

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Centre Universitaire Salhi Ahmed de Naâma

Département des Sciences de la Nature et de la Vie



MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de

Master Académique en Sciences biologiques

Spécialité « Microbiologie appliquée »

Thème

Manu-portage des germes pathogènes chez les personnels hospitaliers « service médecine homme et femme »

- Hôpital de Mecheria -

Réalisée par :

M^{elle} BOUAB Souria

M^{elle} TAIBI Amina

Soutenue le : 01.07.2020

Soutenu, devant le jury:

Président : Mr AMROUCHE Abdel-Ilah Pr

Encadreur : Mme LAGHA Nouria M.C.A

Examinatrice : Mme DEROUICHE Salima M.A.B

Année Universitaire 2019/2020



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

” رَبِّ أَوْزِعْنِي أَنْ أَشْكُرَ نِعْمَتَكَ

الَّتِي أَنْعَمْتَ عَلَيَّ وَعَلَى وَالِدَيَّ

وَأَنْ أَعْمَلَ صَالِحًا تَرْضَاهُ

وَأَدْخِلْنِي بِرَحْمَتِكَ فِي عِبَادِكَ

الصَّالِحِينَ ”

صدق الله العظيم

سورة النمل الآية 19



Remerciements



Nous tenons à remercier et rendre grâce à DIEU le tout puissant de nous avoir donné le courage et la volonté de concrétiser ce modeste travail.

*Nos reconnaissances, nos profondes gratitude et nos sincères remerciements vont à notre encadreur Madame **LAGHA NOURIA** pour sa gentillesse, sa contribution à l'élaboration de ce travail et pour les efforts qu'elle a fournis durant notre cursus qui nous ont permis de mener à bien ce mémoire.*

Nous souhaitons aussi remercier tous les membres du jury présents ce jour.

*Un grand remerciement à notre cher président, **Mr AMROUCHE Abdel-Ilah** Pour d'être accepté à examiner notre travail. Et notre chère examinatrice **Mme DEROUICHE Salima** Pour d'être acceptée aussi à examiner notre travail, ainsi qu'à tous les enseignants du département des sciences de la nature et de la vie.*

*Nous souhaitons également exprimer nos remerciements à tous les médecins, les infirmières et les aides-soignants, de l'Hôpital de Mecheria « **AL AKHWAIN CHENAFI** » pour leurs sympathies, leurs disponibilités, et surtout pour leurs accueils dans les services pour que nous puissions réaliser les prélèvements.*

Nous remercions particulièrement les ingénieures du laboratoire de « Microbiologie » de centre universitaire pour leurs accueils, leurs assistances ainsi que leurs aimables et efficaces collaborations.

Un grand merci à nos familles respectives et nos amis qui nous ont aidées.

Nous profitons de l'occasion pour remercier tous ceux qui ont collaboré de Près ou de loin à la réalisation de ce mémoire

Enfin nous remercions tous nos collègues d'études et particulièrement ceux de notre promotion.



Merci 



Dédicaces





Je dédie ce travail :

A DIEU, le tout puissant

Je dédie ce modeste travail

*A ma précieuse source de tendresse, qui a veillé sans cesse sur moi avec ses prières,
sa patience et son soutien :*

Ma chère mère.

*A qui m'a donné la volonté, l'affection et le courage nécessaire pour persévérer
dans le bon sens*

Mon père

*Je dédie, mon amour et mon profond respect à Vous deux. Puisse Dieu, le tout
puissant, vous accorder longue vie, santé et bonheur.*

A mes chers sœurs et frères (Faiza. Hasna. Ahlam. Ikram. Fatima Zohra

Mohamed. Cheikh. Abder Rahman) sans qui nos vies n'auraient pas de sens.

*Mon binôme AMINA, je la remercie pour le courage qu'elle m'a donné et tous les
moments que nous avons passés ensemble.*

A tous mes amis et mes collègues de promotion

A toute ma grande famille.

« SOURJA »





En ce moment particulier dans ma vie,

Je tiens à dédier ce travail :

A mes chers parents :

Ma mère et Mon père

Symbole de sacrifice, de tendresse et d'amour. Je les remercie pour tout ce qu'ils m'ont donné dans ma vie. La volonté, l'affection et le courage nécessaire pour persévérer dans le bon sens

Que DIEU, le tout puissant vous accorde longue vie, santé et bonheur.

*A mes tendres, gentilles et adorables sœurs **RAFIKA** et **DALAL**, pour leurs encouragements, mes deux petites sœurs **RANIA**, **HIBA** et mes deux frères **HICHEM** et **SALIM**, à qui je souhaite la réussite dans leurs études et leurs vies.*

A mes proches et toute ma famille, et tous les gens qui m'aiment en particulier

A tous les autres que je n'ai pas cités mais à qui je pense aussi.

*A mon binôme **SOURIA** pour ses efforts fournis, pour sa confiance et sa persévérance tout au long de la réalisation de ce travail.*

A Tous mes amis et mes collègues de promotion et à toute personne qui a participé de près ou de loin dans l'accomplissement de ce modeste travail.

« AMINA »



Table des matières

Liste des abréviations	IV
Liste des figures	V
Liste des tableaux	VI
Liste des photos.....	VII
Introduction Générale.....	1

Première partie : Synthèse Bibliographique

Chapitre I : Généralités sur l'hygiène des mains	3
I- Aperçu Général sur l'hygiène.....	3
1- Hygiène corporelle	3
2- Hygiène hospitalière	3
3- Hygiène de l'environnement hospitalier	4
II- Hygiène des mains	4
1- Ecosystème de la peau des mains	4
1-1- Schéma de la peau des mains	4
1-2- Caractères physico-chimiques	5
1-3- Barrières	5
1-4- Flore cutanée	5
1-4-1- Flore résidente (permanente)	6
1-4-2- Flore transitoire (superficielle)	6
III- Mode de transmission	6
1- Voie endogène ou auto-infection	7
2- Voie exogènes ou infections croisées	7
IV- Transmission manu-portée	7
V- Source de Contamination des mains des professionnels de santé	8
1- Contamination au cours des soins aux patients	8
2- Contamination par l'environnement	9
3- Contamination des ongles	9
4- Contamination des bijoux	9
VI- Pratiques d'hygiène des mains	9

Chapitre II : Germes les plus isolés	11
1- Bactéries à Gram négatives	11
1-1- Entérobactéries	11
1-1-1- <i>Escherichia coli</i>	11
1-1-2- <i>Shigella</i> spp	12
1-1-3- <i>Klebsiella pneumoniae</i>	13
1-2- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14
1-3- <i>Acinetobacter baumannii</i>	15
2- Bactéries à Gram positives	16
2-1- <i>Staphylococcus aureus</i>	16
2-2- Streptocoques	17
Chapitre III : Généralité sur les antibiotiques.....	18
1- Définition des antibiotiques	18
2- Classification des antibiotiques	18
3- Mode d'actions des principales familles d'antibiotiques	21
3-1- Antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane ou paroi bactérienne	21
3-2- Antibiotiques agissant sur les membranes	22
3-3- Antibiotiques inhibant la synthèse des protéines	22
3-4- Antibiotiques agissant sur les acides nucléiques	22
Chapitre IV : Résistance bactérienne aux antibiotiques.....	23
1- Définition de la résistance	23
2- Types de résistance aux antibiotiques	23
2-1- Résistance naturelle (intrinsèque)	23
2-2- Résistance acquise	23
2-2-1- Résistance par mutation chromosomique	23
2-2-2- Résistance par acquisition de gènes	24
3- Mécanismes de la résistance	24
3-1- Diminution de la perméabilité membranaire	25
3-2- Efflux actif	25
3-3- Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique	26
3-4- Inactivation enzymatique de l'antibiotique	26

Deuxième partie : Matériels et Méthodes

I- Lieu et période d'étude	27
II- Questionnaire.....	27
III- Méthodes	27
1- Prélèvements	27
2- Ensemencement	28
3- Isolement et purification	30
4- Identification	30
4-1- Tests préliminaires	30
4-1-1- Examen macroscopique	30
4-1-2- Examen microscopique (Coloration de Gram)	31
4-2- Tests biochimiques	32
4-2-1- Test de Catalase	32
4-2-2- Test d'oxydase	33
4-3- Identification des streptocoques	33
4-3-1- Test de la Bile-esculine	36
4-4- Identifications des staphylocoques	37
4-4-1- Test de la coagulasse	37
4-5- Identification par la Galerie API.....	38
4-5-1- Identification par la Galerie Api 10 S	38
4-5-2- Identification par la Galerie Api 20 NE	39
5- Antibiogramme	40

Troisième partie : Résultats et Discussion

Résultats

I- Résultats des analyses bactériologiques.....	43
1- Prélèvements	43
2- Fréquences des souches isolées	43
2-1- Fréquence globale	43
2-2- Souches à Gram négatives	44
2-3- Biotypes des souches à Gram négatives	45
2-4- Souches à Gram Positives	48
3- Répartition des souches isolées selon le type de services	49
4- Répartition des souches isolées selon la fonction des personnels hospitaliers	51

II- Résultats de l'antibiogramme	52
1- Les Entérobactéries	52
1-1- <i>E. coli</i>	52
1-2- <i>Shigella spp</i>	53
1-3- <i>Klebsiella pneumoniae</i>	54
2- Entérobactéries non fermentaires	55
2-1- <i>Acénitobacter baumannii</i>	55
2-2- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	56
3- <i>Staphylococcus aureus</i>	57
III- Résultats de l'enquête	58
Discussion	62
Conclusion générale.....	67
Références bibliographiques.....	69
Annexes.....	83

Liste des abréviations

ADH	Arginine Di Hydrolase
ADN	Acide désoxyribonucléique.
ATB	Antibiotique.
BCC	Bouillon cœur cervelle.
CA-SFM	Comité d'antibiogramme- société française de microbiologie
CIT	Citrate.
D-ala	D-alanine.
EP	Espace péri plasmique.
G.B.S	Gélose à base au sang.
IND	Indole.
LDC	Lysine Décarboxylase.
MC	Membrane cytoplasmique
ME	Membrane externe
MFP	Membrane Fusion Protein
ODC	Décarboxylase.Oxygène
OMP	Outer Membrane Protein
ONPG	Orthonitrophényl- β -D-galactopyrannoside.
PAC	Acide phénylacétique
PLP	Protéine liant les pénicillines
RM	Rouge de Méthyle.
TDA	Tryptophane-désaminase
VP	Vosges-Proskauer

Liste des figures

Figure 1. Coupe transversale de la peau	5
Figure 2. La main est un outil de travail	8
Figure 3. <i>Escherichia coli</i> vue au microscope électronique	12
Figure 4. <i>Shigella spp</i> observé au microscope électronique	12
Figure 5. <i>Klebsiella pneumoniae</i> observée au microscope électronique à balayage	13
Figure 6. <i>P. aeruginosa</i> observé au microscope électronique	14
Figure 7. Groupe <i>Acinetobacter baumannii</i> observé au microscope électronique	15
Figure 8. <i>Staphylococcus aureus</i> vue au microscope électronique et colorée Artificiellement	16
Figure 9. <i>Streptococcus</i> vue au microscope électronique	17
Figure 10. Mode d'action des antibiotiques	21
Figure 11. Mécanismes de résistance aux antibiotiques	25
Figure 12. Système d'efflux active	25
Figure 13. Modification des PLP	26
Figure 14. Inactivation l'enzymatique	26
Figure 15. Répartition des prélèvements positifs et négatifs	43
Figure 16. Répartition globale des souches isolées.	44
Figure 17. Répartition de l'ensemble des espèces des bacilles à Gram négatives isolées à partir des mains des personnels hospitaliers au niveau de service médecine homme et femme	45
Figure 18. Répartition de l'ensemble des espèces de cocci à Gram positive isolées à partir des mains des personnels hospitaliers au niveau de service médecine homme et femme	48
Figure 19. Répartition de l'ensemble des espèces isolées à partir des mains des personnels hospitaliers au niveau de service de médecine homme.	50
Figure 20. Répartition de l'ensemble des espèces isolées à partir des mains des personnels hospitaliers au niveau de service de médecine femme.	50
Figure 21. Répartition des espèces isolées selon la fonction des personnels hospitaliers de service médecine homme	51
Figure 22. Répartition des espèces isolées selon la fonction des personnels hospitaliers de service médecine femme	51
Figure 23. Taux de résistance aux antibiotiques des souches d' <i>E.coli</i>	52
Figure 24. Taux de résistance aux antibiotiques des souches <i>Shigella spp</i>	53
Figure 25. Taux de résistance aux antibiotiques des souches <i>Klebsiella pneumoniae</i>	54

Figure 26. Taux de résistance aux antibiotiques des souches d' <i>Acenitobacter baumannii</i>	55
Figure 27. Taux de résistance aux antibiotiques des souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	56
Figure 28. Taux de résistance aux antibiotiques des souches de <i>Staphylococcus aureus</i>	57
Figure 29. Répartition des réponses obtenues de questionnaire sur les niveaux de connaissance et de la pratique du lavage des mains chez les différents enquêtés.	60

Liste des tableaux

Tableau 1. Principales familles d'antibiotiques et leur spectre d'activité.....	19
Tableau 2. Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour les entérobactéries....	41
Tableau 3. Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Acinetobacter baumannii</i>	42
Tableau 4. Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour <i>Staphylococcus</i> spp..	42
Tableau 5. Résultats de l'identification biochimiques de différentes espèces isolées.	46
Tableau 6. Répartition des souches isolées selon le service médecine homme et femme.	49
Tableau 7. Détermination du niveau de connaissance et de la pratique du Lavage des mains chez les enquêtés.	59

Liste des photos

Photo 1. Colonies des <i>E. coli</i> ensemencées sur gélose Mac Conkey.....	32
Photo 2. Colonies des <i>Staphylococcus épidermidis</i> ensemencées sur gélose Chapman.....	33
Photo 3. Colonies de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ensemencées sur gélose Cétrimide.....	33
Photo 4. Colonies des streptocoques ensemencées sur gélose à base de sang.....	34
Photo 5. Observation microscopique des streptocoques colorés par violet.....	36
Photo 6. Test de Catalase positive pour les entérobactéries.	36
Photo 7. Test d'Oxydase positive pour <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	37
Photo 8. Colonies des streptocoques alpha hémolytique ensemencées sur GBS.	38
Photo 9. Colonies des streptocoques beta hémolytique ensemencées sur GBS.	39
Photo 10. Colonie des streptocoques non hémolytiques ensemencés sur GBS.....	39
Photo 11. Test Esculine	40
Photo 12. Test Coagulase	41
Photo 13. Galerie API 10S.....	42
Photo 14. Galerie API 20NE.....	43
Photo 15. Profil biochimique Api 10S de la souche d' <i>E. coli</i> 2 avec un biotype7205	51
Photo 16. Profil biochimique Api 10S de la souche d' <i>E.vulneris</i> avec un biotype7004.	51
Photo 17. Profil biochimique Api 10S de la souche <i>Shigella</i> spp avec un biotype2004.	52
Photo 18. Profil biochimique Api 10S de la souche <i>Klebsiella pneumoniae</i> avec un biotype7404	52
Photo 19. Profil biochimique Api 10S de la souche <i>Acinetobacter baumannii</i> avec un biotype6404	52
Photo 20. Profil biochimique Api 20 NE de la souche <i>Pseudomonas aeruginosa</i> avec un biotype1177642	52
Photo 21. Profil biochimique Api 20 NE de la souche <i>Pseudomonas aeruginosa</i> avec un biotype1577555.	52
Photo 22. Antibiogramme des souches d' <i>E.coli</i>	58
Photo 23. Antibiogramme de la souche <i>Shigella</i> spp.	59
Photo 24. Antibiogramme des souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	60
Photo 25. Antibiogramme de souche d' <i>Acenitobacter baumannii</i>	61
Photo 26. Antibiogramme des souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	62
Photo 27. Antibiogramme des souches de <i>Staphylococcus aureus</i>	63



Résumés



ملخص

خطر الإصابة بالعدوى في المستشفى موجود دائماً. اعترف بأنه مشكلة صحية رئيسية في قطاع الصحة. ازداد هذا الخطر مع تطور ممارسات الرعاية الصحية، يلعب طاقم المستشفى دوراً رئيسياً في نشر ونقل الجراثيم المسببة للأمراض. غالباً ما يتم انتقال هاته الجراثيم عن طريق اليدين .

الهدف من هذه الدراسة هو التعرف على انواع البكتيريا المسببة للأمراض المعزولة من أيدي موظفي المستشفى من مصلحة طب النساء والرجال المتواجدة في مستشفى المشربية" الاخوة سنافة" وتقييم قدرتها على مقاومة المضادات الحيوية

خلال فترة شهرين على مستوى مختبر الميكروبيولوجي بالمركز الجامعي صالحى أحمد "بالنعامة" ، قمنا بعزل 62 سلالة بكتيريا من 22 عينة مأخوذة من أيدي موظفي المستشفى.

تم تنقية السلالات المعزولة ثم تحديدها وفقاً للخصائص المورفولوجية، ثم وفقاً لخصائصها الكيميائية الحيوية باستخدام المعرض الكلاسيكي ومعرض **Api 10S** و **Api 20NE** ، متبوعاً بمضادات حيوية وفقاً لتوصية جمعية علم الأحياء الدقيقة الفرنسية 2020.

أظهرت النتائج دراستنا عدة انواع من البكتيريا ، والتي تشمل نوعين عصيات غرام موجبة و (65٪) عصيات غرام سالب (35٪) ، فيما يتعلق بعصيات غرام موجبة فإن أكثر الجراثيم المعزولة تكررًا هي المكورات العنقودية الذهبية والمكورات المعوية ، بالنسبة للبكتيريا غرام سالب ، فإن الجراثيم المعزولة الأكثر شيوعاً هي *الإشريشيا كولي* و *كلاسيلا* الالتهاب الرئوي .

من خلال نتائج تقييم المقاومة لمختلف السلالات المعزولة للمضادات الحيوية المختلفة التي تم اختبارها (بيتالكتامين و امينوغلوكوزيد سيلفاميد وغيرها من الكوليستين و تيتراسيكلين) تبين لنا أن غالبية انواع البكتيريا المعزولة تظهر مقاومة أعلى بالنسبة لغالبية بيتا لكتامين مقارنة بالمضادات حيوية الأخرى.

لذا، فإن نظافة اليدين في المرافق الصحية هي إجراء بسيط وغير مكلف، لكنها تظل أهم إجراء للحد من العدوى اليدوية.

الكلمات المفتاحية :

العدوى، النقل اليدوي ، النظافة ، اليد ، طاقم المستشفى.

Résumé

Le risque de contracter une infection à l'hôpital a toujours existé. Il reconnues comme étant un problème major de santé publique. Ce risque c'est accru avec l'évolution des pratiques de soin. Cependant, le personnel hospitalier, joue un rôle primordial dans la dissémination et la transmission des agents pathogènes. La transmission étant de plus souvent manu porté.

Le but voulu à travers la réalisation de cette étude consiste à identifier les bactéries pathogènes isolées à partir des mains des personnels hospitaliers de service médecine homme et femme à l'hôpital «Les Frères CHNAFA» de Mecheria et l'évaluation de leurs antibiorésistances.

Durant une période qui s'étalée de deux mois au niveau de laboratoire de microbiologie de centre universitaire « Salhi Ahmed » de Naama nous avons isolées 62 souches bactériennes à partir de 22 prélèvements réalisés sur les mains des personnel hospitaliers.

Les souches isolées sont purifiées, identifiées selon leurs caractéristiques morphologiques, puis selon leurs caractéristiques biochimiques par usage de la Galerie classique et la Galerie **Api 10S** et **Api 20NE**, suivi d'un antibiogramme selon la recommandation de la société française de microbiologie 2020.

Les résultats nous montrent une microflore diversifiée, qui comportent les deux types de bactéries : les Cocci à Gram positifs (BGP) avec un taux de (65%) et les bacilles à Gram négatifs (BGN) avec un taux de (35%).

Concernant les BGP, les germes isolés les plus fréquents sont les *Staphylococcus aureus* et *Enterocoque*. Pour les BGN, les germes isolés les plus fréquents sont *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*.

L'étude de la résistance de ces souches aux différents antibiotiques testés (béta- lactamine, Aminosides, Sulfamides, et autres Colistine et Tétracycline) a montré que les souches isolées expriment une résistance plus élevés pour la majorité des béta- lactamine par rapport les autres antibiotiques.

Donc, L'hygiène des mains dans les structures sanitaires est un acte simple, peu coûteux, mais reste la mesure la plus importante pour réduire les infections manu portées.

Mots-clés:

Hygiene, Infection, Main, Personnels hospitaliers, Transmission manu porté.

Abstract

The risk of getting an infection in the hospital has always existed. It recognized as a major public health problem. This risk has increased with the evolution of care practices. Hospital staffs play a major role in the dissemination and transmission of pathogens. The transmission is more often than not carried manually.

The aim of this study is to identify the pathogenic bacteria isolated from the hands of hospital staff from the mal and femal medical service of the hospital « Frères CHNAFA» of Mecheria and to assess their antimicrobial resistance.

During a period of two months in the microbiology laboratory level of the "Salhi Ahmed" of Naama University, we isolated 62 bacterial strains from 22 samples taken from the hands of hospital staff.

The isolated strains are purified, identified according to their morphological characteristics, then according to their biochemical characteristics by using the Classic Gallery and the Gallery **Api 10S** and **Api 20NE**, followed by an antibiogram according to the recommendation of the French microbiology society 2020.

The results show us a diversified microflora, which include the two types of bacteria:

Gram positive cocci (BGP) with a rate of (65%) and Gram negative bacilli (BGN) with a rate of (35%).

Concerning BGP the most frequent isolated germs are *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus*, for BGN the most frequent isolated germs are *Escherichia coli*, *klebsiella pneumoniae*.

The study of the resistance of these strains to the various antibiotics tested (béta- lactamine, Aminoglycosides, Sulfonamides, and other Colistin and Tetracycline) has shown that the isolated strains express higher resistance for the majority of béta- lactamine compared to the other antibiotics.

So, Hand hygiene in health facilities is a simple, inexpensive act, but remains the most important measure to reduce manual infections.

Keywords:

Hand, Hygiene, Hospital staff, Infection, Manual transmission.



Introduction



L'hôpital est un lieu où l'on soigne mais c'est également un lieu où le risque d'infection est très important et où les germes deviennent de plus en plus résistants. De ce fait, les infections contractées au niveau de l'hôpital sont reconnues comme des problèmes majeurs de santé publique de par leurs fréquences, leurs coûts et leurs gravités qui touchent aussi bien les patients et leurs entourages que l'ensemble des professionnels de santé (**Metadjer, 2014**).

À l'hôpital, les surfaces susceptibles d'entrer en contact avec le patient soit directement, soit indirectement par l'intermédiaire des dispositifs médicaux ou les mains des personnes peuvent constituer des réservoirs microbiens. Ces surfaces sont régulièrement colonisées par des microorganismes qui sont d'origines diverses et peuvent être issus des patients, des personnels hospitaliers ou des visiteurs. Elles constituent donc une niche écologique des bactéries multi résistantes pouvant être un réservoir à partir duquel différentes infections peuvent se développer (**Méité et al ., 2010**).

L'infection hospitalière est définie par une infection qui survient ou de la 48h après l'admission à l'hôpital. Si le patient est infecté avant 48h il faut de procédures invasives qui sont mises en place après les admissions (**Tasseau et Baron, 1989**).

Le risque de contracter une infection à l'hôpital a toujours existé et il s'est accru avec l'évolution des pratiques de soins et de recrutement des patients (**Astragneau, 1998**).

Des milliers de personnes meurent chaque jour des suites d'infections acquises au cours des procédures des soins.

L'hygiène hospitalière est une politique visant à prévenir, lutter et contrôler ces infections hospitalières, Elle met en rapport les acteurs (malades, personnels médicaux et paramédicaux, personnels administratifs et techniques, visiteurs et accompagnants) et leur environnement (**Maiga, 2003**).

Les mains du personnel soignant sont des réservoirs qui permettent la survie et le développement des germes pathogènes.

L'hygiène des mains est la principale mesure permettant l'élimination de la flore transitoire et des pathogènes nosocomiaux. Le risque de contamination est diminué si une procédure d'hygiène des mains est réalisée correctement, en permettant une réduction satisfaisante du nombre d'agents pathogènes de la flore transitoire (**Baudin, 2012**).

En milieu médical l'hygiène des mains se veut irréprochable, sa pratique est une technique gage de sécurité sanitaire. Elle est l'une des principales mesures de lutte contre les infections manu portées (**Srigley.2016**).

Notre travail a pour but de faire les points sur :

- La recherche et identification des germes pathogènes isolés à partir des mains des personnels hospitaliers dans le service de médecine homme et femme de l'hôpital de Mecheria, « **Les Frères CHENAF**A », Willaya de Naama.
- L'incidence des germes isolés par rapport à chaque service hospitalier.
- Etat de résistance des germes isolés vis-à-vis les différents antibiotiques testés.
- Niveau d'hygiène des mains des personnels hospitaliers selon une enquête réalisée.

Notre étude comporte alors trois parties, la première partie est consacrée à une synthèse bibliographique qui présente les connaissances actuelles sur l'hygiène et plus particulièrement celui des mains, les caractéristiques des germes les plus isolés et leurs modes de transmissions, l'action des antibiotiques et leurs mécanismes de résistance. Suivie de la deuxième partie, matériels et méthodes, qui présentera les procédures expérimentales mises en œuvres qui nous ont permis d'isoler et d'identifier les germes présents, qui peuvent être responsables d'infections. Enfin, la troisième partie sera consacrée aux résultats obtenus et leurs interprétations.

PREMIERE PARTIE

Synthèse Bibliographique

Chapitre I : Généralités sur l'hygiène des mains

I- Aperçu Général sur l'hygiène :

Etymologiquement le terme hygiène vient du mot grec « hygienon » qui signifie santé (**Larson, 1995**). L'hygiène est devenue une composante essentielle de notre vie visant à réduire la transmission et les conséquences d'une maladie (**Jean, 1998**).

Du point de vue médical, l'hygiène se définit comme l'ensemble des moyens et pratiques visant à assurer le bien-être physique et mental de l'individu et à faciliter son adaptation harmonieuse au milieu ambiant (**Kaba, 2009**).

Pour parler de l'hygiène des mains, on passe impérativement sur l'autre branche d'hygiène telle que :

L'hygiène corporelle et le plus particulièrement l'hygiène hospitalière et l'hygiène de l'environnement hospitalier.

1- Hygiène corporelle :

L'hygiène corporelle est une pratique essentielle, qui contribue grandement à réduire les infections par des micro-organismes pathogènes, notamment en limitant les contaminations inter-individus (**Devoit et Fernandez, 2012**).

Une bonne hygiène corporelle permet d'éviter la propagation de ces germes vers des individus surtout de groupe sensible (bébé, femme enceinte, Personnes âgées) ou des personnes déjà affectées par une maladie (**Maiga, 2003**).

2- Hygiène hospitalière :

Du point de vue médical. C'est l'ensemble des moyens mis en œuvre pour prévenir la propagation des infections ou protéger le personnel médical, paramédical, les malades, les visiteurs et les accompagnants contre les infections causées par des micro-organismes pathogènes (bactéries, virus, mycètes).

Donc, l'hygiène hospitalière va s'attacher à harmoniser les rapports entre l'homme malade et l'hôpital. C'est une politique visant à prévenir et contrôler les infections hospitalières grâce à des mesures et techniques évitant l'apparition et la transmission de ces germes pathogènes (**Drame, 2008**).

3- Hygiène de l'environnement hospitalier :

L'hygiène de l'environnement c'est d'abord l'hygiène de l'environ de personne malade. Qui est constitué de l'ensemble des éléments liquides, solides et gazeux qui sont susceptibles d'entrer en contact avec le patient, les visiteurs et le personnel d'une structure d'hospitalisation **(Bouaziz et Ramdane, 2006)**.

II- Hygiène des mains :

La main étant l'organe de préhension de l'homme elle est en contact permanent avec l'environnement, qui renferme des bactéries, des virus mais aussi des éléments toxiques. **(Minata, 2009)**. L'hygiène des mains est la principale mesure permettant l'élimination de la flore transitoire et des pathogènes nosocomiaux. En effet, quel que soit la contamination des mains du personnel soignant avant le contact avec un patient, le risque de contamination est diminué si une procédure d'hygiène des mains pré contact est réalisée et possède des caractéristiques permettant une réduction satisfaisante du nombre d'agents pathogènes de la flore transitoire **(Baudin , 2012)**.

Le lavage et l'antisepsie des mains sont des mesures essentielles de bases de la prévention de la transmission des micro-organismes potentiellement pathogènes ou opportunistes **(Larson, 1998)**.

1- Ecosystème de la peau des mains :

1-1- Schéma de la peau des mains :

La peau est un organe composé de plusieurs couches de tissus. C'est la principale barrière qui sépare notre organisme du milieu extérieur et le protège de multiples agressions. Elle est composée de trois couches de tissus : l'épiderme, le derme et l'hypoderme **(Figure N°1)**.

On y trouve aussi des annexes représentées par les cheveux, poils, ongles, glandes sudoripares et glandes sébacées **(Georgel, 2008)**.

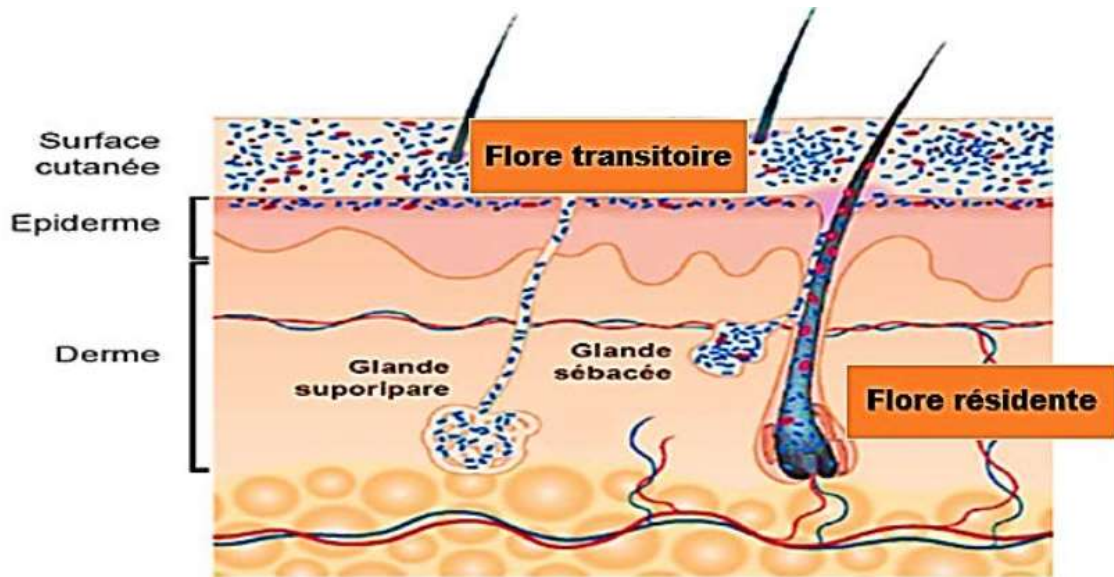


Figure 1 : Coupe transversale de la peau (Gaboriau, 2003)

1-2- Caractères physico-chimiques :

Les caractères physico-chimiques observés au niveau de la surface de la peau vont influencer l'équilibre écologique cutané. Il s'agit de la desquamation de la peau (10000 squames/minute) en activité normale soit une baisse du nombre de germes sur la peau mais une augmentation des bactéries dans l'environnement), de la température de la peau qui varie entre 30 à 37°C, du pH de la peau normalement acide (entre 5 et 6) et de son humidité provenant de la sécrétion de sueur (Anne, 2004).

1-3- Barrières :

Le revêtement cutané préserve l'organisme des agressions externes. C'est une Barrière naturelle tant mécanique que chimique qui s'oppose à la pénétration de substances exogènes comme le passage de microorganismes ou celui des molécules. L'épiderme porte des follicules pileux et les glandes sébacées, siège d'une prolifération importante de microorganismes. Il est la seule partie du corps qui puisse vivre exposée à l'air sans s'infecter spontanément à condition qu'il soit intact (Chigblo et Soumaila, 2014).

1-4- Flore cutanée :

La flore cutanée est composée de 10^2 à 10^6 bactéries par cm^2 . Cette flore se trouve sur les couches les plus superficielles de la peau appelée épiderme ou couche cornée où se trouvent les follicules pileux et les glandes sébacées, ces couches sont le siège contre toute prolifération de microorganisme qu'on appelle la flore microbienne cutanée (Emeline, 2016).

On peut distinguer deux types des flores bactériennes : la flore résidente et la flore transitoire.

1-4-1- Flore résidente (permanente) :

La flore résidente est composée majoritairement des bactéries aérobies ou aéro-anaérobies facultatives et de cocci à Gram positif (*Staphylocoques epidermidis*, *Corynebacterium* tel *Propionibacterium acnes*, *Micrococcus species*).

Ce sont des germes commensaux qui vivent au dépend de leur hôte sans leur causer de dommage. La composition de la flore résidente est fixe et permanente (**Scharschmidt, 2013**).

Cette flore bactérienne varie quotidiennement et quantitativement d'un site à un autre chez un même individu ainsi que d'un individu à un autre et est renouvelée régulièrement. Elle a une faible virulence et peut être infectieuse (**Groleau et Kondé, 2006**).

1-4-2- Flore transitoire (superficielle):

Est composée le plus souvent des bactéries saprophytes issues de l'environnement (eau, plantes, animaux). Elle peut être aussi composée des bactéries pathogènes ou commensales provenant de certains sites du corps favorables à la croissance microbienne (périnée, cuir chevelure, creux axillaire, nez, bouche, pharynx) et surtout du tube digestif (colon) du personnel lui-même ou du patient soigné (**Cclin, 2001**).

Elle varie dans la journée, selon les activités et en fonction des variations de l'environnement extérieur et reflète l'écosystème microbien hospitalier comme notamment les bactéries multi résistants (**Arfaoui et al., 2008**).

Il s'agit entre autre des entérobactéries : *Klebsiella*, *E. coli*, *Pseudomonas*. Des bactéries à Gram positives (comme différents Cocci en particulier *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* et *Candida albicans*. Cette flore se trouve sur les couches superficielles de la peau (**Fleuret, 1995**).

A l'hôpital, sa composition est liée à l'écologie microbienne du service de soins et à la nature des actes accomplis. Elle s'élimine facilement avec le lavage des mains.

Cette flore instable se transmet facilement d'individu à individu. Elle est responsable d'infections croisées à transmission manu portée à l'hôpital (**Masso, 2009**).

III- Mode de transmission :

La transmission des micro-organismes à l'hôpital peut se faire selon différentes voies.

1- Voie endogène (auto-infection) :

Le malade s'infecte avec ses propres germes à la faveur d'un acte invasif (Portes d'entrée) et/ou en raison d'une fragilité particulière à la faveur d'une rupture des barrières de défense (Agnès, 2014). Ces infections sont dues généralement aux germes saprophytes ou colonisatrice du malade peut être responsable d'une auto-infection ; la transmission est endogène (Tasseau, 1989).

2- Voie exogènes (infections croisées) :

Les trois autres sources de l'infection hospitalière (le personnel, le patient infecté et l'environnement) transmettent les germes par voie exogène, c'est l'infection croisée (Traore, 2008). Il peut s'agir :

- D'infections provoquées par les germes du personnel porteur.
- D'infections liées à la contamination de l'environnement hospitalier (eau, air, matériel, alimentation). C'est exo-infections
- D'infections croisées transmises d'un malade à un autre par les mains (par manu portage) ou les instruments de travail du personnel médical ou paramédical. Qui s'appelle hétéro-infections (Agnès, 2018).

IV- Transmission manu-portée :

Les mains représentent l'outil le plus souvent utilisé par les êtres humains.

Les mains du personnel soignant transitoirement contaminées constituent la principale voie de transmission des agents pathogènes aux patients surtout aux malades susceptibles (Kramer *et al.*, 2006), néanmoins, les patients eux-mêmes peuvent également être à l'origine de cette contamination (Allegranzi *et al.*, 2009) (Figure N°02).

Selon les études, 70 à 90% des infections nosocomiales sont dues à une transmission manu-portée des bactéries. Elles sont transmises d'un malade à un autre par contact direct entre les patients, entre patients et soignants ou indirect notamment par l'intermédiaire de dispositifs médicaux ou de matériel de soin (Boyce et Pittet, 2001).

La circulation du personnel de santé dans l'hôpital et leur contact consécutif avec différents patients, des objets et des surfaces impliquent des possibilités de diffusion de l'agent

pathogène. Le grand danger réside dans la facilité avec laquelle elles vont les véhiculer et contaminer tout ce qu'elles vont toucher par la suite. Si les précautions nécessaires ne sont pas respectées, notamment le lavage des mains (**Oliveira et Damasceno, 2010**).

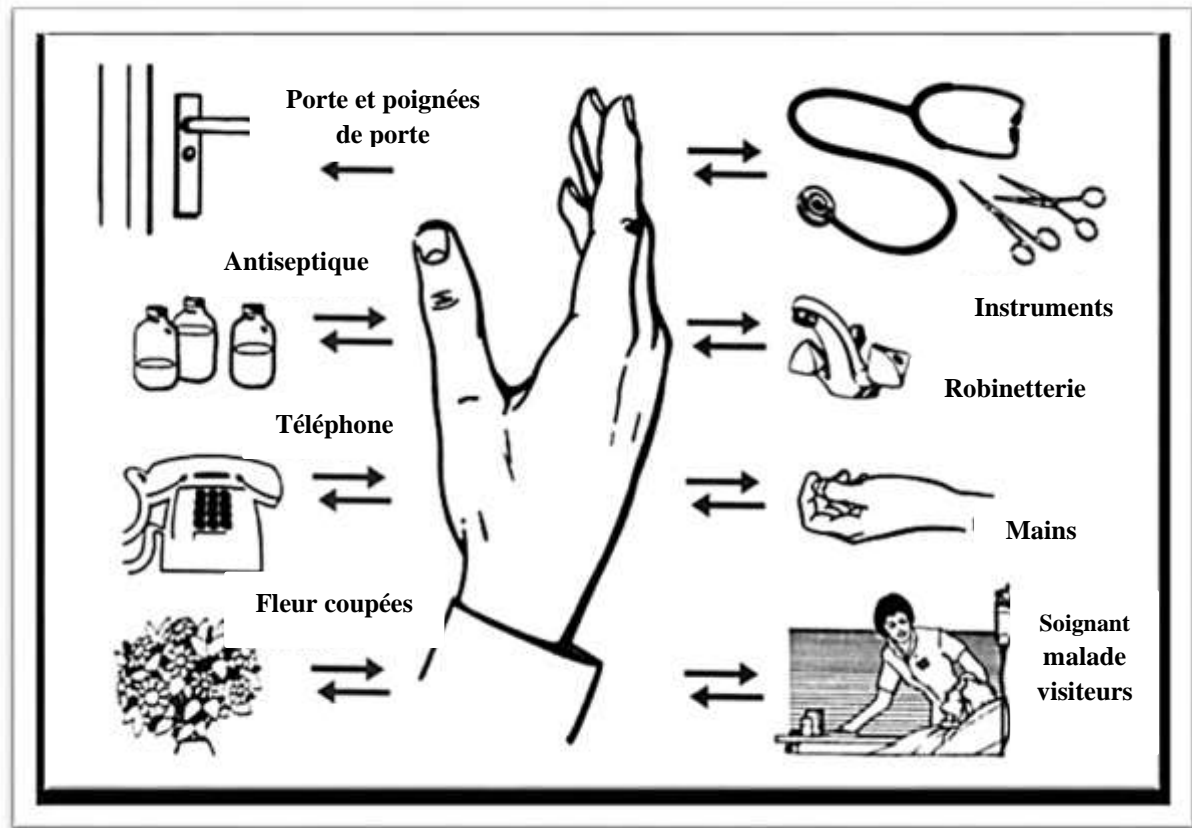


Figure 2 : La main est un outil de travail (Allegranzi et al., 2009).

V- Source de Contamination des mains des professionnels de santé (PS) :

Au cours de l'exercice, les mains du personnel de santé peuvent être contaminées par des bactéries, mais aussi par des champignons, des parasites ou des spores (**Clooten et al., 2008**). Nous parlerons principalement des bactéries dans la suite de cette étude.

1- Contamination au cours des soins aux patients :

Les études de culture cutanée de la peau des patients indiquent qu'il existe des variations entre 10^2 et 10^6 germes par centimètre carré de peau. Ce nombre varie en fonction de la zone du corps du patient et de son statut physiologique, l'affection responsable de son hospitalisation, l'âge et le sexe du patient (**Larson et al., 2000**).

Les mains du personnel soignant peuvent donc facilement être contaminées par cette flore qui y constitue dès lors une partie de la flore transitoire (**Marples et Towers, 1979**).

2- Contamination par l'environnement :

Certains germes peuvent persister de façon importante dans l'environnement et sur le matériel médical en milieu hospitalier (**Moolenaar et al., 2000**). Certains cas de contamination de distributeurs ou de produits d'hygiène des mains ont été rapportés (**Bures et al., 2000**).

En cas de contamination de l'environnement, les mains du personnel de santé peuvent se contaminer suite à un contact avec une surface ou du matériel souillé et qui peuvent ainsi être transférées facilement au cours d'un contact avec un patient. Afin de réduire les contaminations croisées par le matériel. De surcroit, l'hygiène des mains doit être pratiquée après chaque contact avec du matériel contaminé (**Baudin, 2012**).

3- Contamination des ongles :

les différentes parties de la main ne sont pas homogènement contaminées et les recherches montrent que l'espace sous unguéal est une région abritant plus des germes que les autres parties de la main (**Mcginley et al., 1988**).

La contamination de l'ongle et de l'espace sous unguéal varie en fonction de la longueur de l'ongle, de l'utilisation d'ongles artificiels et de polisseurs (**Mcneil et al., 2001**).

4- Contamination des bijoux :

Le port de bagues au niveau des mains des personnels hospitalières entraîne une augmentation de taux de contamination.

De plus, la proportion des pathogènes tels que les bacilles à Gram négatifs et les levures sont plus fréquemment retrouvés sur les mains du personnel portant ses bijoux pendant son service. Le port de bijoux doit donc être strictement interdit dans le service en milieu hospitalier (**Trick et al., 2003**).

VI- Pratiques d'hygiène des mains :

Les mains sont le vecteur principal de l'infection nosocomiale, leur lavage a pour but de réduire la flore cutanée transitoire et réduire la flore cutanée résident et d'interrompre la transmission manu portée des germes d'un malade à un autre.

Donc, le lavage des mains est un passage important de l'hygiène hospitalière. Il permet de diminuer la fréquence des infections nosocomiales manu portées, en réduisant la flore microbienne des mains (**Maiga, 2003**).

Ainsi l'hygiène des mains est un traitement par lavage des mains par un produit (savon liquide ou gel ou solution) ayant un spectre d'activité antimicrobien ciblé sur les micro-organismes de la flore cutanée afin de prévenir leur transmission (**OMS, 2005**).

La répétition de lavage des mains diminue de 60 % la contamination manu portée (**Farret, 2001**).

De plus, la meilleure pratique d'hygiène des mains est principalement assurée par le lavage ou la friction hydro-alcoolique. Dans les modèles expérimentaux de (**Marpies et Towers, 1979**), un lavage des mains avec un savon réduit le nombre de micro-organismes de 95%, et avec de l'alcool à 70 °c la réduction est de 99,99 %.

Il existe trois types de lavage des mains (**voir Annexe N°01**) :

- Un lavage simple.
- Un lavage hygiénique ou antiseptique.
- Un lavage chirurgical.

Notent le port des gants permet aussi de protéger personnel soignant et le patient contre toute contamination croisée. Mais leur utilisation sans précautions rationnelles peut entraîner un risque élevé de contamination dans les deux sens. Par ce que les gants créent un milieu humide et chaud qui favorise la croissance microbienne et la détérioration de la peau. Alors il doit respecter les conditions du port des gants (lavage avant de porter le gant, Enfiler juste avant le soin et jeter juste après l'usage, un gant pour un soin) (**Rénée, 2006**).

Chapitre II : Germes les plus isolés

Les bactéries les plus fréquemment impliquées dans les infections par le maun portage sont : Les bacilles à Gram négatifs sont en cause dans 60 à 70% des cas, les cocci à Gram positifs dans 25% et les anaérobies dans 3 à 4% seulement. Les bactéries sont les responsables les plus fréquents des infections de maun- portage (**Jacque, 2000**).

Elles peuvent être des bactéries pathogènes comme *Staphylococcus aureus* mais on trouve plus souvent les bactéries opportunistes : *des Entérobactéries, Staphylococcus epidermidis, Pseudomonas aeruginosa, Acinétobacter, Entérocoques ...etc.* (**Charles, 2000**).

1- Bactéries à Gram négatives :

1-1- Entérobactéries :

Les Entérobactéries constituent un grand groupe des bactéries fréquemment impliquée dans les infections humaines. Elle se compose d'environ 30 genres des bactéries et de plus de 100 espèces, Localisé dans le tube digestif et principalement le côlon de l'homme et des animaux, bien qu'ils soient également présents dans l'environnement (**Avril et al., 2000**).

Ce sont des bacilles à Gram négatifs, non sporulés, aérobies anaérobies facultatives et elles cultivent sur des milieux ordinaires (**Baba Ahmed et al., 2014**).

Constituent plus de 80% des germes isolés en laboratoires : *Escherichia, Salmonella, Shigella, Klebsiella, Enterobacter, Serratia, citrobacter, Proteus, Morganella* et *Yersinia* sont les bâtonnets les plus souvent retrouvés (**Catherine, 2011**).

1-1-1- *Escherichia coli* :

✚ Caractères généraux :

E. coli isolée par Escherich en 1885, font partie de la famille des *Enterobacteriaceae*. C'est l'espèce bactérienne la plus étudiée (**Berche et al., 1988**). C'est un bacille à $1-1.5 \times 2-6 \mu\text{m}$, appelée communément « colibacille » mobile grâce à une ciliature péritriche, aéro-anaérobie facultatif (**Farmer et al., 2007**).

Les principaux caractères biochimiques sont : la production d'indole, la fermentation du lactose et de glucose, oxydase négatif, catalase positif, nitrate(+), Mannitol(+), ONPG (+), RM(+), H₂S(-), VP (-) (**Clave, 2012**).

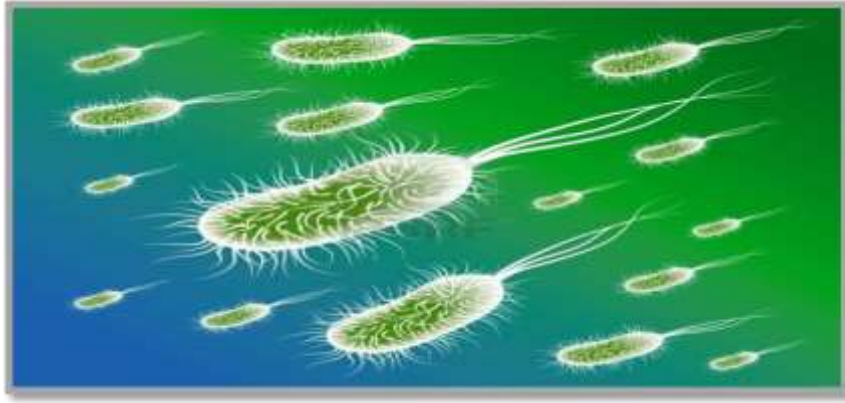


Figure 3 : *Escherichia coli* vue au microscope électronique (Goita, 2014).

✚ Pouvoir pathogène :

En médecine humaine, les souches d'*E. coli* est lié principalement à des infections du tractus digestif, la plus connue étant la diarrhée du voyageur, en raison de la contamination de l'eau ou des aliments par la flore fécale des malades ou des porteurs (Benmoussa, 2016). Elle est également le genre préférentiel de 80 % des infections urinaire (Danielle, 2015).

1-1-2- *Shigella* spp :

✚ Caractères généraux :

Les *Shigella* sont des entérobactéries extrêmement proches d'*Escherichia coli* mais qui ne fermentent pas le lactose (Schroeder et Hilbi, 2008). Anaérobie facultative immobiles et non encapsulée, Elles n'ont pas d'uréase. Fermentent le glucose sans production de gaz. Sensible l'ampicilline et fluoroquinolones (Ziri, 2013).



Figure 4: *Shigella* spp observé au microscope électronique (Mahfouf, 2018).

✚ Pouvoir pathogène :

Les *Shigella* sont toutes pathogènes et spécifiques du tube digestif (Joly et Reynaud, 2002). La shigellose est la plus transmissible des maladies bactériennes intestinales, caractérisée par une diarrhée avec la fièvre. Elles provoquent chez l'adulte de colites infectieuses et chez l'enfant de gastro-entérites sévères (Levine et al., 2007).

1-1-3- *Klebsiella pneumoniae* :

✚ Caractères généraux :

Klebsiella pneumoniae est une entérobactérie qui appartient au genre *Klebsiella*. Il s'agit d'un bacille à Gram négatif, de 0.3 à 1.0µm de diamètre sur 0.6 à 6 µm de longueur avec des extrémités arrondies, immobile, non sporulées, encapsulée et aéro-anaérobie facultative (Abbott, 2007). C'est une espèce très répandue dans la nature (sol et eau), est une flore commensale du tube digestif, et de la peau des humains.

Les principaux caractères biochimiques : oxydase négative, catalase positive, lactose positives, fermentant le glucose avec production de gaz, possède une nitrate-réductase, ONPG (+), VP (+), Urée (+), H₂S(-), Indole (-), RM(-) (Nouri et Ziadi, 2015).



Figure 5 : *Klebsiella pneumoniae* observée au microscope électronique à balayage (Prescott, 2010).

✚ Pouvoir pathogène :

Elle est responsable d'infections opportunistes chez les malades hospitalisés comme les infections broncho-pulmonaires en réanimation, infections urinaires, septicémies ou bactériémies (Ben moussa, 2016).

1-2- *Pseudomonas aeruginosa* :

✚ Caractères généraux :

Pseudomonas aeruginosa appartenant à la famille des *Pseudomonadaceae* en forme de bâtonnet de 1 à 3 µm de long et 0,5 à 0,8 µm de large. Aérobie stricte. Dépourvue de spores et de capsules, mobile grâce à la présence d'un flagelle monotriche polaire (**Hafiane et Ravaoarino, 2008**). Retrouve dans des habitats naturels à l'état saprophyte (l'eau, sols humides, végétaux). Parfois commensale sur la peau ou à l'intérieur du système digestif de divers animaux (**Sabin, 2006**). En milieu hospitalier, présent dans les solutions aseptiques et sur les instruments tels que les cathéters, les sondes, ou encore dans les canalisations...etc. (**Essoh, 2013**). *P. aeruginosa* secrète deux types de pigments : la pyocyanine et la pyoverdine. Elle présente les caractères biochimiques suivants : Oxydase positive, Catalase positive, Nitrate réductase (+); lactose(-), ONPG (-), Urée (-), H₂S(-), Indole (-) (**Nyaledome, 2016**).



Figure 6 : *P. aeruginosa* observé au microscope électronique (**Memdouh et Redda, 2018**).

✚ Pouvoir pathogène :

P. aeruginosa est un agent pathogène opportuniste responsable des infections nosocomiales graves (**Ben Haj Khalifa et al., 2011**) comme les infections respiratoires chroniques (la broncho-pneumopathie chronique obstructive, L'inflammation du tractus respiratoire), des voies urinaires , gastro-intestinales, bactériémie et septicémie et les infections du système nerveux central (cause une méningite et un abcès du cerveau). Peut provoquer une infection de la peau (**Elrouini Assia, 2018**).

1-3-Acinetobacter baumannii :**✚ Caractères généraux :**

A. baumannii se présente comme des bacilles à Gram négatif souvent associés en diplobacilles à extrémité arrondie avec des formes cocoïdes ou en courtes chaînes (**Guillou et al., 2015**). Leur diamètre varie de 0.9 à 1.6 nm et leur longueur est de 1.5 à 2.5 µm (**Bendadi, 2012**). Immobiles, a sporulés, non fermentatif, aérobie strict, parfois capsulés (**Hélène, 2016**). Les souches capsulées d'*A. baumannii* forment sur la boîte des colonies muqueuses de couleur blanche-grise (elles sont dites « Smooth » ou lisses), alors que les souches non capsulées présenteront des colonies non muqueuses, d'aspect rugueux, de couleur blanche-grise et de taille plus petite (elles sont dites « Rough » ou rugueuses) (**Allal et Hadbi, 2018**). Sont souvent considérés comme une bactérie ubiquiste, ils se rencontrent dans le sol, l'eau douce et dans les produits alimentaires (lait, viande, volailles). Chez l'homme, ces organismes sont fréquemment isolés de la peau, de la salive, des urines (**Camile, 2014**). Elle présente les caractères biochimiques suivants : Catalase positives, Glucose positives et oxydase négatives, H₂S (-), nitrates réductase (-), ONPG (-), lactose(-), Urée (-), IND(-) (**Wafi, 2017**).

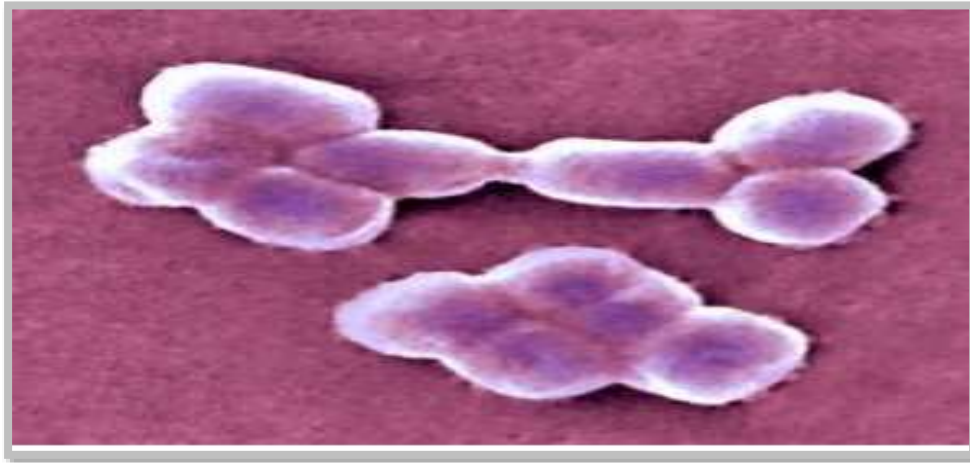


Figure 7 : Groupe *Acinetobacter baumannii* observé au microscope électronique (**Chatane, 2017**).

✚ Pouvoir pathogène :

Peu virulent chez un organisme sain mais il est pathogène chez les patients en réanimation. Il représente 2 à 4% des microbes responsables d'infections nosocomiales.

Il est naturellement résistant à de nombreux antibiotiques et peut acquérir une résistance à tous les antibiotiques (**Ghazouani, 2010**).

2- Bactéries à Gram positives :

2-1- *Staphylococcus aureus* :

✚ Caractères généraux :

Le genre *Staphylococcus* appartient à la famille des Staphylococcaceae. Sont des cocci à Gram positif de forme sphérique de 0,5 à 1µm de diamètre, isolés ou groupés en amas, immobiles, non sporulés, parfois en capsulés aérobies anaérobies facultatifs (Terbeche, 2017). La Staphylocoagulase c'est un marqueur de l'identification de *S. aureus* (Marquet, 2004). L'homme est le principal réservoir naturel de Staphylocoques, présente un portage sain, principalement au niveau des cavités nasales (Wylie *et al.*, 2005). Elle présente les caractères biochimiques suivants : oxydase négative, catalase positive, coagulase positive (Staphylocoque doré). Des autres espèces de staphylocoques à coagulase négative (staphylocoques blancs tel que : *S. epidermidis*....etc.), acétone (+), uréase (+), réduisant le tellurite de potassium et les nitrates en nitrite (Cécile, 2012).



Figure 8 : *Staphylococcus aureus* vue au microscope électronique et colorée Artificiellement (Camille, 2007).

✚ Pouvoir pathogène :

S. aureus est responsable d'infections suppuratives localisées de la peau et des muqueuses (des angines, des sinusites,) sont fréquentes, les infections cutanées, de septicémies correspondent à la multiplication et la dissémination de *S. aureus* dans la circulation sanguine. Bactériémies, endocardites, infections urinaires et de maladies liées à la production de toxines regroupent le choc toxique Staphylococcique, les toxi-infections alimentaires etc. (Belkacemi et Arab, 2018).

2-2- Streptocoques :

✚ Caractères généraux :

Le genre *Streptococcus* appartient à la famille des Streptococcaceae. Sont des cocci à Gram positif, de taille et de forme irrégulières groupés en chaînettes, plus ou moins longues et flexueuses, immobiles, non encapsulés et non sporulé, oxydase négatif et catalase négative, à métabolisme anaérobie. Ils produisent de l'acide lactique par fermentation du glucose (**Fritz, 2008**). En 1933, **LANCEFIELD** a démontré qu'il était possible de classer les streptocoques en groupes en fonction de leur équipement antigénique : le Groupes A comportant la grande majorité des streptocoques pathogènes pour l'homme de même que les groupes C et G (**Facklam, 2002**) et Le groupe B comportant des hôtes habituels des voies digestives ainsi les streptocoques du groupe D qui considérés maintenant comme faisant partie d'un genre entérocoques (**Diallo, 2015**).



Figure 9 : *Streptococcus* vue au microscope électronique (**Perria, 2014**).

✚ Pouvoir pathogène :

Les *Streptococcus* sont des pathogènes opportunistes provoquant de nombreuses maladies contagieuses (**Nobbs et al, 2009**). On retrouve particulièrement les *Streptocoque* D ou *Enterocoque* qui fait partie de la flore intestinale, provoquant de nombreuses maladies telles les angines, infection génitale, urinaires, des endocardites et des septicémies (**Oubihi, 2015**). Le plus pathogène d'entre eux est le streptocoque bêta-hémolytique du groupe A, appelé *Streptococcus pyogenes*, qui est responsable de la majorité des affections tel que L'angine rouge ou érythémato-pultacée, d'autres infections aiguës : cutanées, muqueuses ou septicémiques (**Pierre et Marie, 2003**).

Chapitre III : Généralité sur les antibiotiques

1- Définition des antibiotiques :

Un antibiotique est une substance antibactérienne d'origine biologique, c'est-à-dire produit par des micro-organismes (champignons microscopiques et bactéries) ou de synthèse chimique et qui est capable d'inhiber la multiplication ou de détruire les micro-organismes (Yala et al., 2001). C'est en 1941 que fut utilisé pour la première fois un antibiotique, la pénicilline, découverte en 1928 par le bactériologiste anglais Alexander Fleming pour traiter un patient atteint de septicémie à staphylocoques (Besassier et al., 2005).

2- Classification des antibiotiques :

La classification des antibiotiques peut se faire selon :

- **Origine** : élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique).
- **Mode d'action** : paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques.
- **Spectre d'activité** : liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large)
- **Nature chimique** : très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle β lactame) sur laquelle il y a héli-synthèse (Agregé et al., 2015).

La classification selon la nature chimique nous permet de classer les antibiotiques en familles (β lactamines, aminosides, tétracyclines.....etc.) (Tableau N° 1).

Tableau 1 : Principales familles d'antibiotiques et leur spectre d'activité (**Agregé et al., 2015**).

Cible	Famille ATB	sous famille	Origine	Spectre d'activité
La paroi	Betalactamines	Pénicilline G	Naturel	Cocci gram+
		Oxacilline et cloxacilline (Groupe M)	Semi synthétique	Bacilles Gram+ (pénicilline M et G)
		Ampicilline et Amoxicilline (Groupe A)		bacilles Gram-
		Céphalosporine	Naturel ou semi synthétique	Bacilles Gram-
		Glycopeptides	Naturel	Spectre étroit : Les bactéries Gram(+) Staphylocoques et entérocoques.
La Membrane	Polymyxines	Colistine	Naturel	Actifs sur les bacilles à Gram-
	Gramicidines et tyrocidines	Bacitracine Tyrothricine	Naturel	Spectre étroit : bactéries à Gram+
Le Ribosome	Aminosides	Streptomycine Néomycines Tobramycine Amikacine Gentamicine	Naturel ou semi synthétique	spectre large : -cocci et bacilles Gram+ et Gram- - mycobactéries - toutes les bactéries anaérobies Sont résistantes
	Tétracyclines	Doxycycline Minocycline	Naturel ou semi synthétique	- spectre large mais résistances fréquentes, actives sur les germes à développement intracellulaire

	Groupe des « MLS » Les macrolides	Macrolides Lincomycine Streptogramines	Naturel ou semi synthétique	Spectre assez Comparable à celui de la pénicilline G : cocci gram+ et Bacille gram+
L'ADN	Quinotones	Ciprofloxacine Levofloxacine Moxifloxacine Ofloxacine Ciprofloxacine Norfloxacine	Synthétique	Spectre limité aux bactéries Gram- à et l'exception des <i>Pseudomonas, aeruginosa</i>
	Fluoroquinolones	Fluméquine Péfloxacine Norfloxacine Ofloxacine Ciprofloxacine Enoxacine Moxifloxacine Levofloxacine	Synthétique	spectre large au Pseudomonas et aux bactéries à Gram+ et Gram- Notamment les Staphylocoques.
Polymérase	Rifamycines	Rifamicine SV Rifampicine	Naturel ou semi synthétique	Spectre large : -mycobactéries -cocci gram+ et bactéries à gram+ divers bacilles à gram- -sont actives sur les germes à développement intracellulaire.

3- Mode d'actions des principales familles d'antibiotiques :

On considère les antibiotiques comme le groupe le plus important de médicaments pour la médecine. À côté de leurs propriétés de lutter contre les infections humaines dues aux bactéries pathogènes, ils sont également utilisés en médecine vétérinaire (Emmanuel, 2003).

Cependant, chaque famille possède son site d'action propre (Figure N°10) :

- Action sur la paroi bactérienne.
- Action sur la structure de la membrane cytoplasmique.
- Action sur la synthèse protéique.
- Action sur la synthèse de l'ADN.

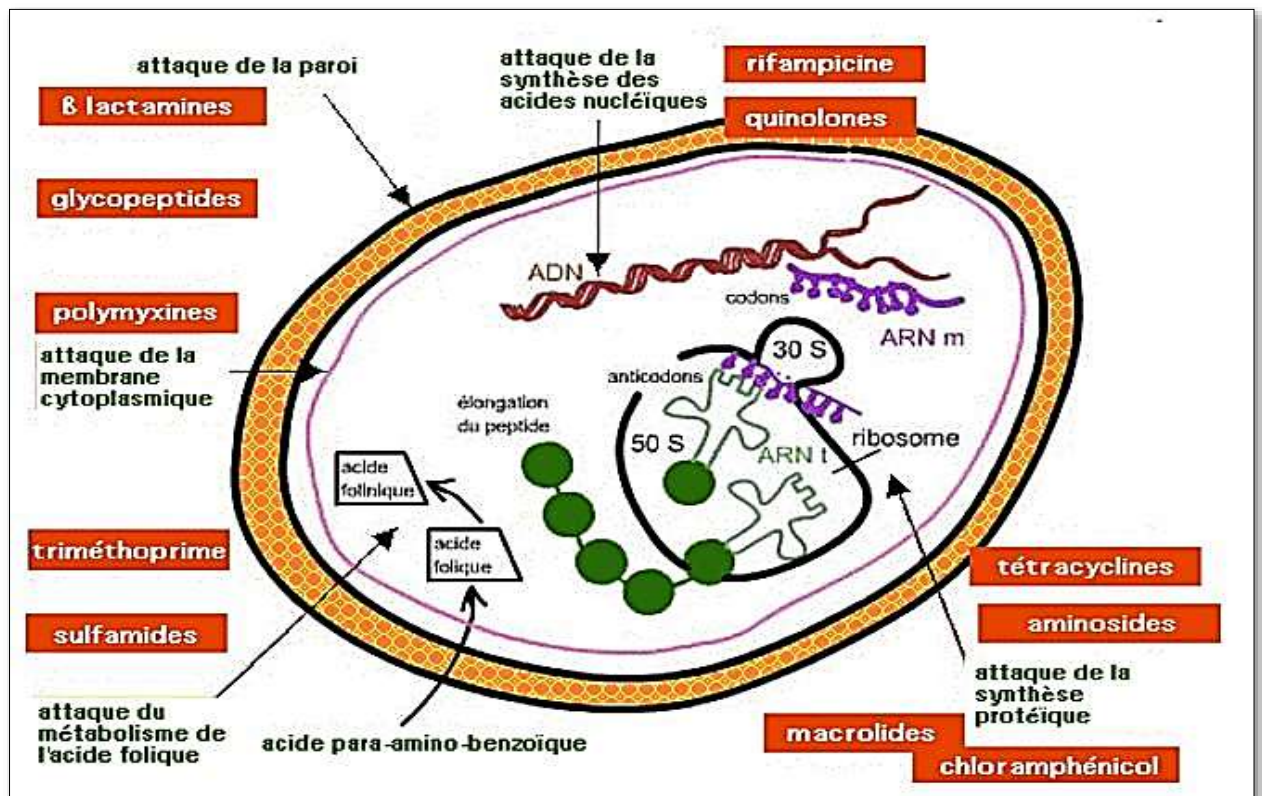


Figure 10 : Mode d'action des antibiotiques (Lavigne, 2007).

3-1- Antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane ou paroi bactérienne :

β-lactamines : Ce sont des antibiotiques qui agissent en inhibant la synthèse de la paroi Bactérienne.

Les β-lactamines inhibent la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane en bloquant la formation des ponts inter peptidiques via une interaction avec les protéines liant les pénicillines ou PLP (Neu et Gootz, 2016).

Les antibiotiques ayant ce mode d'action présentent une analogie de structure (ce sont des molécules cycliques) avec les précurseurs du peptidoglycane (dipeptide terminal D-Ala-D-Ala). Elles se fixent sur le site actif des PLP sur le mode d'un substrat suicide conduisant à l'arrêt de synthèse du peptidoglycane. Par la suite la bactérie va produire des autolysines conduisant à l'effet bactéricide de ces molécules. La bactérie n'est plus capable de maintenir une paroi rigide et va alors mourir (Paul, 2017).

Parmi les β -lactamines on distingue :

Les pénicillines, les céphalosporines, la fosfomycine, les associations avec les inhibiteurs des β -lactamases, les carbapénèmes, et les monobactames (Dabernat, 1995).

3-2- Antibiotiques agissant sur les membranes :

Les polymyxines se fixent sur les membranes bactériennes (en particulier la membrane externe des bactéries à Gram négatif) elles pénètrent dans la cellule bactérienne et s'insèrent parmi les phospholipides de la paroi, perturbant la perméabilité membranaire qui désorganisant sa structure et son fonctionnement (Al Abdani, 2016). Ce qui produit de graves troubles d'échanges électrolytiques avec le milieu extérieur (Benabbou, 2012).

3-3- Antibiotiques inhibant la synthèse des protéines :

Entraînent l'arrêt de la biosynthèse des protéines ou la synthèse de protéines anormales.

Selon les différentes familles d'antibiotiques existant, certains vont se fixer sur la sous unité 30S qui empêchent la traduction de l'ARN messager et bloquent la formation de la liaison et l'élongation de la chaîne peptidique (Benabbou, 2012), d'autres vont cibler la sous unité 50S des ribosomes (Claire et Fabien, 2013).

On trouve 5 grandes familles dont l'action se déroule sur la synthèse protéique.

Les aminosides (streptomycine, gentamycine, amikacine), Les cyclines (tétracycline, doxycycline) Les macrolides et les kétolides (érythromycine, azithromycine), les tétracyclines et l'acide fusidique (Paul, 2017).

3-4- Antibiotiques agissant sur les acides nucléiques :

Les antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques agissent en inhibant l'ADN polymérase, et l'ADN hélicase ou l'ARN polymérase, en bloquant de ce fait respectivement la réplication ou la transcription (Prescott et al., 2010).

Ansamycines : Inhibe l'ARN polymérase.

Quinolones et fluoroquinolones : Inhibent l'ADN Gyrase et de la topoisomérase IV.

Chapitre IV : Résistance bactérienne aux antibiotiques

1- Définition de la résistance :

Une bactérie est considérée comme résistante à un antibiotique quand la concentration de cet antibiotique au site de l'infection n'est pas suffisamment élevée pour inhiber la multiplication de cette bactérie ou de la tuer (Poole, 2004).

2- Types de résistance aux antibiotiques :

2-1- Résistance naturelle (intrinsèque) :

La résistance naturelle est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce. Elle peut être due à la présence d'un gène chromosomique commun à toutes les bactéries de l'espèce. Elle est stable, transmise à la descendance (Lozniewski et al., 2010).

Comme exemple, les souches de *Klebsiella spp*, qui sont produit naturellement des pénicillinases qui détruit les pénicillines A (Mayer et al., 2000).

2-2- Résistance acquise :

La résistance bactérienne acquise à un antibiotique est un phénomène qui apparait au niveau des souches d'une espèce donnée, normalement sensible à cet antibiotique. C'est l'acquisition d'un facteur génétique qui se traduit par une réduction de la sensibilité à la molécule qui lui était fatale. Elle peut donc se faire soit par mutation chromosomique soit par acquisition des gènes transférés d'un autre micro-organisme (Aboya, 2013).

Exemple de résistances acquises :

- *Streptococcus pneumoniae* résistants à la céphalosporine, pénicillines, amoxicilline.
- **Staphylocoques multi-résistants** sont insensibles pénicillines.

2-2-1- Résistance par mutation chromosomique :

Les résistances bactériennes par mutation chromosomique sont induites par des modifications structurales pouvant se traduire soit par un problème de perméabilité à un ou plusieurs antibiotiques, soit en rendant les cibles spécifiques des antibiotiques indifférentes.

La résistance chromosomique est un phénomène qui présente plusieurs caractères exceptionnels. Il s'agit premièrement de sa rareté puisqu'il intervient en moyenne tous les 10^5 à 10^{10} divisions de la bactérie (**Pallasch, 2003**).

Ensuite elle possède un caractère aléatoire car l'antibiotique n'est pas une molécule mutagène donc n'induit pas de mutation chez la bactérie. Cependant l'antibiotique participe à la sélection des bactéries mutantes. On note aussi son caractère spécifique (affecte un antibiotique ou une famille d'antibiotiques qui ont le même mécanisme d'action), son indépendance et son absence de transmissibilité (**Baudry, 2006**).

2-2-2- Résistance par acquisition de gènes :

La résistance bactérienne par acquisition d'information génétique exogène représente la majorité des cas isolés en clinique s'observe aussi bien chez les bactéries Gram positif qu'à Gram négatif. L'acquisition de nouveau matériel génétique peut se faire soit par échange direct de matériel chromosomique, soit par échange d'élément mobile. Dans ce dernier cas, les gènes de résistance se trouvent dans un fragment d'ADN bactérien situé à l'extérieur et sur certains éléments mobiles du chromosome, tels les plasmides ou des transposons (**Faure, 2009**).

Les bactéries utilisent trois mécanismes principaux de transfert horizontal d'éléments génétiques entre bactéries d'une même espèce ou d'espèces et de genres différents, à savoir la conjugaison (transfert direct entre deux bactéries ayant établi temporairement un contact physique), la transformation (transfert d'ADN nu) et la transduction (transport d'ADN bactérien par des bactériophages) (**Doublet et al., 2012**).

3- Mécanismes de la résistance:

Une souche bactérienne est dite résistante à un antibiotique quand elle est capable de se développer en présence d'une concentration élevée de cet antibiotique (**Lavigne, 2007**). Alors ces micro-organismes ont développé quatre types de mécanismes de résistance.

La diminution de la concentration intracellulaire en antibiotique par diminution de la perméabilité membranaire et /ou sur activation de l'efflux bactérien, inactivation des antibiotiques par dégradation ou modification enzymatique et l'altération de leurs cibles cellulaires (**Elodie, 2010**) (**Figure N°:11**).

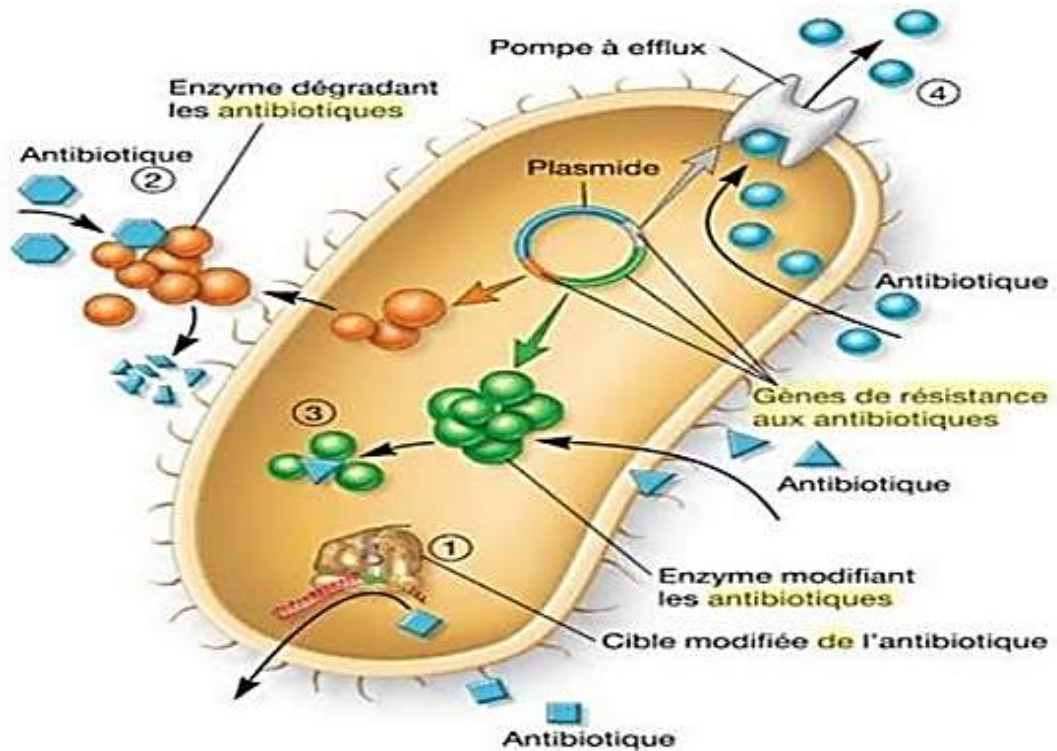


Figure 11 : Mécanismes de résistance aux antibiotiques (Presscot, 2018).

3-1- Diminution de la perméabilité membranaire :

La diminution de la perméabilité à l'antibiotique est due à des mutations affectant la structure des porines par diminution quantitative ou modification des porines (caveaux de pénétration des antibiotiques à travers la membrane externe des bactéries provoquant la résistance par défaut de pénétration passive de l'antibiotique (Rahal, 2013). par lesquelles l'antibiotique peut pénétrer dans la bactérie.

3-2- Efflux actif :

Il repose sur des protéines qui agissent comme des pompes, insérées dans la membrane cytoplasmique, elles expulsent les antibiotiques dans le milieu extérieur en utilisant l'énergie produite par la membrane cytoplasmique (Rahal, 2013). cet efflux conduit à une diminution de la concentration intracellulaire de l'antibiotique (exemple: la fosfomycine et le système de transport des glycéro-phosphates) (Lozniewsk, 2010).



Figure 12 : Système d'efflux active (Archambaud, 2009).

3-3- Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique :

Les cibles des antibiotiques sont majoritairement des protéines. Leur mutation et modification structurelle entraînant une perte d'affinité dans le couple cible-antibiotique. L'antibiotique ne pouvant pas se fixer correctement à sa cible, son action sera limitée (**Battraud, 2017**). C'est le cas des PLP qui sont les enzymes assurant l'assemblage des peptidoglycane de la paroi bactérienne (transglycosidase et transpeptidase) et qui sont ciblées par les bêta-lactames, classe d'antibiotique dont fait partie la pénicilline. La mutation des PLP provoque une diminution de l'affinité pour ces antibiotiques. Dans le cas des fluoroquinolones, la résistance est liée à la mutation des topoisomérases. Et enfin, la modification du ribosome confère la résistance aux tétracyclines et aux macrolides (**Mekadim, 2012**)

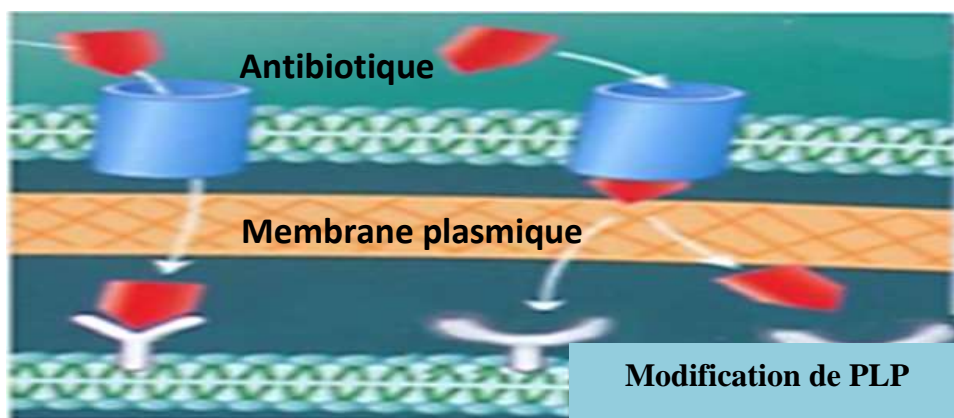


Figure 13 : Modification des PLP (Archambaud, 2009).

3-4- Inactivation enzymatique de l'antibiotique :

Certaines bactéries vont produire des enzymes capables de modifier ou de détruire un antibiotique, conduisant à son inactivité. Les principales familles d'antibiotiques concernées sont les β -lactamines, les aminosides, la famille des macrolides lincosamides-streptogramines (MLS) et les phénicolés (**Daoudi, 2014**).

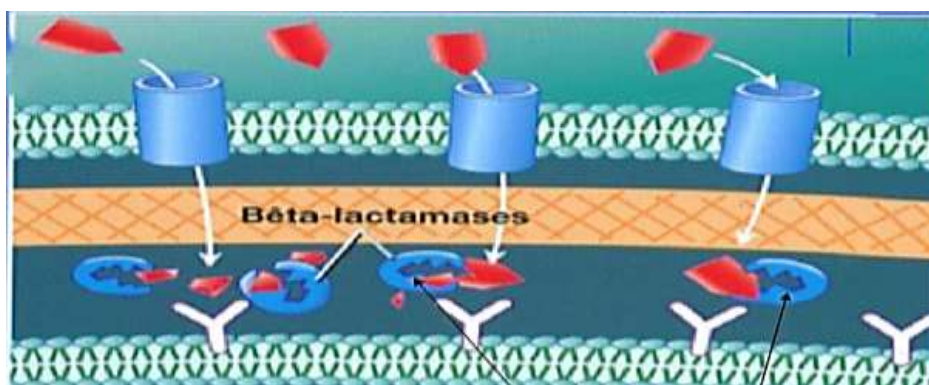


Figure 14 : Inactivation l'enzymatique (Archambaud, 2009).

DEUXIEME PARTIE



Materiel et Methodes



I- Lieu et période d'étude :

Cette étude a été effectuée au sein de l'hôpital de Mecheria «**Les Frères CHENAFI** » qui a été ouvert depuis 2016, qui est constituée de différents services médicaux et chirurgicaux : Médecine homme, Médecine femme, Réanimation, Chirurgie homme et Chirurgie femme, Dialyse, Service infectieuse et Oncologie. 0

Les analyses bactériologiques ont été réalisées durant une période de deux mois « **15 janvier jusqu'à 15 Mars** ». Au niveau de laboratoire de microbiologie – Centre Universitaire Salhi Ahmed -Naama.

II- Questionnaire

L'outil retenu pour le recueil des données, est un questionnaire composé des questions relatives aux connaissances et pratiques d'hygiène des mains, qui sont posés sur les personnels hospitaliers de service médecine homme et femme (**Annexe N°02**).

III- Méthodes :

1- Prélèvements :

Les prélèvements ont été menés dans le service médecine homme et femme. Ils proviennent de l'écouvillonnage des mains de chaque personnel hospitalier choisi : chef service, Médecines, Infirmières, Aides-soignants.

On a appliqué la méthode de COLBROUK 1930, qui consiste à faire poser un écouvillon stérile humidifié avec l'eau distillée stérile sur toute la surface de la main droite et gauche (plis palmaires, espaces interdigitaux, zone unguéale et péri unguéale) de personnel hospitalier. Tous les échantillons obtenus ont été acheminés rapidement au laboratoire de microbiologie pour être analysés.

L'écouvillon est mis ensuite dans un tube à essai contenant 5 ml de BCC, afin d'y décharger son contenu, puis incubé pendant 18 à 24h à 37°C.

2- Ensemencement :

Après la réalisation des prélèvements, et leur incubation. Un résultat positif est caractérisé par l'apparition d'un trouble. La culture est par la suite est ensemencé par la méthode de cadran sur différentes boites pétrie gélosées pour l'isolement et la recherche des germes. En suite tous ces boite ensemencées sont incubées à 37°C pendant 18 à 24h.

Les milieux sélectifs utilisés ont été préparés suivant les consignes des fabricants (La composition des milieux utilisés est illustrée dans (**Annexe N°03**). On note :

➤ **Gélose de Mac-Conkey :**

C'est un milieu de culture utilisé en bactériologie médicale pour la sélection des bactéries à Gram négatives, les entérobactéries ainsi que les bactéries non fermentaires « *Pseudomonas*, *Acénitobacter* ». Grâce à l'action de deux inhibiteurs, cristal violet et les sels biliaries pour l'inhibition de la flore à Gram positives.

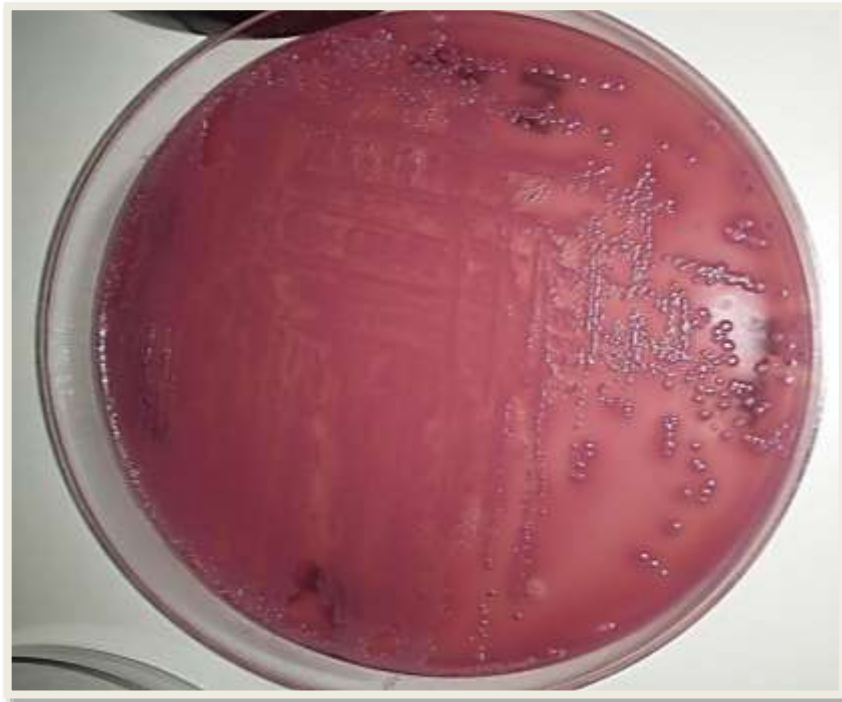


Photo 1 : Colonies des *E. coli* ensemencées sur gélose Mac Conkey.

➤ **Gélose de Chapman :**

Milieu sélectif, utilisé pour but de sélectionner les staphylocoques grâce à la présence d'une forte quantité en Na Cl qui inhibant les bactéries à Gram (-), et favorisant les bactéries à Gram (+).

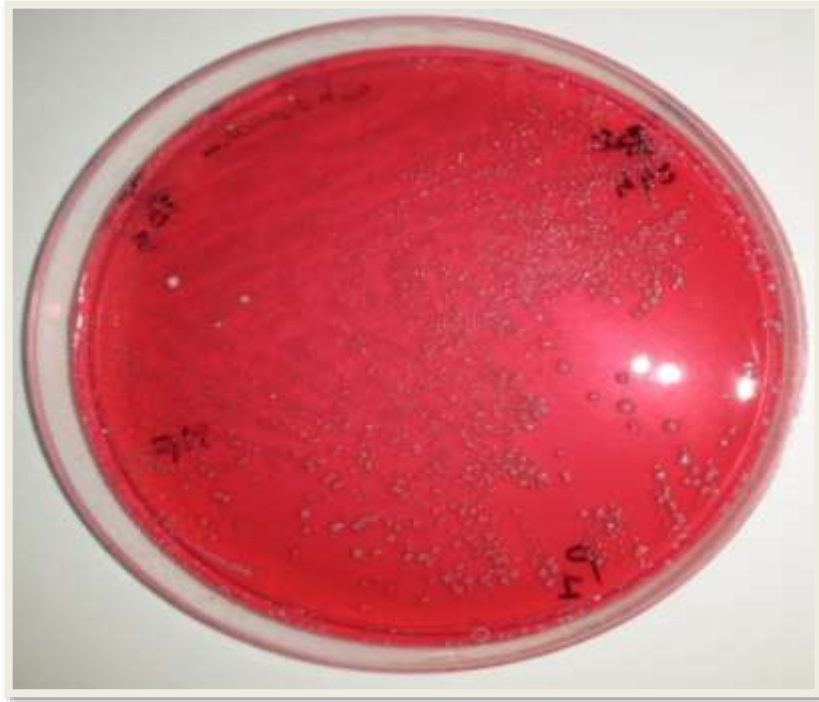


Photo 2 : Colonies des *Staphylococcus epidermidis* ensemencées sur gélose Chapman.

➤ **Gélose de Cétrimide :**

C'est un milieu sélectif, qui permet l'isolement des *Pseudomonas* et notamment de *P. aeruginosa*. Ce milieu est proche au milieu King A, qui favorise aussi la production des pigments.

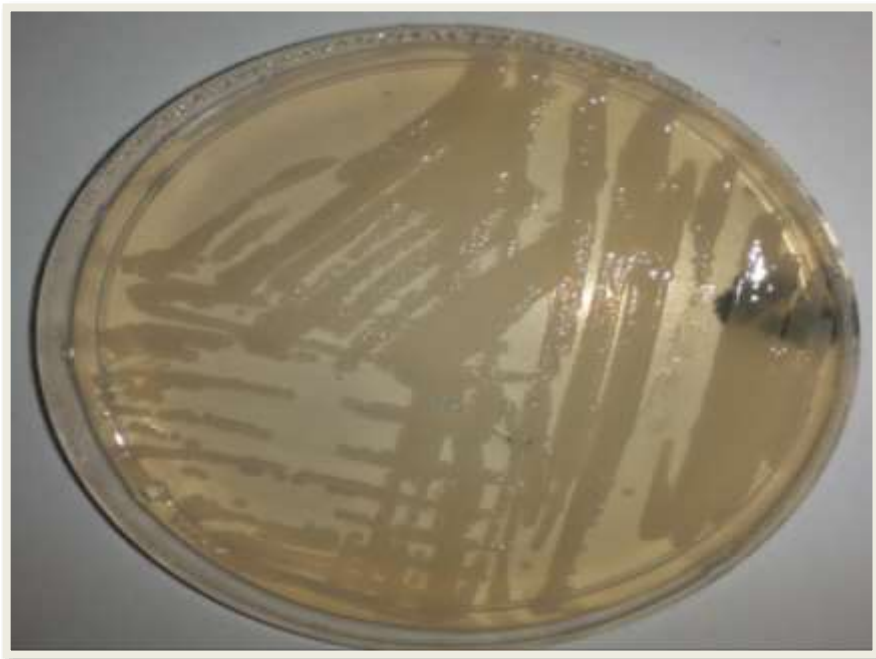


Photo 3 : Colonies de *Pseudomonas aeruginosa* ensemencées sur gélose Cétrimide.

➤ **Gélose à base de sang:**

C'est un milieu sélectif pour l'isolement des streptocoques et les entérocoques, enrichi par l'ajout d'une quantité de sang qui permet la mise en évidence des propriétés hémolytiques de ces bactéries.



Photo 4 : Colonies des streptocoquesensemencées sur gélose à base de sang.

3- Isolement et purification :

Isolement et la purification se fait par un repiquage successive des souches bactériennes sur le même type des milieux sélectifs jusqu'à l'obtention d'un isolat pure.

4- Identification :

L'identification des souches est réalisée par une identification préliminaire « Galerie Classique » et par les Galerie Api 10S et 20NE.

4-1- Tests préliminaires :

4-1-1- Examen macroscopique :

À l'œil nu, on peut distinguer les caractéristiques d'une colonie : la forme, la taille, l'élévation, l'odeur dégagé, l'opacité etc.

4-1-2- Examen microscopique (Coloration de Gram) :

➤ Principe :

La coloration de Gram (**mise au point par Christian Gram**) est une coloration de base en bactériologie. Elle aussi appelle coloration **V.L.A.F** (Violet .Lugol. Alcool. Fischine). C'est une "**coloration double**", qui permet de différencier les bactéries:

- D'après leur forme.
- D'après leur affinité des parois pour les colorants.

Cette coloration aide à déterminer deux grands groupes appelés Gram positif et Gram négatif, et de donner une information rapide et médicalement importante. (**Degrement, 2005**).

➤ Technique :

La coloration de Gram ou coloration différentielle s'effectue de la manière suivante :

- Préparation d'un frottis bactérien, on prélève la colonie bactérienne à identifier, et on l'étale sur une goutte d'eau physiologique déposée sur une lame propre puis on la fixe par simple passage sur la flamme du bec Bunsen.
- Verser le **Violet de Gentiane** sur la lame, laissée en contact 1 minute, ensuite laver rapidement par l'eau courante.
- traité durant une minute par la solution de **Lugol** et laver à l'eau.
- Décoloration, en traitant avec **l'alcool**, on fait couler de l'alcool sur le frottis, rincer immédiatement à l'eau. A ce stade, les cellules à Gram négatives seront incolores, les cellules à Gram positives restent violettes.
- En suite recouvrir le frottis par la fuchsine, laisser **agir** environ 1 min. pour recolorer les cellules Gram négatives présentes puis laver et sécher avec un papier buvard propre (**Annexe N°04**).
- Examiner le frottis, L'observation se fait à l'objectif x10, x40 et x100 sous immersion.

➤ Lecture :

- Bactéries colorées en violet foncé sont des « **Gram positives** » Staphylocoques, streptocoques, entérocoques.
- Bactéries colorées en rose sont des « **Gram négatives** » *Entérobactéries, Pseudomonas, Acénitobacter*.

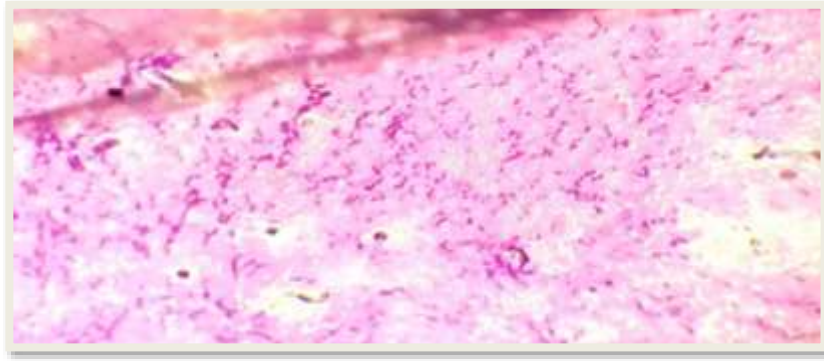


Photo 5 : Observation microscopique des streptocoques colorés par violet.

4-2- Tests biochimiques :

4-2-1- Test de Catalase :

➤ **Principe :**

La catalase est un enzyme ayant la propriété de décomposer le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) avec dégagement d'oxygène selon la réaction suivante:



➤ **Technique :**

Sur une lame propre et sèche et à l'aide d'une pipette pasteur on dépose une colonie bactérien, sur laquelle on ajoute une goutte d' H_2O_2 à 10 volumes. La lecture du résultat est immédiate (Delarras, 2007).

➤ **Lecture :**

- **Catalase(+):** Dégagement des bulles de gaz.
- **Catalase (-):** pas dégagement des bulles de gaz.

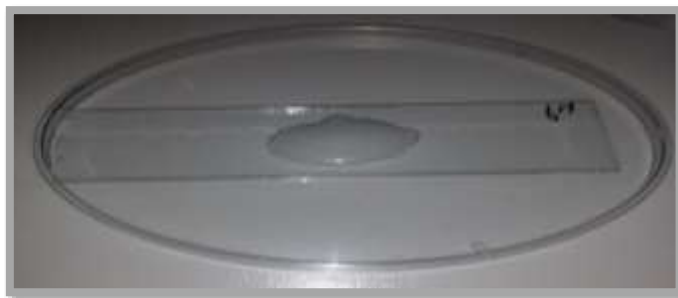


Photo 6 : Test de Catalase positive pour les entérobactéries.

4-2-2-Test d'oxydase :

➤ **Principe :**

Le test de l'oxydase est fondé sur la production bactérienne d'une enzyme oxydase intracellulaire. En présence d'oxygène atmosphérique et de cytochrome C, cette enzyme oxyde le réactif le N diméthyle paraphénylène diamine pour former un composé coloré en violet « l'indophénol » (Brahmia, 2016).

➤ **Technique :**

- Déposer sur une lame un disque d'oxydase et l'imbiber avec une goutte d'eau physiologique stérile.
- Prélever une colonie à l'aide d'une pipette Pasteur et l'étaler sur le disque.

➤ **Lecture :**

- **Oxydase positive :** La colonie prend une teinte violette.
- **Oxydase négative :** La colonie reste incolore.



Photo 7 : Test d'Oxydase positive pour *Pseudomonas aeruginosa*.

4-3- Identification des streptocoques :

4-3-1- Identification morphologique :

Les streptocoques peuvent être classés en fonction de leur capacité à induire une hémolyse sur un milieu de gélose au sang frais. Certaines sont non hémolytiques, d'autres peuvent se produire deux types d'hémolyse : **alpha (α)** et **bêta hémolyse β** .

1- Alpha hémolyse : « hémolyse partielle ou incomplète » correspond à l'espèce *Streptococcus pneumoniae*, présente un changement de couleur dans la gélose à une couleur vert très foncé. Ceci résulte de l'oxydation de l'hémoglobine en méthémoglobine par le peroxyde d'hydrogène sécrétée par les bactéries.

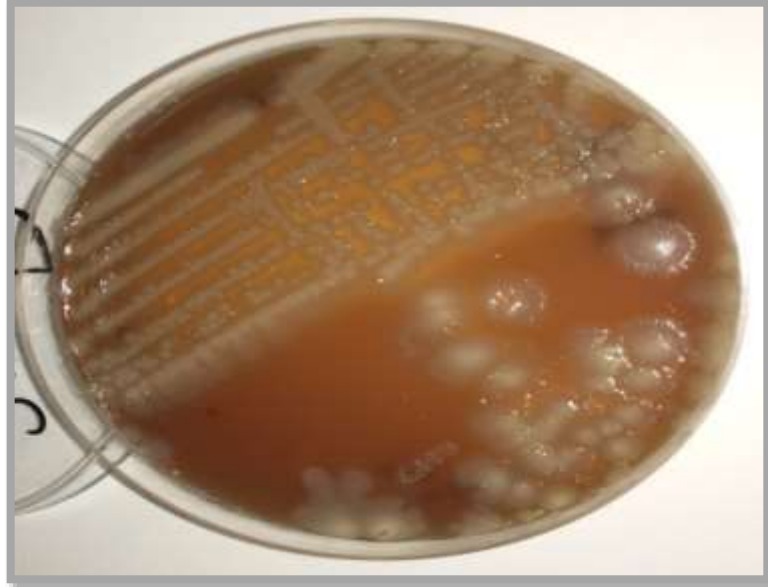


Photo 8 : Colonies des streptocoques alpha hémolytique ensemencées sur GBS.

2- Beta hémolyse : se réfère à la lyse complète des cellules sanguines. Elle se présente comme une couleur jaune transparente sur le milieu de gélose au sang frais. Subdivisé en deux groupes A et B.

- Streptocoque du groupe A :

Streptocoques bêta-hémolytiques du groupe A (SBHA) qui correspond à l'espèce *Streptococcus pyogenes*. Sur gélose au sang frais, les SGA produisent une hémolyse complète sous forme d'un halo clair autour des colonies.

- Streptocoque du groupe B :

Streptocoques bêta-hémolytiques du groupe B qui correspond à l'espèce *Streptococcus agalactiae*. Les streptocoques du groupe B donne habituellement, sur gélose au sang, des colonies entourées d'une zone étroite d'hémolyse à bords flous

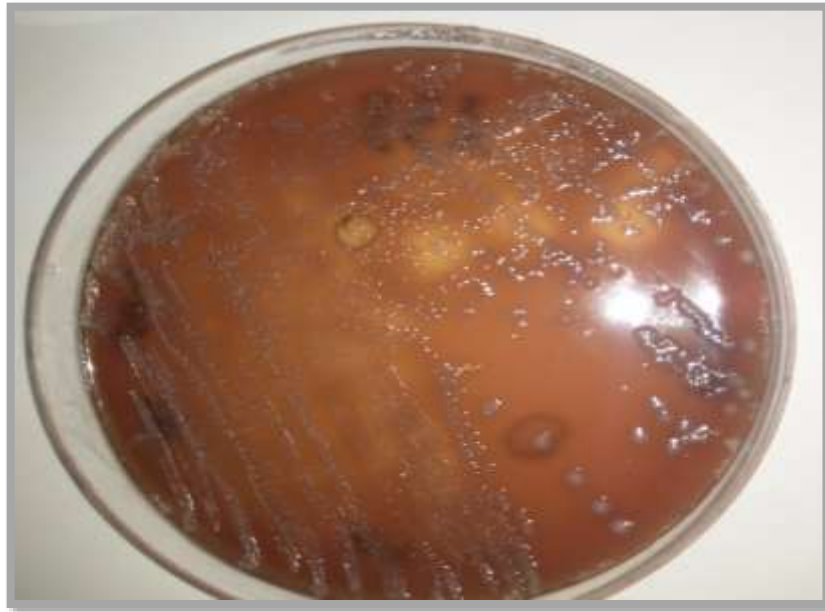


Photo 9 : Colonies des streptocoques beta hémolytique ensemencées sur GBS.

3- Hémolysé γ (absence d'hémolysé): dans ce troisième cas il n'y a pas d'hémolysé ; où la gélose au sang reste totalement rouge. Les plus souvent sont les Streptocoque du groupe D

- **Les streptocoques du groupe D (Non hémolytiques) :**

Cultivent sur des milieux ordinaires et même en présence de substances inhibitrices comme la Bile-esculine. Sur gélose au sang frais, ils cultivent facilement en donnant de petites colonies grisâtres.



Photo 10 : Colonie des streptocoques non hémolytiques ensemencés sur GBS.

4-3-2- Test de la Bile-esculine :

➤ Principe :

La Bile Esculine est un milieu servant à l'identification présomptive des espèces d'entérocoques et les streptocoques D qui hydrolysent le glycoside et l'esculine en esculétine et en dextrose. L'esculétine réagit à un sel de fer en formant un complexe de couleur marron foncé ou noire. Du citrate ferrique est incorporé au milieu afin de servir d'indicateur de l'hydrolyse de l'esculine et de la formation d'esculétine qu'elle produit.

Les sels biliaries inhibent la croissance des bactéries Gram positives autres que les entérocoques (**Richard, 2016**).

➤ Technique :

- A l'aide d'une pipette pasteur on prélève une colonie a étudier et on ensemencer en stries les surfaces de gélose inclinées
- Incuber pendant 24 et 48 heures à 37°C.

➤ Lecture :

- **Réaction positive** : noircissement du milieu, pour la tolérance à la bile et l'hydrolyse de l'esculine.
- **Réaction négative** : aucun noircissement ne se produit, il n'y a pas eu de réaction.



(a) (b)

Photo 11 : Test Esculine : (a) Esculine négative, (b) Esculine positive.

4-4- Identifications des staphylocoques :

S. aureus est identifié sur l'aspect pigmenté des colonies, généralement sont pigmentées en jaunes et entourées d'une auréole jaune, Les autres espèces de Staphylocoques donnent des colonies plus petites, rosées et n'entraîne pas de virage du milieu.

4-4-1- Test de la coagulase :

➤ Principe :

La propriété de *Staphylococcus aureus* à provoquer la coagulation d'un plasma "lapin ou humaine" est due à la sécrétion d'une enzyme qui est la staphylocoagulase ou coagulase, coagule le fibrinogène par l'intermédiaire de la prothrombine qu'elle active en thrombine. La recherche de cette enzyme est essentielle pour distinguer les souches potentiellement pathogènes (Loir et Gautier, 2010).

➤ Technique :

La détection de cette coagulase s'effectue en ajoutant dans un tube à hémolyse 0.5 ml (500µl) de plasma humain ou de lapin et 0.5 ml d'une culture de 18 h en BCC de la souche à étudier. Le mélange est placé à l'étuve à 37°C et est incubé pendant 2-4 h. Des lectures doivent être effectuées toutes les heures au moins pendant les quatre premières heures.

➤ Lecture :

-Coagulase positif : Coagulation du plasma, la souche est *Staphylococcus aureus*.

-Coagulase négatif : Pas de coagulation du plasma, la souche n'est pas une *Staphylococcus aureus*.

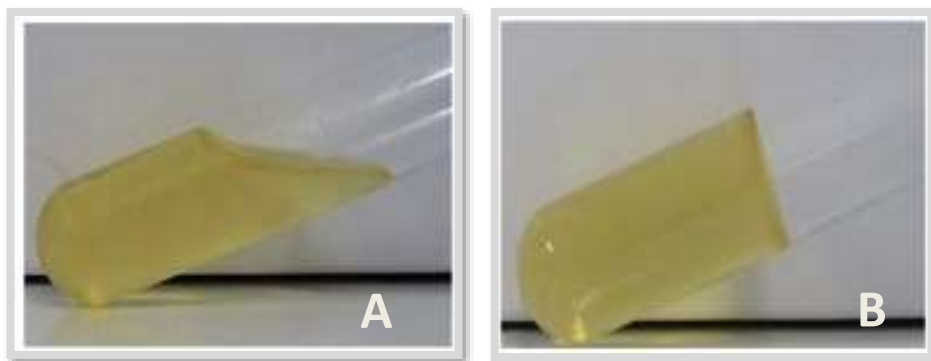


Photo 12 : Test Coagulase : coagulase négative (a), coagulase positive (b).

4-5- Identification par la Galerie API (BioMérieux) :

4-5-1- Identification par la Galerie Api 10 S :

➤ **Principe :**

La Galerie API 10 S est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux .C'est une technique de routine très utilisée en milieu professionnel pour le diagnostic in vitro et le contrôle microbiologique.

Une Galerie se compose de 10 micro-tubes contenant un substrat déshydraté pour réaliser 11 tests biochimiques miniaturisés. Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne à identifier, Les réactions produites durant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'additionne des réactifs. Un numéro de profil est déterminé d'après la série de tests (+ et -), qui permet d'identifier l'espèce (**Derafa, 2012**).



Photo 13 : Galerie API 10 S.

➤ **Technique :**

- Préparation de la Galerie :

Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5ml d'eau distillée stérile dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide. La référence de la souche est inscrite sur la languette latérale de la boîte. La galerie est déposée ensuite dans la boîte d'incubation.

- Préparation de l'inoculum :

A partir d'une culture jeune (18-24 heures), Faire une suspension bactérienne, dans un tube contenant 5ml d'eau physiologique stérile, d'opacité 0.5 sur l'échelle de Mac Farland avec quelques colonies bien isolées prélevée sur un milieu gélosé.

- Inoculation de la Galerie :

- Remplir à l'aide d'une pipette Pasteur les tubes et les cupules des tests : CIT, VP et GEL avec la suspension bactérienne.
- Remplir uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests.
- Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- Refermer la boîte d'incubation, et incuber à 37 C° pendant 18-24 heures.

➤ Lecture :

Après incubation, la galerie sera lue et les résultats comparés au tableau de lecture Sur la fiche de résultats sont notées toutes les réactions spontanées ou révélées par l'addition des réactifs. Les réactifs appropriés sont ajoutés aux compartiments.

- 1 a 2 gouttes de réactif de Kovac à l'IND (faire la lecture dans les minutes qui suivent).
- 1 a 2 gouttes de réactif TDA.

4-5-2- Identification par la Galerie Api 20 NE :**➤ Principe :**

API 20 NE est un système standardisé pour l'identification des bacilles à Gram négatif non entérobactéries et non fastidieux (ex : *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, etc), combinant 8 tests conventionnels, 12 tests d'assimilation. On inocule chaque tube avec la suspension bactérienne à identifier, Certains des puits auront des changements de couleur résultants des différences de pH qui se traduisent par des virages colorés ; d'autres produisent des sous-produits qui doivent être identifiés avec des réactifs. Un numéro de profil est déterminé d'après la série de tests (+ et -), qui permet d'identifier l'espèce.



Photo 14 : Galerie API 20 NE.

➤ **Technique :**

- Préparation de l'inoculum :

Faire une suspension bactérienne, une seule colonie prélevée sur un milieu gélosé met dans une ampoule d'API NaCl 0.85% Medium ou dans un tube d'eau distillée stérile, en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu.

- L'inoculation de la Galerie API 20 NE :

- Remplir uniquement les tubes des tests NO₃ avec la suspension bactérienne.
- Créer une anaérobiose dans les tests : GLU, ADH, URE en remplissant leur cupule avec l'huile de paraffine.
- Remplir les tubes et les cupules des tests : GLU à PAC avec la suspension bactérienne.
- Refermer la boîte d'incubation et la placer à 35-37°C pendant 18 à 48 heures.

➤ **Lecture :**

Les Réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés, sauf certaines sont révélées par l'addition de Réactifs :

- **Test NO₃:** NIT I + NIT II.
- **Test TRP :** Réactif de Kovacs.

Noter les résultats et comparer les réactions avec le tableau de différenciation (**Annexe N°05**).

5- Antibiogramme :

➤ **Principe :**

L'antibiogramme consiste à déterminer la sensibilité et la résistance d'une souche bactérienne à divers antibiotiques, selon le communiqué du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (**CA-SFM, 2020**). Qui réalisé par la méthode de diffusion en gélose (méthode des disques), sont plus utilisées par les laboratoires cliniques. Elles consistent à disposer des disques de papier buvard imprégnés de concentration déterminée d'antibiotiques à la surface d'un milieu gélosé. Dès l'application des disques, l'antibiotique diffuse à partir du disque de manière uniforme dans la gélose. Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture (**Soude, 2005**).

➤ **Technique :**

A partir d'une culture pure de 18-24 h sur milieu gélosé, une suspension en 5ml de solution saline stérile (0,9 % NaCl) a été préparée en équivalente au standard Mc Farland 0,5 (10^8 UFC/ml) (CA-SFM, 2020). L'ensemencement se fait par écouvillonnage (**Méthode de Kirby**). A l'aide d'un écouvillon on ensemence par des stries serrés et en tournant la boîte de pétri à chaque fois de 60° et ceci trois fois afin d'assurer une bonne distribution des bactéries.

✚ **Application des disques d'ATB :**

Les disques d'antibiotiques sont déposés sur la gélose Muller Hinton avec une pince métallique stérile, puis incubées pendant 18h - 24 h à 37°C.

➤ **Lecture :**

- La lecture a été faite par la mesure avec précision les différents diamètres des zones d'inhibition, en comparaison ces résultats aux valeurs critiques figurant dans **les tableaux 2 et 3, 4**.
- Les bactéries ont été classées dans l'une des catégories : Sensible (**S**) ou Résistance (**R**).

Tableau 2 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour les entérobactéries (CA-SFM, 2020).

Antibiotiques	Signes	Charge du disque	Diamètres critiques (mm)	
			S ≥	R <
Amoxicilline	AML	20 µg	19	19
Céfotaxime	CTX	5 µg	20	17
Céfixime	CFM	5 µg	17	17
Gentamicine	GEN	10 µg	17	17
Céftriaxone	CRO	30 µg	25	22
Tétracycline	TE	30 µg	18	15
Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole	SXT	1,25- 23,75 µg	14	11

Tableau 3 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* (CA-SFM, 2020).

Antibiotiques	Signes	Charge du disque	Diamètres critiques (mm)	
			S ≥	R <
Ticarcilline	TC	75 µg	50	18
Ticarcilline-acide clavulanique	TTC	75/10 µg	50	18
Piperacilline	PRL	30µg	50	18
Tobramycine	TOB	10 µg	18	18
Colistine sulfate	CS	30 µg	15	15
Aztréonam	ATM	30 µg	50	18
Doxycycline	DXT	30 µg	13	10

Tableau 4 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *Staphylococcus* spp. (CA-SFM, 2020).

Antibiotiques	Signes	Charge du disque	Diamètres critiques (mm)	
			S ≥	R <
Pénicilline G	PEN	1 unité	26	26
Erythromycine	E	15 µg	21	18
Tétracycline	TE	30µg	22	19
Vanomycine	VAN	30µg	17	17
Gentamycine	GEN	10 µg	18	18
Acide fusidique	ACF	10 µg	24	24
Pristinamycine	PTN	15 µg	22	19

TROISIEMME PARTIE

Résultats et Discussion



Résultats



I- Résultats des analyses bactériologiques:

1- Prélèvements :

Durant la période de notre travail qui s'est étalée de deux mois (15 Janvier – 15 Mars) au niveau de laboratoire de microbiologie de centre universitaire « **Salhi Ahmed de Naama** », **25** prélèvements ont été réalisés sur les mains des personnels hospitalier dans le service médecine homme et femme au niveau de l'hôpital de Mecheria « **Les Frères CHENAF A** ». Au totale **22** prélèvements sont révélés positifs, soit un taux de **88 %**, alors que **12 %** se sont négatives (**Figure 15**).

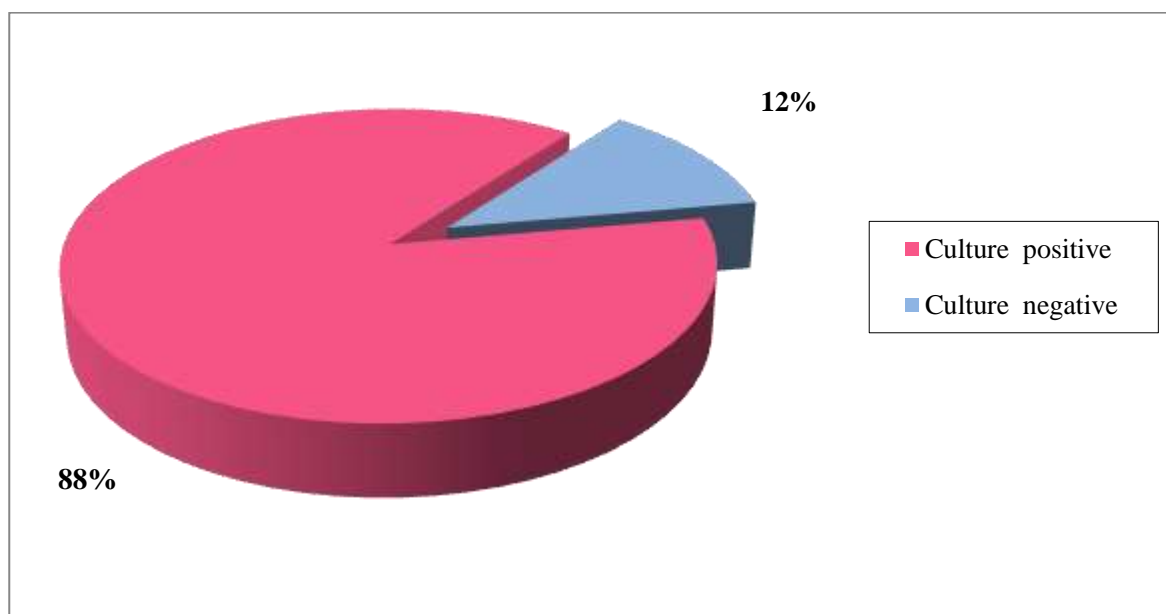


Figure 15 : Répartition des prélèvements positifs et négatifs.

2- Fréquences des souches isolées :

2-1- Fréquence globale :

L'analyse bactériologique nous a permis d'isoler et identifier sur un total de **62** souches, dont **40** souches sont des Cocci à Gram Positifs soit un taux de **64.51%** et **22** souches sont des Bacilles à Gram Négatifs soit un taux de **35.48 %** (**Figure 16**).

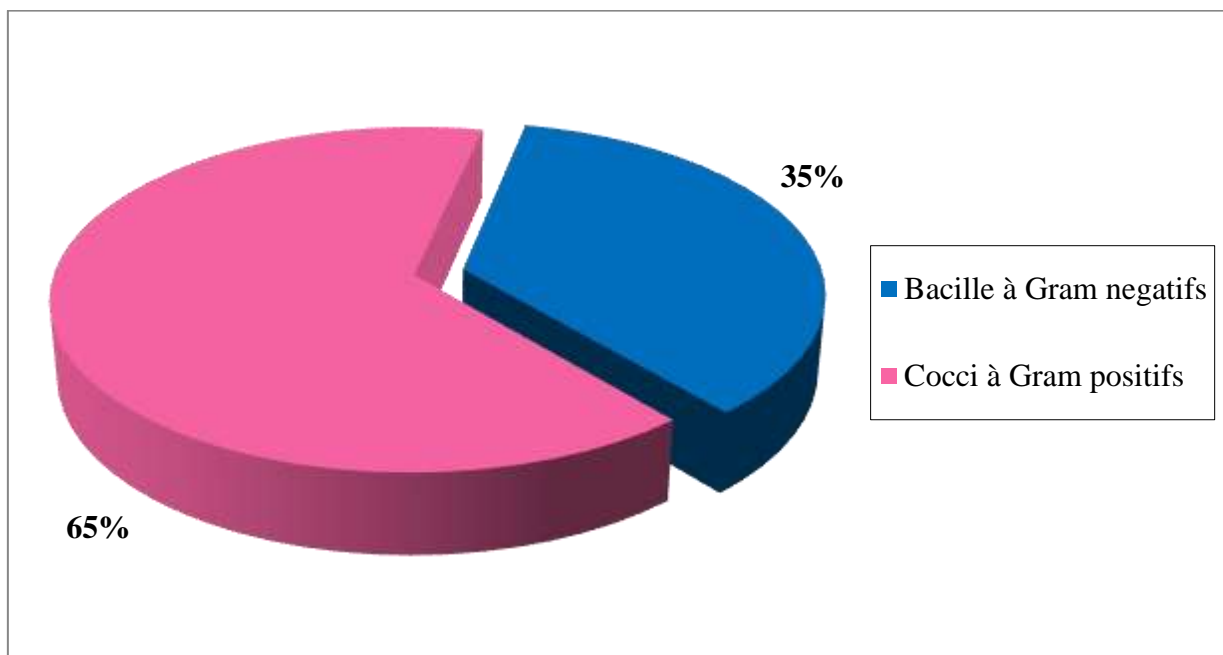


Figure 16 : Répartition globale des souches isolées.

2-2- Souches à Gram négatives :

➤ Entérobactéries:

L'analyse des espèces identifiées par rapport à l'ensemble des souches d'entérobactéries isolées, a montré une prédominance d'*Escherichia coli* avec 6 souches soit (27.27%), suivie des *Klebsiella pneumoniae* avec 5 souches soit (22.72%), *Shigella* avec 3 souches (13.63%) et *Escherichia Vulneris* avec 2 souches (9.09%).

➤ Bacilles non fermentaires :

Identifiées des *Pseudomonas aeruginosa* avec 4 souches (18.18%) et *Acinetobacnter baumannii* avec 2 souches (9.09%) (Figure 17).

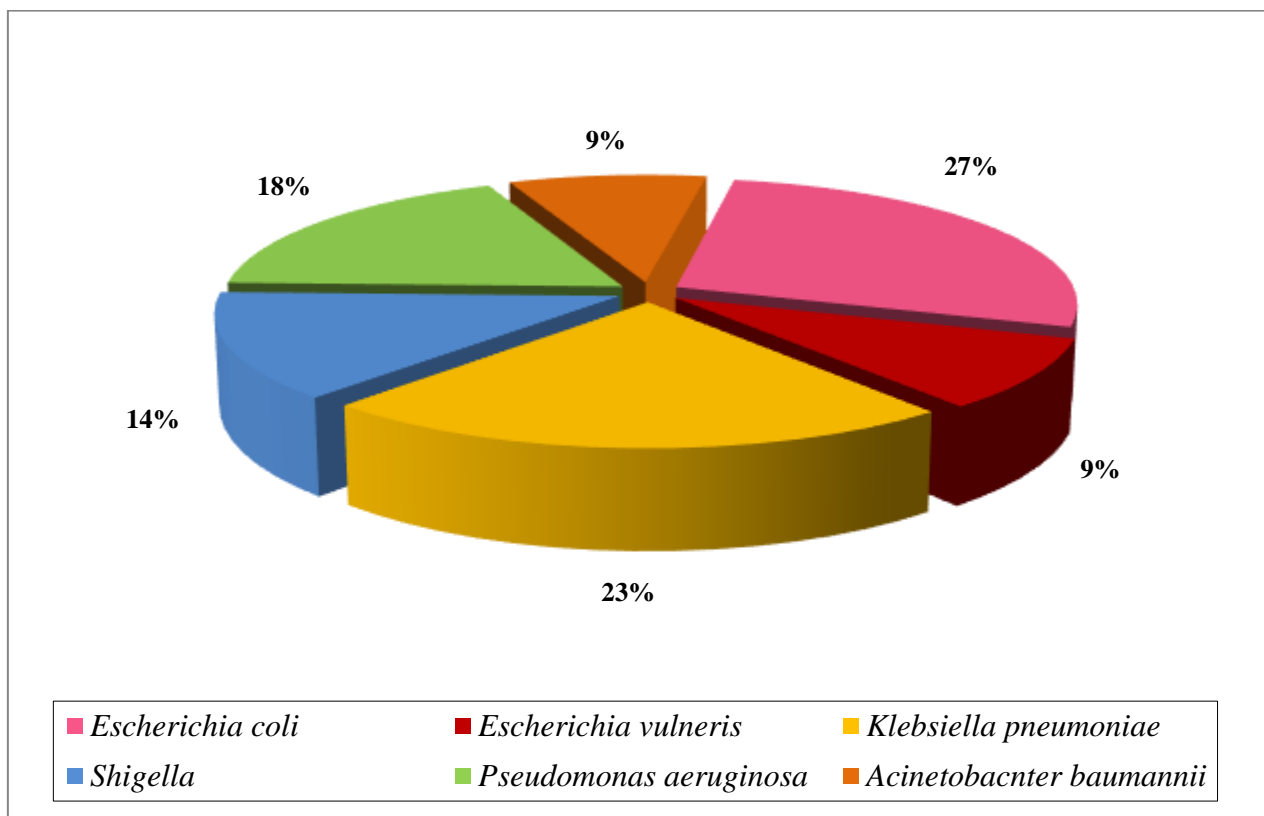


Figure 17 : Répartition de l'ensemble des espèces des bacilles à Gram négatifs isolées à partir des mains des personnels hospitaliers au niveau de service médecine homme et femme.

2-3-Biotypes des souches Gram (-):

L'étude biochimique par la Galerie **Api 10S** et **Api 20NE** nous a permis d'identifier **22** souches des bacilles à Gram négatives avec différents biotype qui sont mentionnées dans le **Tableau N°05**.

Tableau 5 : Résultats de l'identification biochimiques de différentes espèces isolées.

Souche	Oxydase	Catalase	Biotype
<i>Escherichia coli</i>	Négatif	Positif	7205
			7201
			7025
<i>Escherichia vulneris</i>	Négatif	Positif	7004
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Négatif	Positif	7404
			7124
			7506
<i>Shigella</i>	Négatif	Positif	2004
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Négatif	Positif	6404
			0000073
			0041053
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Positif	Négatif	1177642
			1577555



Photo 15 : Profil biochimique Api 10S de la souche *d'E coli* 2 avec un biotype 7205.



Photo 16 : Profil biochimique Api 10S de la souche *d'E vulneris* avec un biotype 7004.



Photo 17 : Profil biochimique Api 10S de la souche *Shigella* spp avec un biotype 2004.



Photo 18: Profil biochimique Api 10S de la souche *Klebsiella pneumoniae* avec un biotype 7404.



Photo 19 : Profil biochimique Api 10S de la souche *Acinetobacter baumannii* avec un biotype 6404



Photo 20 : Profil biochimique Api 20 NE de la souche *Pseudomonas aeruginosa* avec un biotype 1177642.



Photo 21 : Profil biochimique Api 20 NE de la souche *Pseudomonas aeruginosa* avec un biotype 1577555.

2-4-Souches à Gram Positives :

L'analyse des espèces identifiées par rapport à l'ensemble des souches cocci isolées, a montré une dissémination de *Staphylococcus aureus* avec **14** souches soit **(35%)**, suivie de *Staphylococcus epidermidis* avec **8** souches soit **(20%)**, *Streptocoques* avec **4** souches **(10%)**. et les *Enterocoques* avec **14** souches **(35%)** (**Figure 18**).

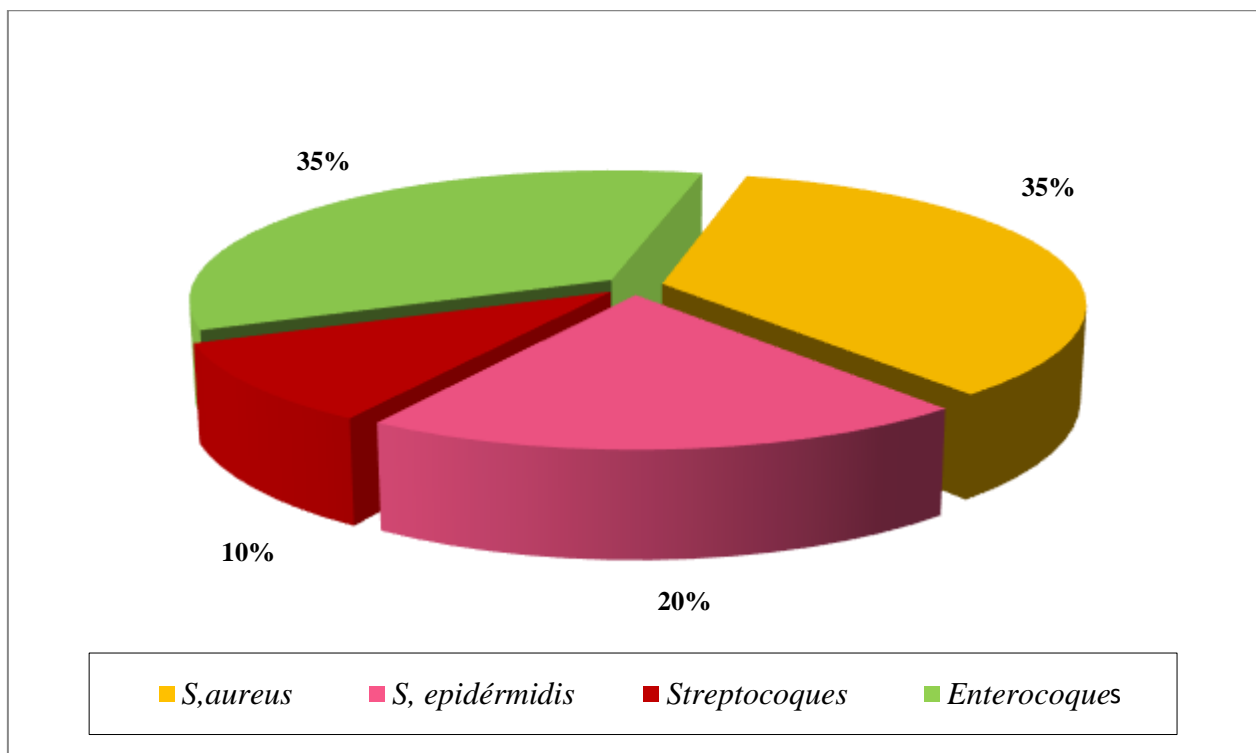


Figure 18 : Répartition de l'ensemble des espèces de cocci à Gram positifs isolées à partir des mains des personnels hospitaliers au niveau de service médecine homme et femme.

3- Répartition des souches isolées selon le type de services :

Le service de médecine homme enregistre le taux le plus important de souches isolées avec un taux de **64.51%** (**Figure 19**), par rapport au service de médecine femme où un taux **35.48%** (**Figure 20**).

Tableau 6 : Répartition des souches isolées dans le service médecine homme et femme.

Hôpital Souches	Service de Médecine Homme	Service de Médecine Femme
<i>Escherichia coli</i>	4 (10 %)	2 (9,09 %)
<i>Escherichia vulneris</i>	2 (5 %)	—
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5 (12.5 %)	—
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	—	4 (18.18%)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	—	2 (9,09%)
<i>Shigella</i>	3(7.5%)	—
<i>Staphylococcus aureus</i>	8(20 %)	6 (27.27%)
<i>Staphylococcus Epidérmidis</i>	4(10 %)	4 (18.18%)
<i>Streptocoques</i>	4(10 %)	—
<i>Enterocoques</i>	10 (25 %)	4 (18.18%)

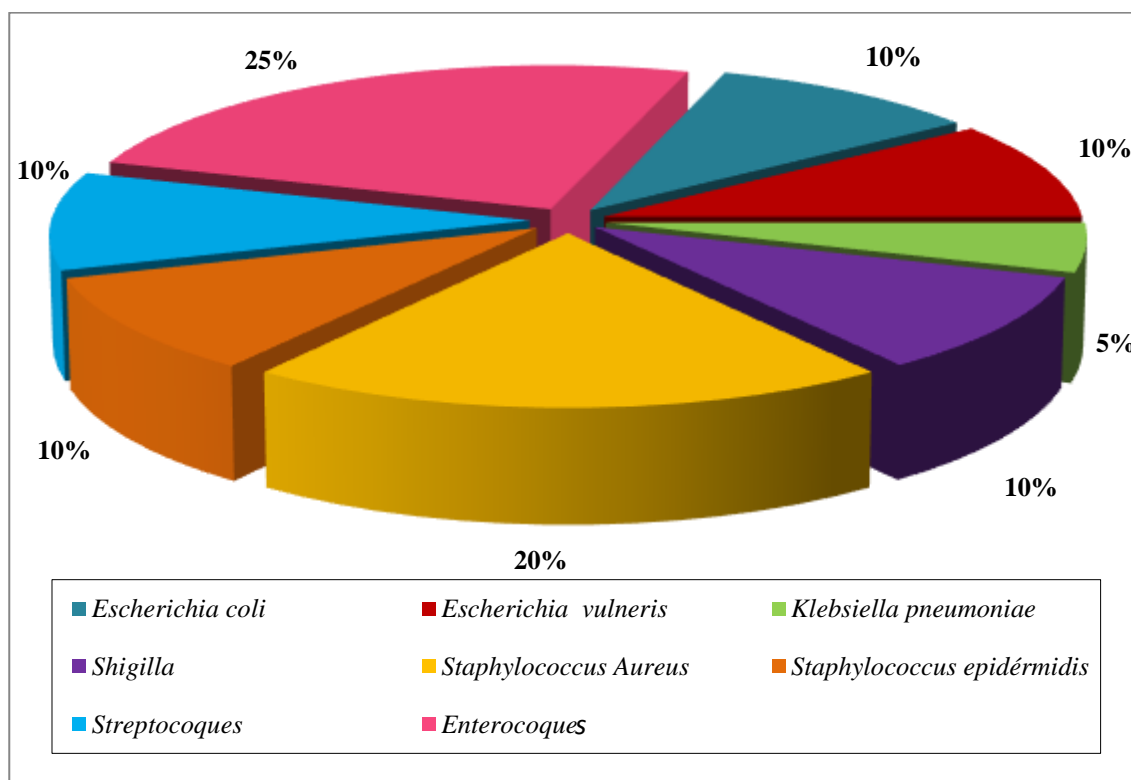


Figure 19 : Répartition de l'ensemble des espèces isolées à partir des mains des personnels hospitaliers au niveau de service de médecine homme.

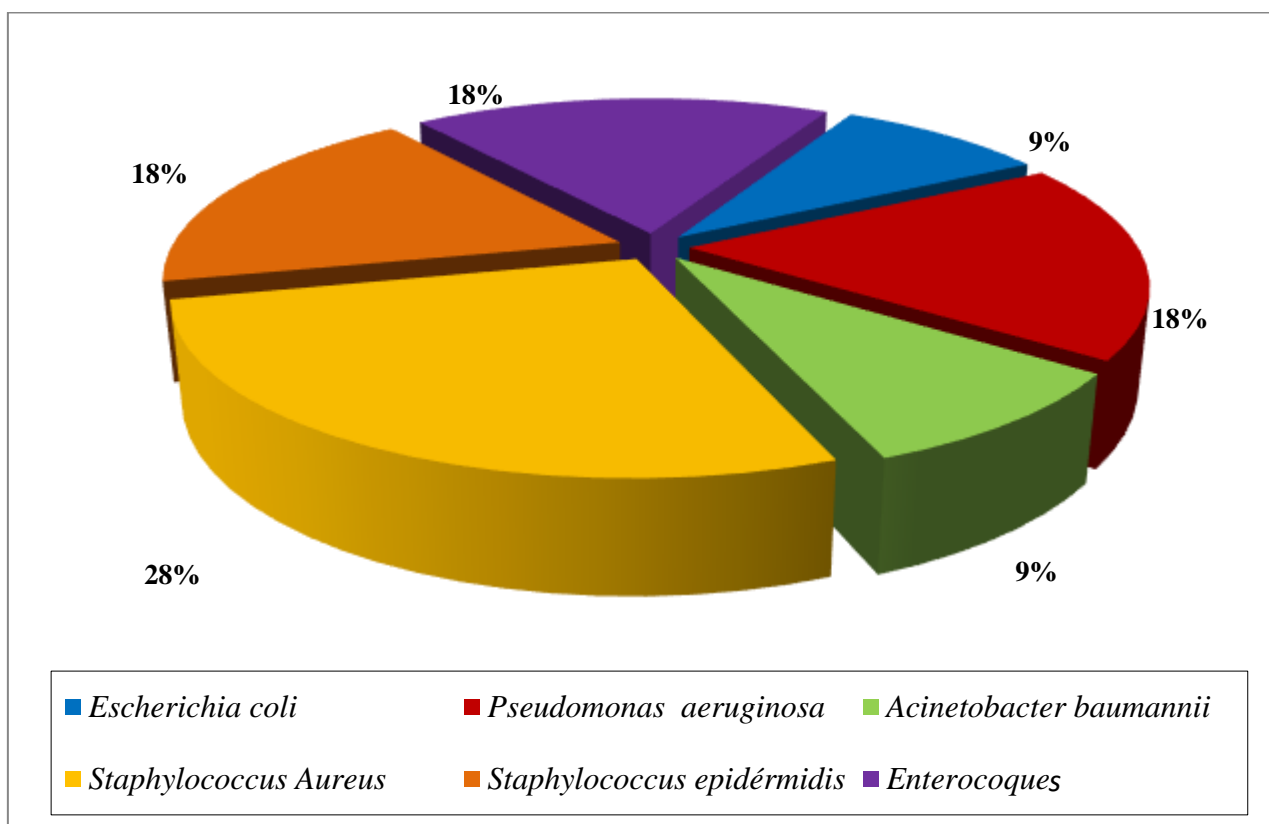


Figure 20 : Répartition de l'ensemble des espèces isolées à partir des mains des personnels hospitaliers au niveau de service de médecine femme.

4-3- Répartition des souches isolées Selon la fonction de personnels hospitaliers :

Les aids soignants et les infirmières de services médecine homme et femme apparaissent comme étant les personnels les plus contaminés par les germes nosocomiaux avec **72.58%**, suivi les médecins avec un taux **14.90%**. Le chef service vient en dernière position avec un taux de **12.51%** (Figure 21, 22).

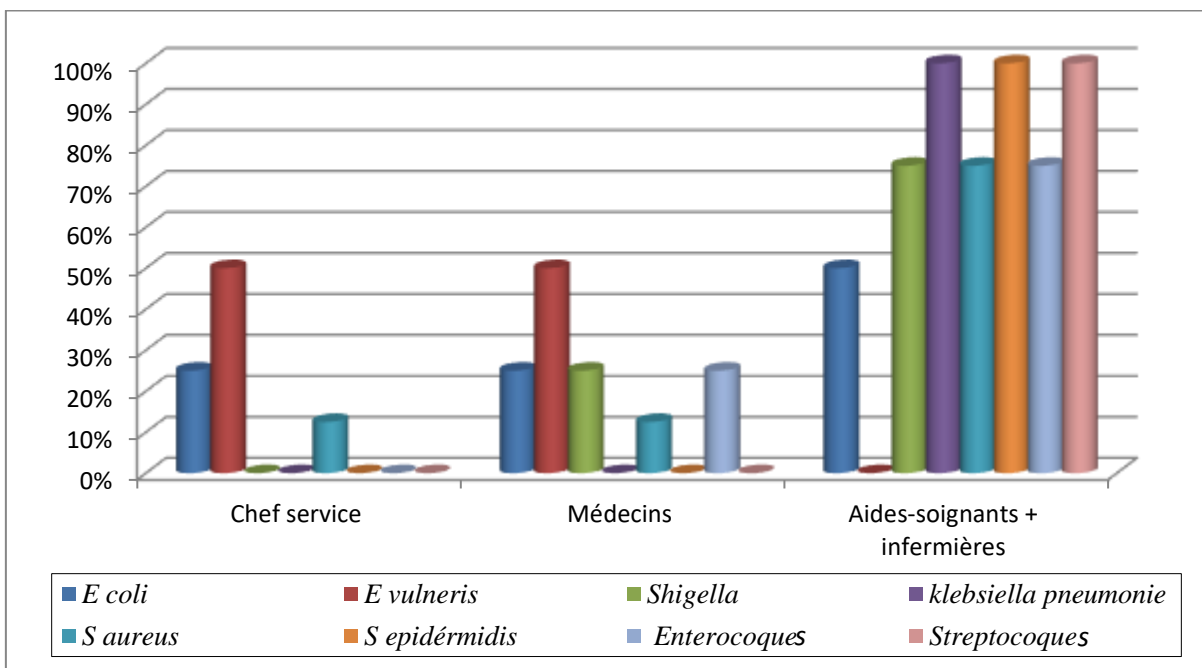


Figure 21 : Répartition des espèces isolées selon la fonction des personnels hospitaliers de service médecine homme.

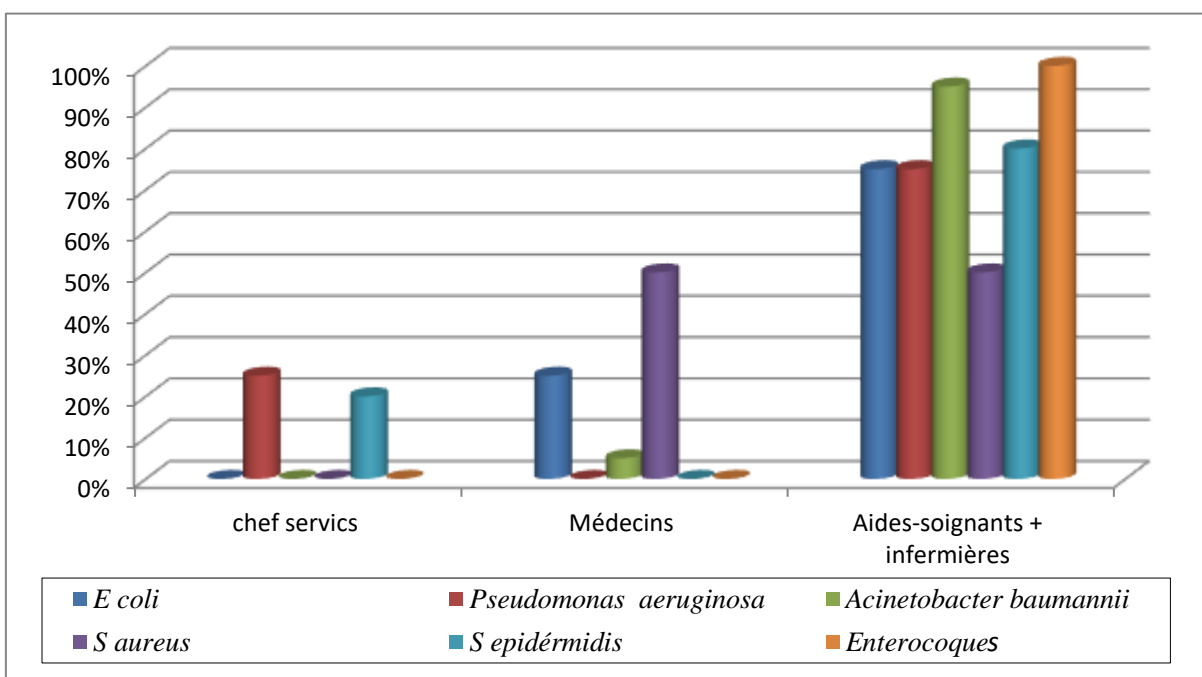


Figure 22 : Répartition des espèces isolées selon la fonction des personnels hospitaliers de service médecine femme.

II- Résultats de l'antibiogramme :

1- Les Entérobactéries :

Les Entérobactéries constituent un grand groupe de bactéries fréquemment impliquée dans les infections humaines. Cette famille étaient résistantes aux bêta-lactamines testés dont le taux varie selon l'espèce bactériennes et la molécule d'antibiotique. Les entérobactéries que nous avons identifiées dans notre étude sont comme le suivant :

1-1- *E. coli* :

L'ensemble des souches d'*E. coli* étudiées ont révélé une résistance totale (**100%**) Vis à vis l'Amoxicilline (**AML**), pour les Céphalosporine ont révélé un taux moyenne de **50%** Vis-à-vis le Céfixime (**CFM**) et **25%** Vis-à-vis les autres antibiotiques : Céfotaxime (**CTX**), et Céftriaxone (**CRO**). Suivi par un taux de résistance très important (**75%**) pour les sulfamides (sulfatméthoxazole+triméthoprine) « **STX** », cependant un taux faible de résistance de **25%** pour la Tétracycline (**TE**). Mais au contraire, on a noté une sensibilité totale aux Gentamycine (**GEN**) (**Figure 23, photos 22**).

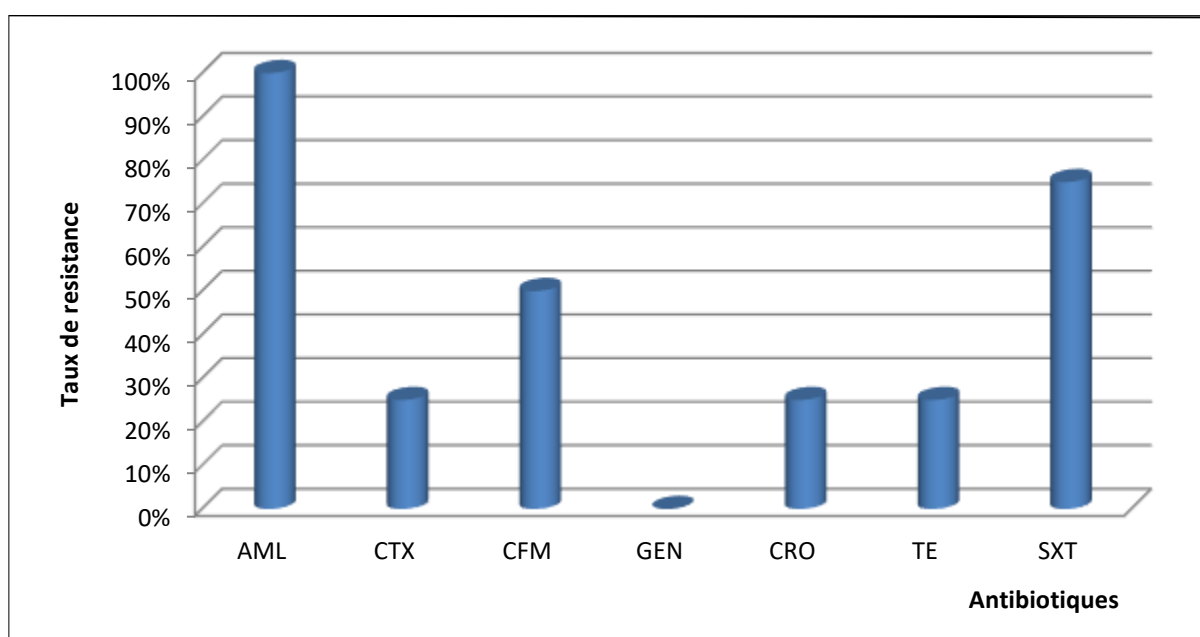


Figure 23 : Taux de résistance aux antibiotiques des souches d'*E. coli*.

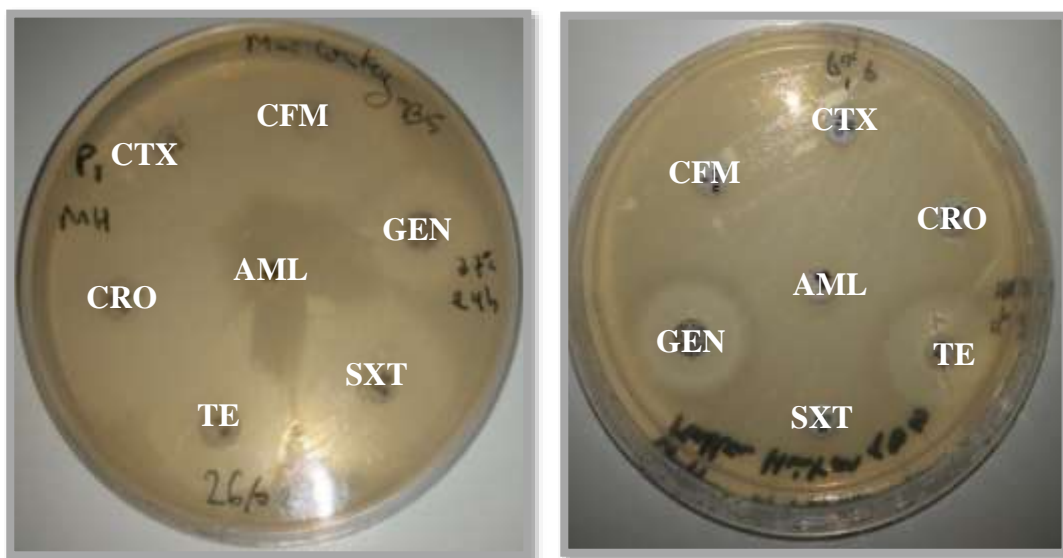


Photo 22 : Antibiogramme des souches d'*E.coli*.

1-2-*Shigella spp*:

Les souches *Shigella* ont une grande sensibilité à tous les antibiotiques testés (CTX, CFM, GEN, CRO, TE, SXT), sauf l'Amoxicilline présente une forte résistance avec un taux de 100% (Figure 24, photo 23).

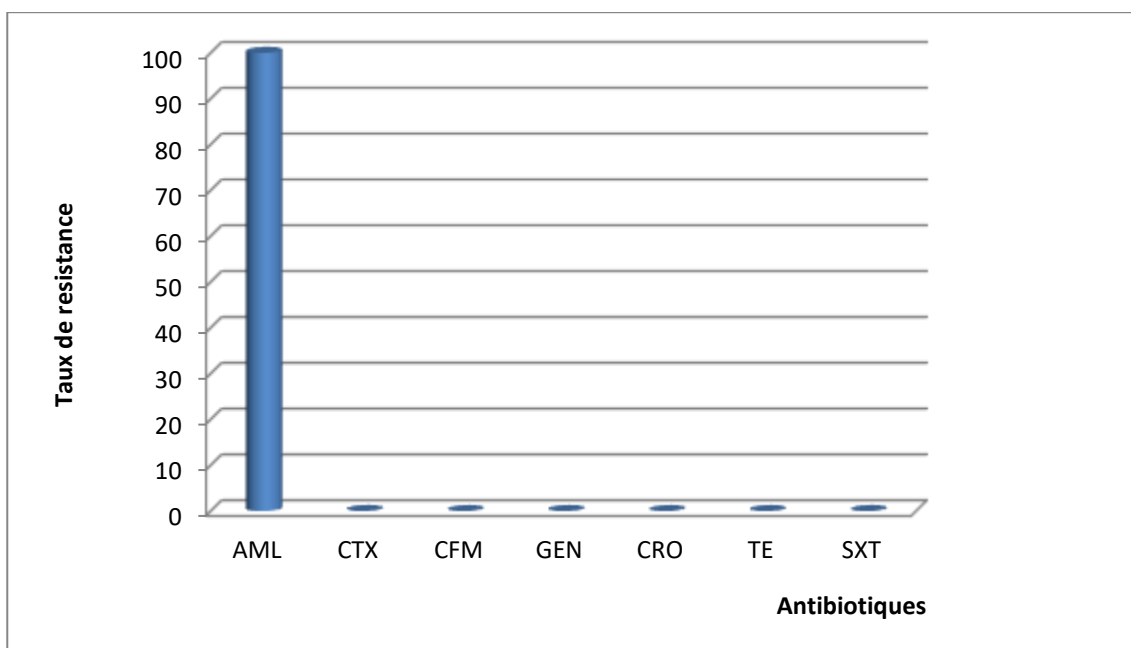


Figure 24 : Taux de résistance aux antibiotiques des souches *Shigella spp*.

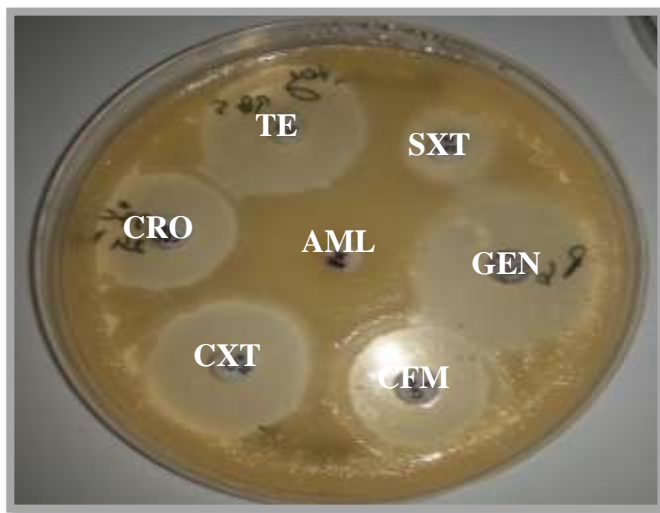


Photo 23 : Antibiogramme de la souche *Shigella spp.*

1-2- *Klebsiella pneumoniae* :

Les souches de *Klebsiella pneumoniae* identifiées présentent une résistance totale vis-à-vis l'Amoxicilline (100%) et pour les céphalosporines ont révélé un taux plus élevé de 75% vis-à-vis Cefexime (CFM) et 50% vis-à-vis les autres antibiotiques : Ceftriaxone (CRO) et Cefotaxime (CXT). 50% aussi pour la Gentamycine (GEN). Elles présentent une résistance de 40% vis-à-vis la Tétracycline. Elles présentent aussi une résistance assez faible de 25% à l'association Sulfaméthazole + Triméthoprim (Figure 25 et Photo 24).

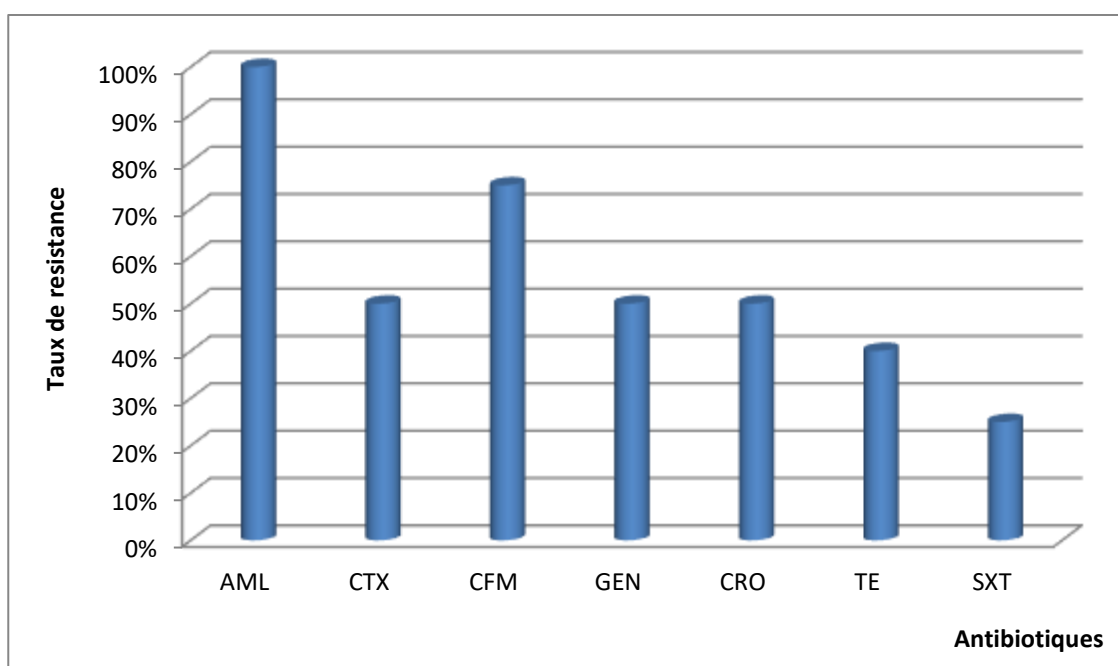


Figure 25 : Taux de résistance aux antibiotiques des souches *Klebsiella pneumoniae*.

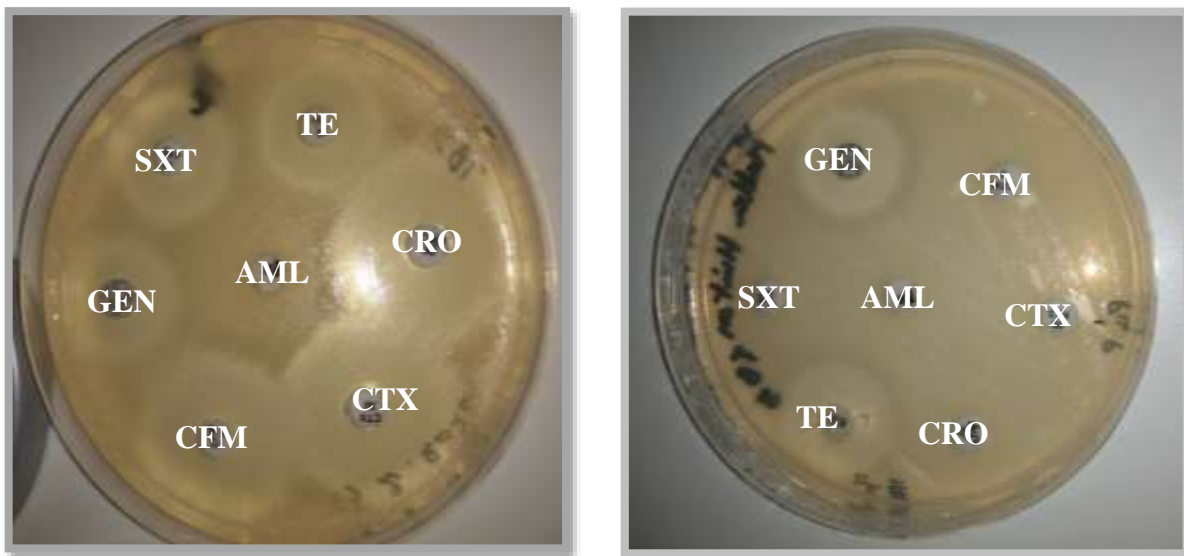


Photo 24 : AntibioGramme des souches de *Klebsiella pneumoniae*.

2- Entérobactéries non fermentaires :

2-1- *Acenitobacter baumannii* :

Chez les souches d'*Acenitobacter baumannii* on a noté une résistance totale (100%) vis-à-vis tous les antibiotiques de la famille des β -lactamines : l'Amoxicilline (AML), Céfotaxime (CTX), Céfixime (CFM), et Ceftriaxone (CRO). Par contre une bonne sensibilité (100%) aux Tétracycline (TE), Gentamicine et pour l'association Sulfamethaxazole +Triméthoprim (STX) (Figure 26, Photo 25).

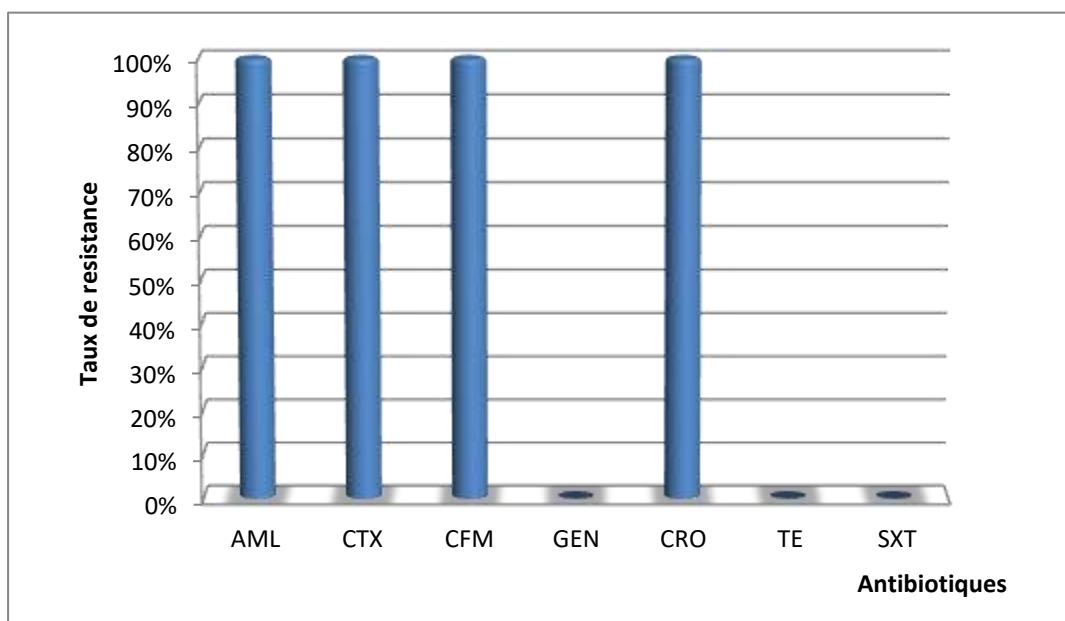


Figure 26 : Taux de résistance aux antibiotiques des souches d'*Acenitobacter baumannii*.

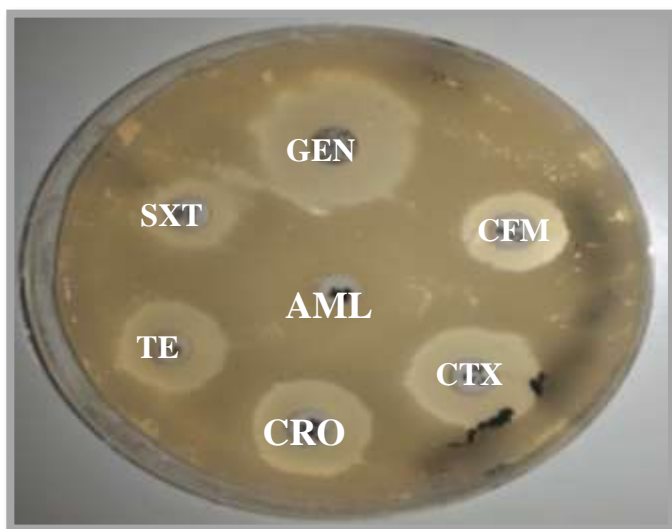


Photo 25 : Antibiogramme de souche d'*Acinetobacter baumannii*.

2-2- *Pseudomonas aeruginosa* :

Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* identifiées sont totalement résistantes (100%) aux Ticarcilline (TC), Tiarcilline-acide clavulanique (TTC), Piperacilline (PRL) suivi d'un taux de 85% pour Aztréonam (ATM), 65% pour les Aminosides : la Tobramycine (TOB), suivi d'un taux de résistance (50%) pour les polypeptides particulièrement pour la Colistine sulfate (CS). Concernant le Doxycycline (DXT) on a retrouvé une sensibilité totale (100%) (Figure 27 et Photo 26).

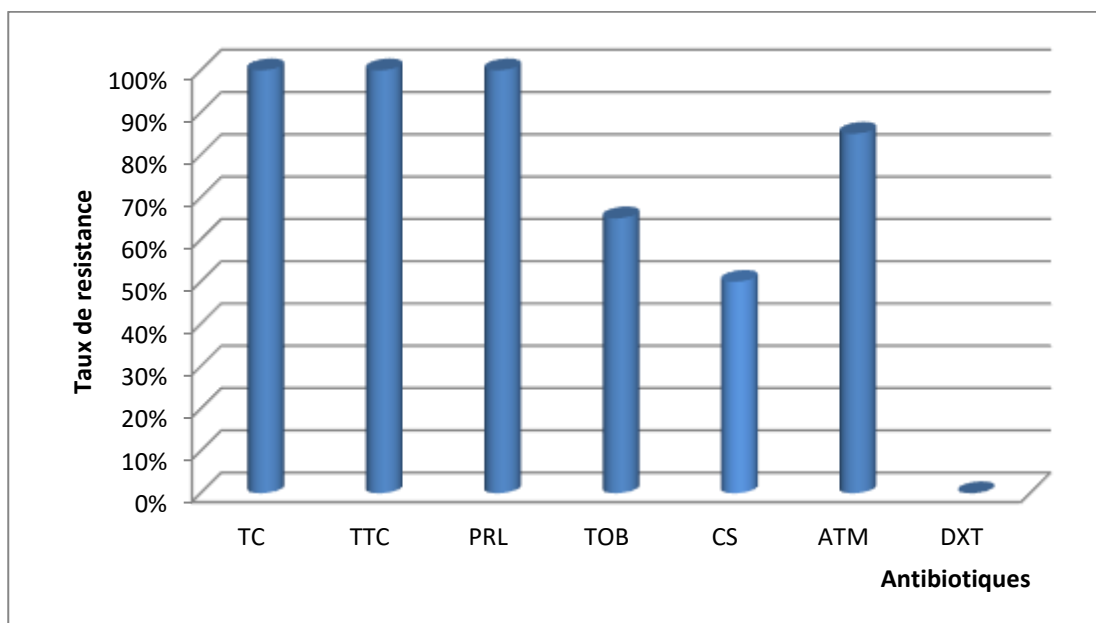


Figure 27 : Taux de résistance aux antibiotiques des souches de *Pseudomonas aeruginosa*.

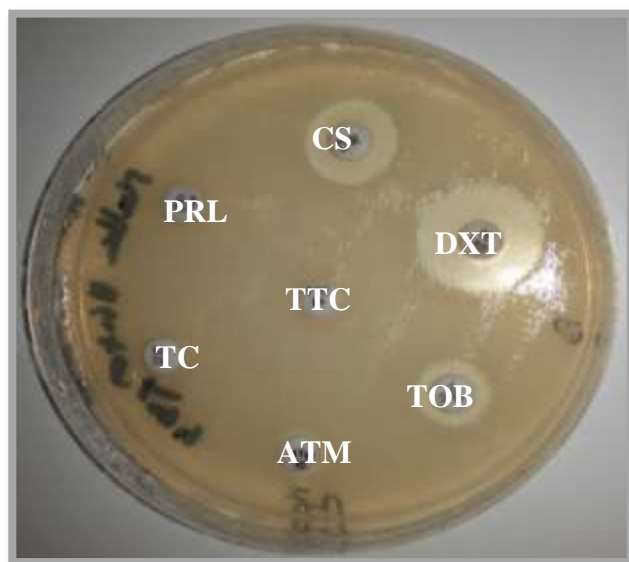


Photo 26 : Antibiogramme des souches de *Pseudomonas aeruginosa*.

3- *Staphylococcus aureus* :

L'ensemble des souches des *Staphylococcus aureus* étudiées avait une forte résistance 100% pour la Pénicilline (**PEN**), Vancomycine (**VAN**), Suivi de 50% pour Tétracycline (**TE**) et Acide fusidique (**ACF**) et de 25% pour Erythromycine (**E**) et Gentamycine (**GEN**). Antibiotique Pristinamycine (**PTN**) remarquées très active sur tous les souches testées (**Figure 28, Photos 27**).

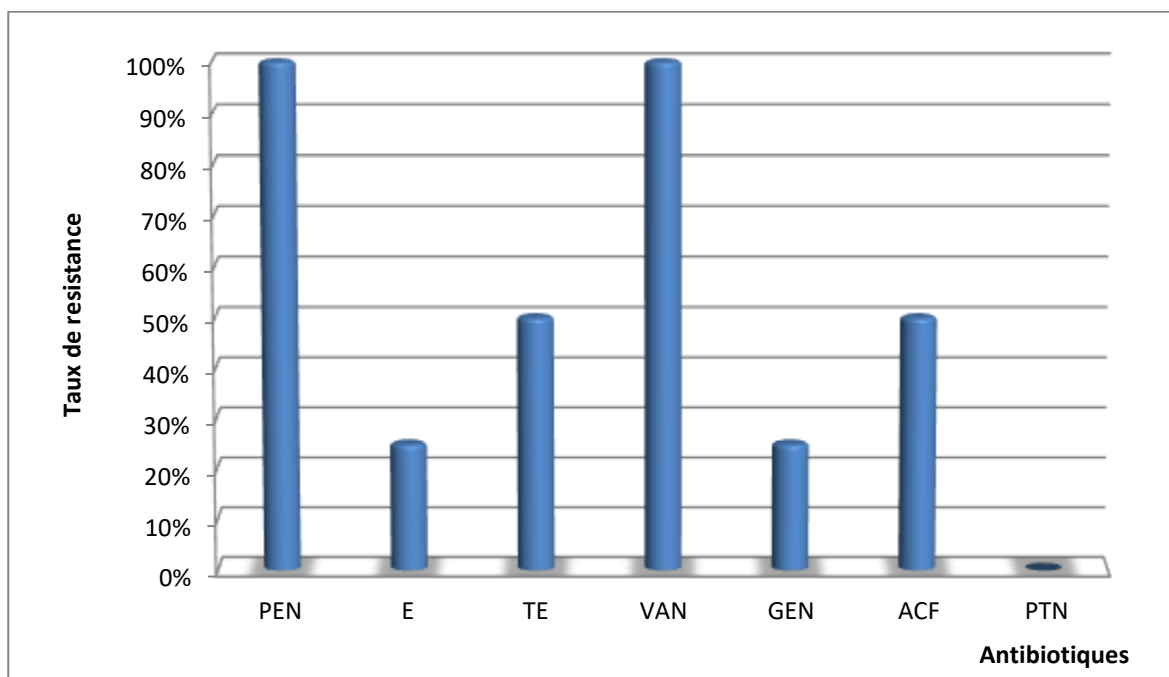


Figure 29 : Taux de résistance aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus aureus*.

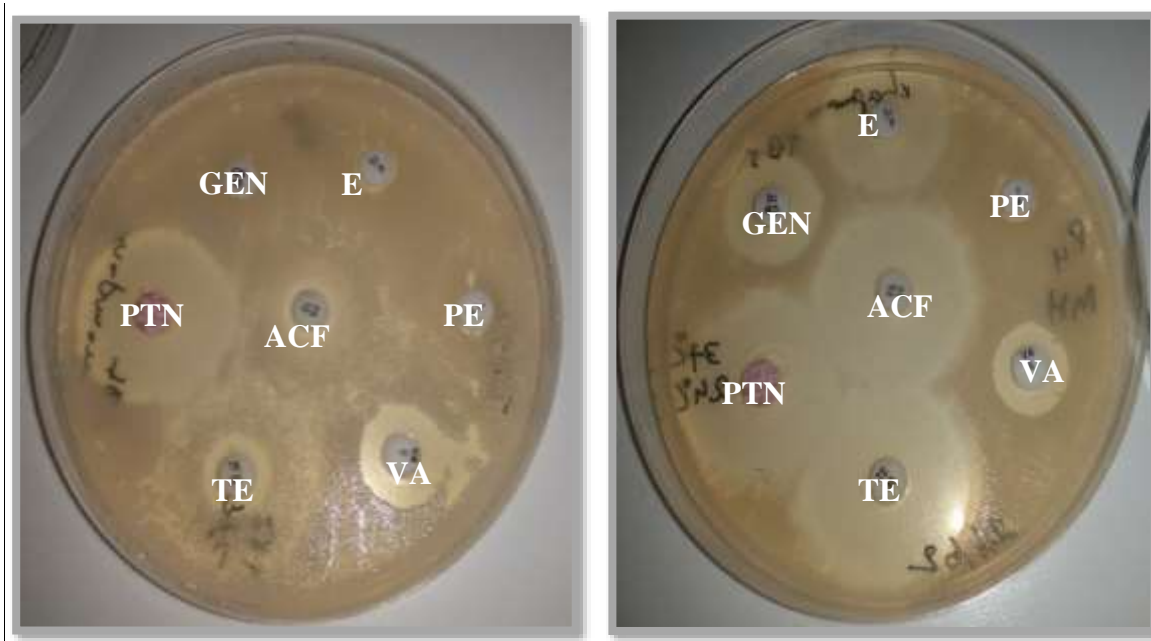


Photo 27 : Antibiogramme des souches de *Staphylococcus aureus*.

III- Résultats de l'enquête :

Nous avons effectué une enquête portant sur les connaissances, attitudes et pratiques liées au lavage des mains. Elle a concerné tous les personnels hospitaliers de service de médecine homme et femme. Mais, malheureusement à cause des conditions de dissémination du Corona virus, nous avons rencontrées des difficultés. Un grand nombre de personnels ne sont pas répondus, malgré que nous avons laissé les fiches d'enquêtes pendant 10 jours, mais à cause de la non disponibilité de certains enquêtés qui prétendaient être pressés et stressés et ils n'ont pas le temps pour répondre, seulement certains personnels hospitaliers ayant accepté de participer vis-à-vis cette enquête, soit 7 personnels exacte.

Les résultats de l'enquête sont résumés dans le **Tableau N°07** et la **Figure 29** :

Tableau 7: Détermination du niveau de connaissance et de la pratique du Lavage des mains chez les enquêtés.

	Les questions Les réponses	Effectifs		Pourcentage 100%	
		Oui	Non	Oui	Non
QST 1	Connaissance des enquêtés sur l'importance de l'hygiène des mains	7	0	100	0
QST 2	Connaissance des enquêtés sur les différents types du lavage des mains	5	2	71.42	28.57
QST 3	Connaissance des enquêtés sur la différence entre le lavage simple et le lavage hygiénique des mains	3	4	42.85	57.14
QST 4	Connaissance des enquêtés sur le type de lavage des mains pratiqué dans le service	5 LS	2 LH	71.42	28.57
QST 5	Connaissance des enquêtés sur le type de savon disponible et utilisé dans le service	5 SO	2 SA	71.42	28.57
QST 6	Attitude des enquêtés de laver les mains à l'arrivée et au départ de service	6	1	85.71	14.28
QST 7	Attitude des enquêtés de laver les mains avant et après tout contact avec un patient	3	4	42.85	57.14
QST 8	Attitude des enquêtés de laver les mains avant et après tout soin propre ou tout acte invasif	5	2	71.42	28.57
QST 9	Attitude des enquêtés de laver les mains avant d'enfiler et après le retrait des gants de soins	6	1	85.71	14.28
QST 10	Attitude des enquêtés de laver les mains après tout contact avec des liquides biologiques (sang, selles, urines ...)	4	3	57.14	42.85
QST 11	Attitude des enquêtés de changer les gants plusieurs fois pendant la journée	5	2	71.42	28.57
QST 12	Connaissance des enquêtés sur l'action des produits hydro-alcooliques sur les bactéries multi résistantes aux antibiotiques.	5	2	71.42	28.57
QST 13	Connaissance des enquêtés sur l'efficacité de la désinfection des mains avec un Produit hydro-alcoolique(PHA) par rapport un lavage au savon doux.	5	2	71.42	28.57
TOTALE		7		100%	

LS : Lavage simple LH : Lavage hygiénique

SO : Savon ordinaire SA : Savon antiseptique

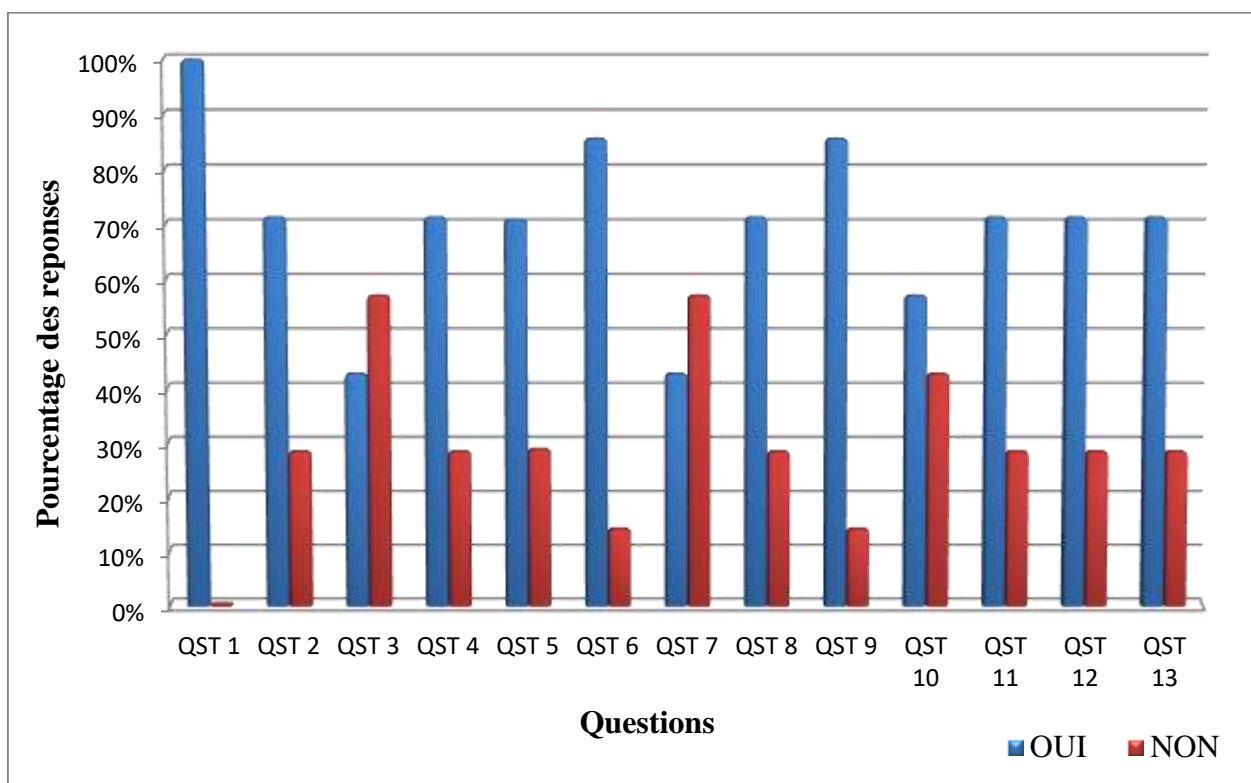


Figure 30 : Répartition des réponses obtenues de questionnaire sur les niveaux de connaissance et de la pratique du lavage des mains chez les différents enquêtés.

Notre enquête nous a permis de noter quelques observations :

- ✓ la plus parts des personnels hospitaliers (**100%**) connaissait l'importance de l'hygiène des mains. Et (**71.42%**) savaient qu'il existe trois types de lavage des mains.
- ✓ La différence entre le lavage simple et le lavage hygiénique des mains est non reconnu par la moitié des enquêtés (**57.14%**) ce qui est encore grave étant donné que le temps de lavage et le type de savon ont tous leur importance dans la bonne pratique des règles d'hygiène.
- ✓ Dans **71.42%** des cas, les enquêtés utilisent un savon ordinaire pour un lavage simple dans le service. . Ce qui s'explique par le fait que le savon ordinaire est plus accessible plus disponible et le moins cher. Les autres (**28.57%**) disaient que c'est le savon antiseptique liquide.
- ✓ Les enquêtés dans **85,71%** se lavaient les mains à l'arrivée et au départ du service.
- ✓ Les enquêtés dans **57.14%** des cas ne se lavaient pas les mains avec le savon avant et après tout contact avec un patient Et (**71.42%**) des cas se lavaient les mains avec le savon avant et après tout soin propre ou tout acte invasif.

- ✓ La majorité du personnel soit **85.71%** se lavaient les mains avant de porter et après de retrait les gants.
- ✓ Plus que la moities des personnels hospitalier changez les gants plus une fois pendant la journée.
- ✓ La majorité du personnel soit **71.42%** avait une idée sur l'efficacité de la désinfection des mains avec un Produit hydro- alcoolique (**PHA**) par rapport un lavage au savon doux. Et (**28.57%**) qui connaissait l'action des produits hydro alcooliques sur les bactéries multi résistantes aux antibiotiques.



Discussion



Notre travail a été axé sur la caractérisation des bactéries pathogènes isolées par les mains des personnels hospitaliers et d'évaluer l'incidence des bactéries résistantes aux antibiotiques dans le service médecine homme et femme.

D'après nos résultats, nous avons montré que la majorité des prélèvements sont souvent polymicrobiens, un panel de 62 souches bactériennes isolées, dont 40 souches sont des cocci à Gram positifs occupé la première place avec une fréquence très importante 65%, la dominance a été attribuée aux *Staphylococcus aureus* et Entérocoque suivi des *Staphylococcus epidermidis* et *Streptocoques*. Et 22 souches sont des bacilles à Gram négatifs avec une fréquence de 35%. Parmi les souches d'entérobactéries cliniques isolées trouvant :

*Escherichia coli*2 représente souvent la bactérie la plus identifiées parmi les bacilles à Gram négatifs (BGN) isolés des prélèvements cliniques (27.27%). Elle est souvent rapportée comme responsable des infections nosocomiales, suivi les *Klebsiella pneumoniae* avec une fréquence très près (22.72%). Quand celle-ci est considérée comme étant la cause majeure des infections urinaires, puisqu'elle réside principalement au niveau du tube digestif, et est capable de se disséminer facilement par transmission manu-porté. Comme cela été observé dans l'étude de (Rahal et al., 2018) en Algérie Et au Maroc par (Mrich, 2018).

En plus des espèces couramment isolées à l'hôpital, nous avons pu isoler d'autres espèces, qui sont rarement rencontrées en milieu hospitalier, il s'agit d'*Escherichia vulneris* et *Shigella spp* avec des taux faibles 9 à 13% respectivement.

Nous avons isolé aussi d'autres BGN non fermentaires, la plupart des études épidémiologiques ont montré la nette prédominance de *Pseudomonas aeruginosa*, suivi d'*Acinetobacter baumannii*.

La présence de nombreux germes dans tous les prélèvements que nous avons effectués. Peut être expliquée par les contaminations des mains des personnel directement ou indirectement par le matériel non stérile de l'hôpital et aussi aux déplacements du personnels entre les différents services sans aucun respect des modalités de prévention.

Une légère différence a été remarquée entre le service de médecine homme et femme. Où on a révélé 40 souches de 64.51% pour le service médecine homme. Alors que le service médecine femme a présenté 22 souches avec un pourcentage de 35.48%.

Tous les personnels hospitaliers ne sont pas égaux devant la colonisation de leurs mains avec certains agents pathogènes. Et ça revient au lange duré d'activités durant les soins et leurs contacts avec différentes objets et plusieurs patients, aussi leurs circulations dans les différents services. Les aïds soignants et les infirmières occupent la première place avec un taux de 72.58%, suivi les médecins avec un taux 14.90 %. Le chef service vient en dernière position avec un taux de 12.51%. Cette différence elle peut être liée à un déficit de l'hygiène hospitalière et à une défaillance du lavage des mains qui constitue un problème universel.

L'antibiogramme des entérobactéries isolées dans le service médecine homme et femme a révélé une résistance très élevée aux bêta-lactamines particulièrement à l'amoxicilline 100%, pour les autres antibiotiques le taux de résistances est varié selon l'espèce bactérienne.

Les résultats de l'antibiogramme indiquent que les souches d'*E.coli* isolées sont résistantes totalement vis-à-vis les bêta-lactamines particulièrement pour l'amoxicilline, aussi pour les sulfamides, sulfamethoxazole+trimethropine (SXT). Ce qui similaires aux résultats des études à l'échelle national en Algérie par (**Archi et Lalounatni, 2018**) et à l'échelle international en Côte d'Ivoire par (**Gadou, 2019**). Ont révélé une résistance faible concernant les tétracyclines et les céphalosporines de 3eme génération, soit comparant nos résultats avec ceux des autres études obtenu en Guelma par (**Bouguenoun, 2017**) où les taux de résistance ont été très élevés (100%). Au contraire on a noté une sensibilité totale pour l'aminoside particulièrement la gentamycine. Ces résultats sont différentes où les taux de résistance sont élevés (85%) de ceux décrits par (**Bennini et Mehdi, 2017**) et par (**Madi et Djema, 2019**) en Bouira.

La plupart des souches de *Klebsiella pneumoniae* sont résistantes vis-à-vis les bêta-lactamines notamment pour l'Amoxicilline, Ces résultats concordent bien avec ceux obtenus en Guelma par (**Cherafa et Ziadi, 2017**). Par contre les familles d'antibiotiques de Céphalosporines : céfotaxime(CTX), ceftriaxone(CRO). Ces taux de résistance étaient plus importants. Nos résultats vont dans le même sens que ceux obtenus par (**Gadou, 2019**). Qui représentent des taux de résistance (96,8 %). On a révélé une résistance moyenne vis-à-vis la Gentamycine, aussi pour la Sulfamethaxazole+Trimethoprin. ce qui semblable à plusieurs études réalisées aux Bamako au Mali (**Dafee, 2018**) , en Constantine (**Haouachi , 2017**), qui sont trouvées un taux de résistance respectivement soit (37,70% %) et (60.68%).

Un taux de résistance élevé a été observé chez les souches d'*Acinetobacter baumannii*, particulièrement aux l'amoxicilline et Céfotaxime, aussi à Céftriaxone. Ces taux sont similaires à celui rapporté dans les deux études obtenu en Maroc par (**Mortaji, 2019 et Wafi, 2017**) et en Algérie par (**Bouguenoun, 2017**). Aucune résistance n'a été observée à la Gentamycine, Tétracycline et l'association de Sulfamethaxazole+trimethoprin. Nos résultats différent de ceux rapportés dans plusieurs études en Tizi Ouzou par (**Allal et Hadbi, 2018**), en Maroc par (**Uwingabiye, 2018**) et en Egypt (**Abdulzahra et al., 2018**) où les taux de résistance ont été très élevés pour tous les familles des antibiotiques notamment les Aminosités (92.16 %) et les sulfamides (80%).

Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* étudiées présentent un taux de résistance assez élevé aux Ticarcilline, Ticarcilline –acide clavulanique ce qui semblable à l'étude réalisées a Ain Témouchent par (**Benkhedouda et Bensaber, 2018**) et une forte résistance aussi pour Aztréonam et Piperacilline. Ces résultats sont comparables à ceux indiqué en CHU de Constantine par (**Memdouh et Reddaf, 2018**). Nous avons également constaté que les souches de *P. aeruginosa* ont montré des taux de résistance élevés aux Tobramycine et Colistine sulfate. En comparaison à des taux de sensibilités à la Tobramycine et colistine (75%, 80%) qui rapportés dans les études de (**Hassaine et Hammoumi, 2018**) en CHU de Tlemcen et de (**Aissat et Kasmi, 2017**) en Bejaia. Sont apparient différents par rapport à nos souches À part la Doxycycline, pour laquelle tous les isolats sont restés sensibles (60%).

D'après nos résultats de l'antibiogramme pour les *staphylococcus aureus*, une forte résistance a été observé vis-à-vis les bêta-lactamines (la pénicilline) Comme cela été observé dans une étude en Bouira par (**Ghali et Mostefai, 2019**) et par (**Mezhoud et Khalfallah, 2018**). Mais les résultats de ces dernières études sont légèrement différents de ceux trouvés dans notre travail pour les Glycopeptides (Vancomycine) qui est totalement sensible (95%). Nous avons remarqué une résistance moyenne pour la Tétracycline. Une résistance faible pour les Aminosités (Gentamycine) et aussi pour Les Macrolides (Erythromycine). Par contre une sensibilité à haut niveau pour la Pristinamycine. Ces résultats sont similaires aux résultats trouvés dans une étude réalisée en Constantine par (**Bouhafs et al., 2018**). Concernant l'acide fusidique (**Barika et Boussaidi, 2019**) a rapporté des taux de résistance faible (25%) qui est inférieur que ceux trouvés dans notre travail qui représenté une résistance plus ou moins important.

L'étude de la bio résistance des espèces bactériennes isolées, nous a confirmé que certaines exhibent une résistance aux différents antibiotiques utilisés.

Concernent notre enquête elle nous a permis d'avoir un aperçu sur la connaissance et la pratique du lavage des mains de façon général au sein de service médecine homme et femme.

La plupart des personnels avaient des connaissances sur l'importance d'hygiène des mains dans un milieu hospitalier. Et savaient les différents types de lavages. Ce qui est important en matière d'hygiène des mains. Comme cela été observé dans l'étude de (**Amene et al., 2018**) en Algérie. Le savon ordinaire était l'antiseptique le plus utilisé par le personnel, par ailleurs certains affirmaient que c'est le savon antiseptique liquide, qui permet une meilleure pratique de l'hygiène des mains parce qu'il est moins manipulable et son étalement sur la main est plus aisé. Par rapport à la pratique du lavage des mains avant et après tout soin propre ou tout acte invasif et avant de porter et après de retrait les gants. La majorité affirmait le faire, par contre certains ont reconnu ne pas le pratiquer régulièrement.

En ce qui concerne le lavage des mains avant et après tout contact avec un patient. Plus que la moitié des cas ne se lavaient pas leurs mains avec le savon ou par friction hydro alcoolique. Ce qui déferent totalement à ce retrouvé dans l'étude de **Blanchard réalisée en 2019**, en France (**Blanchard, 2019**) ; Où tous les personnels hospitaliers de tous les services (**100%**) affirment la désinfection de leurs mains avant et après toute contact avec les patients.

Ils étaient très peu à savoir l'action des produits hydro alcooliques sur les bactéries multi résistantes aux antibiotiques. Ce taux est inférieur à celui de (**Blanchard, 2019**) qui a trouvé **70%**.

L'hygiène des mains, ce geste simple et souvent considéré comme banale mais, reste la mesure essentielle pour réduire les infections manu portées au sein de nos établissements de soins.



Conclusion



Actuellement, dans les structures hospitalières on assiste à l'émergence des germes multi résistantes aux antibiotiques. La transmission de ces germes dépend les " réservoirs ", les patients, les personnels hospitaliers, le matériel médicale, l'environnement hospitalier. Les mains des personnels hospitaliers représentent la principale source de la transmission de ces agents pathogènes nosocomiaux « la transmission est manu porté ». Donc, Le rôle particulier de l'hygiène des mains a été longtemps considéré comme mesure important et obligatoire essentiellement pour les personnels hospitalier à grande activité professionnel tels que : Médecines, Infirmiers, Aides-Soignants, qui ils obligent les très souvent de laver les mains avant et après avoir été en contact avec les patients et les différentes surfaces, pour le but de réduire la propagation des bactéries multi résistantes dans les hôpitaux.

De ce fait, notre étude a porté sur l'isolement, l'identification biochimique, et l'étude de la résistance aux antibiotiques de déférentes souches isolées à partir des mains des personnels hospitaliers dans le service médecine homme et femme.

Notant que, cette étude constitue la première documentant réalisée dans l'hôpital de Mecheria. Nous avons essayé d'attirer l'attention sur le risque d'émergence et de dissémination des germes pathogènes, dans l'environnement hospitalier et le risque de leur transmission aux malades. Ainsi, que d'évaluer la qualité de l'hygiène des mains et de déterminer l'évolution du niveau de la résistance aux antibiotiques de ces germes.

Dans cette étude, nous avons déterminés un taux très élevés des souches isolées, sont 62 souches avec plusieurs espèces bactériennes : *Escherichia coli*, *Escherichia vulneris*, *Shigella*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* , *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterocoques* et les *Streptocoques*, qui sont bien désignées comme des agents cliniques et épidémiologiques.

Sous un autre angle, l'étude de la résistance aux antibiotiques a montré que la majorité des bactéries isolées expriment une résistance à différentes familles d'antibiotiques, mais à des degrés variables. Les taux de résistance les plus élevés ont été marqués à l'égard des Bêta lactamines, suivie les Aminosides, les Sulfamides, Macrolides et les Tétracyclines.

Les Doxycyclines et Pristinamycine restent actifs sur certaines souches de *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, ce qui maintient l'efficacité de ces antibiotiques dans le traitement des infections dues à ces bactéries.

Les germes trouvés dans notre étude sont en effets cités depuis longtemps par la littérature scientifique comme des germes responsables des infections nosocomiales. En effet, face aux prévalences de nos germes retrouvés et leurs taux de résistance importante aux antibiotiques, plusieurs mesures devront être prises en charge, devront être basées principalement sur une meilleure politique de prévention, incluant l'hygiène, et plus précisément l'hygiène des mains. Qui constitue la procédure principale pour limiter le risque d'infection nosocomiale, aussi la dissémination de résistances aux antibiotiques.

Pour cela, Il est fortement recommandé d'effectuer un lavage des mains par savon ou par friction hydro-alcoolique :

- immédiatement avant tout contact avec un patient.
- immédiatement avant tout soin propre ou tout acte invasif.
- entre un soin contaminant et un soin propre ou un acte invasif chez un même patient.
- après le dernier contact direct ou soin auprès d'un patient.
- avant d'enfiler des gants pour un soin.
- immédiatement après le retrait des gants de soins.
- après tout contact avec des liquides biologiques (sang, selles, urines ...).

Ainsi ; dans cette étude on ouvre de nombreuses perspectives :

- Réalisation des prélèvements quotidiennement à partir des mains des personnels hospitaliers pour évaluer la contamination ainsi que qualité de lavage des mains.
- L'hygiène des mains doit être prise au sérieux. Dont le lavage doit être appliqué avec des antiseptiques spécifiques, avant et après chaque soin sur un même patient. Ce qui pourrait limiter l'émergence des germes pathogènes et limiter les infections nosocomiales.
- Un programme de lutte contre la propagation et la transmission des agents pathogènes dans un milieu hospitalier doit être mené par la sensibilisation de l'ensemble des professionnels de santé les médecins, aides-soignants, les infirmiers.
- Nous incitent à proposer des recommandations au sein des structures sanitaires. particulièrement du renforcer de l'application des mesures générales d'hygiène, et plus précisément l'hygiène des mains.



*Références
Bibliographiques*



1. **Abbott S L, 2007.** Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas, and Other Enterobacteriaceae. Manual of Clinical Microbiology. Washington, DC: ASM press. 9, 698-715p.
2. **Abdulzahra, 2018.** First report of colistin resistance among carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates recovered from hospitalized patients in Egypt.
3. **Aboya moroh Jean-Luc, 2013.** Résistance bactérienne et phytomolécules antimicrobiennes issues de *Morinda morindoides*. Thèse de doctorat. Université de Bretagne occidentale (France) sous le sceau de l'université européenne de Bretagne, université FELIX-HOUPHOUET.
4. **Adnane Mortaji, 2019.** Ecologie bactérienne en réanimation et profil de résistance aux antibiotiques. Thèse de doctorat en médecine. Université de Marrakech.
5. **Agnès Lasheras Bauduin, 2018.** Rôle de l'hygiène des mains dans les infections associées aux soins. 40èmes Journées Régionales d'Hygiène Hospitalière et de Prévention des Infections Associées aux Soins. CHU de Bordeaux, 15p.
6. **Agnès Vincent, 2014.** Hygiène des mains et port de gants. 2eme Journée de Prévention du Risque Infectieux en les foyers d'accueil médicalisés, les maisons d'accueil spécialisées et les instituts médicaux éducatifs. Lyon, 18p.
7. **Agrege S, Belguith J, Hadiji R, 2015.** Généralités sur les Anti-infectieux, en médecine vétérinaire .Pharmacie et toxicologie. Ecole Nationale de médecine vétérinaire SIDI THABET, 13-14p.
8. **Aissat N, Kasmi K, 2017.** Étude de la résistance et la persistance des souches de bacille à Gram négatifs isolées des différentes surfaces du service de réanimation. Mémoire de master. Université de Bejaia.
9. **Al Abdani S, 2016.** Evolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques et conseils en antibiothérapie. Thèse de doctorat en pharmacie. Université MOHAMMED V-RABAT, 151p.
10. **Allal H, Hadbi M, 2018.** Les infections à *Acinetobacter baumannii* à l'hôpital de Belloua de Tizo Ouzou. Thèse de doctorat en pharmacie. Université MOULOUD MAMMARI de Tizo Ouzou, 103p.

11. **Allegranzi B, Bagheri Nejad S, Combescure C, et al., 2011.** Burden of endemic health-care associated infection in developing countries: systematic review and meta-analysis. *Lancet*, 228-241p.
12. **Allegranzi B, Pittet D, 2009.** The role of hand hygiene in health care associated infection prevention. *Journal of Hospital Infection*.
13. **Amoussou Comlan Romaric Géraud, 2009.** Incidence des infections associées aux soins dans le service de réanimation et de soins intensifs au CHU du Point G. Thèse de doctorat en médecine. Université de Bamako, 139p.
14. **Andremont A, Bouvet E, Deblangy C, Kassis N, Lucet C, Mentre F, Rigaud P, 2002.** Hand contamination before and after different hand hygiene techniques: a randomized clinical trial. *J Hosp Infect.* 50, 276-280p.
15. **Anne S, 2004.** Prévention des infections nosocomiales par la promotion de l'hygiène des mains: un projet national. Symposium NSIH Bruxelles.
16. **Antoine Hitti, Catherine Jehl, Georges Kaltenbach, Marc Berthel, Thierry Lavigne, Thomas Vogel, 2011.** Suivi prospectif de patients excréteurs d'entérocoques résistants aux glycopeptides en unité de soins de longue durée et efficacité des mesures de précaution « contact ». *Presse Med.* 40,325–332p.
17. **Archambaud M, 2009.** Méthode d'évaluation l'activité de des antibiotiques in vitro. Laboratoire bactériologie-Hygiène CHU Rangueil. Thèse de doctorat. Université d'Abou baker belkaid Tlemcen, 50p.
18. **Arfaoui Chadia, Attia Annabi, Hamza Ridha, Kammoun Hayet, Bouzouia, Mrabet Tanazefi, Dhaouadi Gadhoun, Njah Mansour, Ennigrou Samir, Souilah Daghfous, Guizani Mohammed, Zouari Bechir, Haddad Mohammed, 2008.** Hygiène hospitalier et lutte contre les infections associées aux soins. Tunis : Bizerte ,106p.
19. **Astragneau P, 1998.** Épidémiologie des infections nosocomiales .Revirât praticien. 48 : 1525-1529 p.
20. **Avril J, Dabernat H, Denis F, Monteil H, 2000.** Bactériologie clinique. Ed. Ellipses. Paris, 171-211 p.
21. **Baba Ahmed-Kazi T, Decre D, Genel N, Boucherit-Otmani Z, Arlet G, Drissi M, 2013.** Molecular and Epidemiological Characterization of Enterobacterial Multidrug-Resistant Strains in Tlemcen Hospital. *Microbial. Drug Resistance*, 19,185-190p.

22. **Baba Ahmed-Kazi Tani Z, Arlet G, 2014.** Actualité de la résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif en Algérie. *Journal Pathologie biologie*.62: 169–178p.
23. **Baffoy N, Farret D, Maugat S, 2001.** Hygiène des mains: Résultats d’audit Réalisé dans le cadre d’une formation. *Revue du praticien, Paris*. 103, 10-14p.
24. **Barika et Boussaidi, 2019.** Etude de résistance aux antibiotiques des bactéries isolées à partir des plaies chirurgicales infectées. Mémoire de master. Université M’hamed Bougara de Boumerdes, 58p.
25. **Battraud P, 2017.** La résistance aux antibiotiques, un mythe ou une réalité. Thèse pour de doctorat en pharmacie. Université de Lille 2, faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques de Lille.
26. **Baudry C, Brezellec H, 2006.** Microbiologie, immunologie : cahiers du préparateur en pharmacie. 2ème édition. Groupe Liaisons, 126p.
27. **Belkacemi Hanane et Arab Razika, 2018.** Prévalence et antibiorésistance de souches de *Staphylococcus aureus* isolées à partir de produits alimentaires dans la ville de Tizi-Ouzou. *Mémoire de Master en Sciences Biologiques*. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.91p.
28. **Ben Haj Khalifa A, Moissenet D, Thien H , Khedher M, 2011.** Les facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa*: mécanismes et modes de régulations .*Ann Biol Clin*; 69 (4) : 393-403p.
29. **Ben moussa A, 2016.** Profil de sensibilité des entérobactéries aux fluoroquinolones au CHU de RABAT. Thèse de Doctorat en pharmacie .Université Mohammed V-Rabat, 66p.
30. **Benabbou T, 2012.** Antibiorésistance des bactéries lactiques isolées de produits artisanaux algériens. Mémoire de magister en biotechnologie. Université d’Oran, 114p.
31. **Bendadi Azzeddine , 2012.** Profil Epidémiologique de *Acintobacter Baumannii* Au Niveau des services de Réanimation du CHU Hassan II DE Fès. Thèse de doctorat en Médecine. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah Du MAROC.72p.
32. **Benkhedouda S, Bensaber N, 2018.** Contribution à l'étude de la prévalence des infections nosocomiales à l'hôpital de Benzerdjeb (Ain Temouchent). Mémoire Master. Centre Universitaire Belhadj Bouchaib d’Aïn-Témouchent, 70p.

33. **Bennini et Mehdi, 2017.** Etude phénotypique des souches d'*Esherichia coli* multi résistants isolées de CHU Constantine. Mémoire de Master. Université des frères Mentouri de Constantine, 66p.
34. **Berche P, Gaillard L, Simonet M, 1988.** Bactériologie : Les bactéries des infections humaines. 1 ère édition. Médecine-sciences Flammarion, France, 660p.
35. **Bernard Grynfogel, Jacques Fabry, Hélène Boulestreau, 2010.** Infections associées aux soins. Revue officielle de la Société Française d'Hygiène Hospitalière, 80p.
36. **Besassierr, Califano J, Carrette M, Lombardo M, 2005.** La lutte antibactérienne. Université Nice Sophia Antipolis. Polytech' Nice-Sophia. Département Génie Biologique.
37. **Beth S, Jason C, Valerie C, 2005.** Le Manuel d'initiative de lavage des mains : Guide pratique de programme de promotion de lavage des mains au savon. A Public Privat Partener Ship, 102p.
38. **Bezian M, Boulestreau H, Fiore M, Gabinski C, Gachie J, Guisset O, Lashéras A, Rogues A, Szajner S, 2006.** Réservoirs et transmission de *Pseudomonas aeruginosa* en réanimation médicale. Médecine et maladies infectieuses. 36, 99–104p.
39. **Blanchard colette, 2019.** Facteurs de non-conformité de l'hygiène des mains. Pour l'obtention du diplôme d'état de sage-femme. Université d'AIX MARSEILLE, France, 68p
40. **Bouaziz Sabrina, Ramdane Amal .2006 ;** Contrôle de l'état général d'hygiène Au niveau de service des urgences de L'hôpital de Mohamed Boudiaf. Mémoire de Fin d'étude en Microbiologie. . Université kasdi Merbah –Ouargla.98p.
41. **Bouguenoun Widad, 2017.** Étude de la résistance aux antibiotiques des bactéries Incriminées dans les infections nosocomiales et leur Dissémination dans l'environnement hospitalier de la région De Guelma. Thèse de doctorat. Université BADJI MOKHTAR-ANNABA, 171p.
42. **Bouhafs H, Bourefrouf R, Zoghmar A, 2018.** Profil bactériologiques et épidémiologique des bactéries responsables des infections du site opératoire a HMRUC. Mémoire de Master. Université de Constantine, 73p.
43. **Bouvet E et, Brucker G ,1998.** L'isolement en pratique hospitalière. Med Mal Infect. 28,485-491p.

44. **Boyce J, Pittet D, 2001.** Hand Hygiene Task Force and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Handhygiene guideline for healthcare setting. Federal Register.
45. **Brahmia Rima, Medareg narou Sarra, Tolba Ilham, 2016.** La résistance des bactéries aux Antibiotiques dans l'hôpital d'Oued Zenati. Mémoire master. Université 8 Mai 1945 Guelma, 67p.
46. **Bures S, Fishbain J, Uyehara C, Parker, Berg B, 2000.** Computer keyboards and faucet handles as reservoirs of nosocomial pathogens in the intensive care unit. Am J Infect Control. 28, 465-471p.
47. **C.Clin, 2001.** Hygiène des mains Guide de bonnes pratiques. 3ème Edition. Paris – Nord.71p.
48. **Camile Boscher, 2014.** Epidémie à *Acinetobacter baumannii* multirésistant dans un service de réanimation polyvalente: évolution par cas témoins de l'impact de l'antibiothérapie.
49. **Camille. Delarras, 2007.** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Lavoisier. Editions TEC and DOC. 11, rue la voisier F-75008 Paris, 463p.
50. **CA-SFM. 2019.** Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. <http://www.sfm.asso.fr>.
51. **CA-SFM. 2020.** Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. <http://www.sfm.asso.fr>.
52. **Cécile Trotot Voilliot, 2012.** Aspect clinique des infections cutanées à staphylocoques aureus sécrèteurs de leucocidine de Panton Valentine à propos de 15 cas. Sciences du Vivant .Thèse de doctorat en Médecine. Université DE Lorraine.98p.
53. **Charles A, Guy L, Laurent M, 2003.** Biochimie alimentaire. 5 ème Edition de l'abrégé. PARIS, 120-135p.
54. **Chatane Ines, 2017.** Analyse phénotypique et quantification de la formation de biofilm par les bactéries d'intérêt médical.
55. **Cherafa I, Ziadi Chibane M, 2017.** Isolement des bactéries en milieu hospitalier et l'étude de la résistance aux antibiotiques. Mémoire de Master. Université de Guelma, 90p

56. **Chigblo A, Soumaila K, 2014.** Qualité de lavage des mains chez un groupe d'écoliers à Cotonou. Rapport de Stage de fin de formation pour l'obtention du diplôme de licence professionnelle de Génie de Biologie Humains. Université d'Abomey –Cala vi Benin, 44p.
57. **Cissé C, Faye O, Ndiaye G, Sakho A, Maiga A, 2000.** Prévention des infections en milieu chirurgical dans les hôpitaux régionaux du Sénégal. Cahier d'étude et de recherche francophone.10, 189-194p.
58. **Clave D, 2012.** Fiche technique : Escherichia coli. Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique. 123, 8-543p.
59. **Clément Louis François Baudin, 2012.** Étude bibliographique, évaluation expérimentale de l'hygiène des mains et rédaction de recommandations concernant l'hygiène des mains. Thèse de doctorat en médecine. École nationale D'ALFORT, 119p.
60. **Clooten J, Kruth S, Arroyo I, Et weese j, 2008.** Prevalence and risk factors for Clostridium difficile colonization in dogs and cats hospitalized in an intensive care unit. Vet Microbiol. 129, 209-214p.
61. **Dali A, 2015.** Infections nosocomiales a bactéries multirésistantes (BMR) en réanimation adultes a l'EHUO: Profile épidémiologique, facteurs de risque et facteurs pronostiques. Thèse de Doctorat. Université d'Oran 1 Ahmed Benbella. 197p.
62. **Danielle Clave, 2015.** Fiche technique : Escherichia coli. Expert biologiste - Bactériologie Hygiène CHU Toulouse. Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique, 2p.
63. **Debabza Manel, 2015.** Emergence en milieu hospitalier des bacilles Gram négatifs multi résistants aux antibiotiques : étude bactériologique et moléculaire. Thèse Doctorat en Microbiologie. Université Badji Mokhtar-Annaba, 217p.
64. **Degrement, 2005.** Memento technique de l'eau. Dixième Édition. Tec et Doc, 144-173p.
65. **Delarras C, 2007.** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire: Aliments, produits cosmétiques, eaux, produits pharmaceutiques. Éditions Médicales Internationales, Lavoisier, 476 p.
66. **Dellarras C, 2000.** Microbiologie de l'environnement avec législation : travaux pratique. Gaëtan moriu éditeur. P : 117-136p.

67. **Dellarras C., Trebaol B, 2008.** Surveillance Sanitaire Et Microbiologique Des Eaux Réglementation – Prélèvements – Analyses. Paris : Édition TEC & DOCG, 32-40p.
68. **Delmas C, 2007.** Fiche Technique : *Aerococcus viridans*. Bactériologie 72. Centre Toulousain pour le Contrôle de Qualité en Biologie Clinique, 3 p.
69. **Derafa C, 2012.** Travaux pratiques de systématique bactérienne. Université Farhat Abbas. sétif. 35p.
70. **Diallo Chaca dit Tédié, 2010.** Typage et prévalence du gène codant pour la protéine M de *streptococcus pyogènes*. Étude bgas2000 a Bamako au mali. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako ; 65p.
71. **Doublet B, Bousquet A, Madec J, 2012.** Le concept «One Health» en antibiorésistance et les flux de gènes. Innovation agronomiques, 24, 79-90p.
72. **Drame G, 2008.** Hygiène des mains dans les services à haut risque infectieux du CHU du point « G ». Thèse de doctorat en médecine, Bamako (Mali), 74p.
73. **El ghazouani ghizlane, 2010.** Les infections a germes multi résistants en réanimation. Thèse de doctorat en médecine. Université CADI AYYAD, MARRAKECH, 81p.
74. **Elodie G, 2010.** Molécules antibactériennes issue d’huiles essentielles : séparation
75. **Elrouini Assia, 2018.**Emergence De la Resistance aux Carbapenemes chez *Pseudomonas Aeruginosa*. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Mohammed V de RABAT.158p.
76. **Emeline Amartin, 2016.**La flore cutanée normale. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Lille 2,79p.
77. **Emmanuel E, 2003.** Evaluation des risques sanitaires et Eco toxicologiques lies aux effluents hospitaliers. Thèse de doctorat de chimie. L’institut national des sciences appliquées de LYON, 59-60p.
78. **Essoh Christiane Y, 2013.** Étude épidémiologique de souches de *Pseudomonas aeruginosa* responsables d’infections et de leurs bactériophages pour une approche thérapeutique. Thèse de doctorat en Sciences de Gènes Génomes Cellules, Université Paris –Sud .240p.
79. **Facklam R, 2002.** What happened to the *streptococci*: overview of taxonomie and nomenclature changes. Clin. Microbiol. Rev N°15,613-30p.

80. **Farret D, Baffoy N, Maugat S, 2001.**hygiene des mains : résultats d’audit réalisé dans le cadre d’une formation. Revue du praticien, Paris. 103, 10-14p.
81. **Farmer J, Boatwright D, Janda J M, 2007.** Enterobacteriaceae: Introduction and identification. Manual of Clinical microbiology. Washington, DC, USA: ASM press. 9th ed: 649-669p.
82. **Fauchere J, Avril J, 2002.** Bactériologie générale et médicale. Ellipses, Paris, 213-217p.
83. **Faure H. et al., 2009.** Déterminants de la prescription ou de la non-prescription d’antibiotiques en médecine générale. Med Mal Infect. 39, 714-721p.
84. **Feron J, Legrand D, Tulkens P, 2008.** A quantitative study using the “small samples approach” for in-depth, case-based analysis of prescription behavior for respiratory-tract infections.Européan congresses of clinical microbiology and infectious diseases. Université catholique de Louvain Brussels. Spain, 249p.
85. **Ferradj Isma Nesrine, Siaghi Fatima, 2018.** L’hygiène des mains dans un milieu hospitalier « EPH de Ernesto Che Guevara de wilaya de Mostaganem ». Master en Biologie. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem, 87p.
86. **Fleuret J, 1995.** Les flores microbiennes commensales de la peau et des muqueuses. Antiseptique et désinfectants. Ed Eska Paris, 362-403p.
87. **Frederic Barbut, 2005.** Les infections nosocomiales de l'adulte. Hygiène et infection nosocomial, 1-10p.
88. **Gadou victoire, 2019.** Epidémiologie moléculaire des entérobactéries productrices de βlactamases a spectre élargi résistantes aux aminosides et aux fluoroquinolones dans le district d’abidjan. Thèse de doctorat. Université Félix HOUPOUET BOIGNY. Côte d’ivoire, 123p.
89. **Gaoussou Drame, 2008.** Hygiène des mains dans les services à haut risque infectieux du C.H.U du point « g ».thèse de doctorat en médecine. Université de BAMAKO, 74p.
90. **Georgel Amandine, 2008.** Pénétration transcutanée des substances actives : application en dermocosmétologie. Thèse de Docteur en Pharmacie. Université Henri Poincaré - Nancy 1, 190p.

91. **Geslin P, Buu-Hoi A, Fremaux A, Acarj F, 1992.** Antimicrobial Resistance in *Streptococcus pneumoniae*: An Epidemiological Survey in France, 1970–1990. Clin Infect Dis. Jul 1;15(1): 95–98p.
92. **Ghali K, Mostefai N, 2019.** Isolement identification et étude de résistance des souches de *staphylococcus aureus* isolés dans différents services de Lakhdaria. Mémoire de master. Université de Bouira, 41p.
93. **Goita Adam, 2014.** Les bactéries pathogènes de l'épidémiologie à la prévention. Thèse de doctorat en pharmacie. Université MOHAMED V –SOUISSI- RABAT, 171p.
94. **Goubau P, Pellegrims E, 2000.** Repères en microbiologie. Édition Garant, 391p.
95. **Groleau M, Kondé E, 2006.** Les antiseptiques au cabinet. Le médecin du Québec, 41p.
96. **Gueye O, 2007.** Utilisation des méthodes biométrique dans l'identification de quelques bacilles à Gram négatif .22, 24-28p.
97. **Guillou M Rafei R, Hamze M, Pailhories H, Eveillard M, Marsollier L et al., 2015.** Extrahuman epidemiology of *Acinetobacter baumannii* in Lebanon. Applied and environmental microbiology; 81(7):2359-67.
98. **Guy Gaboriau, 2003.** Outils de la Santé et Médecine d'Autrefois, Tours Éditions de la Reinette.
99. **Hafiane A, Ravaoarino M, 2008.** Various typing methods of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from cystic fibrosis patients. Mal Infect 38, 238-247p.
100. **Hassaine H, Hammoumi Y., 2018.** Etude de l'antibiorésistance des souches de *Pseudomonas* isolées des urines des patients hospitalisés dans les services d'urologie et de réanimation CHU de Tlemcen. Mémoire de Master. Université Aboubakr Belkaïd. Tlemcen, 73 P.
101. **Hayes R, Nathan C, Peterson B, Rice T, Segreti J, Trick W Veronon M, Weinstein R, Welbel S, 2003.** Impact of ring wearing on hand contamination and comparison of hand hygiene agents in a hospital. CIIN Infect Dis, 1383,36-90p.
102. **Hélène Pailhories, 2016.** Réservoirs extrahospitaliers et non humains d'*Acinetobacter baumannii* Sur l'Ile de la réunion.
103. **Herve J, 2011.** Mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques – Conférence internat - Paris Luxembourg.

104. **Hnich Hajar, 2017.** La résistance bactérienne : mécanismes et méthodes de détection au laboratoire. Thèse de doctorat en médecine. Université de Sidi Mohamed ben Abdellah, 140p.
105. **Jacques, 2000.** Caractérisation de la flore bactérienne des péritonites communautaire opérées au Burkina Faso. Centre de recherche biomoléculaire Pietro Annigoni (CERBA) LABIOGENE. Université d'Ouagadougou, Burkina Faso.
106. **Jean A, Jean C, 1998.** Les infections nosocomiales et leur prévention. Paris- Ellipses, 687p.
107. **Jean-luc Aboya Moroh L, 2013.** Résistance bactérienne et phytomolécules antimicrobiennes issues de *Morinda morindoides*. thèse de doctorat en microbiologie biochimie. Université de Bretagne occidentale. France.
108. **Jenner A, Fletcher C, Watson P, Jones A, Miller I, Scott M, 2006.** Discrepancy between self-reported and observed hand hygiene behaviour in healthcare professionals. *J Hosp Infect*, 63, 418-22.
109. **Joly B, Reynaud A, 2002.** Entérobactéries : Systématique et méthodes de diagnostic. Ed TEC & DOC et Ed médicales Inter Nationales. Paris, 356p.
110. **Joly B, Reynaud A, 2007.** Entérobactéries : systématique et méthodes de diagnostic. Edition Techniques et Documentation. Paris, 3-182p.
111. **Kaba Minata, 2009.** Connaissances, attitudes et pratiques liées au lavage des mains en milieu formel, informel et domestique à Yirimadio. Thèse de doctorat en médecine. Université de Bamako(Mali), 58p.
112. **Kinesither, 2013.** Les infections nosocomiales (acquises en établissement de santé), s'étendent aujourd'hui aux infections associées aux soins (IAS). Kinésithérapie. 107,4-18p.
113. **Kmel Elmeskini, 2011.** Etude épidémiologique des infections à *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse de doctorat en médecine. Université MOHAMED-RABAT, 64p.
114. **Kramer A, Schwebke I, Kampf G, 2006.** How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces. A systematic review. *BMC Infectious Diseases*, 6, 8p.
115. **Larson E, 1995.** APIC guideline for handwashing and hand antisepsis in health care setting. *Am J Infect control* .23, 251-269p.

116. **Larson E, 1998.** A causal link between handwashing and risk of infection. Examination of the evidence. *Infect control Hosp Epidemiol* .9, 28-36p.
117. **Larson L, Cronquist B, Whittier S, Lai L, Lyle C, Della latta P, 2000.** Differences in skin flora between inpatients and chronically ill outpatients. *Heart Lung*. 29, 298-305p.
118. **Lavigne J, 2007,** Effet des antibioques et mécanismes de résistance. Cours de bactériologie. Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes.
119. **Le Loir Y. et Gautier M. (2010).** Identification de l'Espèce au Sein du Genre. In: *Staphylococcus aureus*, collection : Monographies de microbiologie, Éditions Tec&Doc Lavoisier Paris:8-207p.
120. **Liavid A, 2012.** Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries à Gram négatif non fermentantes au niveau du C.H.U de Tlemcen. Mémoire de Magister. Université Abou BekrBelkaid. Tlemcen, 95p.
121. **Lozniewski A, Rabaud C, Nanc, 2010.** Résistance bactérienne aux l'antibiotiques. Fiches conseils pour la prevention du risque infectieux In : Cclin sud-est. Nancy : 4p.
122. **Madi et Djema, 2019.** Isolement et caractérisation des bactéries multi résistantes impliquées dans les infections nosocomiales et l'environnement hospitalier au niveau de l'hôpital de LAKHDARIA. Mémoire de master. Université de Bouira, 76 p.
123. **Mahfouf Nora, 2018.** Étude de l'espèce *Origanum vulgare* L. Thèse de doctorat : Écotoxicologie, Environnement et Santé. Université Chadli Benjedid –El Tarf .202p
124. **Maiga Boulkassim, 2003.** Pratiques d'hygiène hospitalière dans les structures Sanitaires. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako, 67p.
125. **Mammeri H, 2013.** Mode d'action des antibiotiques. Service de Bactériologie, CHU Amiens.36 .2p.
126. **Mariam Dafee, 2017.** Surveillance de la résistance aux antimicrobiens des souches *de Klebsiella pneumoniae* isolées au laboratoire Rodolphe Merieux. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako, 114p.
127. **Marquet V, Domelier, Girard N, 2004.** Epidemiology and typing of staphylococcus aureus strains isolated from boodstream infections. *Journal of clinical Microbiology*. 42, 5650-5657p.

128. **Markham N Neyfakh A, 2001.** Efflux-mediated drug resistance in Gram positive bacteria. *Curr. Opin. Microbiol.*4: 509-514p.
129. **Marples R, Towers A, 1979.** A laboratory model for the investigation of contact transfer of micro-organisms. *J Hyg (Lond).* 82, 237-248p.
130. **Mathlouthi N, Areig Z, Al bayssari C, Bakour S, Ali el salabi A, Ben gwierif S, Zorgani A, Ben slama K, Chouchani C, Rolain J, 2015.** Emergence of Carbapenem-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates Collected from Some Libyan Hospitals. *Microb. Drug Resist.* 21: 335-341p.
131. **Mayer K, Opal S, Medeiros A, 2000.** Mechanisms of antibiotic resistance. In: Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th edition, Churchill Livingstone. 2: 236-253p.
132. **Mcginley K , Larson E, Leyden J, 1988.** Composition and density of microflora in the subungual space of the hand. *J Clin Microbiol.* 26, 950-953p.
133. **Mcneil S, Foster C, Hedderwick S, Kauffman C, 2001.** Effect of hand cleansing with antimicrobial soap or alcohol-based gel on microbial colonization of artificial fingernails worn by health care workers. *Clin Infect Dis.* 32, 367-372p.
134. **Mehamdia Naima Mouassa Selma, 2014.** Mécanismes de la résistance aux antibiotiques. Mémoire de Master. Université 8 MAI 1945 GUELMA, 48p.
135. **Méité S, BoniCissé C, Monemo P, Mlan Tanoa A, Ketté H, Dosso H, 2010.** Surveillance microbiologique des surfaces au niveau d'un établissement hospitalier de niveau tertiaire : exemple du chu de Yopougon. Vol.11, Côte d'ivoire, 73-81p.
136. **Mekadim Chahrazed , 2012.** Effet de la Chiralité de la Benzylpénicilline sur l'Enzyme PLP de la Membrane Cytoplasmique Bactérienne : Contribution Théorique. Mémoire de Magister en Biotechnologie. Université d'ORAN Mohamed Boudiaf, 101p.
137. **Memdouh et Reddaf, 2018.** Les infections à *Pseudomonas aeruginosa* au CHU de Constantine. Mémoire de Master. Université de Constantine, 60p.
138. **Metadger N, 2014.** Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries à Gram négatives isolées dans le service de chirurgie A du CHU de Tlemcen. Mémoire de Master. Université de abou baker belkaid telemcen , 39p

139. **Mezhoud, Khalfallah, 2018.** Profil de résistance des bactéries assolées a l'infection du pied diabétique au niveau de l'hôpital militaire régional universitaire de Constantine (HMRUC). Mémoire de master. Université de Constantine.80p.
140. **Minata KABA, 2009.** Connaissances, attitudes et pratiques liées au Lavage des mains en milieu formel, informel et Domestique a yirimadio. Thèse de doctorat en médecine. Université de Bamako, 58p.
141. **Moolenaar I, Crutcher j, San Joaquin V, Sewell I, Hutwagner I, Carson I, Robison d, Smithee I, Jarvis w, 2000.** A prolonged outbreak of Pseudomonas aeruginosa in a neonatal intensive care unit: did staff fingernails play a role in disease transmission? Infect Control Hosp Epidemiol. 21, 80-85p.
142. **Mortaji Adnane, 2019.** Ecologie Bactérienne en réanimation et profil de resistance aux antibiotiques. Thèse de doctorat en Médecine. Université Cadi Ayyad Marrakech .155p
143. **Mrich H, 2018.** Profil de l'antibio-résistance de l'infection urinaire nosocomiale en Urologie expérience du service d'urologie CHU Mohammed VI .Université de Marrakech, 111p.
144. **Munita J, Arias C, 2016.** Mechanisms of Antibiotic Resistance. Microbiology spectrum. /microbiolspec.VMBF-0016, 4(2):10.1128.
145. **Neu H, Gootz T, 2016.** Antimicrobial Chemotherapy. In: Baron S, editor. Medical Microbiology. Ed. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston.
146. **Nobbs A, Lamont R, Jenkinson H, 2009.** Streptococcus adherence and colonization. Microbiol Mol Biol Rev, N°73, 407-450p.
147. **Nobbs A, Lamont J, Jenkinson H, 2009.** Streptococcus adherence and colonization, Microbiology and Molecular Biology Reviews, Vol. 73 No. 3, pp. 407-505p.
148. **Nouri Manel , Ziadi Chibane F ,2015.** Etude bactériologique et résistance aux antibiotiques de Klebsiella pneumoniae. . Mémoire de Master. Université des Frères Mentouri Constantine.69p.
149. **Nyaledome Ablavi Inès, 2016.** Pseudomonas Aeruginosa : Epidémiologie et état Actuel des résistances à l'Hôpital Militaire d'instruction Mohammed V. Thèse de doctorat en pharmacie Université Mohammed V de RABAT.116p.

- 150.**Oliveira A, Damasceno S, 2010.** Surfaces of the hospital environment as possible deposits of resistant bacteria: a Review. *Rev Esc Enferm USP*, 44 (4):1118-1123.
- 151.**OMS : Organisation Mondiale de la santé, 2005.** Recommandations OMS pour l'hygiène des mains au cours des soins (version avancée) : Synthèse. WHO/EIP/SPO/QPS/05.2p.
- 152.**Oubihi B, 2015.** Epidémiologie des infections nosocomiales en milieu de réanimation .thèse de doctorat, Université Cadi Ayyad, Marrakech.136 p.
- 153.**Pallasch T, 2003.** Antibiotic resistance. *Dental Clinics of North America*.47, 623-639p.
- 154.**Paul Battraud, 2017.** La résistance aux antibiotiques, un mythe ou une réalité. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Lille 2,119p.
- 155.**Phillipe L, 2005.** Les Compylobacters : Diagnostic biologique et surveillance de la résistance aux antibiotiques en France.CNR des Compylobacters et hélicobacters. France. Tome 158, N° 4, 363- 368p.
- 156.**Pilly E, 2008.** Maladies infectieuses tropicales). Edition De Boeck Amazone. 93, 736p.
- 157.**Pons-Guiraud A, 2012.** La Lettre du Collège de Dermocosmétologie 16 – Microbiote cutané et santé de la peau.Collège de Dermocosmétologie d'Unilever.
- 158.**Poole K, 2004.** Resistance to bêta-lactamin antibiotics. *Cell Mol Life Sci*. 2200-2223, 17-61p.
- 159.**Pozzetto B, Saint Etienne, 2009.** Microorganismes responsables d'infections nosocomiales. Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux – Infection. CCLin SE, 1-10p.
- 160.**Prescott L, 2009.** Microbiology. 5th Edition. The McGraw-Hill Companies. NewYork, USA, 396p.
- 161.**Prescott L, Harley J, Klein D, 2003.** Microbiologie. Édition 2 De Boeck Supérieur. 1164p.
- 162.**Prescott W, Harley S et Klein W, 2010.** Microbiologie. 3eme édition. Deboek. Bruxelles ,843- 845p.
- 163.**Rahal K, Tali H, Missoum K, Benslimani A, Ammari H, Benamrouche N, Ouar korichi, Djennane F, Aggoune N, Bentchouala C, Mahrane S, Azzam A, 2018.**

- Profil de sensibilité et résistance des bactéries isolées des urines .surveillances de la résistance aux antibiotiques, 113p.
- 164.**RAHAL K.,Benamrouch D, 2013.** livre « les antibiotiques » Nouvelles molécules antibiotiques. 5 édition,.11-, pp 29-44.
- 165.**Rénée J, 2006.** Lavage des mains et port de gants. Deux pratiques de base. Objectif Prévention, 29p.
- 166.**Richard R et al , 2016.** identification of group D.streptococci the bile-esculin test.Applied and Environmental Microbiologie.volume 82.Issus 7.
- 167.**Sabin C, 2006.** La lectine PA-III de *Pseudomonas aeruginosa*: Structure, affinité et spécificité pour des ligands naturels et glycomimétiques. Thèse de doctorat, 114 p.
- 168.**Sanders C, sanders W, 2012.** B-lactam resistance in gram-negative bacteria: global trends and clinical impact. Clin Infect Dis;15:824-39.
- 169.**Scharschmidt TC, Fischbach MA, 2013.** What lives on our skin: ecology, genomics and therapeutic opportunities of the skin microbiome. Drug Discov Today Dis Mech. Déc;10(3-4), 83-89p.
- 170.**Schroeder G N, Hilbi H, 2008.** Molecular pathogenesis of Shigella spp.: controlling host cell signaling, invasion, and death by type III secretion. Clinical Microbiology Reviews. 21 (1):134-156p.
- 171.**Soude Send Gbenou, Abebola A, 2005.** Bactéries isolées des hémocultures au laboratoire du centre national hospitalier et universitaire Hubert Koutoukou Maga De Cotonou. Thèse de Docteur en pharmacie, université de Bamako -Mali, 84p.
- 172.**Srigley A, Furness C, Gardam M, 2016.** Interventions to improve patient hand hygiene: a systematic review. J Hosp Infect; 94(1): 23-29p.
- 173.**Tasseau F, Baron D, 1989.** Infections nosocomiales. Brucker et Fassin, Paris, 92-478p.
- 174.**Terbeche M, Bouhadjar Adlan A, 2017.** Evaluation de la formation du biofilm par *Staphylococcus aureus* isolées du cathéter veineux périphérique CHU Tlemcen. Mémoire Master. Université Abou Bekr Belkaid TLEMEN. 62p.
- 175.**Traore A, 2008.** Les Infections Nosocomiales dans le Service de chirurgie générale du CHU Gabriel Toure. Thèse en Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie De l'Université de Bamako, 143p.

176. **Trick W, Vernon M, Haye R, Nathan C, Rice T, Peterson J, Segreti J, Welbel S, Solomon Ln Weinstein R, 2003.** Impact of ring wearing on hand contamination and comparison of hand hygiene agents in a hospital. *Clin Infect Dis.* 36, 1383-1390p.
177. **Uwingabiye, 2018.** *Acinetobacter baumannii*: Comparaison phénotypique et moléculaire des isolats colonisant et /ou infectant les patients et ceux contaminant l'environnement hospitalier. Thèse de doctorat en biologie médicale. Université de RABAT, 213p.
178. **Van Looveren M, Goossens H, 2004.** The ARPAC Steering Group. Antimicrobial resistance of *Acinetobacter* spp in Europe. *Clinical Microbiology and Infection*: 10 (8): 684-704p.
179. **Waffi Soukaina, 2017.** Epidémiologie et résistance aux antibiotiques des isolats cliniques d *Acinétobacter baumannii*. Thèse de doctorat en médecine. Université de MEKNES, 96p.
180. **Wylie J L, Deborah L, Nowicki L, 2005.** Molecular epidemiology of community-and health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Manitoba, Canada. *J Clin Microbiol.* 43:2830-2836p.
181. **Yala D, Merad A, Mouhamedi D, Ouar Korichi M, 2001.** Médecine du Maghreb, N91, 5-12p.
182. **ZEROUAL Zouhair, 2012.** Profil épidémiologique et bactériologique des infections nosocomiales. Thèse de doctorat en médecine. Université MOHAMED-RABAT, 112p.



Annexes



Annexe N°01:

Pratique d'hygiène :

Les recommandations pour l'hygiène des mains dans l'exercice des soins sont attendues depuis longtemps par l'ensemble des personnels soignants. La fiche ci-dessus présente trois sortes de lavage et les différentes méthodes de désinfection, avec leurs objectifs, leurs indications, les produits utilisés et la technique en elle-même.

Tableau 01 : Les différents types de lavage des mains (Minata, 2009).

	Lavage simple	Lavage antiseptique	Lavage chirurgical
Objectif	<ul style="list-style-type: none">-Prévenir la transmission manu porté.- Eliminer les salissures et réduire la flore transitoire	<ul style="list-style-type: none">- Action sur les salissures.- Eliminer la flore transitoire des mains par l'effet de l'antiseptique.- Réduire la transmission manu-portée des germes pour des gestes invasifs ou contaminants.	<ul style="list-style-type: none">- Eliminer la flore transitoire et Réduire la flore résidente.- Réduire la transmission manu-portée des germes lors de geste nécessitant une haute asepsie.
Agent	Eau et savon doux.	- Eau et savon désinfectant.	- Eau et savon antiseptique.
Durée	30 secondes.	1 minute.	5 minutes.
Techniques	<ul style="list-style-type: none">-savonner toutes les surfaces de la main jusqu'aux avant-bras- rinçage abondant à l'eau courante.- sécher minutieusement avec serviette à usage unique.- fermer le robinet à l'aide de la serviette.	<ul style="list-style-type: none">- Même technique que pour le lavage simple mais prendre une dose de savon liquide Désinfectant.- Savonner 30 à 60 secondes selon les indications du fabricant.	<ul style="list-style-type: none">Mouiller les mains et avant-bras.-Savonner les mains et avant-bras 1 minutes pour chaque côté.-brosser les ongles 1 minute (30 secondes/mains).-Rincer les mains et les avant-bras.-Sécher.

Annexe N°02:

Questionnaire

1. **N° de la fiche d'enquête :**

2. **Date du jour:** /__ /__ /__ /__

3. **Age** /__ /__

1=15-20ans ; 2=21-29ans ; 3=30-39ans ; 4=40-49ans ; 5=50ans et plus.

4. **Sexe** /__ / 1=masculin ; 2=féminin.

5. **Profession** /__ / 1=Médecin ; 2=Infirmier ; 3= aides-soignants.

6. **Services** /__ / 1=Médecine homme; 2= Médecine femme.

1- Savez-vous pourquoi on fait l'hygiène des mains ?/ __ / 1=Oui ; 2=Non.

2- Il existe combien de types de lavage des mains ?/ __ / 1= Un ; 2=Deux ; 3=Trois.

3- Le lavage hygiénique des mains est-il différent du lavage simple ?/ __ / 1=Oui; 2=Non.

4- Savez-vous le type de lavage des mains pratiqué dans le service ?/ __ / 1=Oui; 2=Non.

5- Savez-vous le type de savon utilisé dans le service ?/ __ / 1=Oui; 2=Non.

6- Par rapport à la prise de service est ce que vous lavez les mains à l'arrivée et au départ ? 1=Oui ; 2=Non

7- Lavez-vous les mains avant et après tout contact avec un patient ?/ __ / 1=Oui ; 2=Non

8- Lavez-vous les mains avant et après tout soin propre ou tout acte invasif ?/ __ / 1=Oui ; 2=Non

9- Lavez-vous les mains avant d'enfiler et après le retrait des gants de soins ?/ __ / 1=Oui ; 2=Non

10- Lavez-vous les mains après tout contact avec des liquides biologiques (sang, selles, urines ...) ?/ __ / 1=Oui ; 2=Non.

11- vous changez les gants plusieurs fois pendant la journée 1=Oui ; 2=Non

12- Les principes actifs (alcools) de ces produits hydro-alcooliques ont une action bactéricide y compris sur les bactéries multi résistantes aux antibiotiques ?/ __ / 1=Oui; 2=Non.

13- La désinfection des mains avec un Produit hydro-alcoolique (PHA) plus efficace associée à un lavage au savon doux ?/ __ / 1=Oui ; 2=Non

Annexe N°03:

Composition des Milieux de culture (En g/l)

Gélose Chapman :

Extrait de viande de bœuf	1g
Peptone.....	10g
Mannitol.....	10g
Chlorure de sodium.....	75g
Rouge de phénol	0,025g
Agar.....	15g
pH.....	7,5

Gélose Mac conkey :

Peptone de viande	3g
Peptone de caséine	17g
Mélange de sels biliaires.....	1,5g
Lactose	10g
Cristal violet.....	0.001g
Rouge neutre	0.03g
Chlorure de sodium.....	5g

Gélose de Mueller-Hinton (MH) :

Infusion de viande de bœuf	300g
Hydrolysate de caséine	17,5g
Amidon	1,5g
Agar.....	17g
pH	7,4

Gélose au sang frais :

Mélange spécial de peptones.....	23g
Amidon.....	1g
NaCl.....	5g
Agar.....	10g
Sang de mouton.....	50 ml
pH	7,3

Gélose à l'esculine :

Extrait de viande.....	3g
Peptone de viande.....	5g
Bile de bœuf.....	40g
Esculine.....	1g.
Fer (III) citrate.....	0.5g
Agar.....	14.5g
pH	6.8

Gélose nutritive :

Peptone.....	15g
Extrait de viande	10g
Extrait de levure	2g
NaCl.....	5g
Agar.....	20g
pH.....	7.6

Bouillon cœur cervelle :

Protéose-peptone.....	10g
Infusion de cervelle de veau.....	12.5g
Infusion de cœur de bœuf.....	5g
Glucose.....	2g
Chlorure de sodium.....	5g
Hydrogénophosphate de sodium.....	2.5g
pH.....	7.4

Annexe N°04:

Colorants utilisé

Violet de gentiane :

Phénol.....	2g
Violet de gentiane.....	1g
Ethanol à 90°.....	10ml
Eau distillée.....	100ml

Lugol :

Iodure de potassium.....	2g
Iode méthaloïde.....	1g
Eau distillée.....	300ml

Fuchsine :

Fuchsine basique.....	1g
Alcool éthylique à 90°.....	10ml
Phénol.....	5g
Eau distillée.....	100ml

Annexe N°05 :

Tableaux de lecture des résultats de la Galerie API 10S et API 20NE

Tableau 02 : Lecture de résultat de la Galerie API 10S.

Tests	Réactions/Enzymes	Résultats	
		Négatif	Positif
ONPG	β -galactosidase	Incolore	Jaune
GLU	fermentation / oxydation (GLUcose)	bleu / bleu-vert	jaune / jaune-gris
ARA	fermentation / oxydation (ARAbinose)	bleu / bleu-vert	Jaune
LDC	Lysine Décarboxylase	jaune	rouge / orangé
ODC	Ornithine Décarboxylase	Jaune	rouge / orangé
CIT	Utilisation du Citrate 0,756	vert pâle / jaune	bleu-vert / bleu
H2S	production d'H2S	incolore / grisâtre	dépôt noir / fin liseré
URE	Urease	Jaune	rouge / orangé
TDA	Tryptophane Désaminase	TDA / immédiat 0,38	
		Jaune	marron-rougeâtre
IND	production d'Indole	JAMES / immédiat	
		incolore vert pâle / jaune	Rose
OX	cytochrome-Oxydase	(voir notice du test oxydase)	
NO2	production de NO2	NIT 1 + NIT 2 / 2-5 min	
		Jaune	Rouge

Annexe N°06 :

Tableau 8: Résultats de la résistance des souches d'entérobactérie vis-à-vis les différentes antibiotiques testés.

ATB	<i>E. Coli 2</i>						<i>E. Vulneris</i>				<i>Shigella Spp</i>				<i>Klebsiel la pneumo niae</i>		<i>Acénitob acter baumma nii</i>	
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S1	S2	S3	S3	S1	S2	S3	S4	S1	S2	S1	S1
S																		
AML	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
CTX	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R
CFM	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R
GEN	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
CRO	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R
TE	R	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
SXT	R	S	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

Tableau 05: Résultats de la résistance des souches d'entérobactérie non fermentaires vis-à-vis les différentes antibiotiques testés.

Souche ATB	TC	TTC	PRL	TOB	CS	ATM	DXT
S1	R	R	R	R	R	R	S
S2	R	R	R	R	S	R	S
S3	R	R	R	R	R	R	S
S4	R	R	R	R	S	R	S

Tableau 06: Résultats de résistances des souches *Staphylococcus aureus* vis-à-vis les différentes antibiotiques testés.

Souche ATB	PEN	E	TE	VAN	GEN	ACF	PTN
S1	R	S	R	R	S	R	S
S2	R	R	R	R	R	R	S
S3	R	S	S	R	S	S	S
S4	R	S	S	R	S	S	S
S5	R	S	R	R	S	R	S
S6	R	R	R	R	R	R	S
S7	R	S	S	R	S	S	S
S8	R	S	S	R	S	S	S