



**République algérienne démocratique et populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et la Recherche Scientifique**

**Centre Universitaire SALHI Ahmed de Naâma**

**Institut des sciences et technologie**

**Département de science de la nature et de la vie**

**Département de biologie**

**Option : Microbiologie appliquée**

## **Mémoire**

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

# **Évaluation du risque nosocomial due à l'utilisation de matériel non médical par le personnel des hôpitaux de Ain sefra et de Mecheria**

**Présenté par : MADER Hamida**

**ZOUAOUI Houcine**

**Soutenu le : 06/07/2020**

**Encadré par : Dr SEDIKKI Sidi Mohammed Lahbib**

**MCA**

**Devant le jury :**

**Président Dr GHRIB Mohammed**

**MCA**

**Examineur Dr KEBDANI Mohammed**

**MCB**

**Année universitaire : 2019-2020**

# REMERCEIEMENT

En premier lieu, nous tenons à remercier le bon Dieu, Allah sobhanah wa taala, le tout puissant, qui nous a donné le courage et la patience pour la réalisation de ce modeste travail. Merci pour tous ces biens faits autour de nous et pour la direction de notre vie.

Nous tenons à remercier **Mr SEDDIKI MOHAMED**, ma frère de conférences A, d'avoir accepté d'encadrer ce travail, vous nous avez aidé dans l'élaboration de cette étude par votre patience, disponibilité et surtout vos judicieux conseils qui ont contribué à alimenter nos réflexions.

Nous tenons à remercier le président du jury, Mr **GHRIB MOHAMED**, de bien vouloir accepter de présider le jury de ce mémoire. Nos remerciements s'adressent également à **Mr KEBDANI MOHAMED** pour avoir accepté d'examiner ce mémoire.

Nous remercions également tout le personnel des hôpitaux de Mechria et de Ain Sefra médecins, infirmiers et aides-soignants.

Afin de ne pas oublier personne, nos vifs remerciements s'adressent à tous ceux qui nous ont aidé à la réalisation de ce modeste mémoire.

# DEDICACES

Je dédie ce modeste travail en signe de respect, de reconnaissance et de remerciement :

A

Mon cher père MADER Tadj, rahmat Allah alih

Et mon adorable maman et mon ange BOUHAMIDA Kheira qui je puisse mes forces et que j'adore.

A

Mes chères frangines : Aicha, Fatima et Fatiha.

A

Mes chers frangins Djelloul et Boudjema.

A mon encadreur le docteur et le maître de conférences A Mr SEDIKKI MOHAMMED

A tous mes chers amis

A toutes les personnes que j'aime.

**HAMIDA**

## Résumé

Le risque d'infection nosocomiale a toujours existé il concerne les patients mais peut aussi affecter le personnel médical suite à l'utilisation de matériel non médical tel que les smartphones, bijoux et stylo. Ce dernier joue un rôle très important dans la transmission des germes pathogènes. À travers cette étude, nous avons prélevé plusieurs souches à partir de ces matériaux. Il s'est avéré qu'elles sont multirésistantes aux antibiotiques et capables de former des biofilms.

De cela, il est nécessaire de prévenir ce problème de santé par des règles d'hygiène pour désinfecter ces objets non médicaux. De plus, assurer la coopération des cadres médicaux et des actions de formation répétées de l'ensemble du personnel soignant.

**Mots clés :** Risque nosocomial – matériel non médical – personnel soignant – résistance bactérienne – biofilm.

## Abstract

The risk of nosocomial infection has always existed, it concerns patients but can also affect medical personnel following the use of non-medical equipment such as smartphones, jewelry and pen; which play a very important role in the transmission of pathogenic germs. Through this study, we have taken several strains from these materials. They have been shown to be multidrug-resistant to antibiotics and capable of forming biofilms.

From this, it is necessary to prevent this health problem by hygienic rules to disinfect these non-medical objects. In addition, ensure the cooperation of medical executives and repeated training actions for all nursing staff.

**Keywords :** Nosocomial risk – non medical equipment – nursing staff – bacterial resistance – biofilm.

## مُلخَص

وقد وجدت دائما خطر العدوى المكتسبة في المستشفى وتؤثر على المرضى وكذلك العاملين الطبيين من خلال استخدام المعدات غير الطبية مثل الهواتف الذكية والمجوهرات والقلم. وتلعب هذه الأخيرة دوراً هاماً جداً في انتقال الجراثيم المسببة للأمراض. يتم تقييم هذا في هذا العمل، الذي كشف عن العديد من السلالات وأثبت أنها مقاومة للأدوية المتعددة للمضادات الحيوية أكثر من هذا، فهي قادرة على تشكيل الأغشية الحيوية. وهذا يتطلب منع هذه الأمراض الخطيرة من خلال قواعد النظافة البسيطة من هذه المعدات غير الطبية، فضلا عن ضمان تعاون العاملين الطبيين مع إجراءات التدريب المتكررة والتأثير على جميع العاملين في مجال الرعاية الصحية.

## الكلمات الرئيسية

خطر العدوى المكتسبة في المستشفى - المعدات غير الطبية - العاملين في مجال الرعاية الصحية - المقاومة البكتيرية - بيوفيلم.

## Liste des abr éviations

**ADNe** : ADN extra-cellulaire

**AML** : Amoxicilline

**ATB** : Antibiotique

**ATM** : Aztreonam

**BMR** : bact érie multi-r ésistante

**Cclin** : centre de coordination de lutte contre les infections nosocomiales

**Clin** : comit é de lutte contre les infections nosocomiales

**CMCE** : comit é des ministres du conseil de l'Europe

**CS** : Colestin-Sulfate

**CTX** : Cefotaxime

**STX** : Trimethoprin-Sulfamethoxazole

**EBLSE** : ent érobact érie productrice de beta-lactamases à spectre élargi

**ENP** : enquête nationale de prévalence

**EUCAST** : Européen Committee on antimicrobial Susceptibility Testing (Comit é de l'antibiogramme de la soci été Française de Microbiologie).

**G-** : gram négatif

**G+** : gram positif

**GN** : gélose nutritive

**MES** : minist ère de l'emploi et de la solidarit é

**MSA** : Le mannitol Salt agar

**Oms** : organisation mondiale de sante

**P 1** : P énicilline G

**Pseudo** : pseudomonas

**R** : r ésistante, **I** : interm édiaire, **S** : sensible

**SCN** : Staphylococcus a coagulase négatif

**Staph** : Staphylococcus

**Strepto** : Streptococcus

**TIAC** : toxi-infection alimentaire collective

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1 :</b> les antibiotiques utilisés dans cette étude	p09
<b>Tableau 2 :</b> Distribution des prélèvements selon le nombre et le type du matériel non médical utilisés par le personnel médical dans les hôpitaux de Ain sefra et de Mecheria-Naama.	p13
<b>Tableau 3 :</b> Répartition des souches dans les services des hôpitaux de Ain Sefra et de Mecharia.	p14
<b>Tableau 4 :</b> Résultats des examens macroscopiques, et biochimiques microscopiques des souches prélevées aux hôpitaux de Ain sefra et de Mecheria.	p22-24
<b>Tableau 5 :</b> Résultats de l'antibiogramme.	P25
<b>Tableau 6 :</b> Résultat du test de formation de biofilm selon la technique au Cristal violet.	p28-29

## Liste des figures

- Figure 1 :** Etapes de formation d'un biofilm de *Pseudomonas aeruginosa*. P04
- Figure 2 :** Structure de N-Acyl-L-Homoserine Lactones. P05
- Figure 3 :** Organigramme de l'identification bactérienne. P07
- Figure 4 :** Emplacement des disques d'antibiotiques au cours de l'antibiogramme. P10
- Figure 5 :** Repartition des isolats dans les quatres services des hopitaux  
de Ain sefra et de Mecheria. p15
- Figure 6 :** Répartition des souches isolées vis-à-vis des catégories  
du personnel des hôpitaux de Ain sefra et de Mecheria. p16
- Figure 7 :** taux des isolats selon le test de Gram dans les hôpitaux  
de Ain sefra et de Mecheria. p18
- Figure 8 :** taux des isolats pures selon la forme des hôpitaux  
de Ain sefra et de Mecheria. p18
- Figure 9 :** Histogramme de la fréquence des isolats selon la résistance,  
la sensibilité et l'intermédiaire des zones d'inhibition aux ATB. p26
- Figure 10 :** Fréquence des souches bactériennes formatrices  
des biofilms selon leur dégradation de couleur violette. p29

## Liste des photos

- Photo 1 :** Aspect macroscopique du test mannitol mobilité d'isolats purs. P21
- Photo 2 :** Résultat positif du test de citrate de Simmons d'une souche isolée et purifiée de l'hôpital de Mecheria. p21
- Photo 3 :** Zones d'inhibition de l'antibiogramme vis à vis des souches isolées des hôpitaux de Ain sefra et de Mecheria. p27
- Photo 4 :** Photo (A) face et (B) profil du test de formation des biofilms chez les souches isolées et putréfiées des hôpitaux de Ain sefra et de Mecheria. p30

# SOMMAIRE

Synthèse bibliographique	01
Matériel et méthodes	06
1. Prélèvement	06
2. Isolement et purification	06
3. Identification	06
a. Tests cultureux	
➤ Test de l'état frais	07
➤ Test de coloration de Gram	07
b. Tests biochimiques	
➤ Test de catalase	08
➤ Test d'oxydase	08
➤ Test de mannitol mobilité MSA	08
➤ Test de three Sugars TSI	08
➤ Test de citrate de Simmons	08
4. Antibiogramme	09
5. Test de formation de biofilm	10
Résultats et discussion	12
Conclusion	30
Références bibliographiques	31

# **Synthèse bibliographique**

Le risque de contacter une infection hospitalière a toujours existé (*Astragneau, 1998*), celles-ci touchent environ 500.000 cas par an et peuvent être survenues suite à une contamination d'un implant médical ou non médical (*Cclin Sud-Ouest, 2003*). Ces affections touchent soit le malade, du fait de son admission à l'hôpital, soit le personnel hospitalier du fait de son activité (*CHMOUN, 2004*) ; cependant, le lieu de l'apparition de la maladie peut être l'hôpital ou le domicile de ces personnes (*BRUCKER, 1998*). Toute personne, y compris le personnel, est donc susceptible de développer une infection suite à une contamination issue d'un matériel médical ou non médical (*Cclin Sud-Ouest, 2003*).

Afin de prévenir ces infections, il est recommandé aux soignants de ne porter aucun objet personnel durant leur travail à cause des risques de contaminations que constitue le téléphone mobile et/ou autre objet personnel porté par le personnel durant son activité de soin. Ce risque se traduit par la dissémination des germes hospitaliers dans son environnement personnel, ce qui peut affecter le soignant ou son environnement, ou bien la personne soignée (*CTIN, 1999*).

Dans le milieu hospitalier, les micro-organismes peuvent être transférés entre personne. En effet, certains outils, souvent en contact avec les mains, tels que les stylos et les téléphones mobiles, jouent un rôle essentiel dans la transmission des germes hospitalier (*Soto et al, 2006*), (*Goldblatt et al, 2007*).

Ces objets ont un intérêt croissant dans le domaine médical avec une nette augmentation des publications sur le sujet, le téléphone cellulaire personnel ou le téléphone mobile hospitalier (DECT : Digital Enhanced Cordless Téléphone), d'utilisation courante à l'hôpital, améliorent grandement la communication entre soignants (*Brady et al, 2009*), (*Visvanathan et al, 2011*). Les dispositifs de communication sont habituellement transportés dans la blouse du soignant au plus proche des malades et des lieux de soins (*Visvanathan et al, 2011*). En revanche, les téléphones mobiles du personnel de la santé constituent un réservoir de bactéries, ils sont en contact étroit avec les régions fortement contaminées du corps humain ; les mains, la bouche, le nez et les oreilles. De plus, la chaleur générée par le téléphone est parfaite pour le développement des microorganismes. Ces objets personnels, utilisés aussi bien à l'intérieur des centres hospitaliers qu'à l'extérieur, peuvent être à l'origine d'infections nosocomiales et/ou communautaires (*Brady et al., 2011*), (*Ustun et al., 2012*).

Il a été démontré dans une étude portant sur 116 soignants, que 47% d'entre eux-utilisaient leur téléphone portable en présence des patients (*Ramash et al., 2008*). De plus, de nombreuses surfaces inertes proches des patients peuvent être colonisées par des bactéries pathogènes et

être à l'origine d'infection, voire d'épidémies nosocomiales (*Falk et al., 2000*), (*Lemmen et al., 2004*), ce qui peut conduire à des infections graves associées à une morbi-mortalité élevée et un surcoût médical supplémentaire (*Ustun et al., 2012*). En fait, *Gholamreza et al., 2009* et *Ustun et al., 2012* ont souligné des taux de contaminations bactériennes des téléphones mobiles des personnels de la santé de 32% à 97,8%, respectivement.

Par ailleurs, la plupart des micro-organismes favorisent un mode de vie où la population bactérienne se trouve fixée sur un support (état sessile) plutôt que libre et isolée dans le milieu environnemental (état planctonique). L'attachement sur une surface est une stratégie de survie qui permet à la bactérie de s'installer et de coloniser un environnement ; tandis que l'état planctonique pourrait se réduire au passage de la bactérie d'une surface à l'autre (*Costerton et al., 1999*). Après attachement sur un support, les bactéries vont développer une communauté très organisée, à laquelle William Costerton a donné le nom de biofilm. Celui-ci est une population bactérienne adhérente à une surface et enrobée d'une matrice d'exopolysaccharide. Cette dernière représente 85 % du volume total, elle renforce la structure du biofilm tout en lui conservant une grande plasticité (*Costerton et al., 1978*).

L'importance des biofilms dans le milieu médical est capitale, puisque 65 % des infections bactériennes chez l'homme impliquent ces structures (*Chicurel et al., 2000*). Les biofilms peuvent se former sur différentes surfaces et colonisent des tissus corporels comme les dents, les yeux, les poumons, les oreilles ou le tractus urogénital (*Costerton et al., 1999*). De nombreuses bactéries, importantes sur le plan médical, ont fait l'objet d'études quant à leur capacité à former les biofilms ; il s'agit des bactéries Gram positif, comme *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*, et de bactéries Gram négatifs comme *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* (*Lewis, 2010*), (*Rahme et al., 2000*).

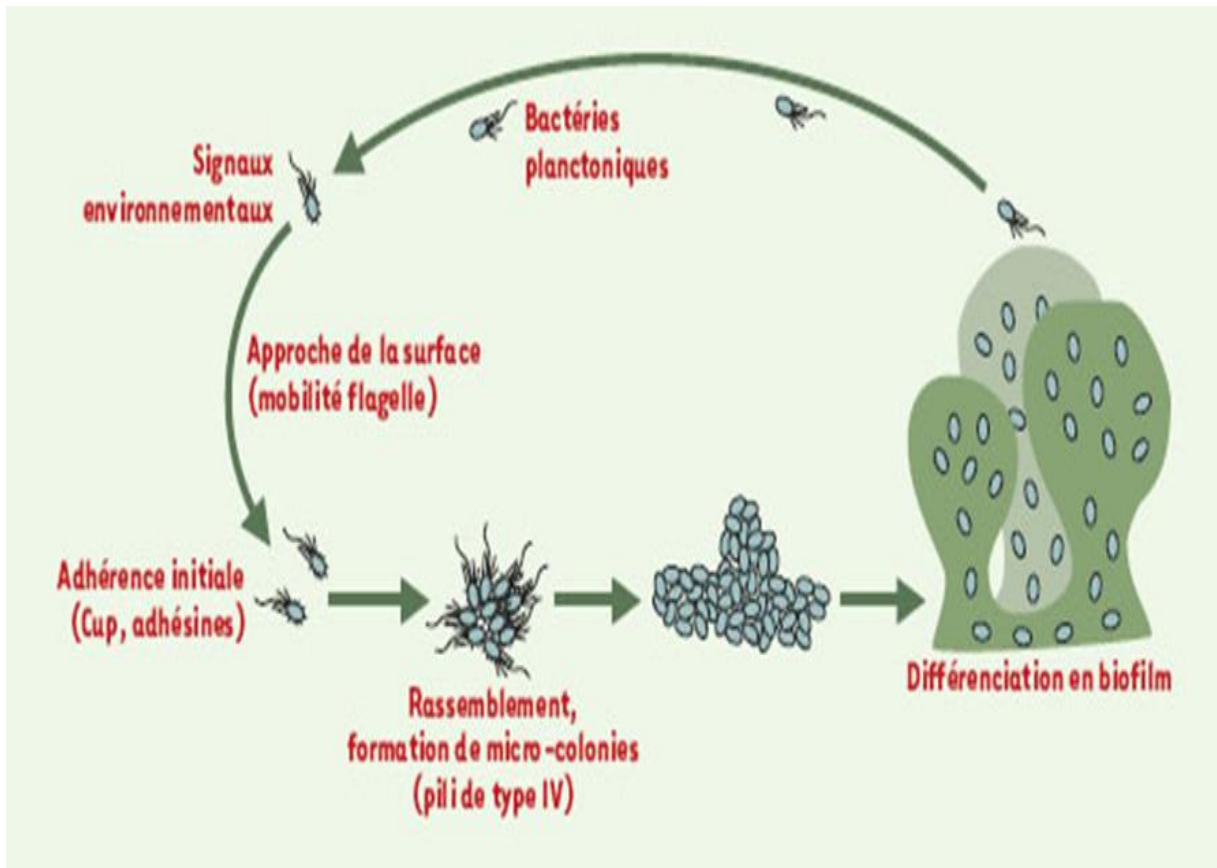
La formation du biofilm est, également, une forme de résistance face à la réponse immunitaire de l'hôte (*Costerton et al., 1999*). Son éradication pose de graves problèmes sur le plan médical ; si les traitements antibiotiques classiques sont efficaces sur les bactéries planctoniques, ils s'avèrent bien moins probants sur un biofilm (*Broon et al., 2000*). En effet, les bactéries au sein du biofilm sont dans un environnement pauvre en nutriments et, par conséquent, ont un métabolisme ralenti et une croissance lente ; ce qui rend inefficace une grande majorité d'antibiotiques. De plus, la présence de la matrice d'exopolysaccharide ralentit la pénétration d'antibiotiques (*O'Tool et al., 1998*).

Par ailleurs, la formation des biofilms suit plusieurs étapes, cependant, il n'y a pas de système universel de formation d'un biofilm ; les voies métaboliques qui déclenchent la formation du biofilm et les facteurs d'adhésion impliqués dépendent de l'organisme concerné et de l'environnement dans lequel il forme le biofilm (*Tolker-Nielsen et al., 2000*).

La formation du biofilm bactérien débute par l'adhésion qui fait intervenir des appendices générateurs de mouvement qui permettent d'approcher la surface à coloniser (*O'Toole et al., 1998*), ce qui conduit à un attachement réversible. Dans un deuxième temps, une association stable avec la surface et avec d'autres micro-organismes, déjà présents, s'établit. Ces rassemblements de bactéries conduisent à la formation de micro-colonies dont la différenciation mène à l'élaboration du biofilm (*Costerton et al., 1999*).

Dès que l'attachement à la surface devient irréversible, le biofilm entame la phase de croissance. Cette phase assure la multiplication et la formation d'une couche basale de micro-colonies (*Monds et O'toole, 2008*). Cette phase intermédiaire est caractérisée par la production et l'émergence de la matrice extracellulaire qui apparaît comme un voile couvrant les microcolonies; la quantité du matériel extracellulaire augmente jusqu'à ce que les populations microbiennes soient entièrement confinées, c'est la phase de maturation (*Costerton et al., 1999*).

Au sein du biofilm mature, les micro-colonies sont séparées par des canaux aqueux qui forment un réseau de circulation permettant, d'une part, d'acheminer l'oxygène et les nutriments dans les régions enfouies du biofilm, et d'autre part, d'évacuer les déchets. (Figure1)

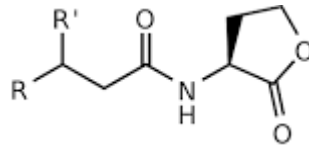


**Figure 1 :** Étapes de formation du biofilm de *Pseudomonas aeruginosa* (Tolker-Nielsen et al., 2000).

La composition biochimique de la matrice extracellulaire du biofilm est contrôlée par la communauté microbienne ; la majeure partie de cette matrice est constituée d'eau (95-97%). D'autres composants peuvent, également, être présents, tels que les glucides, les protéines, l'ADN et les lipides (Daniels et al., 2006).

D'autre part, la population microbienne au sein d'un biofilm utilise un système de communication appelé quorum sensing. Celui-ci est considéré comme un mécanisme de régulation clé dans l'adaptation écologique et la pathogénie des bactéries (Parsek et al., 2000).

Chez les bactéries Gram négatif, N-Acyl-L-Homoserine Lactones (AHL ou AI-1) est une classe particulière d'auto-inducteurs qui indiquent la densité cellulaire dans un environnement donné. Les HSL produits par une bactérie donnée diffèrent par la longueur et les substitutions de leurs chaînes d'acides gras (Figure 2). D'autre part, le quorum sensing chez les bactéries Gram positif est basé sur un système d'auto-induction de nature peptidique, Autoinducing Peptide (AIP).



**Figure 2** : Structure de N-Acyl-L-Homoserine Lactones (*Parsek et al.,2000*)

À l'état naturel, les biofilms sont des communautés bactériennes au sein desquelles on peut trouver de nombreuses espèces différentes. Dans ces communautés, le transfert horizontal de gènes est favorisé et les bactéries échangent leur matériel génétique à des fréquences très élevées (*Ghigo,2001*).

D'autre part, les bactéries sessiles (en mode biofilm) présentent une résistance accrue aux antibiotiques par rapport à leurs homologues planctoniques (*Seddiki et al., 2015*). Cependant, l'antibiogramme classique ne permet pas l'évaluation de la susceptibilité des biofilms aux antibiotiques.

L'antibiogramme est une méthode de diffusion sur gélose, c'est l'une des plus anciennes approches de détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques et demeure l'une des méthodes les plus utilisées en routine ; elle convient pour la majorité des bactéries pathogènes (*EUCAST, 2017*).

Vue l'importance de la transmission des germes bactériens entre services hospitaliers et entre services et l'extérieur des établissements hospitaliers, qui sont véhiculés par le personnel soignant suite à l'utilisation de matériel non médical au sein des services, nous nous sommes intéressés à l'étude des défaillances dans la chaîne de soins suite à l'utilisation du matériel non médical dans l'EPH de Mechria et de Ain Sefra. Pour atteindre cet objectif, nous avons fixé les objectifs suivants :

- Recherche de germes bactériens à partir de matériel non médical utilisé par le personnel soignant dans les services de chirurgie, réanimation, infection et de pédiatrie.
- Evaluation de la résistance des germes isolés aux antibiotiques.
- Evaluation du potentiel de formation des biofilms des germes isolés.

**Matériel  
et  
méthodes**

L'objectif de notre travail se focalise sur l'évaluation et l'identification du risque de contamination bactérienne du matériel non médical (téléphone mobile, stylo, bijoux et Montre) utilisé par le personnel soignant dans les hôpitaux de Ain sefra et de Mecheria d'une part, et d'autre part, sur l'examen du niveau de la résistance bactérienne aux antibiotiques, ainsi que le pouvoir à former les biofilms par les bactéries isolées.

### **1- Prélèvement**

Les prélèvements sont réalisés entre le premier et le 30 mars 2019, dans les services de réanimation et de chirurgie au niveau de l'hôpital de Ain sefra et les services de pédiatrie maternité et d'infectieux à l'hôpital de Mecheria. Pour chaque prélèvement, nous avons noté les données concernant le personnel, le service médical et le type du matériel non médical (Téléphone mobile, stylo, bijoux ou montre) sur lequel nous avons réalisé le prélèvement.

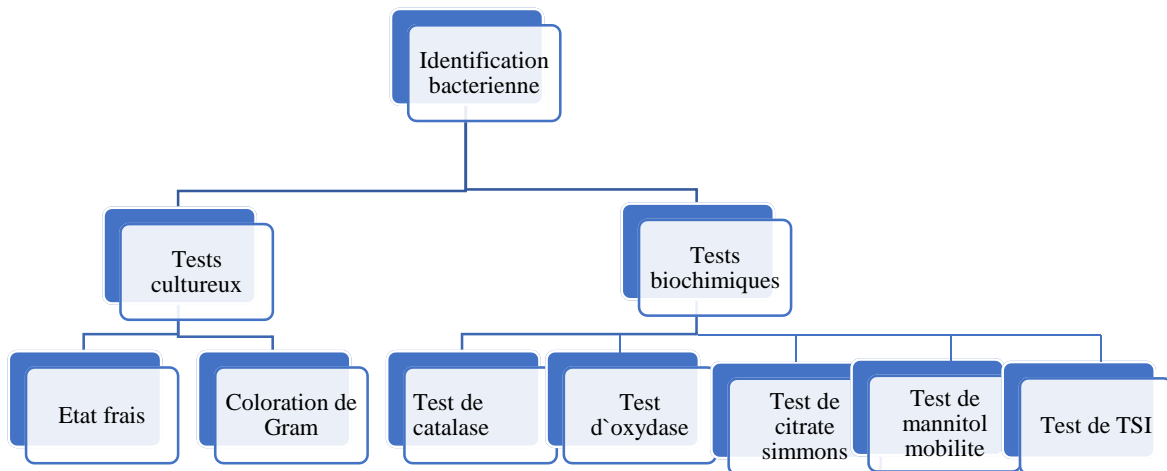
Les prélèvements sont effectués dans les meilleures conditions d'asepsie. Pour se faire, un écouvillon est humecté dans de l'eau physiologique stérile, ensuite des mouvements de vas et vient sont effectués sur la surface du matériel non médical du personnel soignant. Les écouvillons sont retournés dans 1 ml d'eau physiologique stérile. Les tubes sont refermés hermétiquement, puis sont acheminés rapidement au laboratoire de Microbiologie du centre Universitaire de Naâma.

### **2- Isolement et purification**

À partir de chaque échantillon, une géluse nutritive, préalablement coulée en boîtes de Petri, estensemencée puis incubée à 37 °C pendant 24h. Ensuite, des tubes contenant du bouillon nutritif sontensemencés en utilisant des colonies séparées et distinctes l'une de l'autre. Cette procédure de repiquage successif est répétée plusieurs fois jusqu'à l'obtention de souches pures. Celles-ci sont ensuite conservées au froid (6 °C) dans des tubes contenant la géluse nutritive inclinée.

### **3- Identification**

L'identification des bactéries (figure 4) est réalisée en se basant sur leurs caractères cultureux et morphologiques (test à l'état frais et coloration de gram) et biochimiques (catalase, oxydase, citrate de Simmons, mannitol, TSI). Les tests biochimiques sont effectués en se référant à *Marchal et al., 1982*.



**Figure 3 :** Organigramme de l'identification bactérienne.

#### a- État frais

Ce test est réalisé pour détecter la forme, le mode d'association et la mobilités des souches isolées.

À partir d'une suspension pure et homogène, mis entre lame et lamelle, le test est effectué sous un microscope optique aux objectifs x40 et x100.

#### b- Coloration de Gram

Ce test, mis au point par Christian Gram, renseigne sur la morphologie et notamment le type de la paroi bactérienne. Il consiste à une double coloration par le violet de Gentiane et la fushine, les bactéries G<sup>+</sup> sont colorées en bleu violet, alors que les bactéries G<sup>-</sup> sont colorées en rose.

#### c- Test de catalase

La catalase est une enzyme de dégradation du peroxyde d'hydrogène, produit toxique du métabolisme aérobie de nombreuses bactéries. Ce test est réalisé sur une lame qui contient une grappe bactérienne purifiée avec une goutte de peroxyde d'hydrogène. La formation de bulles de gaz indique un test positif.

#### d- Test d'oxydase

La bactérie aérobie contient une enzyme cytochrome oxydase de la respiration aérobie qui cède les électrons à leur accepteur final.

Le test est effectué sur une lame en déposant un disque d'oxydase sur une suspension bactérienne pure ; si la colonie prend une teinte rose violette le test est donc positif.

#### e- Test de citrate de Simmons

La citrate perméase transporte le citrate aux cellules bactériennes qui peuvent l'utiliser.

Le test est réalisé par l'ensemencement d'une souche bactérienne pure sur un milieu de citrate de Simmons puis incubé à 37 °C pendant 24h. Le virage de la couleur du vert au bleu indique que le test est positif (*Simmons, 1926*).

#### f- Test de mannitol mobilité MSA

Le mannitol Salt agar (MSA) est un milieu sélectif des bactéries qui fermentent le mannitol, il est semi-solide, donc fluide pour rendre plus facile le mouvement des bactéries.

Ce test est réalisé par piqûre centrale d'une souche pure à l'aide d'une anse de platine. L'incubation se réalise à 37°C pendant 24h. Le virage au jaune du milieu MSA renseigne sur le métabolisme du mannitol par les micro-organismes. Concernant la mobilité des bactéries, l'apparition des stries transversales révèle la mobilité des bactéries (*Marchal et al. 1982*).

#### g- Test de TSI (Triple Sugar Iron)

Ce test repose sur le catabolisme de trois sucres, glucose, lactose et saccharose, accompagné d'une production d'acide. Celui-ci est détecté par l'indicateur de pH, le rouge de phénol, qui en milieu basique est rouge et en milieu acide est jaune orange. À partir de sulfate ferrique  $Fe_2(SO_4)_3$ , le thiosulfate est réduit en sulfures d'hydrogène par certaines bactéries. Le  $H_2S$  réagit avec un sel de Fer pour donner un précipité noir.

Le test est effectué par l'ensemencement d'une suspension bactérienne sur la surface du milieu TSI, puis une incubation à 37 °C /24h. L'observation de la couleur jaune sur la gélose reflète la fermentation des trois sucres, la bactérie est donc anaérobie facultative.

La couleur rouge et jaune signifie que seul le glucose est fermenté et la bactérie est donc aérobie. De plus, l'apparition de la couleur noire indique la production de  $H_2S$  (sulfate d'hydrogène). Le décollement de la gélose indique le dégagement du gaz par le micro-organisme gazogène.

#### 4- Antibiogramme

Pour tester la résistance des souches vis-à-vis des antibiotiques, nous avons utilisé la méthode de diffusion sur la gélose Mueller-Hinton en utilisant des disques d'antibiotique (*EUCAST, 2017*). Six antibiotiques sont utilisés dans cette étude (Tableau 1), Pénicilline G, Amoxicilline, Cefotaxime, Aztreonam, Colestin-sulfate, Triméthoprim-sulfaméthoxazole. Ce choix est

effectué selon la fréquence d'utilisation des antibiotiques dans les services étudiés d'une part. D'autre part, selon la variabilité des familles d'antibiotiques.

**Tableau 1 :** Antibiotiques utilisés dans cette étude.

Famille d'antibiotiques	Antibiotiques	Abréviation	Charge du disque
B-lactamines (Pénicillines)	Pénicilline G	P1	1 IU
B-lactamines (Pénicillines)	Amoxicilline	AML	2 µg
B-lactamines (Céphalosporines)	Cefotaxime	CTX	30 µg
B-lactamines	Aztreonam	ATM	30 µg
Polymyxines	Colectin-sulfate	CS	30 IU
Diaminopyrimidines et sulfamides	Trimethoprim- sulfaméthoxazole	SXT	25 µg

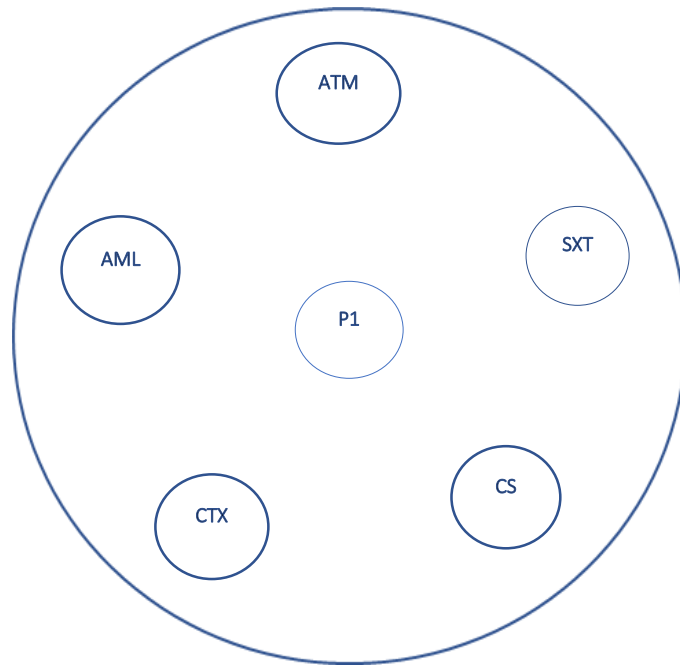
À partir d'une culture de souches isolées, parfaitement pure et jeune de 18h sur une gélose nutritive, quelques colonies sont raclées et sont ensuite déchargées dans de l'eau physiologique stérile. Cette suspension bien homogénéisée puis ajustée à  $10^8$  Cellules/ml (0,5Mac Ferland avec une densité optique de 0,08 à 0,1 lue à 625nm dans un colorimètre).

À l'aide d'un écouvillon stérile émergee dans l'inoculum, un ensemencement a été réalisé par des stries serrées sur la totalité de la surface de la gélose de Muller-Hinton.

L'opération est répétée en tournant chaque fois la boîte Petri de 60°. Deux répétitions ont été réalisées pour chaque souche.

Six disques d'antibiotique sont ensuite déposés sur la gélose Muller-Hinton. Enfin l'incubation est effectuée à 37 °C/24h (figure 4).

Les résultats sont évalués selon les diamètres des zones d'inhibition autour des disques d'antibiotiques. L'apparition d'un halo clair autour des disques renseigne sur l'effet inhibiteur des antibiotiques. Le diamètre de ces zones d'inhibition permet de classer les souches en Résistante (R), sensible (S) ou intermédiaire (I). L'interprétation des diamètres des zones d'inhibition est effectuée selon (*EUCAST, 2017*).



**Figure 4 :** Test d'antibiogramme selon la méthode des disques d'antibiotiques.

### 5- Test de formation de biofilm

Le test de formation des biofilms est réalisé selon la technique quantitative (**O'tool, 2011**). Les puits de la microplaque sont inoculés en plaçant 200  $\mu\text{l}$  de la suspension bactérienne ( $10^5$  UFC/ml) puis incubés à 37 °C pendant 24 heures. Un rinçage est effectué par de l'eau physiologique stérile pour se débarrasser du milieu de culture ainsi que les bactéries planctoniques et non adhérentes.

La formation du biofilm bactérien est révélée par sa coloration au cristal violet (2%). 200  $\mu\text{l}$  de celui-ci sont ajoutés dans chaque puits, puis laisser agir pendant 20 minutes. Un second lavage par de l'eau physiologique est effectué après avoir vidé la microplaque de son contenu. En fin l'acide acétique (33%) est ajouté aux puits et laisser agir pendant 5 min.

Trois répétitions sont réalisées pour chaque souche.

Pour une souche qui est une bactérie aérobie stricte, le biofilm se forme à l'interface air-liquide, ce qui correspond ici à la position de l'anneau violet.

L'apparition de la couleur violette reflète la positivité du test et donc, le potentiel de la formation des biofilms.

**Résultats  
et  
discussion**

## 1. Prélèvement :

40 prélèvements sont réalisés à partir de 24 téléphones mobiles, 06 stylos et 12 bijoux dont 05 bagues et 07 montres (Tableau 2). ces prélèvements sont répartis entre quatre services dans les structures hospitalières de Mechria et de Ain Sefra.

Tout le matériel soumis à l'étude du personnel de santé des hôpitaux de Ain sefra et de Mecheria de la wilaya de Naama ont présenté une contamination par, au moins, un germe.

Dans notre étude, les téléphones mobiles étaient contaminés par des agents microbiens. Ceci peut être expliqué par le manque d'hygiène des téléphones mobiles et des mains. Ce taux est plus élevé que celui observé par d'autres chercheurs où le taux de contamination de téléphones mobiles des personnels de santé étaient de 32% (*Gholamreza et al., 2009*) et 97,8% (*Ustun et al., 2012*).

- Deux prélèvements sont effectués à partir d'un téléphone mobile et d'un bijou (montre) appartenant à une femme de ménage dans le service de réanimation de l'hôpital de Ain Sefra.

**Tableau2** : Distribution des prélèvements selon le nombre et le type du matériel non médical utilisés par le personnel médical dans les hôpitaux de Ain sefra et de Mecheria-Naama.

<b>EPH de Ain sefra</b>									
<b>Service Chirurgical</b>					<b>Service de Réanimation</b>				
<b>Médecin</b>	<b>Infirmier</b>			<b>ATS</b>		<b>Médecin</b>	<b>Infirmier</b>		
02	03			02		01	03		
<b>Tm</b>	<b>Tm</b>	<b>S</b>	<b>Bj</b>	<b>Tm</b>	<b>S</b>	<b>Bj</b>	<b>Tm</b>	<b>S</b>	<b>Bj</b>
02	Bj	03		01	02	02	01	02	01
	01	mtr				mtr		01	mtr
	02	bg						01	bg
<b>EPH de Mecheria</b>									
<b>Service de pédiatrie-maternité</b>					<b>Service infectieux</b>				
<b>Médecin</b>	<b>Infirmier</b>			<b>ATS</b>		<b>Infirmier</b>			<b>ATS</b>
01	07			03		02			01
<b>Tm</b>	<b>Tm</b>	<b>S</b>	<b>Bj</b>	<b>Tm</b>	<b>S</b>	<b>Bj</b>	<b>Tm</b>	<b>S</b>	<b>Tm</b>
01	07	01	02	03	01	01	02	01	01
			mtr			bg			
			01						
			bg						
<b>Total</b>								<b>40 prélèvements</b>	

ATS : Aide-soignant, Tm : Téléphone mobile, S : Stylo, Bj : Bijoux, mtr : montre, bg : bague

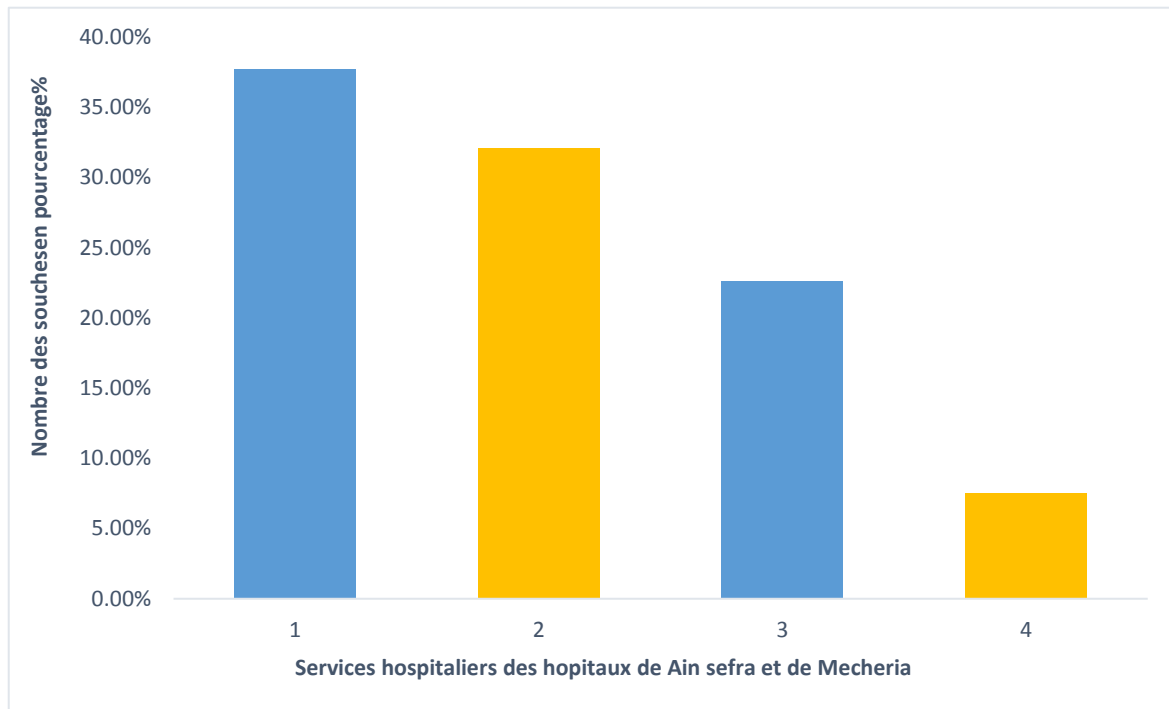
## 2. Isolement et purification

Nous avons isolé 53 souches , 32 souches dans l'EPH de Ain sefra et 21 autres dans l'EPH de Mecheria. Ces souches sont réparties comme suit; 20 souches qui représente environ de 38% dans le service de chirurgie, 17 souches représentant environ 32% dans le service de pédiatrie et maternité,12 souches dans le service de réanimation et 04 souches dans le service infectieux (Tableau3, Figure5).

Ce résultat montre une prédominance de la fréquence de germe isolés dans le service chirurgical avec 37.73% suivi par le service de pédiatrie et maternité avec 32.07%. Puis un taux de 22.64% concernant le service de réanimation à cause de son importance et sa sensibilité qui demande et oblige aux personnels beaucoup plus d'attention, prévention et d'hygiène et en dernier, le service infectieux avec le taux le plus faible (07.54%).

**Tableau 3 :** Répartition des souches dans les services des hôpitaux de Ain Sefra et de Mecharia.

<i>Hôpitaux</i>	<b>Services</b>	<b>Nombre de souches</b>
<i>Ain sefra</i>	Chirurgie	20
	Réanimation	12
<i>Mecheria</i>	Pédiatrie et maternité	17
	Infectieux	04
	<b><i>Total</i></b>	<b>53</b>



**Figure5:** Repartition des isolats dans les quatre services des hôpitaux de Ain sefra et de Mecheria. (1: Service chirurgical, 2: Service Pédiatrie et Maternité, 3: Service de reanimation 4: Service infectieux, **Bleu:** Hospital de Ain sefra, **Jaune:** Hospital de Mecheria).

La fréquence des isolats change selon la structure hospitalière et la catégorie du personnel, à l'hôpital de Ain sefra 03 souches, représentant environ 11%, sont obtenus à partir du matériel non médical des médecins, 21 souches représentant environ 61% à partir de matériel appartenant aux infirmiers et 08 souches (28%) ont concernés les aides-soignants.

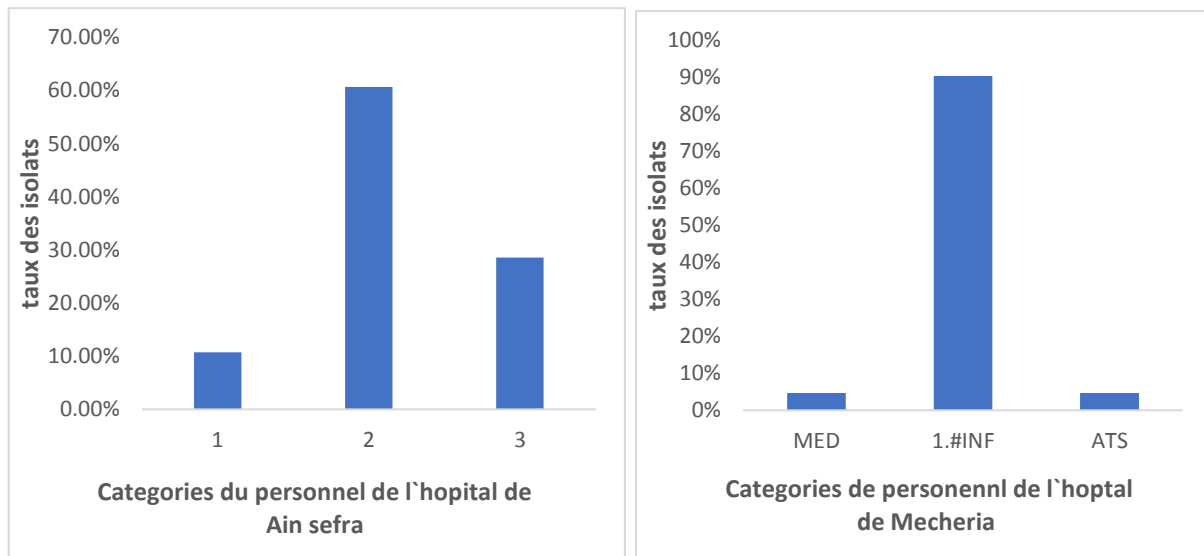
Ce résultat a montré une prédominance du taux de contamination chez les infirmiers avec 60.71%, suivi par les aides-soignants avec 28.57% et puis les médecins avec le plus faible taux de contamination de 10.71%.

Il s'est avéré que le personnel soignant utilise ses instruments non médical dans les services des étudiés et ce, pendant leur exercice.

Il semble que les taux variables observés peuvent s'expliquer par le fait que les infirmiers fassent des actes de soins plus fréquemment que les médecins et les aides-soignants. Concernant l'hôpital de Mecheria, les résultats des souches isolées repartis par rapport au type de fonction du personnel a été comme suit, 01 seule souche qui représente 04.76% pour les médecins, 12 souches qui représente 90.47% pour les infirmiers et 09 souches (04.76%) pour les aides-soignants (Figure6).

Ces résultats montrent que les infirmiers ont la prédominance dans la répartition des isolats vis-à-vis du personnel avec un taux de contamination plus élevée de 90.47% que les aides-soignants et les médecins avec un taux plus bas à 4.76%.

Nous avons remarqué que le taux le plus élevée de contamination se retrouve chez la catégorie des infirmiers par rapport aux médecins et aides-soignants.



**Figure 6 :** Répartition des souches isolées vis-à-vis des catégories du personnel des hôpitaux de Ain sefra et de Mecheria. (1: **MED** Médecin, 2: **INF** Infirmier, 3: **ATS** Aide-soignant).

### 3. Identification

16 souches isolées et purifiées, appartenant aux quatre services des deux hôpitaux de Ain sefra et de Mecheria, ont fait l'objet de l'identification.

Le test de Gram a révélé 12 souches à Gram positif (75 %) et 04 souches à Gram négatif (25%) (Figure7). Cependant, différentes morphologies sont observées, 08 cocci qui représente 50%, 06 bacilles qui représente 37.5% et 02 coccobacille (12.5%) sont identifiées (Figure8).

En tenant en compte le matériel non médical à partir duquel les prélèvements sont réalisés, les smart-phones étaient contaminés à 75% par les bactéries G+ et a 25% par les bactéries G-.

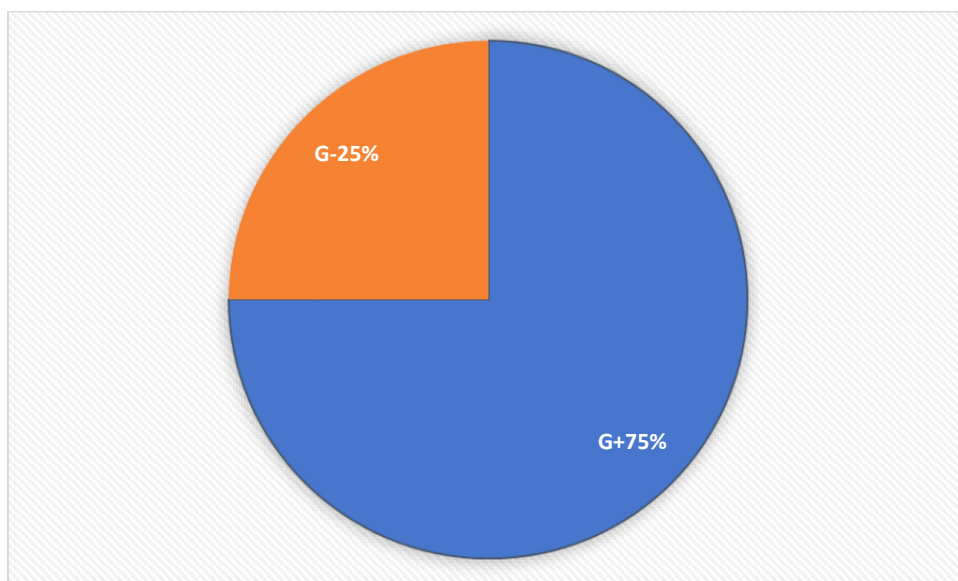
Les bactéries isolées à Gram positif, cocci et bacilles, font partie des flores commensales de la peau et des muqueuses de l'homme, elles peuvent également se retrouver dans l'environnement (*Chiller et al., 2001*). Les bacilles à Gram négatif ne résident pas dans l'environnement sec de

la peau normale. Occasionnellement, les surfaces intertrigineuses humides permettent la croissance d'*Acinetobacter* sp. (*Chiller et al., 2001*).

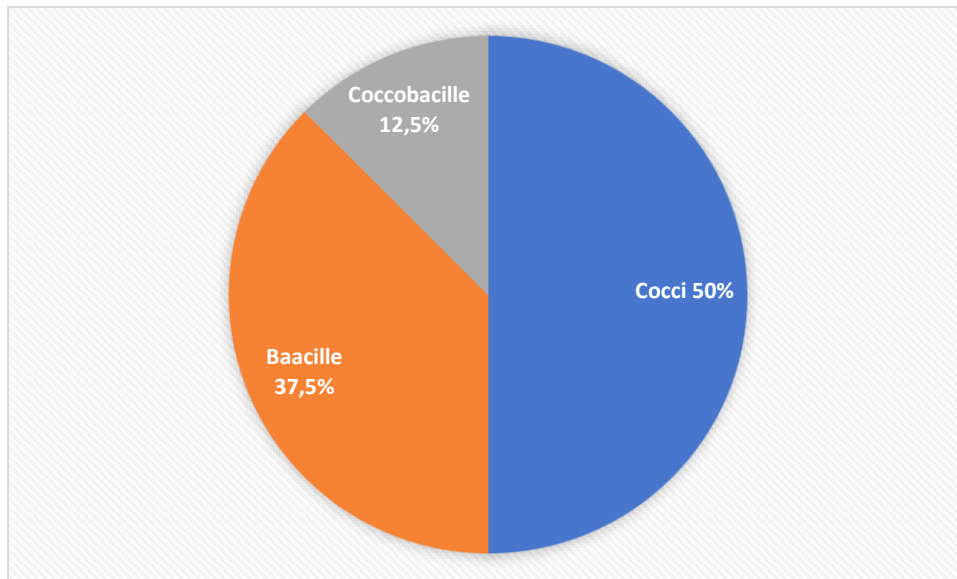
Ces résultats témoignent que les bactéries contaminant les téléphones mobiles font partie de la flore cutanée ; ceci a été démontré par d'autres chercheurs (*Nwankwo et al., 2014*). Des études antérieures sur la contamination bactérienne des téléphones mobiles ont montré que ces derniers étaient contaminés par les isolats de *Staphylococcus* à coagulase négatif (SCN), *Bacillus* sp, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter* sp, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas fluorescens* (*Gholamreza et al., 2009*).

Les téléphones mobiles sont souvent en contact avec les surfaces contaminés et sont conservés dans des sacs à main et dans les poches des utilisateurs, ce qui explique la présence de plus de deux espèces bactériennes sur les téléphones mobiles.

Les cultures polymicrobiennes ont été détectées dans 38,8% des téléphones mobiles des médecins dentistes (*Bhat et al., 2011*) et dans 17,7% des téléphones des médecins (*Sham et al., 2011*).



**Figure 7 :** taux des isolats selon le test de Gram dans les hôpitaux de Ain sefra et de Mecheria. (G+: Gram positif, G-: Gram négatif)



**Figure 8 :** Taux des isolats purs selon la forme des hôpitaux de Ain sefra et de Mecheria.

Les résultats obtenus de l'identification des souches isolées des différents services des structures hospitalières de Mecheria et de Ain Sefra sont regroupés dans le tableau 4.

#### a. Test de catalase

D'après ces résultats, tous les isolats sont catalase positive sauf une seule souche (numéro 14, INF1S) ; qui est prélevée du stylo d'un infirmier dans le service infectieux de l'hôpital de Mecheria, ceci signifie que 15 souches isolées synthétisent l'enzyme catalase et sont capable de cataboliser les sucres. (Tableau4)

#### b. Test d'oxydase

Dix isolats (1,2,3,4,5,6,7,8,9 et 14) ont montré un résultat positif. Neuf souches ont été prélevées de l'hôpital de Ain sefra et une souche de l'hôpital de Mecheria à partir de différents objets (smart phone, bijoux et stylo). Ces isolats sont des souches bactériennes aérobies. (Tableau4)

#### c. Test de TSI

Les résultats obtenus sont positif pour toutes les souches sauf une seule; il s'agit de la souche 14 (INF1T) qui est prélevée du smart-phone d'un infirmier du service infectieux de l'hospital de Mecheria.

Le résultat positif a démontré que les 15 souches ont une capacité à dégrader les trois sucres, glucose, lactose et saccharose et de les utiliser comme source d'énergie pour leur multiplication. (Tableau4)

#### **d. Test du Mannitol mobilité**

Le résultat positif du test du Mannitol se détecte par un virage de couleur vers le jaune-orange concernant la fermentation du mannitol. Selon les résultats obtenus, seulement trois isolats prélevés de l'hôpital de Ain sefra (2,3,4) ont été positif pour ce test. Ce résultat montre que ces trois souches fermentent le mannitol (Tableau4).

Concernant la mobilité des souches, sept isolats de l'hôpital de Ain sefra et quatre autres souches de l'hôpital de Mecheria se sont révélés mobiles (Tableau4, photo1).



**Photo 1 :** Aspect macroscopique du test mannitol mobilité d'isolats purs.

#### **e. Test de Citrate de Simmons**

Aucun changement ou virage de couleur vers le bleu n'a été observé, les résultats sont alors négatifs pour tous les isolats à l'exception d'une seule souche (numéro 14, INF1S), celle-ci semble utiliser le citrate comme seule source de carbone (Tableau4, photo2).



**Photo2 :** Résultat positif du test de citrate de Simmons d'une souche isolée et purifiée de l'hôpital de Mecheria.

L'ensemble des résultats de l'identification sont résumés dans le tableau suivant.

**Tableau 4** : Résultats des examens macroscopiques, microscopiques et biochimiques des souches prélevées aux hôpitaux de Ain sefra et de Mecheria.

Souches	Gram	Ox <sup>ase</sup>	Cat <sup>ase</sup>	Forme et mode d'association Mobilité	Mannitol mobilité	TSI	Citrate de Simmons
01 (INFreaT7)	G-	+	+	Bacille en chaînette immobile	Non fermenté immobile	F totale	-
02 (INFchT)	G+	+	+	Coccobacille en chaînette mobile	Fermenté mobile	F totale	-
03 (INFchbg)	G+	+	+	Uni-Cocci mobile	Fermenté mobile	F partielle	-
04 (ATSrem3)	G-	+	+	Cocci en amas mobile	Fermenté mobile	F partielle	-
05 (ATSreaT)	G+	+	+	Cocci en chaînette immobile	Non fermenté immobile	F totale	-
06 (MEDcht1)	G+	+	+	Bacille en chaînette immobile	Non fermenté immobile	F partielle	-
07 (ATSchT5)	G+	+	+	Bacille en chaînette immobile	Non fermenté immobile	F partielle	-
08 (ATSchb2)	G+	+	+	Bacille en chaînette immobile	Non fermenté immobile	F partielle	-
09 (MEDreat)	G-	+	+	Cocci en chaînette immobile	Non fermenté immobile	F partielle	-
10 (MD8T)	G-	-	+	Cocci en chaînette mobile	Non fermenté mobile	F totale	-
11 (INF6m)	G+	-	+	Bacille en chaînette mobile	Non fermenté mobile	F totale	-
12 (INF7T)	G+	-	+	Coccobacille en amas immobile	Non fermenté immobile	F totale	-

13 (ATS4T)	G+	-	+	Cocci en amas immobile	Non fermenté immobile	F totale	-
14 (INF1S)	G+	+	-	Cocci en amas immobile	Non fermenté immobile	Aucune F	+
15 (INF2T)	G+	-	+	Bacille en amas mobile	Non fermenté mobile	F totale	-
16 (ATS3T)	G+	-	+	Coccobacille en amas mobile	Non fermenté mobile	F partielle	-

**G+** : Gram positif, **G-** : Gram négatif, **F** : fermentation, **TSI** : triple Sugar Iron.

#### 4. Antibiogramme

Les résultats sont évalués selon les diamètres des zones d'inhibition autour des disques d'antibiotiques (*EUCAST, 2017*).



**Photo 3** : Zones d'inhibition de l'antibiogramme vis à vis des souches isolées des hôpitaux de Ain sefra et de Mecheria.

La résistance des souches bactérienne sélectionnés aux antibiotiques a été évaluée et les résultats ont été consignés sur le tableau 5 et la figure 9.

Il est à rappeler que dix souches (2,3,6,10,11,12,13,14,15,16) sont choisis pour la réalisation de l'antibiogramme.

D'après le tableau 5, quatre souches (2,6,14,16) ont présenté une résistance totale à tous les antibiotiques utilisés.

En parallèle, trois antibiotiques, Penicilline G , Aztreonam et Amoxicilline (P1, AML, ATM) n'ont montré aucune efficacité contre aucune souche bactérienne.

Selon ces mêmes résultats, le Cefotaxime (CTX) semble être le meilleur antibiotique efficace contre les isolats testés.

Toutefois, la souche numéro 15 (INF2T) a présenté une sensibilité à trois antibiotiques Trimethoprin-sulfathoxazole, Aztreonam et Cefotaxime ( SXT, ATM , CTX).

De plus, la souche 13 (ATS4T) est sensible à Colestin-sulfste et Cefotaxime (CS , CTX).

**Tableau 5** : Résultats de l'antibiogramme.

Souche ATB	SXT	AML	ATM	CS	CTX	P
02	R	R	R	R	R	R
03	I	R	R	R	R	R
06	R	R	R	R	R	R
10	R	R	R	R	I	R
11	R	R	R	R	I	R
12	R	R	R	R	I	R
13	R	R	R	S	S	R
14	R	R	R	R	R	R
15	S	R	S	R	S	R

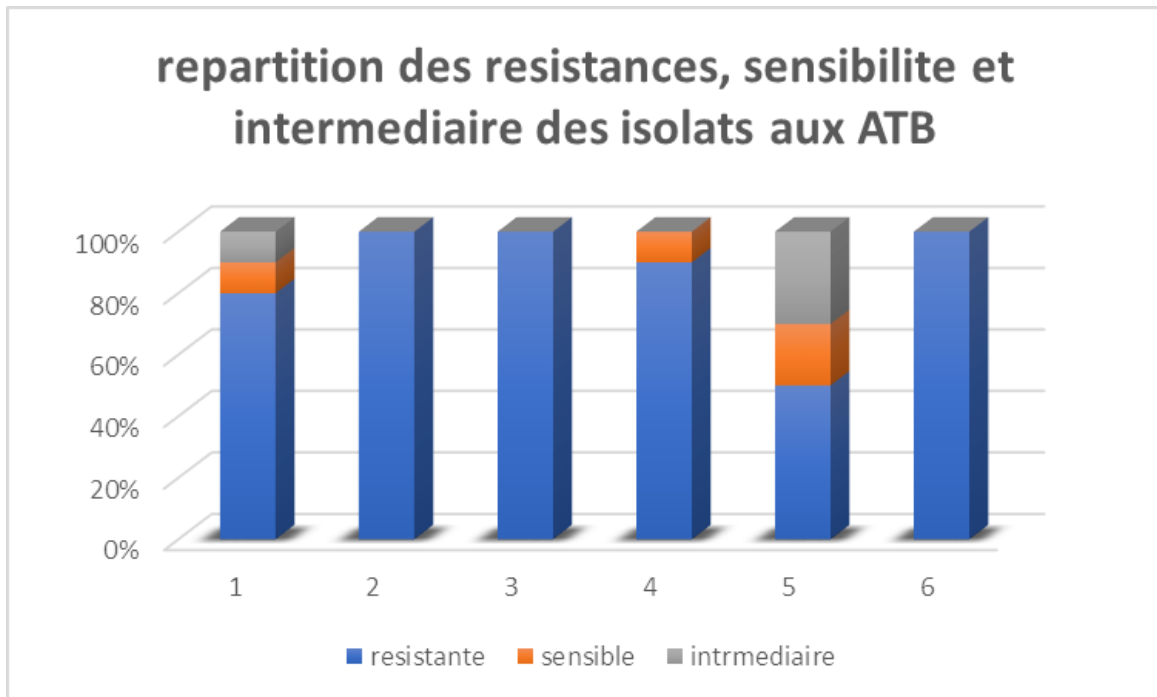
16	R	R	R	R	R	R
----	---	---	---	---	---	---

**R** : résistante, **S** : sensible, **I** : intermédiaire, **STX** : Triméthoprin-Sulfaméthoxazole, **AML** : Amoxicilline, **ATM** : Aztreonam, **CS** : Colestin-Sulfate, **CTX** : Cefotaxime, **P 1** : Pénicilline G.

Selon Bigger, la pénicilline n'avait pas la capacité de stériliser une infection (**Bigger, 1944**). En effet, peu de temps après l'introduction de la pénicilline, la résistance aux antimicrobiens a été rapportée et a finalement été attribuée à la capacité des agents pathogènes à produire des lactamases qui détruisent l'antibiotique (**Lewis, 2010**).

L'application périodique de fortes doses d'antibiotiques bactéricides conduit à la sélection de souches qui produisent des niveaux accrus de persistants (**Moyed et al., 1983**), (**Wolfson et al., 1990**). La résistance se mesure en observant la capacité des cellules à se développer en présence d'antibiotiques (**Lewis, 2010**).

Dans la plupart des cas, les infections chroniques s'accompagnent de la formation de biofilms, ce qui semble indiquer la source du problème (**Costerton et al., 1999**) (**Del Pozo et al., 2007**). Les biofilms ne restreignent généralement pas la pénétration des antibiotiques (**Walters et al., 2003**), mais ils constituent une barrière pour les plus grandes composantes du système immunitaire (**Jesaitis et al; 2003**), (**Leid et al; 2002**), (**Vuong et al; 2004**). La présence de mécanismes de résistance spécifiques au biofilm a été suggérée pour tenir compte de la récalcitrance des maladies infectieuses (**Stewart et al., 2001**).



**Figure 9 :** Histogramme de la fréquence des isolats selon la résistance, la sensibilité et l'intermédiaire des zones d'inhibition aux ATB.

**ATB :** Antibiotique, **1 :** (STX) Trimethoprin-Sulfamethoxazole, **2 :** (AML) Amoxicilline, **3 :** (ATM) Aztreonam, **4 :** (CS) Colestin-Sulfate, **5 :** (CTX) Cefotaxime, **6 :** (P 1) Pénicilline G

### 5. Test de la formation de biofilm :

Le tableau 6, la figure 10 et la photo 5 donnent un aperçu des capacités de formation de biofilms pour toutes les souches testées par la méthode de criblage de la production de biofilm sur les microplaques 96 puits.

Selon les résultats obtenus, trois catégories de souches sont distinguées; les souches bonne formatrices de biofilms, celles moyennement formatrices et en fin les faiblement formatrices de biofilms.

Au total 16 souches bactériennes sont susceptibles de produire de les biofilms qui represente un taux de 100%.

Les résultats obtenus ont révélé que les deux souches (11 , 13) ; la souche ( numero 11 IFN6m) qui est prélevée de la montre de l'infirmier 6 et la souche (numero 13 ATS4T) ;qui est prélevée de smart phone de l'aide-soignant du service de pédiatrie-maternité de l'hôpital de Mecheria. Ces dernier sont les bonne souches formatrice de biofilms qui represnte 12.5%.

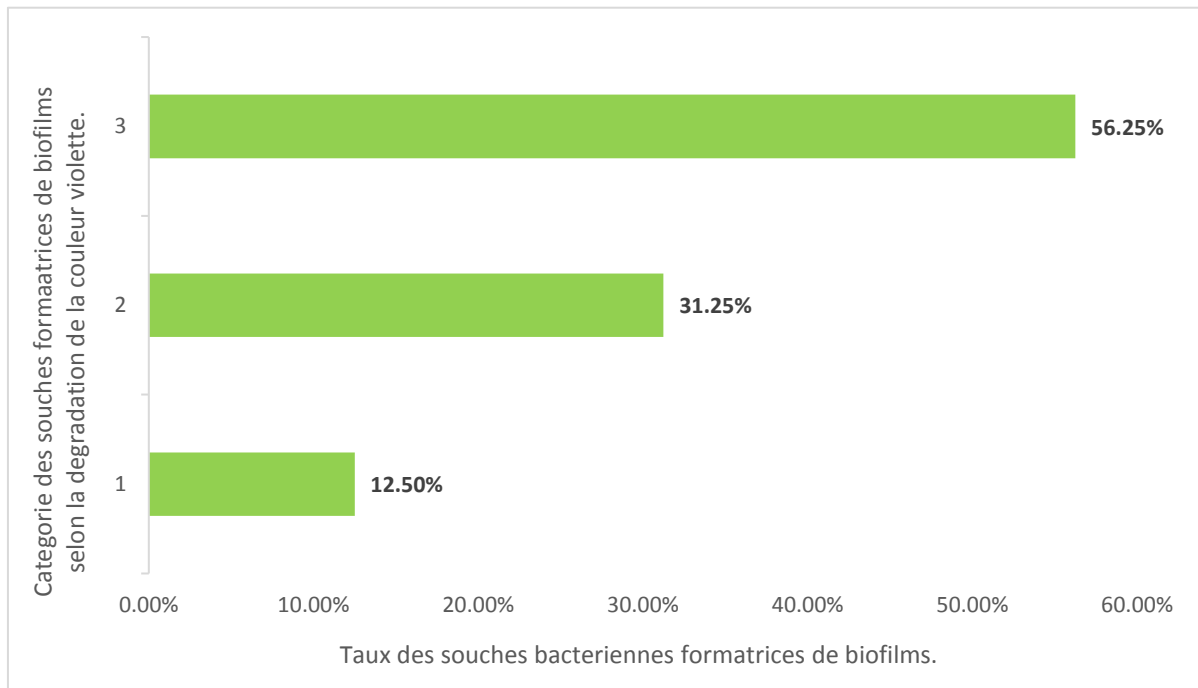
Par ailleurs, cinq souches (2,3,4,5 et 14) se sont révélées former moyennement les biofilms qui représente 31.25% ; la souche ( numero 2 INFchT) ;qui est prélevée de smart phone de l’infirmier, souche (numéro 3 INFch bg) qui est prélevée de la bague de l’infirmier du service chirurgical de l’hôpital de Ain sefra, souche (numéro 4 ATSreaBj3mtr) qui est prélevée de la montre 3 de l’aide-soignant sefra, souche (numero 5 ATSreaT) ;qui est prélevée de smart phone de l’aide-soignant du service de réanimation de l’hôpital de Ain sefra et souche (numéro 14 INF1S) ; qui est prélevée du stylo de l’infirmier 1 du service infectieux de l’hôpital de Mecheria,

D`après ces résultats, les souches (1,6,7,8,9,10,12,15,16) sont classées dans la catégorie des souches faiblement formatrices de biofilms qui représente un taux de 56.25% ; la souche (numéro 1 INFreaT7) qui est prélevée de smart phone 7 de l’infirmier du service de réanimation, la souche (numéro 6 MEDchT1) ; qui est prélevée de smart phone du médecin, la souche (numéro 7 ATSchT5) du téléphone mobile 5 de l’aide-soignant, la souche (numero 8 ATSchBjbg2) ; qui est prélevée de la bague 2 de l’aide technicien du soin du service chirurgical de l’hôpital de Ain sefra, la souche (numéro 9 MEDreaT) ; qui est prélevée de smart phone du médecin du service de réanimation de l’hôpital de Ain sefra, la souche (numéro 10 M8T) ; qui est prélevée de smart phone du médecin 8, la souche (numéro 12 INF7T) ; qui est prélevée de smart phone de l’infirmier 7 de service de pédiatrie de l’hôpital de Mecheria, la souche (numéro 15 INF2T) ; qui est prélevée de smart phone de l’infirmier 2 et la souche (numéro 16 ATS3T) ; qui est prélevée de smart phone d’aide-soignant du service infectieux de l’hôpital de Mecheria.

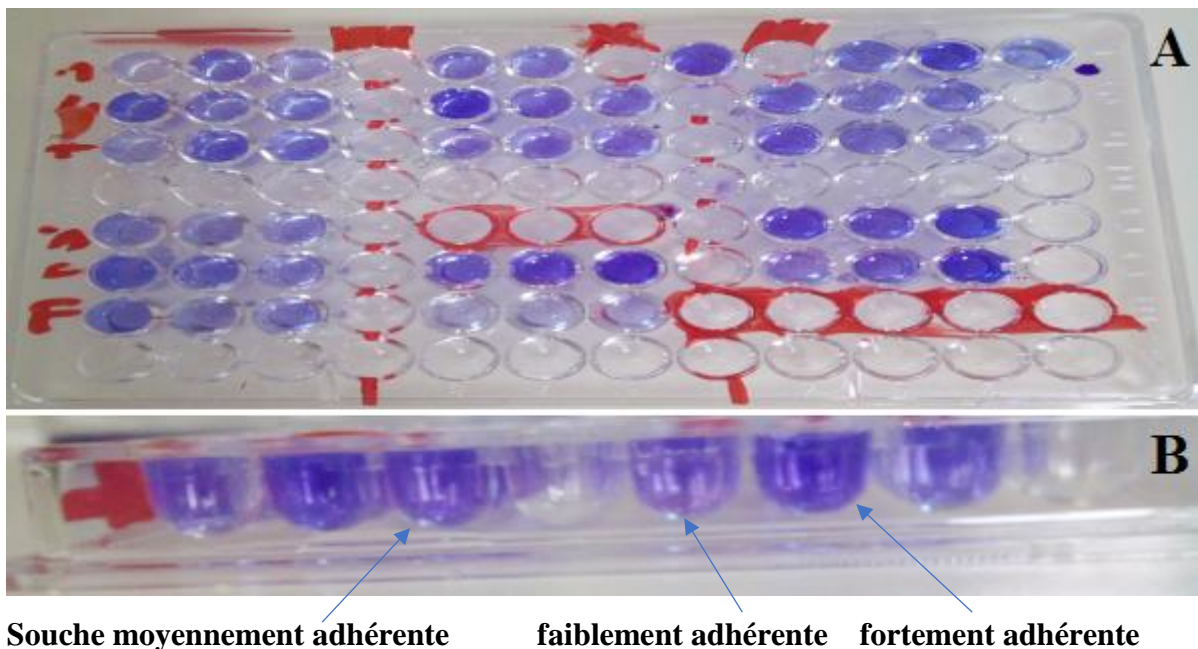
**Tableau 6 :** Résultat du test de formation de biofilm selon la technique au Cristal violet.

<i>Souches</i>	<b>Fortement colorée ++</b>		<b>Moyennement colorée +</b>	<b>Faiblement colorée -</b>
	<i>01</i>			
<i>02</i>			×	
<i>03</i>			×	
<i>04</i>			×	

<i>05</i>		×	
<i>06</i>			×
<i>07</i>			×
<i>08</i>			×
<i>09</i>			×
<i>10</i>			×
<i>11</i>	×		
<i>12</i>			×
<i>13</i>	×		
<i>14</i>		×	
<i>15</i>			×
<i>16</i>			×



**Figure 10** : Fréquence des souches bactériennes formatrices des biofilms selon leur dégradation de couleur violette. (1: souche a forte coloration, 2: souche a coloration modérée, 3: souche a faible coloration)



**Photo 4** : Photo (A) face et (B) profil du test de formation des biofilms chez les souches isolées et putréfiées des hôpitaux Ain sefra et Mecheria.

L'environnement hospitalier n'échappe cependant pas à la colonisation par des biofilms bactériens qui représentent des réservoirs idéaux pour les micro-organismes. Ces réservoirs s'intègrent dans un cycle de contamination (**Roberts, 2012**).

Plusieurs études rapportent la présence de biofilms sur des surfaces dans les hôpitaux. Une étude réalisée dans une unité de soins intensifs d'un hôpital australien a révélé la présence de souches de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (MRSA) et d'*Entérocoques* résistant à la vancomycine (VRE) sous la forme de biofilms après nettoyage (**Vickery et al., 2012**).

Le cas d'*Acinetobacter baumannii* est également interpellant. En effet, de nombreuses sources rapportent que la fréquence des infections causées par cette espèce est en augmentation, probablement à cause de la persistance accrue de ce pathogène sur les surfaces inertes (**Roca et al., 2012**), (**Longo et al., 2014**)

Les biofilms d'*Acinetobacter baumannii* sont suspectés de jouer un rôle crucial dans l'acquisition d'infections, notamment urinaires et circulatoires (**Joshi, 2013**), (**Longo et al., 2014**)

L'introduction des solutions hydroalcooliques en milieu hospitalier représente indiscutablement un progrès permettant d'améliorer l'observance de l'hygiène des mains par le personnel en lui apportant une méthode simple, rapide et efficace. Ceci témoigne de l'efficacité de ce désinfectant sur le portage bactérien. Alors, la solution hydroalcoolique constitue le meilleur moyen de décontamination de téléphones mobiles et tout matériel non médical en routine (**Voss et al., 1997**).

# Conclusion

Ce travail montre que les téléphones portables, stylos et bijoux (montre et bague) pourraient jouer un rôle dans la transmission des infections nosocomiales ou communautaires, car tout le matériel soumis à l'étude du personnel de santé des hôpitaux de Ain sefra et de Mecheria de la wilaya de Naâma a présenté une contamination par, au moins, un germe.

Il s'est avéré à partir de cette étude que la résistance ou la bactérienne des souches isolées aux antibiotiques constitue un grand problème dans les hôpitaux. Selon le test de formation de biofilm, on a démontré que toutes les souches sont des formatrices des biofilms avec des niveaux variables. Leur présence permet aux germes, parfois pathogènes, de résider durant de très longues périodes sur des surfaces, formant ainsi des réservoirs de micro-organismes. Par conséquent, il est crucial de s'attaquer aux biofilms bactériens pour réduire la persistance des pathogènes en milieu hospitalier ; les stratégies de lutte contre les biofilms doivent atteindre l'intégrité du biofilm (*Vanzieleghem, 2015*).

Il serait difficile d'interdire l'utilisation des téléphones mobiles et stylos au sein des services, c'est un moyen de communication entre les différents personnels de santé, ainsi le stylo qui est un moyen de travail ; les restrictions sur l'utilisation de ces derniers n'est donc pas une solution pratique. C'est pour cela et dans le cadre de prévention de ces risques, il faut sensibiliser les utilisateurs de téléphones mobiles sur l'importance du lavage des mains et l'utilisation des solutions hydro alcoolique pour désinfecter aussi bien les téléphones portables, stylos et bijoux que les mains. Expliquer au personnel l'intérêt et l'efficacité de la désinfection du matériel non médical, surtout les téléphones portables.

Il est également nécessaire de s'assurer de la coopération des cadres médicaux et infirmiers des services, qui jouent un rôle moteur dans l'application de ces mesures, les actions de formation doivent être répétées et toucher l'ensemble du personnel.

# **Références bibliographiques**

1. **Astragneau P.** epidemiologie des infections nosocomiales (1998). Rev Part ; 48 :1525-9.
2. **Bhat S.S., Hegde S.K., Salian S.** Potential of Mobile Phones to Serve as a Reservoir in Spread of Nosocomial Pathogens (2011). Online J Health Allied Scs ;10(2) :14.
3. **Bigger J.W.** Treatment of staphylococcal infections with penicillin (1944). Lancet ;244 :497–500.
4. **Brady R.R, Hunt A.C., Visvanathan A., Rodrigues M.A, Graham C., Rae C., Kalima P., Paterson H.M., Gibb A.P.** Mobile phone technology and hospitalized patients : a cross-sectional surveillance study of bacterial colonization, and patient opinions and behaviours (2011). Clin Microbiol Infect ; 17(6) :830–5.
5. **Brady,B. and O`Regan, C.** Meetig the challenge of Doing an RCT E valuation of Youth J urnal of Mixed Methodes Reseach (2009). Vol.3, pp.265-280.
6. **Brooun A, Liu S, Lewis K. (2000).** A dose-response study of antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa biofilms. Antimicrob. Agents Chemother. 44 :640–46.
7. **Brucker G.** Infection nosocomiale et environnement hospitalier (1998). Ed : Medecine-Science Flammarion. Paris ; p.217.
8. **Cclin Sud-Oues.** Guide pour la formation de nouveaux professionnels en établissements de soins (2003).
9. **Cclin** Centre de coordination de lutte contre les infections nosocomiale, Guide pour la formation de nouveaux proffetionnels en etablissements de soins (2003). Cclin Sud-Ouest.
10. **Chicurel M.** Bacterial biofilms and infections. Slime busters (2000). Nature ; 408 : 284–
11. **Chiller K., Selkin B.A., Murakawa G.J.** Skin microflora and bacterial infections of the skin (2001). In Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings ;6(3) :170–174.
12. **Chmoun P.** Le risque d`infection nosocomiale en reanimation (2004). P11.

13. **CTIN** Comité technique des infections nosocomiales. 100 recommandations pour la surveillance et la prévention des infections nosocomiales **(1999)**. Ministère de l'emploi et de la Solidarité. Secrétariat d'Etat à la Santé et à l'action Social. Paris, 2eme Édition ; p 118.
14. **Costerton J.W.**, Geesey G.G., Cheng K.J. « How bacteria stick » **(1978)**. *Sci Am* ; vol. 238, no 1, janvier :86-95.
15. **Costerton J.W.**, Stewart P.S., Greenberg E.P. Bacterial biofilms : a common cause of persistent infections **(1999)**. *Science* ; 284 : 1318–22.
16. **Daniels K.J.**, Srikantha T., Lockhart S.R., Soll D.R., *EMBO J*. Opaque cells signal with ell to from biofilms in *Candida albicans*. **(2006)**. 17 (moi ;25(10) :2240-52.
17. **Falk A.**, Fehr E., Fishbacler U. Testing theories of Fairness-Intentions matter **(2000)**. Workingpaper No. 63. Institute for Empirical Research in Economics , University of Zurich.
18. **Ghigo J.M.** Natural conjugative plasmids induce bacterial biofilm development **(2001)**. *Nature* ; 412 : 442–5.
19. **Gholamreza S.**, Nooshin T., Ali Mirzazadeh, T. Reza M.S., Ehsan S. Bacterial Contamination and Resistance to Commonly Used Antimicrobials of Healthcare Workers' Mobile Phones in Teaching Hospitals **(2009)**. Kerman, Iran. *Am J Applied Sci* ;6(5) :806–810.
20. **Goldblatt J.G.**, Krief I., Klonsky T., Haller D., Milloul V., Sixsmith D.M., Srugo I.I. Use of cellular telephones and transmission of pathogens by medical staff in New York and Israel **(2007)**. *Infect Control Hosp Epidemiol* ;28(4) :500–3.
21. **Jesaitis A.J.**, Franklin M.J., Berglund D., Sasaki M., Lord C.I., et al. Compromised host defense on *Pseudomonas aeruginosa* biofilms : characterization of neutrophil and biofilm interactions **(2003)**. *J. Immunol* ; 171 :4329–39.
22. **Joshi S.G.** *Acinetobacter baumannii* : An emerging pathogenic threat to public health **(2013)**. *World J Clin Infect Dis* ;3(3) :25. Doi: 10.5495/wjcid.v3.i3.25.
23. **Leid J.G.**, Shirtliff M.E., Costerton J.W., Stoodley A.P. Human leukocytes adhere to, penetrate, and respond to *Staphylococcus aureus* biofilms **(2002)**. *Infect. Immun.* ;70 :6339–45.

24. **Lemmen** S.w., Hafner H., Zolldann D., Stanzel S., Lirtticken R. Distribution of multi-resistant Gram-negative versus Gram-positive bacteria in the inanimate environment (2004) march. J Hosp Infect ; 56 : 191-7.
25. **Lewis** K. Persister cells (2010). Annu Rev Microbiol ; 64 : 357-372.
26. **Longo** F., Vuotto C., Donelli G. Biofilm formation in *Acinetobacter baumannii* (2014). New Microbiol ;37 :119–27.
27. **Marchal** N., Bourdon J.L., Richard C. (1982). Milieux et techniques réservés à l'étude de certains genres bactériens. In : Les Milieux de culture pour l'isolement et l'identification Biochimiques des Bactéries, pp.235-248,273-283.Doin, Paris, France.
28. **Monds** RD., O'Toole GA. The developmental model of microbial biofilms : ten years of a paradigm up for review. Trends Microbiol (2009) ;17(2) :73–87. Doi: 10.1016/j.tim.2008.11.001.
29. **Nwankwo** E.O., Ekwunife N., Mofolorunsho K.C. Nosocomial pathogens associated with the mobile phones of healthcare workers in a hospital in Anyigba, Kogi State, Nigeria (2014). J Epidemiol Glob Health ;4(2) :135–40.
30. **O'Toole** G.A. Microtiter Dish Biofilm formation Assay (2011). Jan. J Vis EXP. 30 ;(17) : 2437. Doi : 10.3791/2437.
31. **O'Toole** G.A., Kolter R. Flagellar and twitching motility are necessary for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development (1998). *Molecular Microbiology*; 30: 295–304.
32. **Parsek** M.R., Greenberg E.P. Acyl-homoserine lactone quorum sensing in Gram-negative bacteria: a signaling mechanism involved in associations with higher organisms (2000). Proc Natl Acad Sci USA ; 97 : 8789–93.
33. **Rahme** L.G., Ausubel F.M., Cao H., et al. Plants and animals share functionally common bacterial virulence factors (2000). Proc Natl Acad Sci ; 97 : 8815–21.11.
34. **Ramesh** J., Carter A.O., Campbell M.H., Gibbons N., Powlett C., Mosley H.S. Use of mobile phones by medical staff at Queen Elizabeth Hospital, Barbados : Evidence for both benefit and harm. J Hosp Infect (2008) October ; 70(2) : 160-5.

35. **Richard B.**, Jean-piere B.R.U., Francois C., Chrestiaan C., Vincent C., Patrice C., Luc D., Vincent J., Agnes L., Audrey M., Patrick P., Marie-cecile P., Claude-James S., Emmanuelle V., Philippe W., (2017). Recommendations. V.7.1. Valid from 2017 -03-10. **EUCAST 2017**
36. **Roberts C.G.** The role of biofilms in reprocessing medical devices **(2013)**. *Am J Infect Control* ;41(5 Suppl) : S77-80. Doi: 10.1016/j.ajic.2012.12.008.
37. **Roca I.**, Espinal P., Vila-Farrés X., Vila J. The *Acinetobacter baumannii* Oxymoron : Commensal Hospital Dweller Turned Pan-Drug-Résistant Menace **(2012)**. *Front Microbiol* ;3 : 148. Doi: 10.3389/fmicb.00148.
38. **Shum M.**, Kelsh M.A., Sheppard A.R. An evaluation of self-reported mobile phone use compared to billing records among a group of engineers and Scientistis **(2011)**. *Bioelectromagnetisme*, 32(1), pp. 37-48.
39. **Simmons J.S.** A culture medium for differentiating organisms of typhoid-colon-aerogenes groups and for isolation of certains fungi **(1926)**. *J.Infect. Dis.* 39 :209-214.
40. **Soto R.G.**, Chu L.F., Goldman J.M., Rampil I.J., Ruskin K.J. Communication in critical care environnements : mobile téléphones improuve patient care **(2006)**. *Anesth Analg* ; 102(2) : 535–41.
41. **Stewart P.S.**, Costerton J.W. Antibiotic résistance of bacteria in biofilms **(2001)**. *Lancet* ; 358 :135–38.
42. **Tolker-Nielsen T.**, Brinch U.C., Ragas P.C., Andersen J.B., Jacobsen C.S., Molin S. Development and dynamics of *Pseudomonas* sp. Biofilms **(2000)**. *J Bacteriol* ; 182 : 6482–9.
43. **Ustun C.**, Cihangiroglu M. Health care workers' mobile phones : a potential cause of microbial cross-contamination between hospitals andcommunity. *J Occup Environ Hyg.* **(2012)** ;9(9) : 538–42.
44. **Vanzieleghem T.**, Herman-Bausier P., Dufrene YF., Mahillon J. *Staphylococcus epidermidis* Affinity for Fibrinogen-Coated Surfaces Correlates with the Abundance of the SdrG Adhesin on the Cell Surface **(2015)**. *Langmuir* :150413154944000. Doi: 10.1021/acs.langmuir.5b00360.

45. **Vickery K.**, Deva a., Jacombs a., Allan J., Valente P., Gosbell IB. Presence of biofilm containing viable multiresistant organisms despite terminal cleaning on clinical surfaces in an intensive care unit (2012). *J Hosp Infect* ;80(1) :52–5. Doi: 10.1016/j.jhin.2011.07.007.
46. **Visvanathan A.**, Gibb A.P., Brady R.R. Increasing clinical presence of mobile communication technology : avoiding the pitfalls. (2011). *Telemed J E Health* , October ;17(8) :656-61 .
47. **Voss A.**, Widmer A.F. No time for handwashing !? Handwashing versus alcoholic rub (1997) : can we afford 100% compliance ? *Infect Control Hosp Epidemiol.* ;18(3) :205–8.
48. **Vuong C.**, Voyich J.M., Fischer E.R., Braughton K.R., Whitney A.R. Polysaccharide intercellular adhesin (PIA) protects *Staphylococcus epidermidis* against major components of the human innate immune system (2004). *Cell. Microbiol.* 6 :269–75.
49. **Walters M.C.** 3rd., Roe F., Bugnicourt A., Franklin M.J., Stewart P.S. Contributions of antibiotic penetration, oxygen limitation, and low metabolic activity to tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms to ciprofloxacin and tobramycin (2003). *Antimicrob. Agents Chemother* ; 47 :317–23.
50. **Wolfson J.S.**, Hooper D.C., McHugh G.L., Bozza M.A., Swartz M.N. Mutants of *Escherichia coli* K-12 exhibiting reduced killing by both quinolone and bêta-lactam antimicrobial agents (1990). *Antimicrob. Agents Chemother* ; 3.4:1938–43.

# **Annex**

## Annex 01 : composition des milieux de cultures

### 1- G dose nutritive

Extrait de viande	1.0g
Extrait de levure	2.0g
Peptone	5.0g
Chlorure de sodium	5.0g
Agar	15.0g
Eau	1.0g
pH du milieu prêt à l'emploi a 25°C	7 ±0.2

### 2- G dose de Muller Hinton

Infusion de viande de bœuf	300g/l
Peptone de cas éne	17.5g/l
Amidon de maïs	1.5g/l
Agar	17g/l
Eau	1g
pH du milieu prêt à l'emploi a 25°C	7.3 ±0.2

**3- Bouillon nutritif**

<b>Peptone</b>	<b>0.5g</b>
<b>Extrait de viande</b>	3.0g
<b>Extrait de levure</b>	2.0g
<b>Chlorure de sodium</b>	5.0g
<b>Eau</b>	1 L
<b>pH du milieu prêt à l'emploi a 25°C</b>	7 ±0.2

**4- Milieu de TSI**

<b>Peptone</b>	<b>15.0g</b>
<b>Extrait de viande</b>	3.0g
<b>Extrait de levure</b>	3.0g
<b>Peptone peptique de viande</b>	5.0g
<b>Glucose</b>	1.0g
<b>Lactose</b>	10.0g
<b>Saccharose</b>	10.0g
<b>Rouge de ph énil</b>	0.024g
<b>Chlorure de sodium</b>	5.0g
<b>Sulfate de fer II (pasteur)</b>	0.2g

<b>Thiosulfate de sodium</b>	0.3g
<b>Agar</b>	11.0g
<b>Eau</b>	1.0g
<b>pH</b>	7.5

### 5- Milieu de Citrate de Simmons

<b>Citrate de sodium</b>	<b>1.0g</b>
<b>Bleu de bromothymol</b>	0.08g
<b>Chlorure de sodium</b>	5.0g
<b>Sulfate de magnésium</b>	2.0g
<b>Hydrogenophosphate de potassium</b>	1.0g
<b>Dihydrogenophosphate d` ammonium</b>	1.0g
<b>Agar</b>	15g
<b>Eau</b>	1 L
<b>pH</b>	7.1

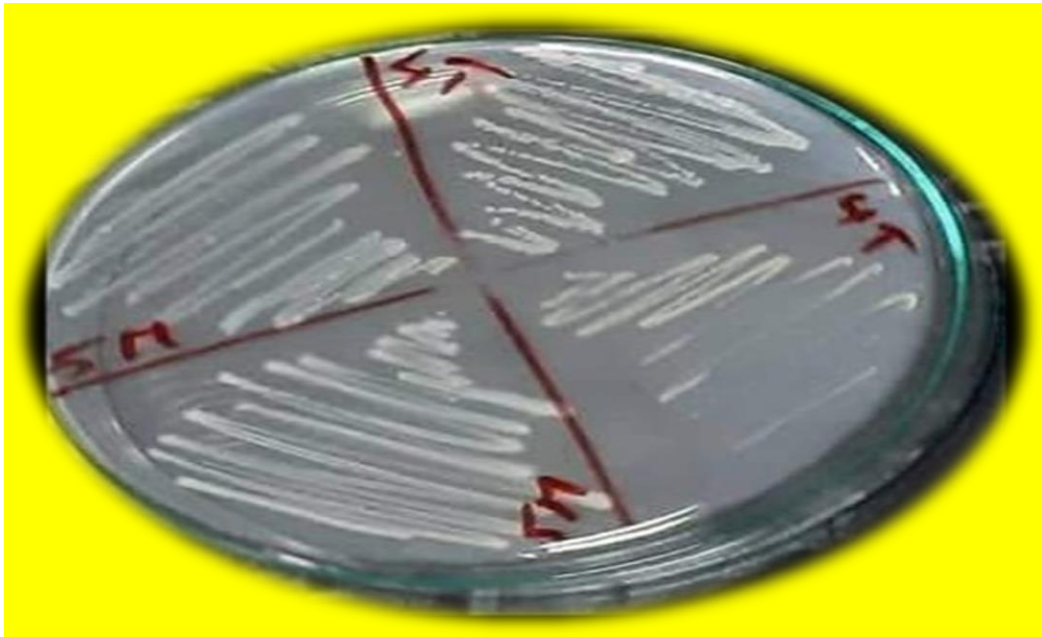
**6- Milieu de Mannitol-Mobilité**

<b>Peptone</b>	<b>20g</b>
<b>Nitrate de potassium</b>	<b>1.0g</b>
<b>Mannitol</b>	<b>2.0g</b>
<b>Rouge de phénol</b>	<b>40mg</b>
<b>Agar</b>	<b>4.0g</b>
<b>Eau</b>	<b>1 L</b>
<b>pH</b>	<b>8.1</b>

**L'eau physiologique**

<b>Chlorure de sodium</b>	<b>9.0g</b>
<b>Eau</b>	<b>1 L</b>
<b>pH du milieu prêt à l'emploi a 25°C</b>	<b>7.0 ±0.2</b>

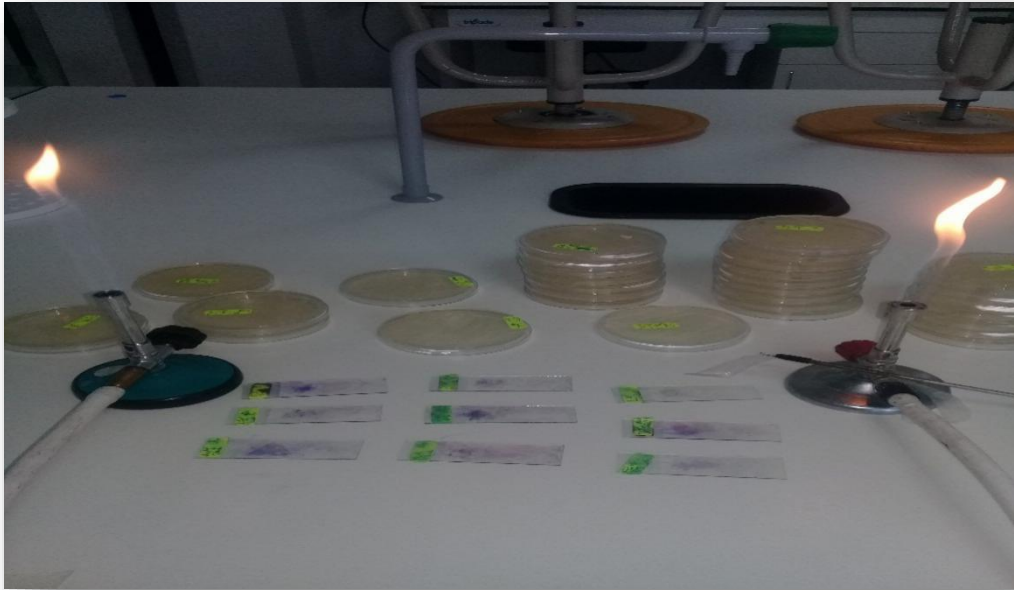
## Annex 02 : lecture des résultats



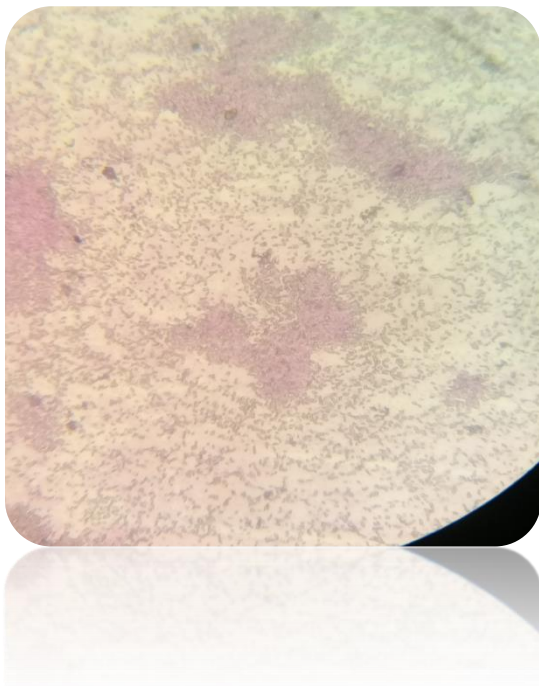
**Photo 1** : photo d'aspect macroscopique des souches bactériennes isolées et purifiées.

**Tableau 1** : Résultat de test de Gram des souches isolées et purifiées due des hôpitaux de Ain sefra et de Mecheria.

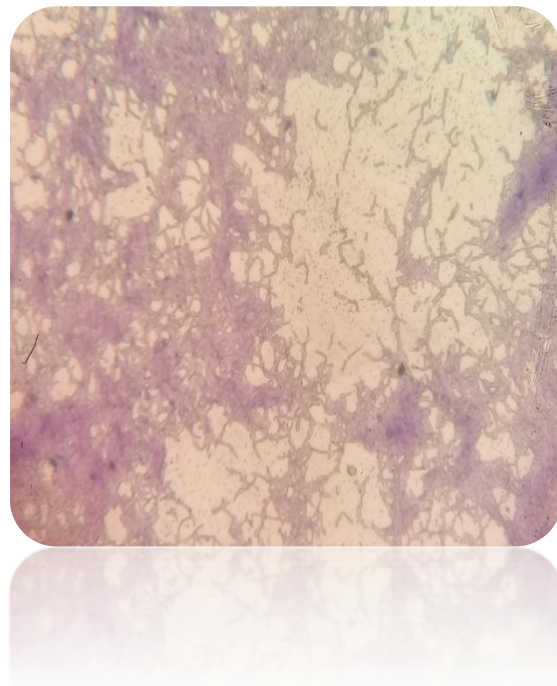
Hôpital	Gram+	Gram-	Cocci	Bacile	Coccobacille
Ain sefra	06	03	04	04	01
Mecheria	06	01	04	02	01



**Photo 2** : photo du résultat de coloration de Gram avant l'observation microscopique.



**Gram négatif**

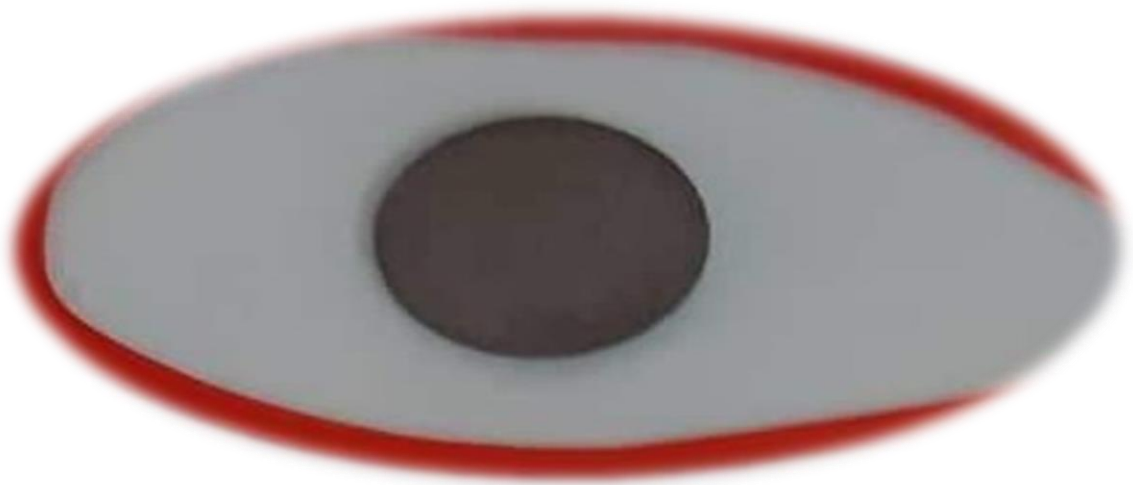


**Gram positif**

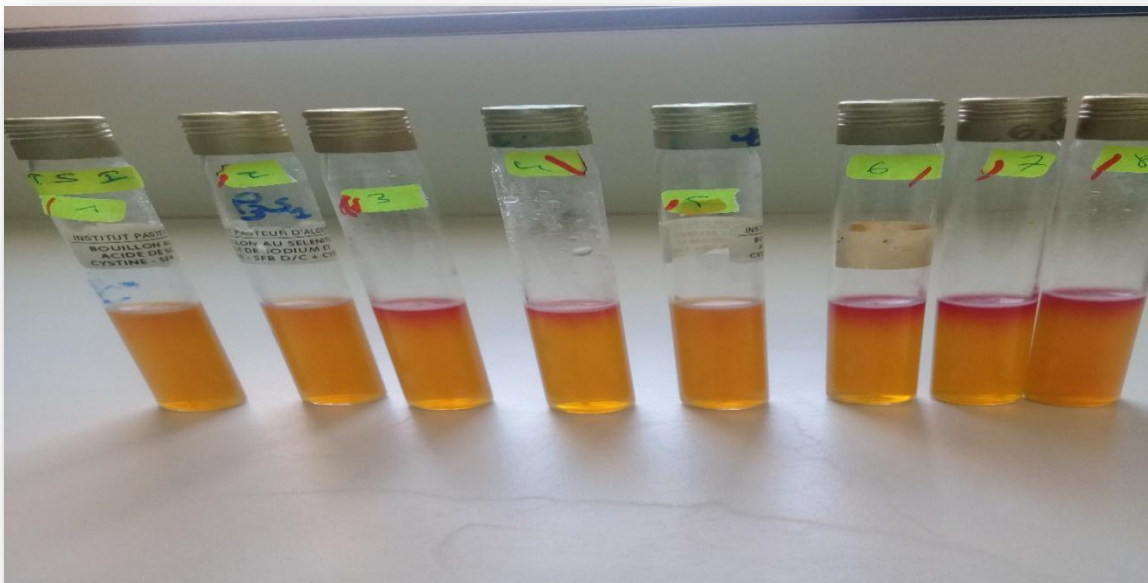
**Photo 03** : aspect microscopique des souches a Gram positif et a Gram négatif (Gr $\times$ 40).



**Photo 4 :** photo du résultat du test de catalase des isolats purs.



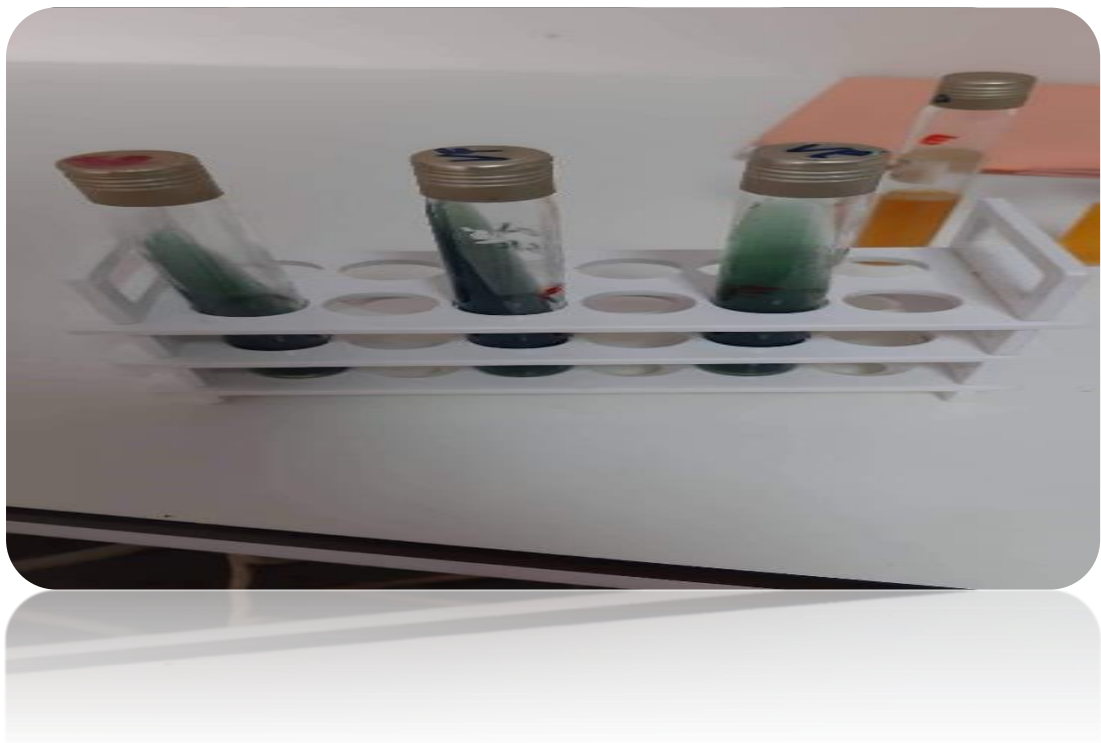
**Photo 5 :** photo de résultat du test d'oxydase des souches isolées et purses.



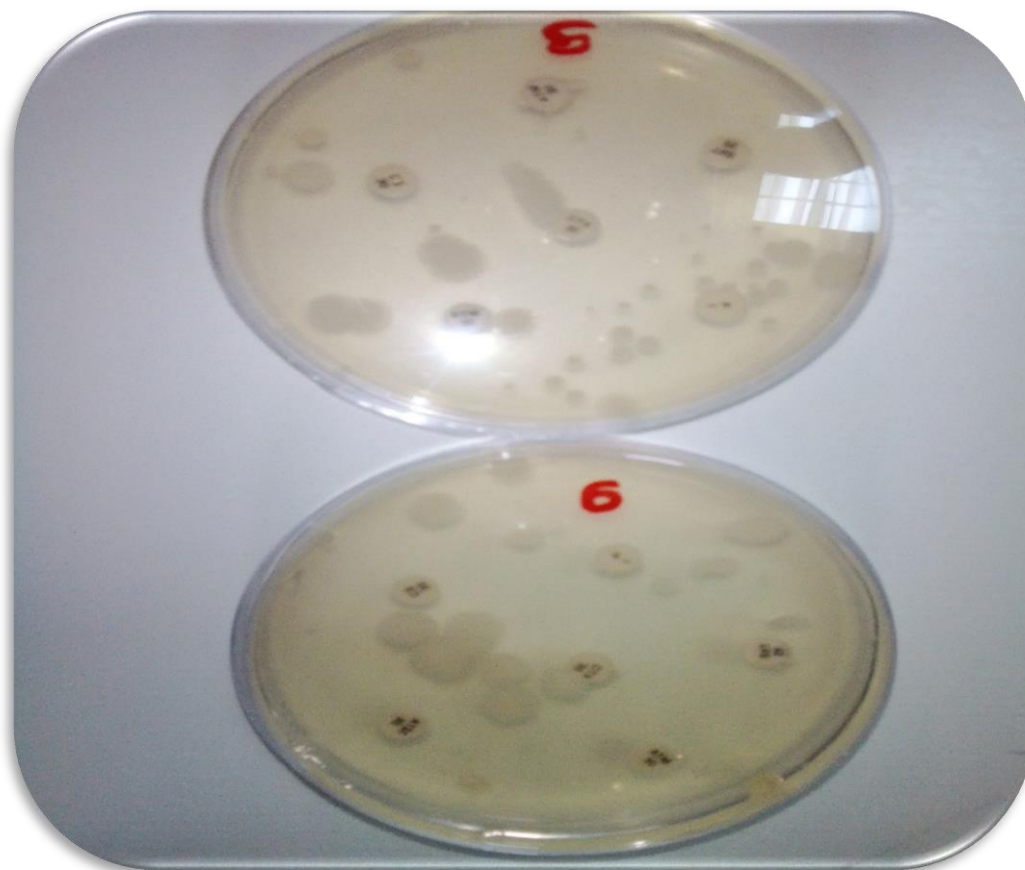
**Photo 6 :** résultat du test TSI par un changement de couleur des isolats purses.



**Photo7** : aspect et couleur des résultats du test mannitol mobilité des isolats purs.



**Photo 8** : aspect de milieu de Citrate de Simmons avant utilisation.



**Photo 9** : photo d'aspect des souches considérées comme non déterminées après l'antibiogramme.

**Tableau 3** : les diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques utilisés à l'antibiogramme avec l'ECAST 2018.

Antibiotiques - abréviation	Diamètres d'inhibition (mm) Limites acceptables - cible
Pénicilline G - P1	16-22      19
Amoxicilline - AML	18-24      21
Cefotaxime – CTX	15-23

<b>Azethronam – ATM</b>	28-36	32
<b>Colestin-sulfate – CS</b>	17-17	
<b>Trimethoprim-sulfamethoxazole – SXT</b>	26-32	29