

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID TLEMCEN
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre
et de l'Univers



Département de Biologie
*Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au
Biomédical et à l'Environnement*
مخبر الميكروبيولوجيا التطبيقية للأغذية للبيوطبي وللبيئة

MEMOIRE DE MASTER

Domaine : SNV

Filière : Biologie

Option : MICROBIOLOGIE

Présenté par :

M^{lle} OKBI Hanane

Intitulé du Thème

Effet des désinfectants sur les bactéries à Gram positive d'origine hospitalière

Soutenu le 30/06/2015

Devant le Jury composé de :

Dr BARKA M. S.	Maitre de conférence de classe A	Président
Dr TEFIANI C.	Maitre de conférence de classe B	Examineur
Dr REBIAHI Sid Ahmed	Maitre de conférence de classe A	Promoteur

Année Universitaire : 2014-2015

Dédicaces

*Avec l'aide du tout Puissant, j'ai pu réaliser ce modeste travail que
je dédie à :*

*Mes parents pour leurs sacrifices qu'ils ont consentis, leurs
encouragements particuliers, c'est grâce à leur amour, leur soutien
et leur confiance que j'ai pu passé les moments les plus difficiles.*

*Ma sœur Imen et mes frères Yassine et surtout Abd el-Kader
pour leur disponibilité, leur soutien moral, leur encouragements
incessants et pour leur compréhension.*

Toute ma famille maternelle et paternelle

*Toutes mes amis et mes chères amies en particulier : Manel et
Amina*

A toutes les personnes que j'aime...

Tous ceux qui m'ont soutenu moralement de pré ou de loin.

Hanane

Remerciements

Avant tout nous remercions DIEU tout puissant de nous avoir aidés à réaliser ce travail.

Je tiens à remercier monsieur REBIAHI SA maitres de conférences classe A au département de biologie d'avoir accepté de diriger ce travail et pour tous ses conseils avisés.

Mes remerciements vont également à monsieur BARKA S docteur maître de conférences classe A à l'université de Tlemcen qui ma fait l'honneur de présider le jury.

J'adresse également mes sincères remerciements à monsieur TEFIANI C maitre de conférences classe B département d'agronomie de m'avoir fait l'honneur d'examiner ce mémoire.

Je remercie également, toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Table des matières :

Liste des figures

Liste des photos personnelle

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I. Les infections nosocomiales et hygiène hospitalier

1. L'origine des infections nosocomiales.....2
2. Les bactéries les plus fréquemment impliquées dans les I N2
3. Persistance des bactéries sur les surfaces de l'environnement hospitalier....6
4. Hygiène hospitalière.....7
5. L'hygiène de l'environnement hospitalier.....7

II. désinfection et désinfectants

1. Prédésinfection.....8
2. Nettoyage.....9
3. Désinfection9
4. Désinfectants.....10
 - 4.1 Les aldéhyde.....10
 - 4.2 ammoniums quaternaires (tensio actif)..... 11
 - 4.3 Alcools.....12
 - 4.4 Les biguanides.....12
 - 4.5 Les phénols.....13
 - 4.6 Les oxydants.....13
 - 4.7 Chlore et dérivés chloré.....13
5. Modes d'action des désinfectants.....14
6. Mécanismes de résistance bactérienne aux désinfectants16
 - 6.1 Résistance intrinsèque des différents groupes bactériens.....16
 - 6.2 Mécanisme de résistance acquise aux désinfectants.....16
7. Caractéristiques du désinfectant idéal.....17
8. Mesure de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....18

Chapitre II : Matériel et méthodes

Methodologie du travail

1. Méthode de prélèvement	21
2. Isolement et identification.....	21
2.1 Examen microscopique	21
2.2 Examen biochimiques.....	22
3. Etude de l'activité antibactérienne des désinfectants	23
3.1 Choix des désinfectants	23
3.2 Préparation des suspensions bactériennes	24
4. Activité antibactérien	24

Chapitre III : Résultat et discussion :

1. Prélèvement	25
2. Isolement et identification.....	26
2.1 Aspect des colonies.....	26
2.2 Résultat de coloration de Gram.....	26
2.3 Résultat de test biochimique.....	27
3. Evaluation de l'activité antibactérienne et détermination de la CMI	30

Liste des abréviations

AFNOR : Organisation Française de Normalité

BHIB : Bouillon Cœur Cervelle

BN : Bouillon nutritive

CAPP : Contact avis pharmacologique et Pharmaceutique

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CMB : Concentration Minimale Bactéricide

CCLIN : Centre de Coordination et de Lutte contre les Infections Nosocomiales

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CFU : Unité(s) formant colonie(s)

CLSI : Clinical and Laboratory Standards Institute

DM : Dispositif Médical

DAF : Désinfectant a base Formaldéhyde

DAQ : Désinfectant a base Ammonium Quaternaire

DAQB : Désinfectant a base Ammonium Quaternaire et Buganuide

DGA: Désinfectant a base Glutaraldéhyde

ERV : Entérocoques résistants à la vancomycine

EHS : Etablissement Hospitalière spécialisé

IN : Infection Nosocomiale

LAMAABE : laboratoire de microbiologie appliqué à l'agronomie, au biomédical et l'environnement

MSSS : Ministère de la Santé et des Services Sociaux

SARM : *Staphylococcus aureus* Résistants à la Méthiciline

Liste des figures :

Figure 1: Répartition des prélèvements.....	25
Figure 2: Teste de catalase.....	27
Figure 3: répartition des souches selon l'identification par plaque API Staph.....	28

Liste des photos personnelles

Photo personnelle 1 : Aspect des colonies sur gélose Chapman.....	26
Photo personnelle 2 : Coloration de Gram (objectif X 40).....	26
Photo personnelle 3 : identification de <i>staphylococcus epidermidis</i>	27
Photo personnelle 4 : identification de <i>staphylococcus hominis</i>	27
Photo personnelle 5 : activité antimicrobienne de formaldéhyde sur 12 souches bactériennes.....	28

Liste des tableaux

Tableau 1 : Persistance des bactéries nosocomiales sur les surfaces.....	7
(Adapté de Kramer et <i>al</i> , 2006)	
Tableau 2 : Modes d'action des désinfectants.....	15
(CAPP ,2007)	
Tableau 3 : Résultat des prélèvements effectués à l'EHS – Tlemcen.....	25
Tableau 5: CMI de formaldéhyde sur les souches bactériennes testées	29
Tableau 6 : résultats des CMI de DAQ sur les souches bactériennes testés.....	31
Tableau 7: CMI de DAQB vis-à-vis les souches bactériennes.....	33
Tableau 8 : Les CMI de DGA sur la population bactérienne testée.....	35
Tableau 4 : Répartition des souches selon le site de prélèvement.....	36

Introduction

Introduction :

L'hôpital qui est normalement considéré comme un lieu de savoir, d'enseignement médical et d'hygiène, peut devenir dans certaines circonstances, une source d'infection, ceci soit par l'utilisation de méthodes invasives, soit dans le cas de plusieurs hôpitaux, par défaut d'hygiène, d'organisation, de conscience professionnelle ou par manque de moyens.

Les surfaces hospitalières 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 ; ces surfaces sont pour cette raison nettoyées et désinfectées quotidiennement en général ou plusieurs fois par jour (Rutala, 2004).

En effet la connaissance du niveau de contamination de ces surfaces d'une part et le rôle de la désinfection dans l'élimination des microorganismes d'autre part, permet d'établir des modèles expérimentaux pour examiner et comparer l'efficacité des désinfectants dans les conditions qui stimulent l'utilisation pratique.

Dans ce contexte, notre étude a l'objectif de mettre en évidence les micro-organismes et plus précisément les bactéries Gram positif qui se trouvent dans le milieu hospitalier afin :

- De vérifier le niveau d'hygiène atteint dans ce service.
- D'évaluer le degré de bio-contamination, d'identifier la flore bactérienne et sa localisation
- D'évaluer l'efficacité des désinfectants sur les principaux types des microorganismes isolés.

I. Les infections nosocomiales

Même si la médecine moderne accomplit de nos jours de grands succès, il arrive que les hôpitaux représentent un lieu d'où l'on peut sortir plus malade qu'à l'arrivée. Elles représentent donc un problème de santé publique majeur international par leur fréquence, leur gravité ainsi que leur coût. (Courchesne, 2004; MSSS, 2008). De façon générale, une infection est dite nosocomiale (du latin « nosocomium », hôpital, du grec « nosos », maladie et « komein », soigner) si elle est absente lors de l'admission du patient à l'hôpital et qu'elle se développe au moins 48h après la prestation de soins. Si l'infection apparaît moins de 48h après l'admission, elle était probablement déjà en incubation et elle n'est pas considérée nosocomiale. Pour les interventions chirurgicales, on considère comme nosocomiales les infections survenant dans les 30 jours suivant la chirurgie, sauf s'il y a eu mise en place d'une prothèse ou d'un implant pour lesquels le délai passe à un an (MSSS, 2005; Wenzel, 2007).

1. L'origine des infections nosocomiales

L'infection nosocomiale peut être d'origine endogène, c'est-à-dire que le patient est déjà porteur de la bactérie pouvant causer un risque d'infection, mais asymptomatique. C'est lors d'un acte chirurgical invasif que la ou les bactéries ont l'opportunité de générer une infection. Les infections d'origine endogène représentent au moins 50% des infections nosocomiales. L'infection exogène est causée par un germe présent à l'hôpital, transmis au patient à partir d'un malade, du personnel soignant porteur, des visiteurs ou de la contamination des surfaces de l'environnement hospitalier (eau, air, matériel, alimentation) (Faure, 2002).

2. Les bactéries les plus fréquemment impliquées dans les I N

Les bactéries sont les responsables les plus fréquents des infections Nosocomiales (Béraud, 2001).

Elles peuvent être des bactéries pathogènes comme *Staphylococcus aureus* mais on trouve plus souvent les bactéries opportunistes : des *Entérobactéries*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter*, *Entérocoque* (Nauciel et al, 2000) .

Ces bactéries sont surtout remarquables dans les infections nosocomiales par ce que sont très souvent résistantes aux antibiotiques, les mécanismes de cette anti-biorésistance sont très nombreux, liés à la pression de sélection qui existe en milieu hospitalier. (Béraud ,2000).

1.1/- Les cocci Gram positifs

1.1.1/- Les Staphylocoques

Le genre *Staphylococcus* appartient à la famille des *Micrococaceae* qui regroupe des espèces bactériennes constituées des cellules arrondies (cocci) à Gram (+), immobiles, disposées en amas, à la façon d'une grappe de raisin (Faucher et al ,2002).

La plupart des espèces rencontrées sont opportunistes (*S.epidermidis S.saprophyticus*), d'autres peuvent être occasionnellement pathogènes (*S.aureus*) (Pilet et al ,1986).

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. On distingue aujourd'hui :

1- L'espèce *Staphylococcus aureus* :

- Produit une coagulase (enzyme capable de coaguler le plasma).
- Elle est très souvent responsable d'infections pyogènes graves.

2- 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. (Faucher et al ,2002).

***Staphylococcus aureus* :**

C'est un germe ubiquitaire retrouvé dans le sol, l'air et l'eau et un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme. On le trouve à l'état normal dans l'oropharynx, les fosses nasales, dans les selles, au niveau de périnée ou des aisselles. La transmission est interhumaine s'opère généralement par contact direct (manu portage) (Giot et al ,2002).

Elle peut être aussi indirecte par les vêtements, La literie ou les aliments. Des épidémies de caractère nosocomial peuvent survenir, donc *S .aureus* est un agent majeur d'infection nosocomiale. (Giot et al ,2002).

***Staphylococcus epidermidis* :**

C'est une bactérie commensale de la peau et des muqueuses, il peut contaminer des prélèvements superficiels et même des prélèvements obtenus par ponction transcutanée (comme les hémocultures).

S .epidermidis peut se comporter comme une bactérie opportuniste et provoquer des infections chez les sujets porteurs du matériel étranger (cathéter intra vasculaire, dérivation ventriculaire, prothèse ostéo-articulaire). Cette bactérie a en effet la propriété de former des biofilms sur du matériel étranger. Les souches acquises en milieu hospitalier sont souvent très résistantes aux antibiotiques. (Nauciel et al ,2000).

Les Streptocoques :

Les streptocoques sont définis comme des cocci à Gram positif disposés, le plus souvent en chaînettes qui ont un métabolisme anaérobie, cependant la plupart des souches tolèrent l'oxygène et peuvent être cultivées *in vitro* en atmosphère aérobie qui sont exigeants en nombreux facteurs de croissance: le sang ajouté aux géloses permet leur multiplication *in vitro*. Cette multiplication (ou croissance) peut être favorisée par l'apport de CO₂ ou par une atmosphère anaérobie.

Ces caractères morphologiques et métaboliques les distinguent des staphylocoques. Les entérocoques sont proches des streptocoques (même morphologie et métabolisme anaérobie), mais ils peuvent se multiplier sur des milieux de culture ordinaires (non additionnés de sang)

En microbiologie médicale on classe les streptocoques d'après leurs caractères pathogènes et leurs caractères biologiques, y compris leur sensibilité aux antibiotiques (CNRS ; 2008)

Pouvoir pathogène :

Les streptocoques pathogènes sont responsables d'infections aiguës, ce sont

- *S. pyogenes* ou streptocoques β -hémolytiques du groupe A,
- *S. agalactiae* ou streptocoques β -hémolytiques du groupe B
- *S. pneumoniae* ou pneumocoques.

Les Enterocoques :

Ils appartiennent à un genre différent des streptocoques, bien qu'ils s'en rapprochent par certains caractères, notamment l'aspect morphologique et le métabolisme de type "anaérobie". La présence chez les entérocoques d'un acide téichoïque de paroi porteur de l'antigène D les rapproche plus particulièrement des streptocoques du groupe D, de même que leur présence dans l'intestin de l'homme et de certains animaux. Les entérocoques sont de plus commensaux des muqueuses génito-urinaires (urèthre)

Ils peuvent être pathogènes opportunistes et sont alors responsables d'infections urinaires, d'infections abdominales d'origine intestinale, de septicémies ou d'endocardites à porte d'entrée urinaire, génitale ou intestinale (CNRS ; 2008) .

1.2/- Les bacilles Gram négatifs :

1.2.1/ – Les Entérobactéries

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

Les Entérobactéries sont pour la plupart des bactéries qui colonisent l'intestin, en dehors du tube digestif, elles peuvent être transitoirement présentes sur différentes parties du vêtement cutané-muqueuse. Dans les pays à faible niveau d'hygiène, les eaux consommées par la population peuvent être contaminées par des bactéries d'origine fécale.

- Certains bactéries de la famille rencontrés en pathologie humaine : *E.coli*, des bactéries des genres : *Salmonella*, *Shigella* et *Yersinia*.

- Les autre bactéries de la famille des Entérobactéries se comportent généralement comme des bactéries opportunistes souvent impliquées dans les infections nosocomiales : *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* , *Citobacter* ; la plupart de ces bactéries produisent des bêta-lactamases et sont résistantes à des nombreux antibiotiques (Nauciel et *al*,2000) .

3. Persistance des bactéries sur les surfaces de l'environnement hospitalier

Même si le contact direct avec les patients représente la source majeure de transmission des pathogènes nosocomiaux, la contamination des surfaces environnementales peut également jouer un rôle important dans la transmission de certains pathogènes. Des preuves solides de transmission par l'environnement ont été établies pour *Clostridium difficile*, *Staphylococcus aureus* résistants à la méthiciline, *Entérocoques* résistants à la vancomycine. et *Acinetobacter baumannii* (Dancer, 1999 ; Kramer et *al*, 2006 ; Eckstein et *al*, 2007). En absence de désinfection régulière, les pathogènes nosocomiaux les plus communs peuvent survivre pendant des mois et ainsi représenter une source significative de transmission et de danger pour les patients et le personnel hospitalier Kramer et *al.*, 2006).

Il a été démontré que la plupart des bactéries Gram positif comme les *Enterococcus sp* (ERV inclus), les *Staphylococcus aureus* (SARM inclus), *Streptococcus pyogenes* et certains bacilles Gram négatif comme *Acinetobacter sp.*, *E.coli*, *Klebsiella sp.*, *Pseudomona aeruginosa*, *Serratia sp* ou *Shigella sp* et les spores de *C. difficile* peuvent survivre des mois sur les surfaces (Tableau 1). Aucune corrélation de persistance entre les souches sensibles et résistantes aux antibiotiques n'a cependant été relevée (Kramer et *al.*, 2006).

Tableau 1 : Persistance des bactéries nosocomiales sur les surface (Adapté de Kramer et *al*, 2006)

Type de bactérie	Durée
<i>Staphylococcus aureus</i>	7 jours – 7mois
<i>Acinetobacter sp</i>	3 jours à 5 mois
<i>Clostridium difficile</i> (spores)	5 mois
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6h-16mois/ sur planchers 5 semaines
<i>Enterococcus sp</i>	5 jours à 4 mois

4. Hygiène hospitalière:

Elle concerne la lutte contre les infections en milieu hospitalier, l'étude de l'environnement du malade, mais également l'organisation des soins de qualité. Elle permet de réduire les risques iatrogènes liés tant au matériel qu'aux locaux ou au personnel qui gravite autour du patient hospitalisé.

Elle est associée à la gestion de tout les risques y compresseur concernant L'hémovigilance, la matério-vigilance ou la pharmacovigilance.

" L'hygiène hospitalière est un des piliers de la qualité en milieu de soin. (Alain, 2004)

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 risque infectieux .

5. Hygiène de l'environnement hospitalier:

Concerne l'ensemble des actions qui visent à préserver au malade un lieu d'hospitalisation qui, de prêt ou de loin, ne soit pas dangereux pour lui.

L'hygiène de l'environnement c'est d'abord l'hygiène de l'environ de personne malade. Cet environnement concerne tout ce qui, de prêt ou de loin, concourt à la prise en charge d'une malade durant son hospitalisation, du holl-d'acceil au bureau des sorties (Alain, 2004).

Cela concerne l'unité d'hospitalisation mais l'unité médico-technique également (consultation, exploration fonctionnelle, bloc opératoire), les installations assurant l'alimentation, le traitement de la ligne ou ce lui des déchets.

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

II. désinfection et désinfectants

1. Prédésinfection

Cette opération est définie Comme «le premier traitement à effectuer sur les objets et matériels souillés, dans le dessein de diminuer la population de microorganismes et de faciliter le nettoyage ultérieur » ; elle peut être supprimée si le nettoyage est effectué tout de suite après utilisation .En effet ,la prédésinfection est une opération qui a pour objectif , non seulement de réduire le taux décontamination initiale des dispositifs médicaux et de protéger ainsi le personnel appelé à les manipuler et l'environnement dans lequel ils se trouvent, mais aussi de faciliter le nettoyage ultérieur en évitant le séchage des matières organiques (Thiveaud et al ,2005) .

Pour réaliser la prédésinfection, le produit utilisé doit présenter une activité à la fois détergente et désinfectante; il doit être employé à la bonne dilution et constituer une solution dans la quelle les DM vont être mis à tremper dès la fin de leur utilisation, dans un bac adapté, jusqu'à leur nettoyage .La durée minimale de trempage est généralement de 15 minutes ,mais elle doit être en adéquation avec les recommandations du fabricant du produit détergent-désinfectant utilisé. Il est important de tenir compte de la qualité des matériaux des DM à traiter peuvent subir (Thiveaud et al ,2005) .

Les instruments articulés seront en position ouverte ou seront démontés. Pour tout instrument creux, une aspiration-irrigation doit être assurée avec la solution. Quant à la durée maximale de trempage qu'ils peuvent subir, les instruments articulés seront en position ouverte ou seront démontés. Pour tout instrument creux, une aspiration-irrigation doit être assurée avec la solution (Thiveaud et al ,2005) .

2 .Nettoyage

L'objectif du nettoyage est d'éliminer les salissures afin d'obtenir un dispositif médical propre. Cette étape est essentielle, elle conditionne l'efficacité du traitement final appliqué aux DM. Le nettoyage comprend plusieurs étapes, une ou deux opérations de lavage suivies d'un ou de plusieurs rinçages, pour se terminer éventuellement par un séchage, si le traitement final appliqué au DM est la stérilisation (Thiveaud et al ,2005) .

3. Désinfection

L'association française de normalisation (AFNOR) dans la norme terminologique NF T 72-101 donne la définition suivante : « La désinfection est une opération au résultat momentané, qui permet d'éliminer ou de tuer les microorganismes et/ou d'inactiver les virus indésirables portés par les milieux inertes contaminés en fonction des objectifs fixés. Le résultat de cette opération est limité aux micro-organismes présents au moment de l'opération » (Thiveaud et al ,2005)

La désinfection est le processus qui élimine beaucoup ou tous les microorganismes pathogènes, avec l'exception des spores bactériennes, des objets inanimés par l'utilisation d'un produit chimique désinfectant (Exner et al ;Neely et al ,2005).

Les traitements de la désinfection visent donc à assurer l'hygiène des matériaux afin de limiter voir empêcher tout risque de contamination microbienne tandis que le but de nettoyage n'est pas la destruction ou l'inactivation des microorganismes ou des virus, mais la préparation des surfaces pour la désinfection (Exner et al ; 2004).

Pour éliminer le maximum de matière organiques, de poussières et de salissures, il est nécessaire de nettoyer les surfaces (propreté visuelle ou macroscopique), afin de les désinfecter de manière efficace. De cette façon il est important de comprendre que le nettoyage et la désinfection sont habituellement deux étapes séparées (Chairman et al ; 2011).

4. Les désinfectants

Les désinfectants font partie intégrante de la prévention et l'éradication des infections nosocomiales. Actuellement, la lutte contre la propagation des infections nosocomiales en environnement hospitalier se fait principalement à l'aide d'agents chimiques. Ils sont répertoriés en cinq classes principales : phénolés, ammonium quaternaire, peroxyde d'hydrogène, produits chlorés et acides organiques. Chaque produit possède des caractéristiques désinfectantes et/ou nettoyantes qui lui sont propres. Le recours à ces produits chimiques peut causer plusieurs inconvénients importants, comme une toxicité chimique, le développement d'une résistance bactérienne et la détérioration des surfaces traitées. Dans certains cas, la détérioration se traduit par une augmentation de porosité rendant la décontamination de plus en plus difficile. Cette détérioration nécessite également le remplacement plus fréquent du mobilier ou des instruments ce qui engendre un impact économique important. Ces produits posent un danger autant pour le personnel qui les utilise que pour les patients et l'environnement et requièrent des précautions de sécurité particulières. Plusieurs désinfectants de surface contiennent des composés d'ammonium quaternaires, phénoliques ou de l'hypochlorite de sodium qui peuvent causer l'irritation de la peau et de l'asthme. Aujourd'hui, les désinfectants sont un des principaux allergènes qui affectent le personnel hospitalier. De plus, un bon volume atteint les eaux usées pouvant affecter la qualité de l'eau dû à leur faible biodégradabilité (Dettenkofer et *al*, 2004).

4.1 Les aldéhydes

Plusieurs sortes d'aldéhydes sont proposés comme principe actif désinfectant ; deux molécules sont plus particulièrement utilisées, le formaldéhyde (ou formol) et le glutaraldéhyde ; la première possédant une seule fonction aldéhyde et la seconde deux. Le mécanisme d'action des aldéhydes est la dénaturation des protéines et des acides nucléiques des micro-organismes par alkylation. Le spectre d'activité des aldéhydes est relativement large, le caractère dialdéhyde du glutaraldéhyde lui conférant une supériorité par rapport au formol qui nécessite des concentrations plus élevées (Thiveaud et *al*, 2005).

La toxicité des aldéhydes entraîne des réactions Au niveau respiratoire qui sont liées aux concentrations ambiantes volatiles, au niveau de la peau et des muqueuses, par contact direct ou par projection; la toxicité respiratoire a l'avantage de ne se produire que pour des concentrations relativement importantes pour le formol, à partir de 3ppm, par Rapport au seuil de détection olfactif variant entre 0,1 et 1 ppm ; il en est de même pour le glutaraldéhyde. L'agressivité du glutaraldéhyde, en solution prête à l'emploi à 2%, est très élevée pour la Muqueuse oculaire.

Outre ces toxicités « locales » aiguës ou subaiguës existent des toxicités chroniques au long cours . Les données actuelles fixent ainsi des limites maximales d'exposition, soit 1ppm pour le formaldéhyde et 0,2 ppm pour le glutaraldéhyde . Enfin, le Formol est identifié comme allergisant.

Le formaldéhyde entre dans la composition d'un nombre de produits de désinfection de surfaces en association avec d'autres principes actifs c'est le produit de référence en désinfection par voie aérienne, hors présence humaine (Thiveaud et al,2005) .

Le glutaraldéhyde est utilisé comme désinfectant d'instruments, en solution à concentration de 2 %. L'utilisation de solution prête à l'emploi réduit le risque lié à la manipulation de solutions concentrées, caustiques pour la peau lors de leur préparation .L'inefficacité des aldéhydes vis-à-vis des prions, agent transmissibles non conventionnels, du fait de leur pouvoir fixant des protéines, limite aujourd'hui leur domaine d'application (Thiveaud et al,2005) .

4.2 Les ammoniums quaternaires (tensio actif)

Sous l'appellation «ammoniums quaternaires» est regroupé un ensemble de produits caractérisé par la présence d'un radical NR_4^+ où les radicaux R peuvent être soit des chaînes alkyles, soit des noyaux aromatiques. La solution d'ammoniums quaternaires est composée du cation ammonium quaternaire et d'un anion halogéné, le plus souvent un chlorure, et leur spectre d'activité est relativement étroit. Les ammoniums quaternaires sont particulièrement efficaces vis-à-vis des champignons et des algues et sont largement utilisés en aquariophilie. Cependant leur activité est plus restreinte vis-à-vis des bactéries, avec une « préférence » pour celles à coloration de Gram+, avec absence d'activité vis-à-vis des virus (Thiveaud et al ,2005).

Les solutions d'ammoniums quaternaires sont relativement peu toxiques ,ainsi ,l' irritation cutanée est due à leur mécanisme d'action ,en particulier si elles sont concentrées ,et le risque allergique est associé à leurs groupements cationiques .Les ammoniums quaternaires sont sans effet sur les aciers inoxydables et les polymères, mais leur caractère réducteur les rend très corrosifs vis-à-vis des alliages de l'aluminium. Du fait d'un spectre étroit, ils entrent dans la composition d'un certain nombre de produits à double visée détergente-désinfectante et sont aujourd'hui rarement utilisés seuls en tant que désinfectants (Thiveaud et al ,2005).

4.3 Alcools

Les deux alcools principalement utilisés sont l'éthanol et l'isopropanol. Leur mécanisme d'action nécessite la présence d'eau, d'où la nécessité d'un mouillage dont le meilleur rapport se situe au niveau d'untitrede70%.Le spectre d'activité des alcools est limité. Ils sont faiblement bactéricides, peu fongicides et non sporicides. Cette limite est compensée par leur «rapidité» d'action et par leur effet potentialisateur, lorsqu'ils sont associés à d'autres principes actifs, tels les aldéhydes ou les biguanides. Les solutions alcooliques ont une toxicité bien connue, à savoir d'une part la possibilité d'un état d'ivresse lors d'une inhalation trop importante dans des locaux confinés, et d'autre part une atteinte hépatique lors d'une exposition au long cours. (Thiveaud et al ,2005) .

Ils sont utilisés comme antiseptiques pour la peau saine, seuls ou en association pour la friction des mains et entrent dans la composition de certains désinfectants de surface en spray, comme véhicule d'autres principes actifs. Certaines valeurs limites de concentration alcoolique (30 %) sont imposées pour éviter tout risque d'inflammabilité (Thiveaud et al ,2005) .

4.4 Les biguanides

Deux types de biguanides sont utilisés, les biguanides à série aliphatique, avec le polyhexaméthylène biguanide et les aromatiques avec la chlorhexidine, cette dernière, largement utilisée comme antiseptique essentiellement sous forme de digluconate est parfois retrouvée en désinfection hospitalière à des concentrations d'utilisation plus élevées. Son spectre d'activité est essentiellement dû à son action sur les bactéries ; elle est inactive sur les moisissures. La chlorhexidine, considérée comme bien tolérée par la peau, est contre-indiquée en application sur les muqueuses oculaires et auditives (Thiveaud et al ;2005) .

En ce qui concerne les matériaux, elle ne présente aucune incompatibilité avec les métaux, mais peut entraîner des réactions avec certains élastomères comme le caoutchouc. Les solutions de chlorhexidine, plus particulièrement réservées à l'antisepsie, sont peu utilisées en désinfection, si non en désinfection par spray dirigé en solutions alcooliques (Thiveaud et al ;2005).

4.5 Les phénols

Sous l'appellation générique de phénols se retrouvent un grand nombre de produits qui sont déclinés en fonction de leurs radicaux et du nombre de groupements phénoliques. Les produits les plus couramment utilisés sont l'orthophénylphénol, le Crésol ou encore le triclosan. Le spectre d'activité Des phénols est étroit, ce sont de bons bactéricides mais ils ne sont pas virucides, sporicides et très peu fongicides. Les phénols sont considérés comme allergisants, photosensibilisants et irritants cutanés à forte concentration. Les solutions à base de phénols sont nombreuses et largement utilisées dans la désinfection des surfaces (Thiveaud et al, 2005).

4.6 Les oxydants

Les agents oxydants les plus utilisés sont l'ozone (O_3), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et l'acide peracétique ($CH_3-CO-O-OH$). Leur mode d'action est basé sur la libération d'oxygène entraînant l'oxydation des systèmes enzymatiques. Ainsi, les agents oxydants tel que l'acide peracétique, agissent sur les lipides, les liaisons sulfurées, les acides nucléiques et les systèmes enzymatiques. Ils entraînent une désorganisation de la membrane cellulaire. Ces composés oxydant ont l'avantage de présenter un large spectre d'activité, une absence de résidus finaux, un faible pouvoir corrosif aux concentrations d'usage et ils sont facilement éliminables par rinçage. Ils sont cependant toxiques aux fortes concentrations et instables pendant leur stockage (CCLIN, 2000)

4.7 Chlore et dérivés chlorés

Le mécanisme d'action des dérivés chlorés est dû au pouvoir oxydant de l'acide hypochloreux, qui résulte de la transformation de l'hypochlorite en présence d'eau. Le produit de référence est «l'eau de Javel» ou solution d'hypochlorite de sodium. Le spectre d'activité de l'eau de Javel est large, à des niveaux d'activité évalués par rapport aux normes à des concentrations très faibles (Thiveaud et al ;2005).

Toute fois, l'eau de Javel, du fait de son activité « oxydante », présente un pouvoir corrosif élevé sur les dispositifs médicaux en acier et les fabricants d'instruments déconseillent son emploi du fait de cette corrosivité. Par ailleurs, la solution, par dégagement de chlore gazeux présente une toxicité pour les voies respiratoires, avec risque d'œdème aigu du poumon, pour des concentrations de 150mg l^{-1} ; le seuil de perception olfactif est à 15mg l^{-1} , ce qui permet de réduire la toxicité aiguë. Cependant, le contact prolongé doit éviter de dépasser des seuils de concentration supérieurs à 3mg l^{-1} .

Les solutions d'hypochlorite de sodium sont utilisées soit comme désinfectant, soit à visée antiseptique avec, comme facteur limitant, sa causticité sur la peau lésée. (Thiveaud et al ;2005) .

5. Modes d'action des désinfectants

La résistance des organismes était principalement liée à la composition de la membrane cytoplasmique qui est à la fois un obstacle physique et chimique. Les désinfectants, pour être efficaces, doivent donc être en mesure de s'attaquer à la membrane cytoplasmique ou au contenu de la cellule. Ces modes d'action sont basés sur les interactions moléculaires entre les désinfectants et les composantes cellulaires en présence. Il ne faut pas oublier que la membrane cytoplasmique possède une partie polaire, dite hydrophile, et une partie composée de lipides, dite hydrophobe, cette dernière nécessite l'utilisation de désinfectants qui attaquent les graisses (lipides). Il existe trois modes d'action possibles des désinfectants : destruction de la membrane cytoplasmique, réduction des échanges avec le milieu extérieur et destruction par oxydation du matériel cellulaire (CAPP ,2007).

Tableau 2 : Modes d'action des désinfectants (CAPP ,2007)

Classe	Exemple	Cible et mode d'action	Remarques
ALCOOLS	Ethanol ,Isopropanol	Dénaturation des protéines cytoplasmiques et membranaires , inhibition de la synthèse des acides nucléiques et des protéines	Présence d'eau nécessaire a l'activité (utilisation d'alcool 70%) /↓ activité pas matières biologiques
ALDEHYDES	Formaldehyde	Altération de la paroi cellulaire , inhibition de la syntèse des acides nucléique et des protéines	↓ activité par matières biologiques
AMMONIUMS QUATERNAIRES	benzalkonium	Liaison au acides gras et groupes phosphates de la membrane cellulaire fuite de constituants cellulaires et lyse de la cellule	↓ activité par matières biologiques , savons et oxydants
BIGUANIDES	Chlorhexidine	Liaison au acides gras et groupes phosphates de la membrane cellulaire fuite de constituants cellulaires coagulation du cytosol	↓ activité par matières biologiques et savons
HALOGEÈNES CLORES ET IODES	Hypochlorites de sodium (Javel , Dakin) PVP-iodé	Destruction des protéines membranaire et chromosomique (halogénéation)	↓ activité par matières biologiques et savons / dégradation par rayons UV
OXYDANTS	Peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée)	Production de radicaux libresqui interagissent avec les lipides , Protéines et ADN	↓ activité par matières biologiques

6. Mécanismes de résistance bactérienne aux désinfectants :

Les bactéries résistantes peuvent être sélectionnées lorsqu'elles sont mises en contact avec des concentrations sublétales de produits désinfectants. La fréquence de cette situation est probablement sous-estimée car dans les conditions pratiques, les bactéries peuvent être au sein de biofilms, le désinfectant peut être partiellement inactivé par des substances présentes dans le milieu (persistance de matières organiques suite à un nettoyage imparfait), ou des conditions d'utilisation du désinfectant non respectées (pH, température, temps de contact). Un rinçage insuffisant des surfaces traitées peut également entraîner la présence de désinfectant à des concentrations sublétales et entraîner une exposition des bactéries présentes dans le milieu extérieur à ces concentrations.

6.1 Résistance intrinsèque des différents groupes bactériens

La résistance des micro-organismes aux désinfectants est dite intrinsèque lorsque toutes les souches de l'espèce considérée sont résistantes au désinfectant testé. Ces observations conditionnent le spectre d'activité du désinfectant. Parmi les bactéries, les bactéries à coloration de Gram négative sont en général relativement moins sensibles que les bactéries à coloration de Gram positive parce que la paroi bactérienne joue un rôle de barrière qui limite l'entrée dans la cellule de nombreux agents antimicrobiens (Sidhu et *al.* 2002).

6.2 Mécanismes de résistance acquise aux désinfectants

Comme nous l'avons vu dans les paragraphes précédents, les conditions environnementales sont très importantes pour l'efficacité des désinfectants et en particulier l'état physiologique des bactéries (c'est à dire leur stade de croissance), leur interaction avec les surfaces, leur présence au sein d'un biofilm, la production de mucus, la présence de matière organique ou d'autres micro-organismes. En fonction de ces conditions, les bactéries sont capables de survivre à la désinfection dans les environnements hospitaliers même si leur CMI mesurée au laboratoire est plus faible que la concentration d'utilisation du désinfectant (Sidhu, et *al.*, 2002).

Une résistance bactérienne aux désinfectants a été rapportée pour les composés iodés, les ammoniums quaternaires, les peroxydes, les composés phénols, les composés chlorés et le glutaraldéhyde.

Les substances antibactériennes sont très nombreuses, mais elles ont un nombre limité de mode d'action et les bactéries n'ont finalement développé qu'un nombre limité de stratégies pour résister. La résistance peut résulter d'une mutation, de l'acquisition de nouveaux gènes par un transfert horizontal, de l'expression de gènes auparavant silencieux. Les stratégies disponibles pour les cellules isolées sont (Sidhu, *et al.* 2002; Chapman 2003) :

- Des modifications des sites d'action, cibles des désinfectants dans la cellule bactérienne
- L'inactivation des molécules désinfectantes par un inhibiteur (le plus souvent des enzymes comme les peroxydases)
- La réduction de la concentration intracellulaire de la molécule désinfectante soit en diminuant la perméabilité de la membrane soit en augmentant les mécanismes d'efflux.

7. Caractéristiques du désinfectant idéal :

Un désinfectant « idéal » doit répondre aux critères suivants

- Avoir un spectre d'activité adapté aux objectifs fixés
- Avoir une action rapide
- Etre actif en présence de substances interférentes (sang, pus, eau dure)
- Avoir un effet prolongé dans le temps
- Etre compatible et dénué d'inconvénient pour le matériel
- Etre peu ou pas toxique pour le personnel
- Etre facile à doser
- Ne pas avoir d'odeur désagréable
- Avoir une certaine stabilité.

L'activité d'un désinfectant dépend de nombreux facteurs liés à la technique utilisée et à la nature du produit désinfectant. Parmi les facteurs liés au désinfectant, on peut citer : l'activité anti-microbienne du principe actif, la concentration en principe actif, l'effet des composants associés dans la solution commerciale, la température et le temps de contact. Ainsi, un désinfectant contenant du glutaraldéhyde pourra être utilisé pour une désinfection de niveau bas, intermédiaire ou haut selon les conditions d'utilisation (CCLIN ,2000).

8. Mesure de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

L'efficacité des antibiotiques est déterminée en mesurant leur CMI. La valeur obtenue a une signification concrète, puisqu'elle est peut être reliée aux concentrations plasmatiques et sériques du patient traité. L'action des antibiotiques est soutenue ou relayée par le système immunitaire du malade. Par contre, les désinfectants n'ont pas de système pour compléter leur action, ils ont en général des cibles cellulaires multiples, l'objectif étant d'obtenir une mort cellulaire rapide. Dans le cas des désinfectants, la mesure de la CMI est adaptée pour évaluer les phénomènes de moindre sensibilité, ayant lieu à des concentrations inférieures à la CMB. Cette situation peut se produire au cours de la désinfection si le désinfectant est sous-dosé ou dilué par l'eau de rinçage. En effet, ces phénomènes de moindre sensibilité peuvent être liés, entre autres, à la présence de pompes à efflux dont le fonctionnement est masqué aux concentrations utilisées pour la détermination de la CMB. La CMI correspond à la plus faible concentration de désinfectant qui ralentit ou inhibe la croissance bactérienne, après un temps de contact de 24 à 48 h (fonction des temps de croissance des bactéries). Les méthodes CMI utilisées sont les mêmes que celles qui sont employées pour les antibiotiques ; mais contrairement aux antibiotiques, les méthodes d'étude de la CMI pour les désinfectants ne sont pas standardisées (Chapman, 2003).

Matériel et méthodes

Ce travail a été réalisé au niveau de deux laboratoires : laboratoire de biologie moléculaire dans le département de biologie et laboratoire de microbiologie appliqué à l'agronomie, au biomédical et l'environnement (LAMAABE) de l'Université Abou-Bakr Belkaid-Tlemcen.

➤ **L'objectif de travail**

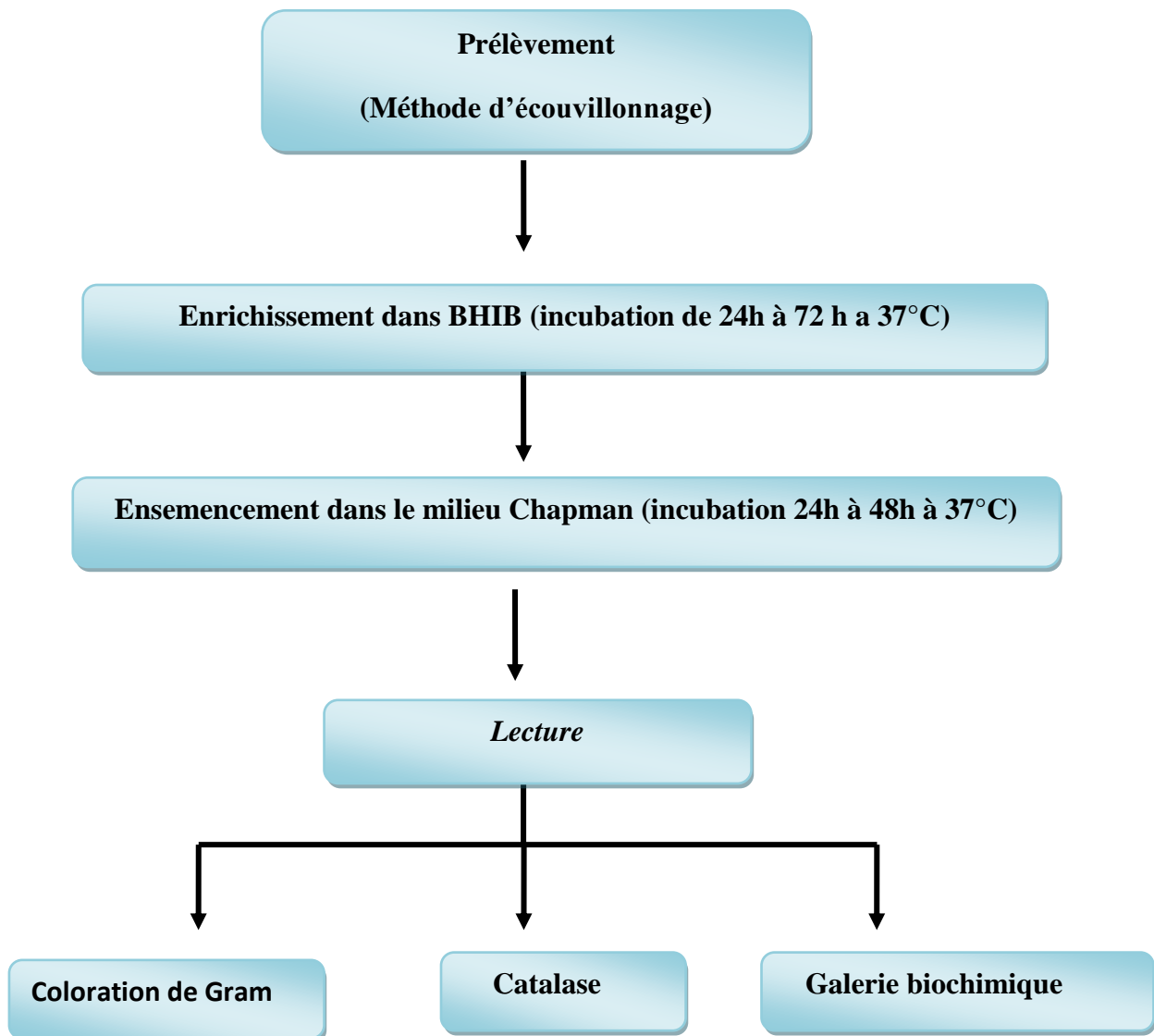
Notre travail vise à rechercher les micro-organismes et plus précisément les bactéries Gram positif qui se trouvent dans le milieu hospitalier afin :

- De vérifier le niveau d'hygiène atteint dans ce service.
- D'évaluer le degré de bio-contamination, d'identifier la flore bactérienne et sa localisation
- Déterminer la résistance bactérienne aux désinfectants

1. Méthodologie du travail :

Les prélèvements ont été au niveau des bloc opératoires de service de la chirurgie de l'EHS (Etablissement Hospitaliers Spécialisé Mère enfant) dans le CHU (Centre Hospitalier Universitaire) de Tlemcen à partir de différents sites de l'environnement :

- ✓ Sol
- ✓ poignées des portes
- ✓ Table opératoire
- ✓ Scialytique
- ✓ Chariot d'anesthésie
- ✓ Table mayo
- ✓ Levier
- ✓ Table fixe
- ✓ Stéribloc
- ✓ Table d'anesthésie



Organigramme de l'identification des *staphylococcus*

2. Méthode de prélèvement :

Afin de recueillir des prélèvements de surfaces au niveau des matériels des blocs opératoires, nous avons utilisé la technique d'écouvillonnage qui consiste à balayer la surface à l'aide d'un écouvillon stérile.

Les étapes sont les suivantes :

Humidifier l'écouvillon avec l'eau physiologique stérile et éliminer l'excès de liquide en pressant légèrement le coton sur la paroi du tube.

Frotter l'écouvillon sur la surface verticalement, horizontalement et en diagonale, pendant moins de 20 secondes. Une pression aussi forte que possible doit être appliquée et l'écouvillon doit être retourné.

Replacer délicatement l'écouvillon dans son tube et acheminer au laboratoire (Si supérieur à 4 h, mettre à +4°) (Denis, 2011).

- **Enrichissement :**

Introduire les écouvillons précédents dans le B.H.I.B et les incubés à 37°C pendant 24 heures.

- **Isolement :**

L'isolement est effectué en ensemençant à partir de B.H.I.B sur la surface du milieu de Chapman par la méthode des stries. Les boîtes sont ensuite incubées à 37° pendant 24 à 48 h

Le milieu Chapman :

Ce milieu contient un inhibiteur : fortes concentrations en chlorure de sodium (75 g.L⁻¹), ce qui permet un isolement sélectif de *Staphylococcus* tolérant les fortes concentrations en NaCl.

3. Examen microscopique :

3.1. Coloration de Gram :

La coloration de Gram est la méthode de coloration la plus utilisée en bactériologie; elle permet de colorer les bactéries et de les distinguer à l'examen direct par leur aptitude à fixer le violet de gentiane (Gram +) ou la fuschine (Gram -).

En utilisant en ordre les colorants suivants : violet de Gentiane 1min, lavage à l'eau distillée, lugol 30sec, lavage à l'alcool (95%), fushine 1min, lavage à l'eau distillé et séchage (Joffin et Leyral ,2001)

4. Examen biochimiques :

4.1. Teste de catalase

Certains bactéries ont la faculté de dégrader le per Oxyde d'hydrogène (H₂O₂). En présence d'une bactérie productrice de catalase a partir d'H₂O₂ une libération d'oxygène gazeux selon la réaction : $H_2O_2 \longrightarrow H_2O + 1/2 O_2$ (Prescott et al ,2010).

4.2. Identification par galerie API Staph (BioMérieux) :

Principe :

API Staph est un système standardisé pour l'identification des genres *Staphylococcus*, *Micrococcus* et *Kocuria* comprenant des tests biochimiques miniaturisés ainsi qu'une base de données.

Préparation, inoculation et incubation de la galerie :

La galerie API Staph comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne réalisée dans API Staph Medium qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs spécifiques tels que VP1 et VP2, nitrate1 e nitrate2 et ZYM A et ZYM B, cette révélation s'effectue en suivant le prospectus qui accompagne les plaques APIstaph.

Lecture de la galerie :

Après incubation, La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de Lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification.

5. Conservation des souches :

Les souches identifiées et destinées à l'étude ont été conservées sur gélose nutritive inclinée à 4°C pour une durée de trois mois et sur des tubes eppendorff contenant du BN

additionné de 1 5%(v/v) de glycérol stérile à 0°C pour une conservation à long terme.

6. Etude de l'activité antibactérienne des désinfectants :

6.1 Souches bactériennes testées :

Parmi les bactéries identifiées, 23 ont été utilisées pour évaluer l'activité bactéricide des désinfectants.

6.2 Choix des désinfectants :

Les types de désinfectants testés ont été sélectionnés en fonction de leur fréquence d'utilisation dans les hôpitaux et établissements de soin.

(1) DAF: il permet la désinfection de toutes surfaces et petits objets à usage médical ; ce produit est exempt de chlore, de formol et d'aldéhyde.

(2) DAQ: désinfectant par voie aérienne des surfaces de tous locaux et des dispositifs médicaux.

C'est un produit composé de chlorure de didecyldiméthyl ammonium, Glutaraldéhyde, Isopropanol, alcools gras éthoxylés. Selon le fabricant, ce produit répond aux normes Afnor d'efficacité antimicrobienne nécessaires pour l'usage hospitalier

(3) DAQB : Solution nettoyante de pré-désinfection des instruments.

Ce désinfectant est composé à base d'ammonium quaternaire, polyhexanide, séquestrants. Complexes détergents cationiques, non ioniques et inhibiteur de corrosion.

(4) DGA: Solution désinfectante à froid, s'utilise pour la désinfection totale à froid du matériel chirurgical et médical, d'endoscopie et thermosensible, par trempage.

C'est une solution concentrée de glutaraldéhyde stabilisé par un émulateur non ionique.

6.3. Préparation des suspensions bactériennes :

A partir de chaque culture bactérienne pure (de 18 à 24h), un bouillon BHIB est ensemencé. La turbidité de la suspension est ajustée à environ 10^8 ucf/mL (densité optique entre 0,08 et 0,1 à 620 nm). La concentration cellulaire finale (5.10^5 CFU/ml) est obtenue par dilution de l'inoculum initial à 1/10 dans de l'eau physiologique.

6.4. Activité antibactérien :

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est définie comme étant la concentration la plus faible de la substance antimicrobienne qui inhibe la croissance des microorganismes (2006 par la CLSI).

Pour étudier la sensibilité des souches testées, Des microplaques à fond U (plaque à microtitration) ont été utilisé pour la détermination des CMI. Une plaque (96 puits) a permis de déterminer la CMI de 12 souches vis-à-vis 8 dilutions de désinfectants testé.

➤ Protocole :

Dans les cupules de la 1^{ère} ligne nous avons inoculé 75 µl de bouillon BHIB stérile et pour chaque puits de 12, on ajouté 25 µL de désinfectant a testé ; les autre puits sont inoculé par 50µL de même bouillon. Ensuite nous avons prélevé 50µL du premier puits en les passant du deuxième puits verticalement ,au troisième, puis du troisième au quatrième et ainsi de suite de façon à obtenir des dilutions successives de demi en demi, enfin on a ajouté la suspension bactérien dans les cupules (12 souches vis-à-vis les dilution réalisés).La microplaque était recouverte d'un film plastique, afin d'éviter l'évaporation du milieu de culture au cours de l'incubation qui durait 24h à37°C.

➤ Lecture des résultats :

La lecture de la plaque est effectué à l'œil nu et la plus faible concentration de chaque désinfectant ne montrant aucune croissance est considérée comme la concentration minimale inhibitrice (CMI).

Résultats et discussion

I. Prélèvement :

Durant notre période d'étude, 40 prélèvements a partir des dispositifs médicaux ont été collectées aseptiquement au niveau de blocs opératoires de service de la chirurgie du l'EHS (Etablissement Hospitaliers Spécialisé Mère enfante) dans le Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Tlemcen.

Tableau 3 : Résultat des prélèvements effectués à l'EHS - Tlemcen

Service	Site de prélèvement	Positif	Négatif	Total
Blocs opératoires	Les dispositifs médicaux	33	7	40

Quarante prélèvements ont été réalisés sur différentes dispositifs médicaux .Sept (18%) n'ont pas permis de mettre en évidence des colonies bactériennes, ils sont dits « négatifs ». Sur l'ensemble des 33 prélèvements positifs (82%) ,23 souches bactériennes ont été isolées et identifiées.

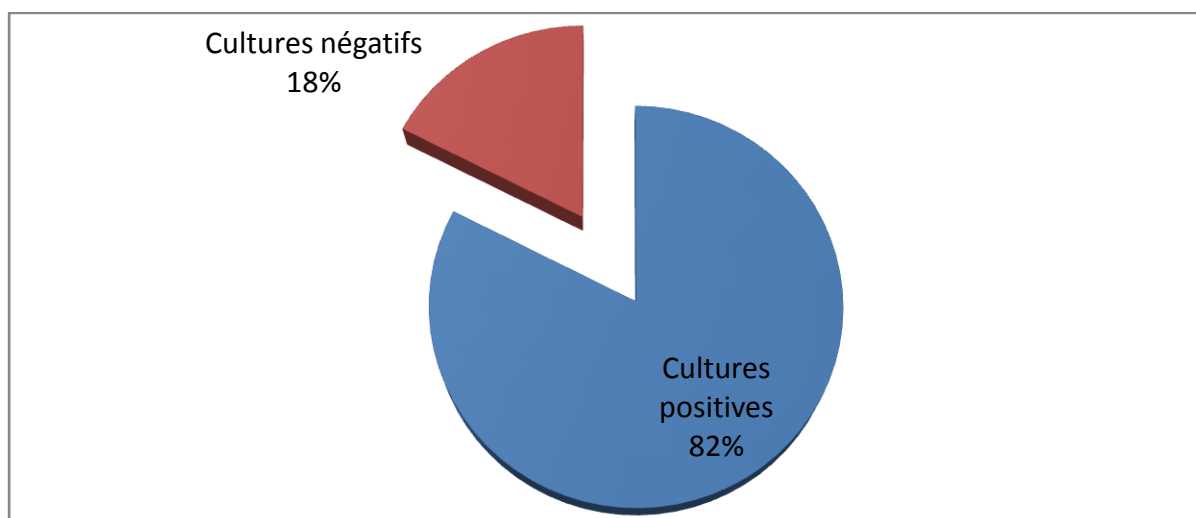


Figure 1: Répartition des prélèvements

II. Isolement et identification

1. Aspect des colonies sur gélose Chapman :

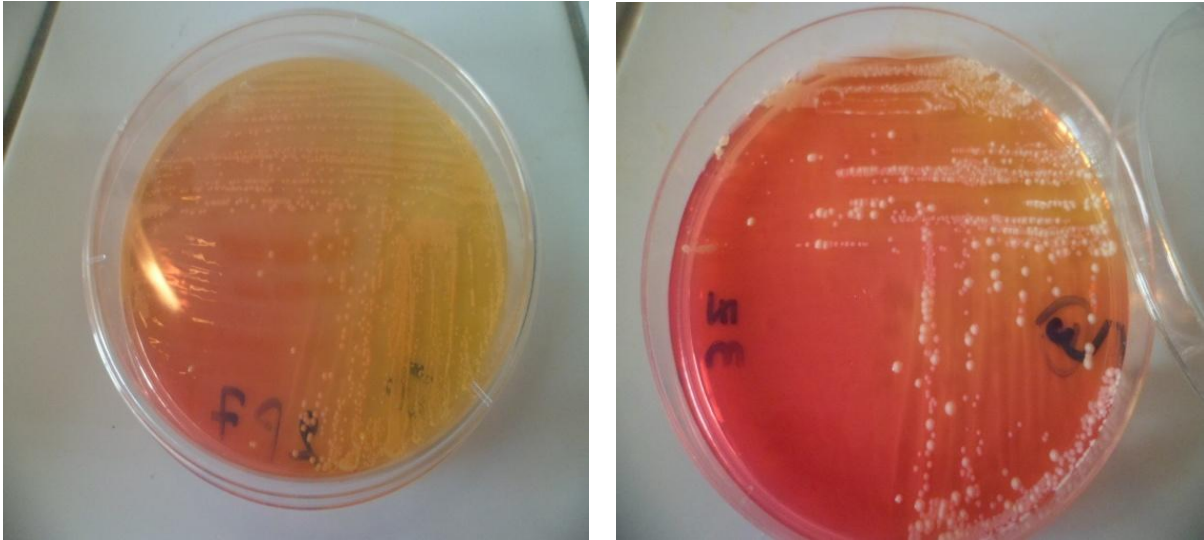


Photo personnelle 1 : Aspect des colonies sur gélose Chapman

Sur gélose Chapman, nous avons observés deux aspects majeurs :

- Des colonies jaunes entourées par une zone jaune.
- Des colonies blanches entourées d'une zone rouge ou pourpre.

2. Coloration de Gram :

La coloration différentielle pour les 23 souches isolées a mis en évidence des cocci sphériques, en grappe de raisin, en paires, coloré en violet (photo personnelle).

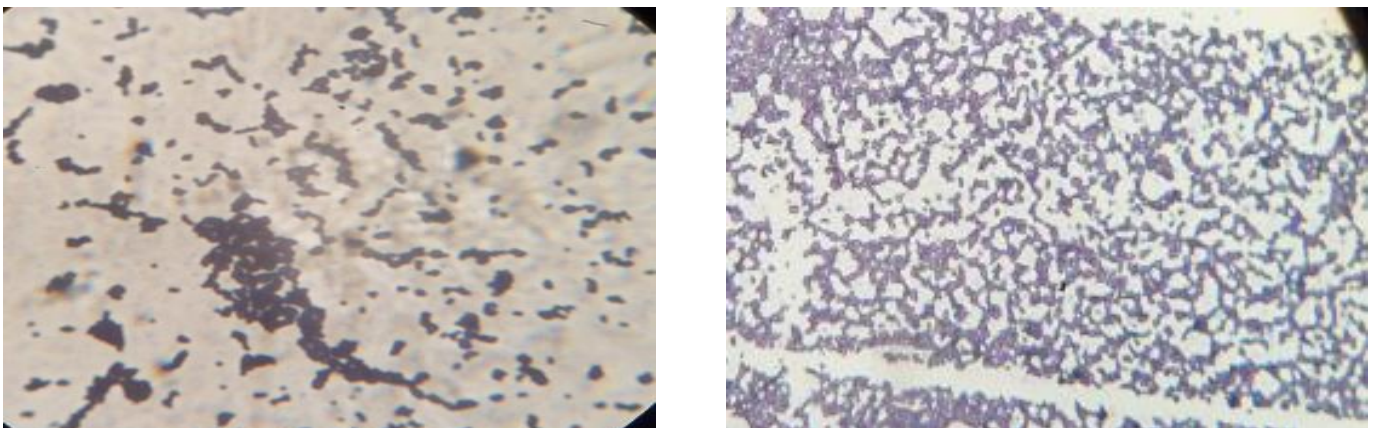


Photo personnelle 2 : Coloration de Gram (objectif X 40)

3. Test de catalase :

Toutes les cocci à Gram positif, testés pour la production d'une catalase, décomposent l'eau oxygénée, en eau et en oxygène qui se dégage ; ce qui traduit par le dégagement des bulles de gaz.



Figure 2: Teste de catalase

4. Identification biochimique par les plaques API 20 Staph :

Ce système nous a permis d'identifier 23 espèces différentes de *Staphylocoques* et *Micrococcus*, les résultats des tests biochimiques de la galerie API Staph pour les 23 souches isolées et leurs profil numérique sont obtenus à l'aide de logiciel api web API 20 Staph v 4.1.



Photo personnelle 3 : Résultat d'identification de *staphylococcus epidermidis*



Photo personnelle 4 : Résultat d'identification de *staphylococcus hominis*

- **Répartition des souches selon l'identification par plaque API Staph :**

Les résultats de l'identification de la totalité des 23 souches appartenant au genre *Staphylococcus* et *Micrococcus* sont : *S.saprophyticus* , *S.chromogenese* , *S.hominis* , *S.xylosus* , *S.sciuri*, *S.lentus*, *S.cohnii spp urealyticum*, *S.epidermidis* , *S.capitis* , *S.cohinni ssp cohinii*, *Micrococcus spp*.

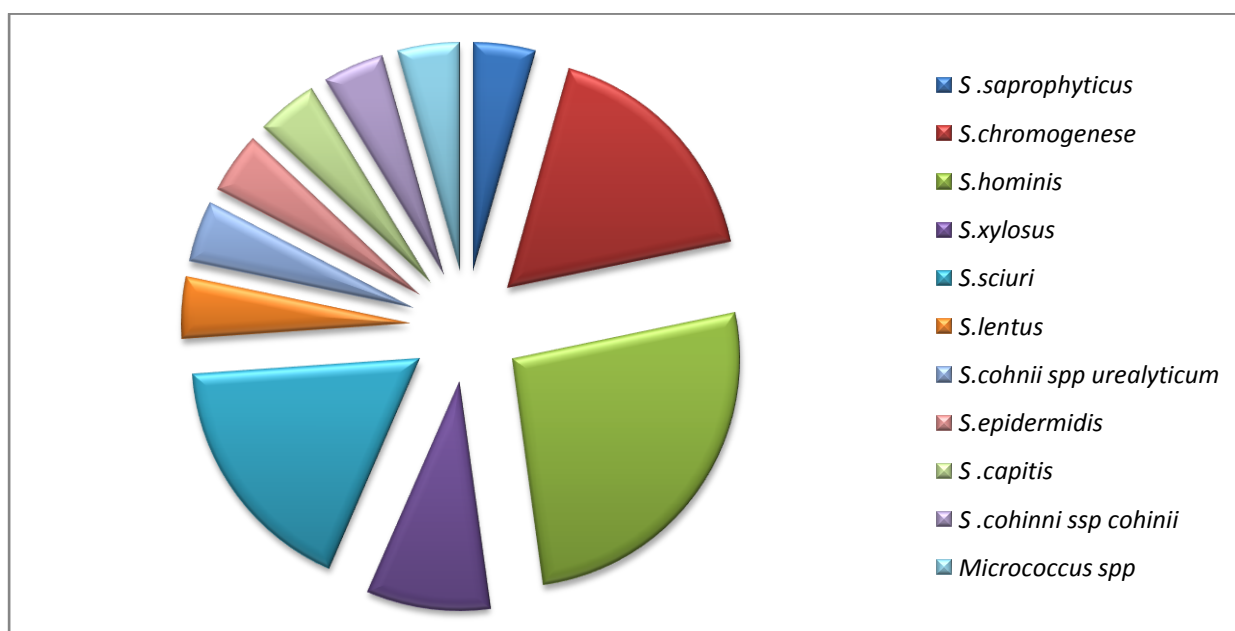


Figure 3: répartition des souches selon l'identification par plaque API Staph

Résultats et discussion

Nous constatons à partir de la répartition des souches bactériennes identifiées présentées dans la figure que l'espèce *Staphylococcus hominis* est majoritaire, suivi par *Staphylococcus sciuri* et *chromogenese*, ce qui pourrait s'expliquer par leurs capacités d'adhérer aux dispositifs médicaux en comparant avec les travaux de Rouillon et al (2006), c'est *staphylococcus epidermidis* qui est le plus souvent isolé suivi par *staphylococcus hominis*.

Tableau 4 : Répartition des souches selon le site de prélèvement.

Site de prélèvement	Espèce isolé
poignées des portes	<i>S .saprophyticus</i> <i>S.chromogenese</i>
Sol	<i>S.chromogenese</i> <i>S.hominis</i> <i>S.xylosus</i> <i>S.sciuri</i>
Table opératoire	<i>S.hominis</i> <i>S.chromognese</i> <i>S.lentus</i> <i>S .hominis</i> <i>S .hominis</i>
Scialytique	<i>S.cohnii spp urealyticum</i> <i>S .chromogenes</i>
Chariot d'anesthésie	<i>S.epidermidis</i> <i>S .capitis</i> <i>S.sciuri</i>
Stéribloc	<i>S .cohinni ssp cohinii</i> <i>S.sciuri</i> <i>S.hominis</i>
Table fixe	<i>S hominis</i> <i>S .sciuri</i>
Table mayo	<i>S.xylosus</i> <i>Micrococcus spp</i>

Selon le tableau 3 la majorité des bactéries localisé surtout au niveau de la table opératoire et sur le sol ; avec une dominance de *S.chromogenes* et *S. hominis* dans la majoritaé des dispositifs.

III. Evaluation de l'activité antibactérienne par la détermination de la CMI :

L'étude a porté sur un total de 23 souches bactériennes (tableau 3) isolées de prélèvement a partir des dispositifs médicaux pour déterminer l'activité antibactériennes de 4 désinfectants, Les principes actifs antimicrobiens sélectionnés ont été choisis dans des familles chimiques différentes.

➤ DFA (Désinfectant a base de formaldéhyde) :

Le premier agent désinfectant testé était un formaldéhyde, qui permet la désinfection de toutes surfaces et petits objets à usage médical. L'ensemble des résultats obtenus pour le mode de croissance des 23 souches bactériennes étudiées est représenté dans la figure 5 et le tableau 5



Photo personnelle 5 : Résultat de l'activité antimicrobien de formaldéhyde sur 12 souches bactériennes

Résultats et discussion

Tableau 5: CMI de formaldéhyde sur les souches bactériennes testées (CI : concentration initial)

(+ + +) : présence de trouble

(- - -) : absence de trouble

Dilution	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1 /256	Nombre de souches
CMI %	25	12.5	6.25	3.12	1.56	0.78	0.39	
<i>S.chromogenes</i>	---	---	---	---	+++			2
	---	---	---	+++				2
<i>S.hominis</i>	---	---	---	---	+++			2
	---	---	---	+++				4
<i>S.saprophyticus</i>	---	---	---	---	+++			1
<i>S.epidermidis</i>	---	---	---	+++				1
<i>S.sciuri</i>								4
	---	---	---	---	+++			
<i>S.lentus</i>	---	---	---	---	+++			1
<i>S.xylosus</i>	---	---	---	---	+++			2
<i>S.capilis</i>	---	---	---	---	+++			1
<i>Micrococcus spp</i>	---	---	---	---	+++			1
<i>S.cohnii spp cohnii</i>	---	---	---	+++				1
<i>S.cohnii spp urealyticum</i>	---	---	---	---	+++			1

Résultats et discussion

Comme le montre le tableau ci-dessus, l'action des aldéhydes sur les cellules bactériennes est importante et les CMI sont comprises entre 3,12 et 1,56 % du principe actif.

Pour les souches, *S.xylosum*, *S.lentus*, *S.capitis*, *S.sciuri*, *S.cohnii spp urealyticum*, *S.saprophyticus*, *Micrococcus spp*; la CMI était 1,56 % d'agent antimicrobien. Cette concentration a entraîné la destruction complète des cellules bactériennes.

Il est noté que les souches de *S.hominis* et *S.chromogenese* sont caractérisés par une sensibilité à une dilution du désinfectant correspond à 1/64. Par contre la CMI déterminées pour 50 % de ces souches était 1,56% d'agent antimicrobien.

Pour les deux souches *S.cohnii spp cohnii* et *S.epidermidis*, aucune croissance bactérienne n'est observée en présence de désinfectant dilué en 1/32.

Dans l'ensemble, toutes les souches testées semblaient être sensibles au désinfectant testé même à une concentration inférieure à 3,12 % ; malgré que les aldéhydes présentent une activité bactéricide plus efficace sur les bactéries à Gram - (CCLIN/2000), donc les dispositifs médicaux et même les surfaces peuvent être désinfectées sans risque et avec ce désinfectant.

En accord avec les données bibliographiques (Thiveaud et al, 2005), le formaldéhyde est le produit de référence en désinfection par voie aérienne, hors présence humaine. Cependant, leur activité est diminuée en solution alcaline et en présence des protéines (CCLIN/2000), et il est classé comme composé cancérigène depuis 2004 pour le cancer du nasopharynx par le Centre International de Recherche sur le cancer.

➤ **DAQ (Désinfectant à base d'ammonium quaternaire) :**

Le deuxième agent antimicrobien utilisé était un ammonium quaternaire cationique, testé sur la même gamme de dilution précédente. Les valeurs de CMI pour toutes les souches sont résumées dans le tableau 6.

Résultats et discussion

Tableau 6 : résultats des CMI de DAQ sur les souches bactériennes testés

Dilution	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	Nombre de souches
CMI %	25	12,5	6,25	3,12	1,56	0,78	0,39	
<i>S.hominis</i>	---	---	---	---	---	+++		2
	---	---	---	---	+++			4
<i>S.sciuri</i>	---	---	---	---	---	+++		1
	---	---	---	---	+++			3
<i>S.chromogenese</i>	---	---	---	---	---	+++		2
	---	---	---	---	+++			2
<i>S.saprophyticus</i>	---	---	---	---	+++			1
<i>S.epidermidis</i>	---	---	---	---	+++			1
<i>S.lentus</i>	---	---	---	---	---	+++		1
<i>S.xylosus</i>	---	---	---	+++				2
<i>S.capilis</i>	---	---	---	---	+++			1
<i>Micrococcus spp</i>	---	---	---	---	---	+++		1
<i>S.cohnii spp cohnii</i>	---	---	---	+++				1
<i>S.cohnii spp urealyticum</i>	---	---	---	---	+++			1

A partir des résultats obtenus l'action des ammoniums quaternaires sur les cellules bactériennes est plus importante et les CMI sont comprises entre 3,12 et 0,78 % d'agent antimicrobien.

Il est noté que 56 % des souches testées (*S.hominis*, *S.cohnii spp cohnii*, *S.chromogénèse*, *S.saprophyticus*, *S.epidermidis*, *S.capilis*, *S.sciuri*) présentent une CMI à 1,56 % de principe actif.

Seul *S.xylosus*, *S.cohnii spp cohnii* ont été sensibles au désinfectant à la dilution 1/32.

Résultats et discussion

A la dilution 1 /128 ,le désinfectant garde leur action et leur effet inhibiteur sur 26 % des cellules bactériennes en particulier : *Micrococcus spp* , *S.lentus* , *S.chromogénèse* , *S.sciuri* ,*S .hominis* qui présentent une sensibilité même a cette faible concentration.

Dans l'ensembles, toutes les souches testées ont été caractérisées par une sensibilité au désinfectant même si il est dilué à 1/128 , donc c'est un agent antimicrobien très conseillé a utiliser dans la désinfection en plus il est plus efficace que ceux des aldéhydes et selon Denis et *al* (2009), La plupart des ammoniums quaternaires sont peu toxiques. Leur structure moléculaire permet la création de produits neutres. Comme ce ne sont pas des agents oxydants. Selon leur concentration, on peut obtenir un effet bactériostatique avec une faible concentration et un effet bactéricide avec une forte concentration. Malgré un manque d'eau, ils demeurent sur les surfaces et y exercent une activité résiduelle qui peut durer plusieurs heures. Ils sont stables dans l'eau chaude.

Par contre, principe actif ne reste pas sans inconvénients dont il perd considérablement leur efficacité dans l'eau fortement minéralisée, dans l'eau froide et en présence de matières organiques L'efficacité maximale nécessite la combinaison de 4 ou 5 ammoniums quaternaires différents. Ces combinaisons augmentent les coûts du produit. (Denis et *al* 2009).

➤ **DAQB (Désinfectant a base d'ammonium quaternaire et biguanide)**

Le troisième principe actif choisis pour l'évaluation de son activité antimicrobien été un ammonium quaternaire associé a un biguanide.

Résultats et discussion

Tableau 7: CMI de DAQB vis-à-vis les souches bactériennes

Dilution	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1 /256	Nombre de souches
CMI %	25	12.5	6.25	3.12	1.56	0.78	0.39	
<i>S.chromogénèse</i>	---	---	---	---	+++			3
	---	---	---	+++				1
<i>S.hominis</i>	---	---	---	---	+++			3
	---	---	---	+++				3
<i>S.epidermidis</i>	---	---	---	---	+++			1
<i>S.sciuri</i>	---	---	---	---	+++			4
<i>S.xylosus</i>	---	---	---	---	+++			2
<i>S.capilis</i>	---	---	---	---	+++			1
<i>Micrococcus spp</i>	---	---	---	---	+++			1
<i>S.cohnii spp cohnii</i>	---	---	---	---	+++			1
<i>S.saprophyticus</i>	---	---	---	+++				1
<i>S.lentus</i>	---	---	---	+++				1
<i>S.cohnii spp urealyticum</i>	---	---	---	+++				1

Selon les résultats exprimés dans le tableau, La CMI déterminée de 30% de la population bactérienne testés était 3,12 % de désinfectant et 70% des souches sont sensible à la dilution 1/64 (1,56% d'agent antimicrobien).

Ce désinfectant a possédé une activité antimicrobienne moindre par rapport au précédent ; malgré leur composition qui renferme l'ammonium quaternaire ; mais leur association a une biguanide diminue un peu leur efficacité et en accord avec les donnés bibliographique, on trouve que les biguanide plus particulièrement réservées à l'antisepsie, sont peu utilisées en

Résultats et discussion

désinfection, si non en désinfection par spray dirigé en solutions alcooliques (Thiveaud et al ;2005) .

➤ DGA (Désinfectant a base de glutaraldéhyde) :

Le dernier agent antimicrobien testé est un glutaraldehyde stabilisé par un émulateur non- ionique) ; l'activité antimicrobien été évaluer sur la même gamme de dilution précédente, les résultats obtenus exprimé dans le tableau suivant :

Tableau 8 : Les CMI de DGA sur la population bactérienne testée

Dilution	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1 /256	Nombre de souches
CMI %	25	12,5	6 ,25	3,12	1,56	0,78	0,39	
<i>S.chromogénèse</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	4
<i>S .hominis</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	6
<i>S.sciuri</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	4
<i>S .xylosus</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	2
<i>S.capilis</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	1
<i>Micrococcus spp</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	1
<i>S cohnii spp cohnii</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	1
<i>S.saprophyticus</i>	+ ++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	1
<i>S.lentus</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	1
<i>S.cohnii spp urealyticum</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	1
<i>S.saprophyticus</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	1

Résultats et discussion

D'après les résultats montrés dans le tableau, la croissance des souches bactériennes est observé dans tout les dilutions utilisé de désinfectant ce qu'explique la résistance de tout les souches testés au désinfectant et l'inefficacité de ce dernier comme agent antimicrobien malgré leur base de glutaraldéhyde .

L'ensemble des résultats précédemment obtenus résumant que l'efficacité des désinfectants diminue en fonction des dilutions. Ainsi, l'ammonium quaternaire est apparu comme étant le plus efficace même utilisé a une dilution égale à 1 / 128, il reste capable d'inhiber la croissance bactérienne a cette faible concentration .Par contre l'aldéhyde testé présente une efficacité jusqu'à une dilution égale à 1/64 et il a perdu son pouvoir antibactérien a partir de la dilution 1/128.

Concernant l'ammonium quaternaire associé avec le biguanide, toutes les bactéries testés ont été sensible entre les dilutions 1/32 et 1/64 de principe actif ; cet agent a entraîné un effet antibactérien important que ceux d'aldéhyde et moindre par rapport au ammonium quaternaire sans biguanide.

Ces différents résultats peuvent être expliqués par plusieurs facteurs : l'activité antimicrobienne de principe actif, leur concentration, les conditions expérimentales, la méthode d'évaluation (microméthode) et aussi le choix des bactéries (CCLIN ,2010)

En conséquence et sur la base des résultats obtenus a partir de cette étude, on peut suggérer que la désinfection des milieux hospitaliers en particulier les blocs opératoires peut se réaliser avec succès et sans risque par les ammoniums quaternaires surtout, qui présente une activité antimicrobien efficace dans l'élimination des germes responsable de la colonisation des surfaces et dispositifs médicaux ; cette efficacité caractérise aussi les le formaldéhyde mais de façon moindre en plus de leur danger ce qui pourrait le rendre déconseillé a l'utilisation dans la désinfection. De même, le développement d'une méthode test permettant d'évaluer l'activité bactéricide des désinfectants sur les microorganismes est très importante dans l'amélioration de leur efficacité.

Enfin, il est à noter que la désinfection régulière des dispositifs médicaux et des surfaces hospitalières en plus le respect des règles d'hygiène sont les meilleures précautions pour empêcher la contamination microbienne de ces environnements.

Conclusion

Conclusion :

A la lumière des résultats obtenus, nous avons constaté que la contamination de surfaces hospitalières en particulier des sites opératoires est répandue et que les bactéries gram positif à coagulase négative sont les microorganismes les plus prédominants avec abondance de *S.hominis* *S.chromogenes* et *S.sciuri*.

Dans un second temps, nous avons déterminé par microméthode le pouvoir antibactérien des désinfectants destiné à la désinfection des milieux hospitaliers (formaldéhyde, ammonium quaternaire, ammonium quaternaire associé avec un biguanide, glutaraldéhyde) sur les bactéries isolées à partir des dispositifs médicaux de bloc opératoire. Les ammonium quaternaire et le formaldéhyde semblent les agents antimicrobien les plus efficaces avec des différents niveaux .Cependant l'association des biguanides avec les ammoniums quaternaire diminue leur pouvoir antimicrobien mais ils restent plus actif que le dernier agent testé à base de glutaraldéhyde qui présente une inefficacité comme un désinfectant puisque toutes les souches testées présentent une résistance complète à cet agent antimicrobien.

Ces constatations doivent nous inciter à renforcer les mesures d'hygiène et parmi les solutions suggérés, les suivantes :

- Impliquer l'administration hospitalière dans la lutte contre l'infection et le facteur favorisant.
- Organiser des campagnes régulières pour sensibiliser les personnels concernant la lutte contre l'IN et ces facteurs de risque.
- Organiser des stages de formation pour les agents de ménage.
- Obliger la direction de l'hôpital d'effectuer des prélèvements réguliers pour évaluer la qualité de désinfection quotidienne
- Augmenter le chiffre financier destiné à l'hygiène, la désinfection, le réaménagement des services et la réparation des systèmes de traitement de l'air ambiant.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. Alain Raoult, Février 2004 .Hygiène et soins infirmier, pp : 57-98-188-200, 205.
Antiseptiques et désinfectants, mai 2000/CCLIN Paris-Nord
2. Béraud Jacque .Le technicien d'analyse biologique. pp : 870,881-883-884-886,891-1150-1157,1161. 2001
3. Courchesne, H. (2004). "Les hôpitaux qui tuent." www.radio-canada.ca/actualité/enjeux/reportages/2004/040120.
4. 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. 1986
5. CAPP-INFO, Bulletin d'information du CAPP (Contact avis pharmacologique et Pharmaceutique), HUG (Hôpitaux universitaires de Genève) (2007). N°46, j
6. Chairman K, Mathew E K, Padmalatha C and Ranjit Singh A J A. Beware of pathogenic microbes in public utility devices. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 2011 ;1(3) :85-90
7. Chapman, J. S. (2003). Disinfectant resistance mechanisms, cross- resistance, and co-resistance. *Int Biodeter & Biodegrad* 51: 271-276.
8. CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute (2006) Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, approved standard, M2-A9, 9th ed., CLSI, Wayen, PA.
9. CNRS (2008) , Pr. A. Bouvet
10. Dancer, S. J. (1999). "Mopping up hospital infection." *Journal of Hospital Infection* 43: 85-100.
11. Dettenkofer, M., S. Wenzler, S. Amthor et al. (2004). "Does disinfection of environmental surfaces influence nosocomial infection rates systematic review." *AJIC* 32(2): 84-89.
12. Denis F .Bactériologie médicale : techniques usuelles. Elsevier Masson, 2011 :430-524.
13. Eckstein, B. C., D. Adams, E. C. Eckstein, A. Rao, A. K. Sethi, G. K. Yadavalli and C. J. Donskey (2007). "Reduction of *Clostridium difficile* and vancomycin-resistant *Enterococcus* contamination of environmental surfaces

- after an intervention to improve cleaning methods." *BMC Infectious Diseases* 7(61).
14. Exner M, Vacata V, Hornei B, Dietlein E and Gebel J. Household cleaning and surface disinfection : new insights and strategies .*Journal of Hospital Infection* 2004 ;56 :70-75.
 15. Faure, E. (2002). "Les infections nosocomiales." <http://www.caducee.net/dossierspecialises/infection/nosocomiales.asp>.
 16. Faucher JEAN-Louis / JAEN-Loup. Avril 2002. *Bactériologie générale et médicale*. pp :199,214-239,244-249-252-260-298-306-307.
 17. Giot Sylvie, Hervé Gomila, Micheline Le Heurt, Isabelle Pivodori, Septembre 2002. *Nouveau cahier de l'infirmier (hygiène)*. 2^{ème} ed, pp : 9-20-25-73-53
 18. Joffin J N et Leyral G. *Microbiologie technique : Tome 1, Document technique*. 2^{ème} édition CRDP d'Aquitaine, 2001 ;73-145
 19. MSSS (2005). *D'abord, ne pas nuire... Les infections nosocomiales au Québec, un problème majeur de santé, une priorité*. D. d. communications. Québec, Santé et Services sociaux Québec: 8-25.
 20. MSSS (2008). "Le Québec et les infections nosocomiales " http://www.msss.gouv.qc.ca/sujets/prob_sante/nosocomiales/index.php?situat.
 21. Nauciel Charles– Masson – *Pris 2000-Bactériologie médicale* .pp : 83-86-65,68-125-203.
 22. Rutala WA, Weber DJ. *Surface disinfection :should we do it ? J Hosp infect* 2001 ;48(suppl A) :S64-8
 23. S.Rouillon, S.Ourdanabia, S.Jamart, C.Hernandez, O .Meunier :Laboratoire d'hygiène hospitalière, hôpitaux universitaires de Strasbourg ,2006.
 24. Wenzel, R. P. (2007). "Health care-associated infections: major issues in the early years of the 21st century." *Clinical Infectious Diseases* 45(Suppl 1): S85-S88.

Annexes

Annexe 1 : composition des milieux de culture**Bouillon cœur-cervelle**

<i>Cerveau de veau</i>	12, 5 g/l
<i>Cœur de bœuf</i>	5g/l
<i>Peptone</i>	10 g/l
<i>Chlorure de sodium</i>	5g/l
<i>Glucose</i>	2g/l
hydrogénophosphate de sodium.....	2, 5 g/l

PH final = 7, 4 ± 0, 2 (37°C)

Milieu Chapman

La formule théorique de milieu chapman en g/l d'eau purifiée est :

<i>Extrait de viande (bovin ou porcin)</i>1
<i>Peptone de caséine et de viande (bovin et porcin)</i>	10
<i>Chlorure de sodium</i>	75
<i>D-Mannitol</i>	10
<i>Agar</i>	15
<i>Rouge de phenol</i>	0,025

PH 7, 4

Gélose nutritive

<i>Extrait de viande</i>	1,0g/L
<i>Extrait de levure</i>	2.5g/L
<i>Peptone</i>	5,0g/L
<i>chlorure de sodium</i>	5,0g/L
<i>Agar</i>	15,0g/L

pH = 7,0

Résumé :

Les infections nosocomiales représentent un enjeu important en termes de santé publique. Cette étude a été réalisée pour déterminer le taux de la contamination bactérienne et l'efficacité de différents désinfectants.

Vingt trois souches bactériennes ont été isolées et le résultat de leur identification indique leur appartenance à la famille des *Staphylocoques à coagulase négatif* avec abondance de *S.hominis* suivi par *S.chromogenese* et *S.sciuri*

Nous avons évalué l'activité antimicrobienne de quatre désinfectants (Formaldéhyde, ammonium quaternaire, ammonium quaternaire associé à un biguanide et un glutaraldéhyde) contre les 23 souches isolées par la méthode de microtitration.

Nos résultats ont prouvé l'efficacité des trois premiers agents antimicrobiens sauf le glutaraldéhyde et que l'ammonium quaternaire est le principe actif idéal utilisé dans la désinfection des dispositifs médicaux et des surfaces hospitaliers.

Mots clés : infection nosocomial, Désinfection, Désinfectant ,hygiène hospitaliers.

Abstract :

Nosocomial infections are an important issue in terms of public health. This study was conducted to determine the rate of bacterial contamination and the effectiveness of different disinfectants.

Twenty three bacterial strains were isolated and the result of identification indicates that they belong to the family of coagulase negative staphylococci with plenty *S.hominis* followed by *S.chromogenese* and *S.sciuri* .

We evaluated the antimicrobial activity of four disinfectants (Formaldehyde, quaternary ammonium, quaternary ammonium associate with a biguanide and a glutaraldehyde) against 23 strains isolated by the microtiter method.

Our results have proven the effectiveness of the three first antimicrobial agents except of glutaraldehyde and quaternary ammonium is the ideal active ingredient used in the disinfection of medical devices and hospital surfaces.

Keywords : nosocomial infection, disinfection, disinfectant, hospital hygiene.

ملخص

عدوى المستشفيات هي قضية هامة في مجال الصحة العامة وقد أجريت هذه الدراسة لتحديد نسبة التلوث الجرثومي و مدى فعالية المطهرات المختلفة. ثلاثة وعشرين سلالة بكتيرية تم عزلها و اظهرت نتائج التعرف عليها انتمائها إلى عائلة المكورات العنقودية سلبية المخثرة مع الكثير *S.hominis* تليها *S.chromogenese* و *S.sciuri* قمنا بتقييم النشاط المضاد للبكتيريا لأربع انواع من المطهرات (الفورمالديهايد، الأمونيوم الرباعية، الأمونيوم الرباعية المرتبطة ب : biguanide و غلوتارالدهيد) ضد الثلاثة والعشرون سلالة المعزولة . وقد أثبتت النتائج التي توصلنا إليها فعالية أول ثلاثة عوامل مضادة للجراثيم باستثناء غلوتارالدهيد و أن الأمونيوم الرباعية هو المطهر المثالي الذي يمكن استخدامه في تعقيم الأدوات الطبية و أوساط المستشفيات. الكلمات المفتاحية : النظافة في المستشفى, المطهرات, التطهير, عدوى المستشفيات .