raisin)

Tableau 19 : Résultat de la lecture du test coagulase

Observation	Interprétation	Conclusion
	Absence de coagulation du plasma en présence des bactéries	La bactérie est dite coagulase négatif

✓ **3eme prélèvement :**

Après 24 heures d'incubation à 37°C sur des milieux sélectifs (Hektoen et Chapman) précédemment ensemencées par les échantillons prélevés des 3 surfaces. On avait remarqué une Présence des colonies sur les 2 milieux au niveau des 3 surfaces sur milieu Chapman et au niveau de lit et chariot Sur Hektoen et gélose nutritive,

Remarque : La 4eme surface est barboteur à l'oxygène.

• **Sur Hektoen et GN :**



Les colonies apparaissent lisses, circulaires, convexes avec une couleur bleu-vert.

Les colonies ainsi trouvées ont été suivi par des autres test d'identification (examen microscopique -oxydase-galerie biochimique)

-L'examen microscopique :

-Etat frais :

Les bactéries ont Une forme particulière (chainette), et elle est immobile

-Coloration de Gram :

L'examen microscopique après coloration différentielle de Gram d'une culture a révélé, la présence de petits bacilles ou coccobacilles, colorés en roses (à Gram négatif), à extrémités arrondies pouvant être isolés, regroupés par deux ou bien en courtes chainettes.

Par ailleurs, les tests enzymatiques effectués sur les colonies bactériennes ont révélé une réaction positive de l'oxydase (**oxydase +**) et (**catalase +**) chez les espèces isolées.

Tableau 20 : Résultat de la lecture du test d'oxydase.



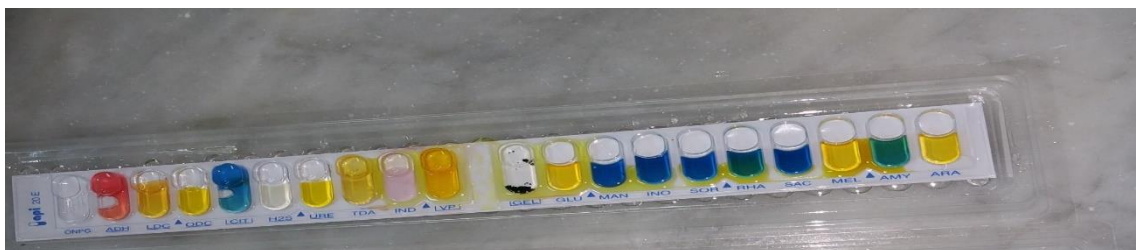
Observation	Interprétation	Conclusion
	La bactérie n'est pas capable d'oxyder le Ndiméthyl Paraphénylène diamine.	La bactérie ne possède pas l'activité oxydase, elle est dite oxydase-

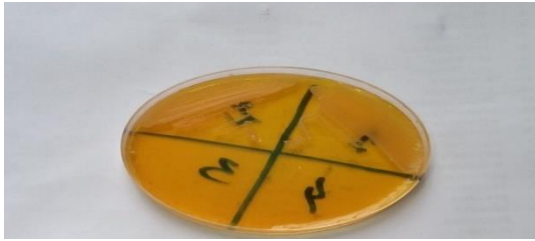
Tableau 21 : Résultat de la lecture du test catalase :

Observation	Interprétation	Conclusion
	La bactérie catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H2O2) en H2O et O2 (visible par formation de bulles).	La bactérie possède la catalase, elle est dite catalase+ .

-Résultats de la lecture de l'API 20^E : (photo)





- **Sur milieu Chapman :**



Les colonies isolées sur le milieu Chapman ont été suivies par un (examen microscopique et test de coagulase) :

Après coloration différentielle de Gram d'une culture jeune prélevée a partie de milieu Chapman a révélé, la présence des Cocci, colorés en violette (à Gram positif), en amas (grappe de raisin)

Tableau 22 : Résultat de la lecture du test coagulase

Observation	Interprétation	Conclusion
Le lit 	Présence d'une coagulation de plasma	La bactérie est staphylococcus aureus
Table et chariot 	Absence de coagulation du plasma en présence des bactéries	La bactérie est dite coagulase négatif

-Une galerie API® Staph nous avait permet d'identifier les espèces de Staphylococcus a coagulase négative précédemment isolées



Annexe XVII : FICHE TECHNIQUE DE CLEANISEPT®[pharmacie Centrale CHU T.O]

Composition :

100g contiennent :

3,33 g chlorure de didécyl diméthyl ammonium

6,66 g chlorure d'alcyldiméthylbenzyl ammonium, Benzyl-C₁₂₋₁₆-alcyldiméthyl-chloride

Les tensioactifs contenus dans le produit sont biodégradables conformément à la directive UE sur les détergents

Propriétés physicochimiques

Aspect du concentré : Solution claire, incolore, PH= 7,25± 1,25

Instructions spéciales :

Irritant pour la peau, très toxique pour les organismes aquatiques. En cas avec contact avec les yeux, rincer soigneusement avec de l'eau et consulter un médecin. Danger des lésions graves pour les yeux. Porter des lunettes et des masques de protection, ne pas inhaler les vapeurs /aérosols. N'utiliser que les zones bien ventilées. Ce produit et son récipient doivent être éliminés de manière sécurisée.

Type de préparation :

CLEANISEPT est un produit combiné pour la désinfection et le nettoyage des surfaces de toutes natures, équipements médicaux, il agit sur la base de composés d'ammonium quaternaire. Il ne contient ni aldéhyde ni phénol, il se caractérise par une faible toxicité et un bon pouvoir de nettoyage, et est non parfumé. Il est donc parfaitement indiqué pour tous les domaines de transformation alimentaire et pour les cuisines industrielles. CLEANISEPT est particulièrement indiqué pour les domaines répondant à une grande exigence hygiénique, dans lequel toute incommodité par les odeurs doit être évitée.

Spectre d'activité :

CLEANISEPT agit comme :

Bactéricide. Lévurucide. Inactivation virale inclus, virus de vaccine, BVDV, VHB, VIH, VHC, ainsi que virus de grippe et papovavirus, polymavirus et rotavirus.

Temps de contact :

2,5 % 15 mn 2% 30mn 1% 1hr

En tant que désinfectant rapide sans alcool : 7,5% 1mn

Application :

Pour la désinfection et nettoyage des surfaces de l'équipement médical et les surfaces de toutes natures.

XVIII : FICHE TECHNIQUE DE SURFANIOS® [pharmacie Centrale CHU T.O]

Composition :

N-(3-aminopropyl)-N-dodécylpropane-1,3-diamine

N°CAS 2372-82-9 :51mg/g), chlorure de didécyltriméthylammonium (N°CAS7173-51-5 :25mg/g), excipient

Indication :

Nettoyage et désinfection des sols, murs et matériel médical.

Caractéristique :

Solution limpide de couleur bleue-vert agréablement parfumée.

Utilisable en eau froide ou chaude (jusque +60C°)

Large compatibilité avec les matériaux et revêtements des surfaces : pH proche de la neutralité à la dilution d'emploi.

Non corrosif (absence d'oxydant)

Mode d'emploi :

Dilution à 0.25% : Verser une dose de 20ml dans le seau de lavage (8l)

Précautions d'emploi :

Dangereux- Avant toute utilisation lisez l'étiquette et les informations concernant le produit.

Stockage entre +5°C et +35°C. Produit biocide destiné à la désinfection des surfaces (Groupe 1-TP2). Usage réservé aux professionnels.

Propriétés microbiologiques :

Actif sur	Normes	Temps de contact
Bactéries	EN 1040, EN 13727, EN 1276, T 72-300 (BMR),	5 minutes
	NF T 72-170, T 72-300 (L. pneumophila)	15 minutes
Mycobactéries	Mycobacterium tuberculosis (B.K.)	15 minutes
	EN 14348 (M. terrae)	60 minutes
Levures / Moisissures	EN 1650 (C. albicans)	5 minutes
	EN 1275 T 72-300 (A. niger , A. fumigatus)	15 minutes
	EN 13624 (C. albicans)	
	EN 13624	60 minutes
Virus	HIV-1, BVDV (virus modèle HCV), PRV (virus modèle HBV), virus Influenza A (H ₁ N ₁)	5 minutes

Résumé

Notre étude s'est portée sur la validation du bionettoyage et la recherche de la ou les causes principales de l'inefficacité des produits biocides utilisés au niveau du service Réanimation Médicale et de la méthode à la vapeur sur les surfaces en effectuant une série d'investigation en passant par l'étude CAP, une validation microbiologique et un test de sensibilité des germes aux dilutions utilisées des biocides. Nous avons pu à l'issue de ce travail ressortir avec une série de CAPA et de recommandations en matière d'hygiène hospitalière dans l'optique de minimiser le risque de survenue des infections nosocomiales.

Mots clés : bionettoyage, biocide, désinfectant, validation, CAP, CAPA, infections nosocomiales.

Summary

Our study focused on the validation of the bio-cleaning and the search for the main cause (s) of the inefficiency of the biocidal products used at the level of the Medical resuscitation service and the steam method on the surfaces in performing a series of investigations through the KAP study, a microbiological validation and a test of sensitivity of the germs to the dilutions used of the biocides. At the end of this work, we came out with a series of CAPA and hospital hygiene recommendations in order to minimize the risk of nosocomial infections.

Key words: bio-cleaning, biocide, disinfectant, validation, KAP, CAPA, nosocomial infections.

