

**Master Sciences et Techniques : CMBA  
Chimie des Molécules Bio Actives**



**MEMOIRE DE FIN D'ETUDES**

Pour l'Obtention du Diplôme de Master Sciences et Techniques

*Suivie de l'activité antibactérienne des antibiotiques et de différents désinfectants sur des bactéries isolées de l'environnement d'hémodialyse*

**Présenté par:**

Melle **ZOUAG Imane**

**Encadré par:**

-  **Dr BERRADA S.**  
(LRDEHM)
-  **Dr ELOUALI LALAMI A**  
(LRDEHM)
-  **Pr HAZEM J.** (FSTF)

**Soutenu Le 23 juin 2014 devant le jury composé de:**

- Dr BERRADA S.**  
(LRDEHM)
- Dr ELOUALI LALAMI A (LRDEHM)**
- Pr HAZEM J. (FSTF)**
- Pr ASSOUIK J. (FSTF)**
- Pr IDRISSI N. (FSTF)**

**Stage effectué au: Laboratoire régional de diagnostic épidémiologique et d'Hygiène Du Milieu.**

Mémoire de fin d'études pour l'obtention du Diplôme de Master Sciences et Techniques



**Nom et prénom: ZOUAG Imane**

**Année Universitaire : 2013/2014**

**Titre:** Evaluation de l'activité antibactérienne des antibiotiques et de différents désinfectants sur des bactéries isolées de l'environnement d'hémodialyse.

### Résumé

Assurer la qualité des activités et prévenir le risque infectieux, sont au cœur des préoccupations du Ministère de la Santé.

Notre étude, mise en place pour déterminer le profil de d'antibiorésistance des bactéries isolées de l'environnement d'hémodialyse à l'hôpital Al Ghassani, d'évaluer l'efficacité de différents désinfectants sur les souches retrouvées.

Au LRDEHM, 28 souches bactériennes ont fait l'objet de notre étude. L'antibiogramme et l'évaluation de l'action des différents désinfectants, ont été réalisés par la méthode d'inondation sur Muller Hinton. La dilution et le temps de contact minimaux ont été déterminés par la technique de la macrométhode.

Une multi-résistance face aux antibiotiques de la plupart des souches a été retrouvée. Le pourcentage de résistance globale vis-à-vis de la Lincomycine et du Céfator était de 96,42%, alors que celui la Céfotaximeet de l'association acide clavulanique-ampicilline était de 92,85%. Une sensibilité de 50% face à l'Impinème a été notée.

Les tests de sensibilité des bactéries aux désinfectants ont mis en évidence l'inefficacité de certains désinfectants et l'efficacité d'autres. Une variabilité intra-espèce de la résistance vis-à-vis des désinfectants a été aussi notée. Le désinfectant D2 appartenant à la classe des ammoniums quaternaires et le désinfectant D3 qui se classe parmi les aldéhyde sont été les plus efficaces pour désinfecter l'environnement du service d'hémodialyse, avec une dilution et un temps de contact minimaux respectifs de 1/25 et 80 min pour D2, 1/50 et 60 min pour D3.

Pour prévenir le risque infectieux en hémodialyse, il est recommandé de sensibiliser les responsables et tous les intervenants sur l'importance et le respect de la désinfection de l'environnement, de réaliser systématiquement un nettoyage et une désinfection selon un protocole adéquat et validé ; d'alterner périodiquement les désinfectants et de respecter les recommandations et les bonnes pratiques d'hygiène.

**Mots clés :** Infections nosocomiales, environnement, hémodialyse, activité antibactérienne, antibiotiques, désinfectants, LRDEHM. Fès, Maroc

# Sommaire

Dédicaces.....	i
Remerciements.....	ii
Listes desabrviations.....	iii
Illustrations des tableaux et figures.....	iv
Glossaire .....	v
présentation du LRDEHM .....	vii
<b>Introduction générale.....</b>	<b>1</b>
<b>Revue bibliographique.....</b>	<b>3</b>
<b>I.INFECTIONS NOSOCOMIALES.....</b>	<b>3</b>
A- Définition.....	3
B-Expressions de l'infection nosocomiale .....	3
1. Expression épidémiologique.....	3
2 Expression clinique.....	4

C-Germes en cause .....	4
1. Bactéries .....	4
2. Virus.....	5
3. Champignons.....	5
4. Parasites.....	5
5. Autres réservoirs possibles de contamination.....	5
D-Modes d'acquisition et de transmission des infections nosocomiales .....	6
1. Modes d'acquisition.....	6
2. Modes de transmission.....	6
E-facteurs favorisant l'infection nosocomiale .....	6
1. Aux patients.....	7
2. A l'environnement.....	7
3. Aux pratiques médicales.....	7
F- Conséquences des infections nosocomiales.....	7
G- Risque infectieux en hémodialyse.....	7
1. Principe de l'hémodialyse.....	7
2. Risque infectieux.....	8
H- Prévention des infections nosocomiales.....	8
1. Précautions standards.....	8
2. Précautions additionnelles.....	8
<b>II. ANTIBIOTIQUES.....</b>	<b>8</b>
A- Définition .....	9
B- Généralités.....	9
C. Historique.....	10
D. Classification des antibiotiques.....	10
E -Mode d'action des antibiotiques.....	10
1. Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne .....	11
2. Action sur la membrane des cellules .....	11
3. Inhibition de la synthèse des acides nucléiques .....	11
4. Inhibition de la synthèse protéique.....	11
5. Inhibition du métabolisme des folates.....	12
F- Principales classes d'antibiotiques .....	12
G-Antibiogramme.....	13
1. Définition.....	13
2. Méthodes.....	13
3. Détermination du profil de résistance d'une bactérie.....	14
<b>III. Désinfection et désinfectants.....</b>	<b>14</b>
A. Généralités.....	14
B. Historique.....	15
C. But et objectif de désinfection .....	19
D. Classes, avantages et inconvénients des désinfectants .....	16
E. Mode d'action de désinfectant.....	23
F. Spectre d'activité de désinfectant.....	23
G. Caractéristiques Du Désinfectant Idéal.....	24
H. Règles D'utilisation.....	24
I. Conservation des désinfectants.....	25
J. Evaluation de l'action antimicrobienne des désinfectants.....	25
1. Technique en microméthode.....	25
2. Technique en macrométhode : méthode de référence.....	26
3. Techniques en milieu solide.....	26
<b>IV. RESISTANCE BACTERIENNE.....</b>	<b>26</b>
1. Définition.....	26
2. Type de résistance .....	26
3. Résistance aux antibiotiques .....	27

4. Résistance au désinfectant .....	28
5. Facteurs contribuant à la résistance microbienne .....	29
5.1. Emergence de la résistance .....	29
5.2. Propagation des souches résistantes .....	29
5.3. L'utilisation d'antibiotique dans le secteur agro-alimentaire.....	29
5.4. L'utilisation d'antiseptiques et de désinfectants .....	30
6. Stratégie de lutte contre les bactéries multi résistantes.....	30

## Matériel et méthodes

1. Type d'étude.....	31
2. Lieu d'étude.....	31
3. Evaluation de l'activité antibactérienne et détermination de la concentration minimale inhibitrice des huiles essentielles .....	31
3.1. Matériels.....	31
3.1.1. Matériel biologique.....	31
3.1.2. Matériel et consommable utilisé.....	32
3.1.3. Antibiotiques utilisés.....	33
3.1.4. Désinfectants utilisés.....	33
3.2. Méthodes.....	34
A. Repiquage des souches sur gélose nutritive.....	34
B. Préparation de l'inoculum.....	34
C. Etude de l'activité antibactérienne vis-à-vis des antibiotiques et des désinfectants.....	34
C.1. Technique.....	34
a. Cas des antibiotiques.....	34
b. Cas des désinfectants.....	34
C.2. Lecture et expression des résultats.....	34
D. Détermination de la dilution minimale cible (CMI).....	35
E. Détermination du temps minimal d'inhibition (TMI).....	35
4. d'analyse.....	Outil 38

## Résultats

<b>A- Profil d'antibiorésistance des souches isolées vis-à-vis des antibiotiques.....</b>	37
1. Détermination de la sensibilité et de la résistance globale des souches testé.....	37
2- Profil d'antibiorésistance des souches de <i>Staphylococcus coagulase négative</i> .....	38
3- Profil d'antibiorésistance des souches de <i>Streptococcus sp.</i> .....	38
4- Profil d'antibiorésistance des souches de <i>Bacillus sp.</i> .....	39
5- Profil d'antibiorésistance des souches de bacilles Gram négatif oxydase positive	40
6- Profil d'antibiorésistance des souches de bacilles Gram négatif oxydase négative et fermentaire.....	41
7- Profil d'antibiorésistance des souches de bacilles Gram négatif oxydase négative et non fermentaire.....	42
<b>B. Activité antibactérienne vis-à-vis des désinfectants.....</b>	43
1. Efficacité des désinfectants.....	43
2. Variation de l'efficacité en fonction du désinfectant et des souches testées.....	45
3. Détermination de la dilution cible .....	46
4. Détermination du temps minimal de contact (TMI) .....	48

<b>Discussion.....</b>	51
------------------------	----

<b>Conclusions, recommandations et perspectives.....</b>	54
--	----

# Dédicaces

**Je tiens à dédier ce modeste travail à :**

- ✓ aux personnes les plus chères au monde : mes parents avec tous mes sentiments de respect, d'amour, de gratitude et de reconnaissance pour la qualité de l'éducation qu'ils m'ont conféré et les vertus qu'il ont chercher à développer en moi.
- ✓ Les responsables ainsi que l'ensemble du personnel et stagiaires du Laboratoire Régional de Diagnostic Epidémiologique et d'Hygiène du Milieu de Fès (LRDEHM).
- ✓ Mes enseignants, sans exception, pour leurs efforts afin de m'assurer une formation excellente et gravée dans mon esprit.
- ✓ Mes proches amis pour les instants de joie partagés en leur compagnie, leurs gentilleses, leur assistance et leur soutien.

# Remerciements

Au terme de ce travail, j'ai le plaisir d'exprimer mes profonds remerciements et ma sincère gratitude à toutes les personnes qui m'ont soutenue pour réaliser ce travail et envers qui je me sens reconnaissante de m'avoir appris tant de choses et m'ayant offert les conditions optimales de travail.

J'adresse mes vifs remerciements et ma gratitude :

Au Dr AMRAOUI Allal, directeur régionale de la sante à la région Fès Boulomane.

A Mr ZOUAG le doyen de la Faculté des Sciences Techniques, ainsi qu'à tous mes enseignants.

Au Dr EL OUALI ALAMI Abdelhakim, responsable du laboratoire régional de diagnostic épidémiologique et d'hygiène du milieu de m'avoir accepté et aidé pour effectuer mon stage de fin d'études au sein du laboratoire.

A mon encadrant de stage de stage Dr BERRADA Sanae, responsable qualité du laboratoire pour la qualité de l'encadrement scientifique et méthodologique dont elle m'a bénéficié avec un suivi d'une grande rigueur intellectuelle, je ne pourrais jamais cesser de lui dire merci

Pr HAZEM Jamal de m'avoir encadrée et accompagnée tout au long de cette expérience professionnelle avec beaucoup de patience et de pédagogie.

Au Chef de Filière Mr. OUAZZANI pour sa sympathie, son soutien et son aide pour que nos stages se déroulent dans des bonnes conditions.

Au Pr N. IDRISSE et Pr J. ASSOUIK d'avoir accepté de juger ce travail.

A Mr SABREI Hamid coordonnateur du LRDEHM, ainsi qu'à tous les membres du LRDEHM-Fès d'avoir contribué au bon déroulement de mon stage, aussi bien pour leur aide que pour leur convivialité.

Je suis très reconnaissante à votre aptitude.

# Sommaire

Dédicaces.....	i
Remerciements.....	ii
Listes des abréviations.....	iii
Illustrations des tableaux et figures.....	iv
Glossaire .....	v
présentation du LRDEHM .....	vii
<b>Introduction générale</b> .....	1
<b>Revue bibliographique</b> .....	
<b>I.les infections nosocomiales</b> .....	
A-définition.....	
B- Expressions de l'infection nosocomiale .....	
2. Expression épidémiologique.....	
2 Expression clinique.....	

C-Germes en cause .....	
1. Bactéries .....	
2. les virus.....	
3. les champignons.....	
4. les parasites.....	
5. Autres réservoirs possibles de contamination.....	
D-Modes d'acquisition et de transmission des infections nosocomiales .....	
1. Modes d'acquisition.....	
2. Modes de transmission.....	
E -facteurs favorisant l'infection nosocomiale .....	
2. Aux patients.....	
2. A l'environnement.....	
3. Aux pratiques médicales.....	
F- Conséquences des infections nosocomiales.....	
G- Risque infectieux en hémodialyse .....	
1. Principe de l'hémodialyse.....	
2. Risque infectieux.....	
H- Prévention des infections nosocomiales.....	
1. Précautions standards.....	
2. Précautions additionnelles.....	
<b>II.ANTIBIOTIQUE.....</b>	
A- Définition .....	
B- Généralité.....	
C-historique.....	
D-classification <b>des antibiotiques</b> .....	
E -Mode d'action des antibiotiques.....	
1. Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne .....	
2. Action sur la membrane des cellules .....	
3. Inhibition de la synthèse des acides nucléiques .....	
4. Inhibition de la synthèse protéique.....	
5. Inhibition du métabolisme des folates.....	
F- Principales classes d'antibiotiques .....	
G-Resistance bactérienne.....	
1. Définition.....	
1.1 La résistance .....	
1.2 La résistance naturelle .....	
1.3La résistance acquise .....	
2. Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques.....	
3. Antibiogramme.....	
3.1. Définition.....	
3.2 .Méthodes.....	
3.3. Interprétation de l'antibiogramme.....	
4. Détermination du profil de résistance d'une bactérie.....	
<b>III. désinfection et désinfectants.....</b>	
A. Généralités.....	
B. Historique.....	
C. But et objectif de désinfection .....	
D. Classes, avantages et inconvénients des désinfectants .....	
E. Mode d'action de désinfectant.....	
F. Spectre d'activité de désinfectant.....	

- G. Caractéristiques Du Désinfectant Idéal.....
- H. Règles D'utilisation.....
- I. Conservation des désinfectants.....
- J. Résistance microbienne aux désinfectants.....
- K. Evaluation de l'action antimicrobienne des désinfectants.....
  - 1. Technique en microméthode.....
  - 2. Technique en macrométhode : méthode de référence.....
  - 3. Techniques en milieu solide.....

### **Matériel et méthodes**

- 4. **Type d'étude**.....
- 5. **Lieu d'étude**.....
- 6. **Points de prélèvements**.....
- 7. **Prélèvements de surface et de l'air**.....
  - A- Matériel et consommable utilisé pour le prélèvement.....
  - B- Modes de prélèvement .....
- 8. **Analyse bactériologique et identification**.....
  - A- Produit et consommable utilisé .....
  - B- Culture.....
  - C-Purification et identification des cultures obtenues sur gélose MCT et sur milieu.....
- 9. **Evaluation de l'activité antibactérienne des désinfectants sur les souches isolées**.....
  - 6.1 Matériel.....
  - 6.2 Désinfectants .....
  - 6.3 Méthodes.....
- 10. **Outil d'analyse**.....

### **Résultats :**

- A. Profil d'antibiorésistance des souches isolées** .....
  - 1. Détermination de la sensibilité et de la résistance globale des souches testé.... 2-
  - Profil d'antibiorésistance des souches de *Staphylococcus coagulase* négative.....
  - 3- Profil d'antibiorésistance des souches de *Streptococcus sp*.....
  - 4- Profil d'antibiorésistance des souches de *Bacillus sp*.....
  - 5- Profil d'antibiorésistance des souches de bacilles Gram négatif oxydase positive...
  - 6- Profil d'antibiorésistance des souches de bacilles Gram négatif oxydase négative et fermentaire.....
  - 7. Profil d'antibiorésistance des souches de bacilles Gram négatif oxydase négative et non fermentaire.....
- B. Activité antibactérienne vis-à-vis des désinfectants**.....
  - 1. Efficacité des désinfectants.....
  - 2. Variation de l'efficacité en fonction du désinfectant et des souches testées.....
  - 3. Détermination de la dilution cible .....
  - 4. Détermination du temps minimal d'inhibition (TMI) .....

**Discussion**.....

**Conclusions, recommandations et perspectives**.....

**Références bibliographiques**

# Liste des abréviations

- ❖ **AFNOR** : Association française de normalisation.
- ❖ **IN** : Infection nosocomiales.
- ❖ **SARV** : Staphylococcus aureus résistant à la vancomycine.
- ❖ **GISA** : Staphylococcus aureus de sensibilité diminuée aux glycopeptides (GISA);
- ❖ **PSDP** : Pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline.
- ❖ **PRP** : Pneumocoque résistant à la pénicilline .
- ❖ **ERG** : Entérocoques résistantes aux glycopeptides
- ❖ **BLSE** : Blactamase à spectre étendu .
- ❖ **BGN** : Bacilles gram négatif.
- ❖ **BGNONF** : Bacilles gram négatif oxydase négatif fermentaire.
- ❖ **BGNONNF** : Bacilles gram négatif oxydase négatif non fermentaire.
- ❖ **BGP** : Bacilles gram positif.
- ❖ **BGPOP** : Bacilles gram positif oxydase positif.
- ❖ **CMI** : Concentration minimale inhibitrice.
- ❖ **DO** : Densité optique.
- ❖ **DRS** : Direction Régionale de la Santé.
- ❖ **FST** : Faculté des sciences et technique.
- ❖ **LRDEHM** :Laboratoire Régional de Diagnostic Epidémiologique et d'Hygiène du Milieu.
- ❖ **NCCLS** : National Committee for Clinical Laboratory Standartrd.
- ❖ **OMS** : Organisation Mondiale de la Santé.
- ❖ **Oxydase N** : oxydase négatif.
- ❖ **Oxydase P** : oxydase positif.

# Illustrations des tableaux et figures

## 1. Liste des Tableaux

- ❖ Tableau 1 : Modes d'action des désinfectants) obtenus par diffusion en gélose.....
- ❖ Tableau 2 : Spectre d'activité des désinfectants .....
- ❖ Tableau 3 : Liste des souches bactériennes testées.....
- ❖ Tableau 4 : Liste des antibiotiques testés.....
- ❖ Tableau 5 : Diamètres critiques pour les diverses classes d'antibiotiques .....
- ❖ Tableau6 : profil de résistance et de sensibilité de désinfectants .....
- ❖ tableau 5 : Dilution minimale d'inhibition du désinfectant D2 .....
- ❖ tableau 6 : Tableau : résultats des différentes dilutions pour le désinfectant D3.....
- ❖ tableau :7 Dilution minimale d'inhibition du désinfectant D2.....
- ❖ tableau :8 Dilution minimale d'inhibition du désinfectant D3.....

## 2. Liste des Figures

- ❖ Figure 1 : : Susceptibilité microbienne aux biocides .....
- ❖ Figure 2 : Fréquence de résistance et de sensibilité globale en %.....
- ❖ Figure 3 : Fréquence de résistance et de sensibilité des souches de *Staphylococcus coagulase* négative .....
- ❖ Figure 4 : Fréquence de résistance et de sensibilité des souches de *Streptococcus sp*.....
- ❖ Figure 5 : Fréquence de résistance et de sensibilité des souches *Bacillus sp*.....
- ❖ Figure 6 Fréquence de résistance et de sensibilité des souches *bacilles Gram négatif oxydase positive* .....
- ❖ Figure 7 : Fréquence de résistance et de sensibilité des souches *bacilles Gram négatif oxydase positive* .....
- ❖ Figure8: Fréquence de résistance et de sensibilité des souches *bacilles Gram négatif oxydase positive*.....
- ❖ Figure 9: Fréquence de résistance et de sensibilité bacilles Gram négatif oxydase négative et non fermentaire .....
- ❖ Figure 10: Variation de l'absorbance en fonction des dilutions du désinfectant D2.....
- ❖ Figure 11 : Variation de l'absorbance en fonction des dilutions du désinfectant D3.....
- ❖ Figure 11: Détermination du temps minimal d'inhibition (TMI) du désinfectant D2.
- ❖ Figure 12: Détermination du temps minimal d'inhibition (TMI) du désinfectant D2.

# Glossaire

- ❖ **Gastro-entérites** : est une inflammation de la paroi de l'estomac et de l'intestin, qui provoque de la diarrhée et des vomissements.
- ❖ **Endémie** : la présence constante d'une maladie dans une zone géographique limitée
- ❖ **Epidémique** : désigne l'augmentation rapide de l'incidence d'une maladie en un lieu donné sur un moment donné.
- ❖ **Otite** : est une inflammation de l'oreille très fréquente chez les enfants. Elle survient souvent à la suite d'un rhume...
- ❖ **Sinusite** : est une inflammation des **muqueuses** qui recouvrent l'intérieur des sinus. Les **sinus** sont des cavités osseuses (réparties en 4 paires) situées dans les os du visage.
- ❖ **Pneumopathie** : l'ensemble des pathologies affectant les poumons, aiguës ou chroniques. elles peuvent être d'origine infectieuse ou non.
- ❖ **Infection urinaire** : une infection qui peut toucher une ou plusieurs parties du système urinaire : les reins, les uretères, la vessie et l'urètre.
- ❖ **Suppuration** : est due à l'évolution spontanée d'une infection à germes pyogènes (qui provoquent une suppuration).
- ❖ **Sporadique** : irrégulier, qui apparaît ou se produit de temps à autre se dit d'une maladie qui ne touche que quelques individus.
- ❖ **Anaérobies** : irrégulier, qui apparaît ou se produit de temps à autre se dit d'une maladie qui ne touche que quelques individus .
- ❖ **Gangrène gazeuse** : est le processus dû à un arrêt de la circulation sanguine au niveau d'un tissu, entraînant la nécrose (mort) de celui-ci, et se localisant généralement aux membres (inférieurs essentiellement).
- ❖ **Tuberculose** : La tuberculose est l'une des maladies dues à un agent infectieux unique les plus meurtrières au monde; elle se situe en seconde position juste après le VIH/sida.
- ❖ **Pneumonie** : une infection des poumons causée le plus souvent par un **virus** ou une **bactérie**..
- ❖ **Fongicide**: est une substance conçue exclusivement pour éliminer ou limiter le développement des champignons parasites des végétaux.
- ❖ **Savon** : Produit qui sert à dissoudre les graisses. Il est composé de graisse et de soude caustique.
- ❖ **Sporicide** : Agent antimicrobien pouvant détruire les spores bactériennes..
- ❖ **Virucide** : Agent antimicrobien pouvant détruire les virus.
- ❖ **Ferrugineuse** : Lorsque le fer dissous dans l'eau s'oxyde, il engendre une couleur rouge, de la même façon qu'un objet en fer rouillera en cas d'oxydation. L'eau ferrugineuse, riche en fer, a donc plus de risque de virer au rouge.
- ❖ **Rémanence** : persistance d'un état après la disparition de sa cause.

# Présentation du LRDEHM

**LABORATOIRE REGIONAL DE DIAGNOSTIC EPIDEMIOLOGIQUE ET D'HYGIENE DU MILIEU DE LA VILLE DE FES**

### HISTORIQUE

En 1977 Le Ministère de la Santé a créé des laboratoires "à visée préventive" : les Laboratoires de Diagnostic Epidémiologique et d'Hygiène du Milieu (LDEHM). Ils constituent une structure d'appui indispensable pour la surveillance épidémiologique des maladies infectieuses et transmissibles et pour les programmes sanitaires du Ministère de la Santé dans le cadre de l'Hygiène de l'environnement.

Actuellement il existe 42 LDEHM. Le laboratoire de Fès fait partie des 11 laboratoires régionaux qui ont vu le jour à partir des années 80. Il est implanté à l'Hôpital EL GHASSANI et est individualisé des Laboratoires d'analyses cliniques et de transfusion.

### SITUATION GÉOGRAPHIQUE DE LA VILLE DE FÈS



### Organisation fonctionnelle du LRDEHM

**LABORATOIRE REGIONAL DE DIAGNOSTIC EPIDEMIOLOGIQUE ET D'HYGIENE DU MILIEU DE FES**

Cellule d'Assurance Qualité et de Statistique

Cellule de Santé et Environnement

Unité d'Hygiène	Unité de toxicologie	Unité des Maladies Parasitaires	Unité d'Entomologie
- Analyses microbiologiques des eaux et des aliments, - Analyses microbiologiques de l'environnement hospitalier.	- Analyses physicochimiques des eaux, - Toxicologie des aliments (Recherches aflatoxines par GC/MS).	- Microscopie du paludisme, de leishmanose cutanée et de bilharziose, - Diagnostic Immunologique du paludisme.	- Identification de moustiques, - Suivi de la sensibilité OMS des insectes aux pesticides.

#### Mission du LRDEHM

- Soutien au programme de prévention et de lutte contre les maladies infectieuses et transmissibles,
- Appui technique (Diagnostic et confirmation des maladies) pour les structures de soins de santé de base (RSSB).

#### Rattachement du LRDEHM

Le LRDEHM est rattaché au SIAAP et à la Direction Régionale de la Santé de Fès. Il est également en étroite relation avec l'Institut National d'Hygiène et la Direction d'Epidémiologie et de Lutte contre les Maladies de Rabat.

#### Assurance qualité au LRDEHM

- Une politique d'assurance qualité est mise en œuvre par le LRDEHM pour obtenir et garantir la qualité des analyses.
- Un système statistique informatisé est mis en place par le LRDEHM pour le traitement des résultats des analyses.

#### Clients du LRDEHM

Le LRDEHM couvre les besoins des délégations médicales des provinces et préfectures de la région Fès-Boulemane (villes de SAKH, HAYOUZ, EL ANASSER, EL ANASSER, EL ANASSER, EL ANASSER, EL ANASSER) ainsi que ceux des Bureaux Communaux d'Hygiène, CHU Hassan II.

### Perspectives

- > Structurer la collaboration et la coopération du laboratoire avec son environnement
- > Développer et réaliser des études épidémiologiques en relation avec ses activités
- > Installer d'autres analyses:
  - Analyses toxicologiques de l'eau (recherches des pesticides et métaux lourds)
  - Parasitologie des eaux
  - Sérologie et PCR du paludisme
  - Entomologie du rhéobome vecteur des leishmanoses



Future construction of the Laboratory of Diagnostic Epidemiology and Hygiene of the Environment of Fes

## **Annexe 1 :Composition et contrôle des milieux de cultures et des réactifs**

### **1- Composition**

Les formules de chaque milieu sont données en gramme par litre d'eau distillée.

Les milieux autoclavables sont stérilisés après leur préparation à l'autoclave à  $121 \pm 3^\circ\text{C}$  pendant 20 min.

Les réactifs sont commercialisés et sont contrôlés à la réception via des souches positives et négatives.

- **Milieu BHI (DIFCO)**

- o Infusion de cervelle de veau: 12,5
- o Infusion de cœur de bœuf : 5
- o Protéose-peptone : 10
- o Glucose: 2
- o Chlorure de sodium: 5
- o Phosphate disodique: 2,5

- **Milieu Mueller-Hinton** : milieu autoclavable, composé de:

- o Infusion de 300g de viande de bœuf (déshydraté)
- o Hydrolysate de caséine : 17.5
- o Amidon de maïs : 1.5
- o Agar : 10
- o pH final : 1.4

- **Milieu PCA**: milieu autoclavable, composé de:

- o Tryptone: 5.000
- o Extrait au tolytique de levure: 2.500
- o Glucose : 1.000
- o Agar agar bactériologique: 12.000
- o pH =  $7 \pm 0.2$

Afin d'avoir des résultats fiables, nous avons procédé à un contrôle qualité de tous les paramètres (milieux de cultures, mesure Température des étuves et des réfrigérateurs, contrôle de la qualité de la verrerie et du consommable utilisé).

### **2- Contrôles qualité des milieux de cultures**

Ce contrôle est basé sur les manipulations suivantes :

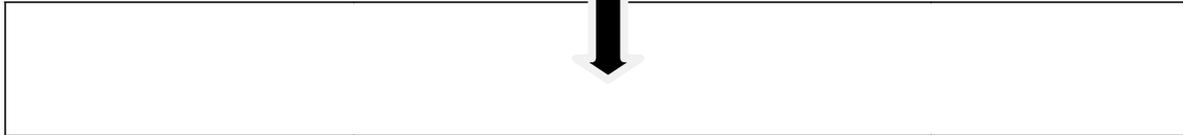
- Effectuer un calibrage de la balance,
- Utiliser une eau distillée préalablement contrôlée (pH, conductivité, ...),
- Préparer les milieux de cultures dans un champ stérile, à côté d'un bec benzène,
- Utiliser une verrerie contrôlée,
- Dissoudre complètement les composants du milieu préparé,
- Respecter la durée et le temps d'autoclavage,
- Contrôler le niveau d'eau de l'autoclave avant utilisation,
- Contrôler l'efficacité de l'autoclave à chaque stérilisation par le ruban indicateur et mensuellement par l'indicateur biologique (Stérikon),
- Couler les milieux stérilisés dans un champ stérile,
- Contrôler la stérilité du milieu préparé avant utilisation, par incubation d'une boîte si milieu solide ou d'un tube si bouillon à l'étuve à  $36 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 48H.



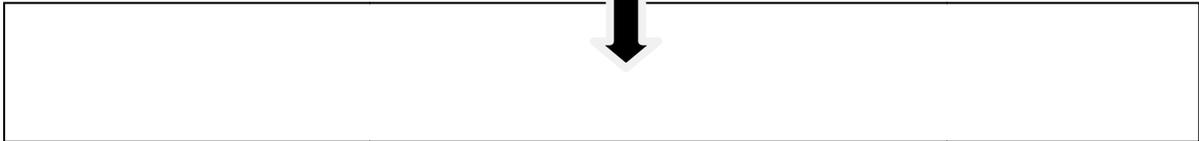
---

## Annexe 2: Fiche technique del'antibiogramme

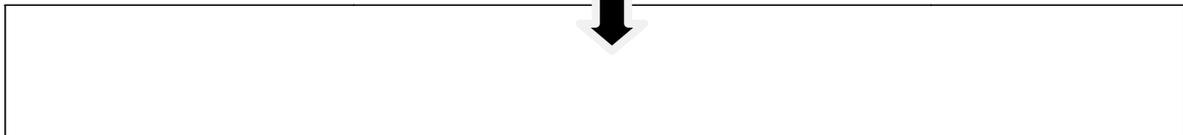
Repiquage des souches sur Gélose nutritif



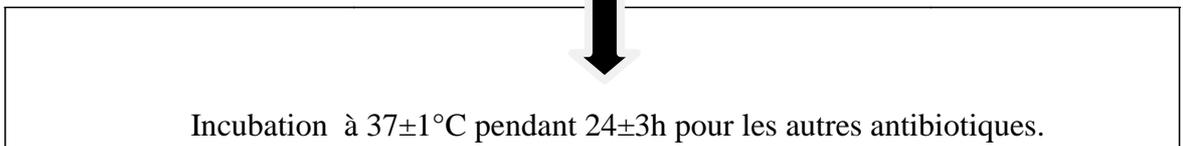
Préparation del'inoculumde  $10^6$  UFC/ml par un ensemencement du milieu BHI et incubation à  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  pendant 3H.



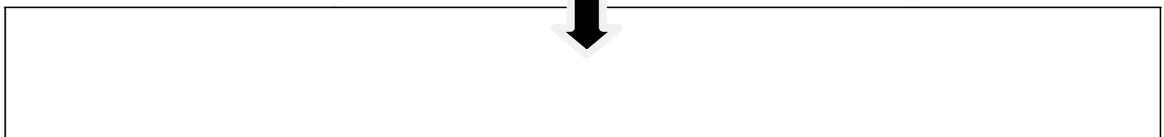
Réalisation d'unensemencement par inondation sur milieu Muller Hinton + l'élimination d'excès



Dépôt des disques d'antibiotiques contenant une quantité diffusible dans les boites inoculées.



Incubation à  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  pendant  $24 \pm 3$ h pour les autres antibiotiques.



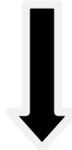


---

Interprétation des antibiogrammes selon le Comité de l'antibiogramme de la  
Société française de microbiologie  
(CASFM, 2013)

### **Annexe 3: Fiche technique Evaluation de l'activité antibactérienne des désinfectants**

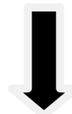
Repiquage des souches sur Gélose nutritif



Préparation de l'inoculum de  $10^6$  UFC/ml par un ensemencement du milieu BHI et  
incubation à  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  pendant 3H



Réalisation d'un ensemencement par inondation sur milieu Muller Hinton + l'élimination  
d'excès



Dépôt des disques stériles



Imprégnation de chaque disque par 10  $\mu\text{l}$  de désinfectant



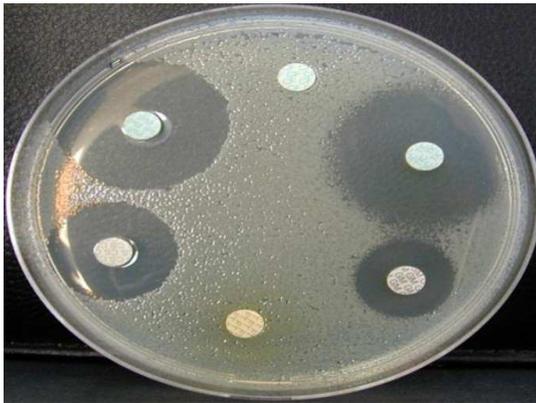


DRS

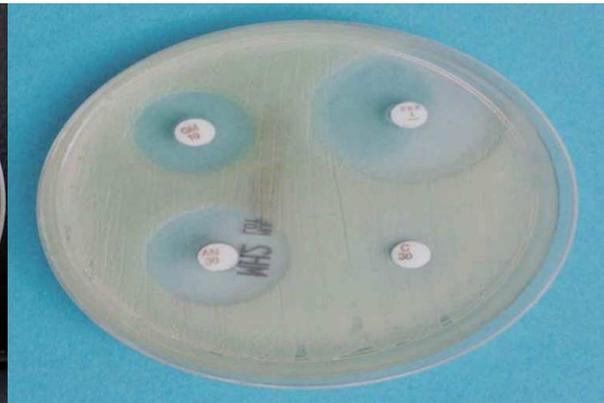
---

: Lecture et interprétation en fonction des zones d'inhibition

**Annexe :4**



(a) : Désinfectant



(b) : Antibiotique



DRS

## Références bibliographique

- **AVRIL JL. ,DABERNAT H.. (2002)** Bactériologie clinique, pp 186-270.
- **BILLAST N. ,DUFFET A. ,DUMARTIN C. ,FELDMAN P. ,FOSSE POURRIER C. ,RICON.G , ROBIQUET.A , SOUMAH A. . ;** Mai 2000. Antiseptiques et désinfectants. Centre de coordination de la lutte contre les infections nosocomiales de l'interrégion Pari-Nord.
- ❖ **BOUHDIDE S. , 2006;** Thymus Essential oil: Chemical Composition and in Vitro Antioxidant and Antibacterial Activities
- ❖ **CAPP-INFO, N°46,** juin 2007. Bulletin d'information du CAPP (Contact Avis Pharmacologique et Pharmaceutique.
- ❖ **CARLE S. ,2010** Le parrainage des antimicrobiens,Pharmactuel Vol.42,La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important
- ❖ **CAVALLO J.G., ANTONIOTTI G.;** 2002. Surveillance microbiologique de l'environnement dans les établissements de santé.
- ❖ **CAVALLO J.G., ANTONIOTTI G.;** 2002. Surveillance microbiologique de l'environnement dans les établissements de santé.
- ❖ **CCLIN Sud-ouest,** novembre 1998. Contrôles microbiologiques en hygiène hospitalière, conseils pratiques.
- ❖ **DIAKARA G. 2001-2002** Infections Nosocomiales d'origine bactérienne dans le service de Néphrologie et dans l'unité d'hémodialyse.
- ❖ **DUMARTIN.C** Formation FELIN mars 2011 Risques infectieux en Hémodialyse.
- ❖ **GUINOISEAUE.C, 2010.** Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles :séparation, identification et mode d'action, Thèse pour l'obtention du grade de Docteur, Mention : Biochimie - Biologie moléculaire, Université De Corse-Pasquale Paoli, Ecole Doctorale Environnement Et Société UMR CNRS.



DRS

- 
- ❖ **Grare M., Mourer M. 2006**, J.-B. Regnouf de Vains, C. Finance, R.-E. Duval. Groupe d'étude des vecteurs supramoléculaires du médicament, (GEVS).
  - ❖ **. HAJJAR J., . DUMARTIN C., 2010**. Bonnes pratiques d'hygiène en hémodialyse, Revue d'hygiène - Volume XIX – n°1
  - ❖ **HAS. DAQSS ; Aout 2008**. La dialyse dans l'insuffisance rénale chronique terminale ; fiche thématique
  - ❖ **JEAN-Marc Berset D. 2005** - Beiersdorf AG Spécialiste en hygiène hospitalière 2eME Journée romande de formation - 4 février ANTISEPTIQUES ET DESINFECTANT
  - ❖ **LKASMIH BELHAJA.K LOUZIL.** ;Les 7 et 8 octobre 2011, Epidémiologie et Prophylaxie Des Bactéries Multi-Résistantes (BMR) : Conférence plénière Congrès l'Université Moulay Ismail, Faculté des Sciences, Meknès, Maroc.
  - ❖ **Maillet M. 2013**. Principes de prise en charge des infections nosocomiales DU Thérapeutiques anti-infectieuses.
  - ❖ **MASSICOTTE R., 2009. Ph. D.** Environnement. Désinfectants et désinfection en hygiène et salubrité: principes fondamentaux. Santé et services sociaux. Québec
  - ❖ **MOHAMMED I.D 2011**. Classification et mode d'action des antibiotiques.
  - ❖ **NELLYB. , AANTHONY ,T. 2003** DES bactériologie.
  - ❖ **OMS. , 2008**. Prévention des infections nosocomiales ; édition 2.
  - ❖ **OMS, 2009**. Manuel D'hygiène Hospitalière Et De Prévention Des Infections Nosocomiales. Royaume du Maroc Ministère de la Santé.
  - ❖ **ROUILLON S. , OURDANABIA S. ,JAMART S. ,HERNANDEZ ,MEUNIERO C. ; 2006**. Étude de l'efficacité d'un produit détergent désinfectant pour sols et surfaces sur les souches bactériennes isolées à partir de l'environnement hospitalier ; Pathologie Biologie 54 (325–330).
  - ❖ **SCHMITT S. , GLASSER N. , STAINBACH D. , MEUNIER O. .; 2009**. Études expérimentales de l'effet rémanent d'un détergent désinfectant pour surfaces sur une souche d'*Escherichia coli* ; Pathologie Biologie 57 463–469.
  - ❖ **SIMON L. 2012** .29 ème journée nationale d'étude et de perfectionnement de l'unibode, la surveillance des infection nosocomiales de site opératoire
  - ❖ **TOLANI M. :** Infections nosocomiales chez les dialysés DU année 2010/2011 Polyclinique Saint-Côme –Compiègne
  - ❖ **YALA D. , MERAD A., MOHAMED I.D., OUAR KORICH M.N., 200**. Médecine du Maghreb n°91, Classification Et mode D'action Des Antibiotiques.



DRS





DRS



---

# Résumé

Garder la sécurité des activités et la bonne gestion du protocole de travail pour lutter contre le risque grave des infections nosocomiales sont les objectifs les plus visés de la réalisation de la qualité permanent au LRDEHM. Cette cet objectif ne peut être atteint ne que par l'application de bonnes pratiques d'hygiène et de désinfection efficace.

Notre étude, mise en place pour atteindre ces objectifs, a été réalisée au LRDEHM de Fès, afin de déterminer le profil de résistance et de sensibilité des bactéries isolés du service d'hémodialyse à l'hôpital , et d'évaluer l'efficacité de différents produits antimicrobiens sur ces mêmes micro-organismes .

28 souches bactériennes ont été testés vis-à-vis des antibiotiques appartenant à différentes classes en se basant sur une technique bien déterminé (l'antibiogramme.)

les résultats de l'antibiogramme ont révélé un pourcentage résistance de (96.42%) pour la MY et CEC .Aussi un pourcentage de sensibilité moyenne pour la IMP ,par contre pour le reste des antibiotiques ,le pourcentage de sensibilité ne varie que de (3.58%) jusqu'à (35.74%).ce qui reflète la multi résistance des majorité des bactéries testés .



DRS



---

Les résultats des tests de sensibilité des bactéries aux désinfectants soulignent l'existence d'une forte variabilité de cette résistance, avec un pourcentage de sensibilité variant en fonction de classe de désinfectant et de bactéries..Une variabilité intra-espèce de la résistance vis-à-vis de différents désinfectants a été notée. Le désinfectant D2 appartenant à la classe des ammonium quaternaires et le désinfectant D3 qui se classe parmi les aldéhyde ont été les produit les plus efficaces pour désinfecter les surfaces de service d'hemodiyase . leurs dilution au 1/25 pour D2 et 1/50 pour D3 a révélé une sensibilité assez importante vis-à-vis les bactéries testées. Le TMI de désinfectant D2 et D3 est respectivement de 60 min,80min pour la quasi-totalité des germes sauf *bacillus sp* (60min),pour le désinfectant D2 ,est de (100min) pour le désinfectant D3.

Dans le but de réaliser l'objectif fixé par le laboratoire « maitrise du risque infectieux lié l'environnement », il est recommandé de respecter la marche en avant et les règles à suivre établis par le laboratoire, d'appliquer un protocole de désinfection fiable, adéquat et défini, de contrôler régulièrement l'environnement selon la fréquence décrite dans la manière de la manipulation.

**Mots clés :** environnement, protocole, infections nosocomiales, désinfection, LRDEHM.



DRS

---

Les infections associées aux soins (IAS) ont constitué ces vingt dernières années une véritable préoccupation pour la sécurité des patients et un enjeu important pour les professionnels qui exercent dans ou en dehors d'un établissement de santé (**SFHH, 2010**).

Selon les estimations de l'organisation mondiale de la santé (OMS), ces infections touchent chaque année des centaines de millions de personnes. Elles engendrent un sérieux problème de santé publique avec des conséquences considérables tant sur le plan individuel que sur le plan économique aussi bien pour les familles que pour les systèmes de santé (**EL RHAZI K. et al, 2007 ; DICKO-TRAORE F. et al, 2011**).

Aux États-Unis, 5% à 10% de tous les patients hospitalisés contractent une infection nosocomiale, contre 7.9% au Canada, et 9% à 12% en Europe (**BELHAJ O., 2010**).

En France, le nombre de décès attribuables aux infections nosocomiales est estimé annuellement à environ 4200, et le surcoût financier engendré par ces infections varierait entre 700 et 800 millions d'euros, soit 2% des budgets des hôpitaux (**ADJIDEC., 2008**).

Au Maroc, une des premières enquêtes à l'échelle nationale a été réalisée en 1994, et a révélé une prévalence globale de l'infection nosocomiale dans les hôpitaux marocains de 8.1%. Celle-ci variait selon le niveau de technicité et de spécialité des structures hospitalières. Elle était de 4,1% dans les hôpitaux provinciaux, 7,7% dans les hôpitaux régionaux et allant de 9,5% à 11,5% dans les hôpitaux universitaires (**BELHAJ O., 2010**).

En raison de l'immunodéficience des patients hémodialysés, des circonstances d'exposition au sang (accès vasculaires importants et répétés), le risque infectieux en hémodialyse représente la 2ème cause de morbidité et de mortalité après les accidents cardio-vasculaires, le 1/4 des hospitalisations en lien avec les infections d'accès vasculaire (IAV), et les 3/4 des décès par infection en lien avec les bactériémies (**DUMARTIN C., 2011**).

Qu'ils'agisse d'infections communautaires ou associées aux soins, la maîtrise de leur risque infectieux lié à l'environnement est un élément important de leur prévention puisque leur éradication est impossible du fait que le risque de les contracter ne peut jamais être nul.

Cette prévention est en effet, le créneau sur lequel il faut compter pour limiter ce fléau et freiner sa progression. Elle est au cœur des préoccupations du Ministère de la Santé (**BENSLIMANI A., 2008**). Elle s'intègre dans une démarche classique fondée sur l'identification du risque, l'information et la formation des acteurs concernés, l'application de mesures validées et l'évaluation de leur mise en œuvre, l'adoption de procédures techniques associée à l'existence d'activités organisationnelles et de ressources matérielles et humaines, la désinfection par utilisation de procédés physiques (UV, traitement thermique...) et des agents chimiques.

Cependant, l'efficacité de ces agents reste toutefois variable d'une application à une autre. Cette différence de réponse aux biocides peut être liée à des changements physico-chimiques de la surface des cellules microbiennes.

Dans ce contexte et dans le cadre de notre projet de fin d'étude, nous avons mené ce travail intitulé :



DRS



---

**« Evaluation de l'activité antibactérienne des antibiotiques et de différents désinfectants sur des bactéries isolées de l'environnement d'hémodialyse ».**

Les objectifs de ce travail étaient :

- De mesurer l'activité antibactérienne des souches isolées de l'environnement d'hémodialyse vis-à-vis des antibiotiques ;
- D'évaluer l'action de différents désinfectants sur les souches préalablement testées ;
- De déterminer la dilution minimale d'inhibition des désinfectants ayant la meilleure efficacité ;
- D'apprécier le temps de contact minimal des désinfectants actifs.



DRS

---

## I. Les infections nosocomiales

### A. Définition

Une infection nosocomiale ou associée aux soins, est une infection acquise par les malades au cours ou au décours d'une prise en charge (diagnostic, thérapeutique, palliative, préventive ou éducative), alors qu'elle n'était ni présente, ni en incubation au début de la prise en charge, et dont les manifestations cliniques apparaissent habituellement après la 48<sup>ème</sup> heure d'hospitalisation. Lorsque la situation précise du malade n'est pas connue, un délai d'au moins 48 heures après l'admission (ou un délai supérieur à la période d'incubation lorsque celle-ci est connue) est communément accepté pour séparer une infection d'acquisition communautaire d'une infection nosocomiale (DIAKARIA G., 2002).

Selon les normes ISO, on considère habituellement comme infections associées aux soins, toutes les infections survenant dans les 30 jours suivant l'intervention, ou dans l'année qui suit l'intervention si mise en place d'un implant, d'une prothèse ou d'un matériel prothétique. Toutefois, et quel que soit le délai de survenue, il est recommandé d'apprécier dans chaque cas la plausibilité de l'association entre l'intervention et l'infection, notamment en prenant en compte le type de germe en cause (MAILLETM., 2013).

L'infection nosocomiale peut être : bactérienne, virale, parasitaire, fongique, à prions, etc. Elle est cliniquement ou microbiologiquement identifiable, contractée dans une structure de soins, pouvant concerner soit le malade, soit le personnel soignant du fait de son activité (OMS, 2008).

### B. Expressions de l'infection nosocomiale

#### 3. Expression épidémiologique

Certaines infections nosocomiales, par exemple les **gastro-entérites à salmonelle** évoluent presque exclusivement sur un mode épidémique par contre les infections urinaires, les surinfections des plaies opératoires sont surtout responsables de l'endémie hospitalière.

De la même manière, certains micro-organismes sont souvent impliqués dans les infections endémiques (*Escherichia coli*, *Enterococcus*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *klebsiella*), et d'autres dans les infections épidémiques (virus de l'hépatite B, *Salmonella*, *Serratia*) et à un degré moindre *Staphylococcus aureus* (DIAKARIA G., 2002)

Une enquête nationale sur la prévalence des infections nosocomiales (IN) a été menée en 2001 par le Raisin (Réseau d'alerte, d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales), a montré un taux de prévalence des IN de 6,9 % (nombre de patients infectés un jour donné en fonction du nombre de patients hospitalisés présents le même jour). Cette prévalence est comparable à celle retrouvée lors d'enquêtes multicentriques réalisées dans d'autres pays européens (Espagne en 1990 : 9,9 % ; Norvège en 1991 : 6,3 % ; Allemagne en 1994 : 3,6 % ; Angleterre entre 1993–1994 : 9 %) (GRAREM. et al, 2006).

Les infections nosocomiales les plus fréquemment rencontrées sont les infections urinaires (40 %), les infections respiratoires (18,7 %), les infections du site opératoire (10 %) et les infections de la peau et des tissus mous (10 %) (GRAREM. et al, 2006).

#### 4. Expression clinique



DRS

---

L'infection nosocomiale peut être localisée ou généralisée.

## 2.1. Infection nosocomiale localisée

Elle se développe habituellement à partir de points d'appel facilement identifiable :

- Après une intervention chirurgicale.
- Un matériel étranger, par exemple une infection urinaire sur sonde ou une otite ou sinusite après intubation naso-trachéale.
- Une défaillance organique tardivement traitée, par exemple un trouble de la déglutition peut être responsable d'une pneumopathie s'il n'est pas prévenu par une protection des voies aériennes supérieures ou un drainage suffisant des sécrétions trachéo-bronchiques(DIAKARIA G., .2002).

## 4.2. Infection nosocomiale généralisée ou septicémie

Elle est habituellement secondaire à un foyer infectieux local : infection urinaire, suppuration chirurgicale etc.....(DIAKARIA G..2002).

### C. Germes en cause

Des agents pathogènes très divers peuvent être à l'origine d'infections nosocomiales. Les agents infectieux varient selon les populations de patients et les types d'établissements de santé, d'un établissement à l'autre et d'un pays à l'autre (OMS, 2008).

### 1. Bactéries

Ce sont les agents pathogènes responsables d'infections nosocomiales les plus courants. On peut distinguer :

#### a- Les bactéries commensales

Elles sont présentes dans la flore normale des sujets en bonne santé. Elles jouent un rôle protecteur significatif en empêchant la colonisation par des micro-organismes pathogènes.

Certaines bactéries commensales peuvent provoquer une infection si les défenses immunitaires de l'hôte sont affaiblies .Par exemple :les *Staphylococcus epidermis* (*Staphylococcus* cutané coagulase négative)provoquent des infections sur cathéter vasculaire ,les *Escherichia coli* présentes dans l'intestin sont la cause la plus courante d'infections urinaires (OMS,2008).

#### b- Les bactéries pathogènes

Elles ont une virulence plus élevée et provoquent des infections (sporadiques ou épidémiques) quel que soit l'état immunitaire de l'hôte. Elles englobent :

- Les bacilles anaérobies à Gram positif (par exemple *Clostridium*) provoquent la gangrène gazeuse ;
- Les bactéries à Gram positif : *Staphylococcus aureus* (bactérie cutanée qui colonise la peau et les fosses nasales du personnel hospitalier et des patients) ;
- Les Streptocoques bêta-hémolytiques : sont également des agents pathogènes importants ;



---

➤ Les bactéries à Gram négatif : les entérobactéries (*Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Serratia marcescens*) peuvent coloniser certains sites lorsque les défenses immunitaires de l'hôte sont affaiblies ;

Les micro-organismes à Gram négatif comme *Pseudomonas spp.* : Ils sont souvent isolés dans l'eau et les milieux humides. Ils peuvent coloniser les voies digestives des patients hospitalisés (OMS, 2008).

## 2. Les virus

Il existe une possibilité de transmission nosocomiale pour de nombreux virus, notamment ceux des hépatites B et C.

Les virus pouvant également causer des infections nosocomiales, le plus souvent à partir du réservoir humain constitué par les patients et le personnel hospitalier. Leur importance est certainement sous-estimée car leur recherche est techniquement difficile à réaliser. Certains virus responsables d'infections nosocomiales en pédiatrie, comme le virus respiratoire syncytial ou les rotavirus, survivent de façon plus ou moins prolongée dans l'environnement. Ainsi, les rotavirus sont capables de survivre plusieurs jours sur les mains et un à 10 jours ou plus sur les surfaces sèches et non poreuses dans un environnement faiblement humide (< 50%), contre 6 heures pour le virus respiratoire syncytial (CAVALLO J. et al, 2002).

## 3. Les champignons

Parmi les autres micro-organismes impliqués dans les infections nosocomiales, les levures et surtout les champignons filamenteux environnementaux (*Aspergillus spp.*) sont très bien adaptés à la survie et à la multiplication dans l'environnement (Fabry J. et al, 2005).

## 4. Les parasites

Les formes infectantes de certains parasites sont éliminées en très grande quantité dans la nature à partir des hôtes parasités (18). C'est le cas notamment de *Cryptosporidium parvum*, des kystes d'amibes, de *Giardia intestinalis* ou d'autres parasites comme *Cyclospora* et les microsporidies. De plus, les amibes libres présentes dans les réseaux d'eau sont susceptibles d'héberger et de favoriser la survie et la multiplication de *Legionella spp.* La viabilité de ces parasites dans le milieu extérieur est prolongée et les moyens de détection et de prévention restent limités (Cavallo J. et al, 2002).

## 5. Autres réservoirs possibles de contamination

Ils peuvent être classés en deux catégories :

- Le réservoir humain reste la source la plus importante de l'infection nosocomiale. (Germes des malades hospitalisés et du personnel soignant infecté ou colonisé).
- L'eau utilisée à l'hôpital, l'air, le matériel, les équipements médicaux, le linge, les déchets médicaux et pharmaceutiques, les denrées alimentaires et les bâtiments constituent le réservoir environnemental (CCLIN, 2007).

## D. Modes d'acquisition et de transmission des infections nosocomiales



---

## 1. Modes d'acquisition

Les bactéries qui provoquent des infections nosocomiales peuvent s'acquérir de plusieurs voies :

### 1.1. Voie endogène

Le malade s'infecte avec ses propres germes à la faveur d'un acte invasif (actes chirurgicaux, sondage urinaire, respiration artificielle) et/ou en raison d'une fragilité particulière. C'est le mode le plus fréquent (TOLANIM., 2010/2011).

### 1.2. Voie exogène

Les agents infectieux peuvent être transmis par différentes façons, ils peuvent causer :

- Des infections croisées : transmises d'un malade à l'autre par les mains ou les instruments de travail du personnel médical ou paramédical.
- Des infections provoquées par les germes du personnel porteur.

Des infections liées à la contamination de l'environnement hospitalier : eau (ex : légionellose), air, matériel, alimentation (TOLANI M.,/2011).

## 2. Modes de transmission

Les agents infectieux peuvent être transmis par contact direct, par gouttelettes, par voie aérienne ou par un véhicule commun.

- La transmission par contact a lieu lors du contact avec un sujet infecté ou avec un objet intermédiaire : mains contaminées, instruments ou autres objets contaminés. Ce mode de transmission est le plus répandu en raison du manu portage des germes par les soignants, d'où l'intérêt de la promotion de l'hygiène des mains dans l'hôpital.

La transmission par gouttelettes se produit lorsque l'agent infectieux se présente sous forme de gouttelettes provenant des voies respiratoires (toux, éternuement) mais également lors d'endoscopies, d'aspirations orotrachéales, ou de traitement par des aérosols. Les particules infectantes sont déposées directement sur les muqueuses sans transmission par l'air ambiant (TOLANI M.,2011).

## E. facteurs favorisant l'infection nosocomiale

Ils peuvent être liés :

### 1. Aux patients

- Aux âges extrêmes : chez le nourrisson et la personne âgée ;
  - Les patients atteints de maladies chroniques telles que tumeurs malignes, leucémie, diabète, insuffisance rénale ou syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) ;
  - Les médicaments immunosuppresseurs ou l'irradiation.
- Ayant bénéficié d'interventions chirurgicales lourds .

### 2. A l'environnement

Il peut être contaminé par le personnel ou par le patient. Cet environnement comprend les divers appareillages d'assistance respiratoire (humidificateur, respirateur...), les lavabos, les instruments à



DRS

visée diagnostique ou de soins (stéthoscope, tensiomètre...), les liquides perfusés et les tubulures, la nourriture, et l'air ambiant (OMS,2008).

### 3. Aux pratiques médicales

Gestes thérapeutiques invasifs : (sondage vésical, cathétérisme veineux périphérique ou central, prothèses vasculaires et orthopédiques) (OMS, 2008).

## F. Conséquences des infections nosocomiales

L'aggravation de la maladie ayant motivé l'hospitalisation, la prolongation du séjour hospitalier sont les conséquences indésirables des infections nosocomiales. Il en résulte aussi des dépenses supplémentaires qui sont une charge considérable pour les patients et pour le système de santé. Aux Etats Unis, ces dépenses supplémentaires sont estimées de 4,5 à 5,7 milliards de dollars par an (Services du Ministère de la Santé, 2005).

## G. Risque infectieux en hémodialyse

### 1. Principe de l'hémodialyse

L'hémodialyse est un mode d'épuration extra rénale qui a pour objectif de rétablir l'équilibre du milieu intérieur grâce à un traitement discontinu de trois à six heures par séances, en deux à trois séances par semaine. C'est la méthode la plus utilisée, elle concerne plus de 90 % des patients (HAS. DAQSS, 2008).

### 2. Risque infectieux

En hémodialyse, les infections représentent l'une des principales causes de morbi- mortalité chez les patients atteints d'insuffisance rénale chronique. Elles sont liées principalement à la diminution des défenses immunitaires. Le risque infectieux est augmenté par la rupture de la barrière cutanée lors des ponctions ou la présence de cathéters.

Les patients hémodialisés présentent un risque accru d'infection en raison de leur immunodéficience et de leur exposition à divers micro-organismes nosocomiaux.

En 1961, Schreiner a été le premier à noter une fréquence élevée d'infections chez les insuffisants rénaux chroniques : 60 parmi 100 patients hospitalisés suite à une insuffisance rénale acquièrent une infection et 39 moururent

Le risque infectieux en hémodialyse est multiple. Il est favorisé et accru :

- **Par le non-respect des bonnes pratiques d'hygiène**

Le risque de la transmission des germes d'un patient à l'autre augmente. L'infection est n manu portée .

- **A partir d'un malade, visiteur ou personnel soignant**

Transmission à un ou plusieurs patients, d'une bactérie ou d'un virus, par un personnel soignant malade, ou un porteur sain (virus grippal, *Staphylococcus aureus*).

- **Par le Matériel médical**

Plusieurs facteurs peuvent favoriser la transmission des germes aux patients tels que :

- La désinfection incorrecte des matériels (générateur) ;



DRS

- 
- La mauvaise qualité de la stérilisation ;
  - Les éléments médicaux qui sont en commun entre deux personnes.

Les infections importantes aux plans clinique et épidémiologique sont essentiellement les bactériémies associées aux cathéters intra vasculaires, les infections de fistules ou de greffes artérioveineuses, les infections du site opératoire et les hépatites virales B et C.

- **Par l'eau pour hémodialyse, le dialysat, les médicaments et les produits biologiques**

Le dialysat, les poches de sang, les produits sanguins labiles, le sérum salé servant comme solvant lors des perfusions médicamenteuses, sont l'une des sources d'infection nosocomiale en hémodialyse.

- **L'air du service d'hémodialyse**

L'air ambiant est chargé de germes qui pourraient accroître le taux de la contamination des patients ce qui favorise les infections nosocomiales (DUMARTIN C., 2011).

## H. Prévention des infections nosocomiales

Pour diminuer la fréquence des infections nosocomiales, il est indispensable de surveiller de façon rapprochée les services les plus exposés et les situations à risque d'infection nosocomiale et d'évaluer l'efficacité des mesures entreprises en se basant sur l'utilisation des précautions standards et des précautions additionnelles (OMS.2008)

### 1- Précautions standards

Il s'agit d'un certain nombre de mesures destinées à minimiser le risque de transmission des micro-organismes aussi bien des soignants au patient, que du patient aux soignants et dont l'application doit être systématique lors de tout contact avec un patient.

Ces mesures générales reposent essentiellement sur l'hygiène des mains, le port de gants et de blouses (AVRILJL. et al, 2002).

### 2- Précautions additionnelles

Il s'agit de mesures supplémentaires à mettre en œuvre devant des risques particuliers liés à un mode de transmission spécifique et qui sont préconisées pour les patients infectés avec un micro-organisme pathogène hautement transmissible ou épidémique et pour les patients dont les défenses affaiblies (isolement, port de lunettes de protection ou de masque, tenue particulière, sur blouse).

La prévention des infections nosocomiales comporte de nombreux aspects qui touchent de nombreux secteurs d'activité d'un hôpital. A cet effet, il est nécessaire d'agir sur tous les niveaux de la chaîne de transmission des infections nosocomiales à savoir :

- L'agent contaminant par un traitement des malades infectés utilisant une antibiothérapie ciblée ;
- L'isolement géographique des malades infectés ou colonisés ;
- Le contrôle de la porte de sortie par une gestion adéquate des déchets médicaux et pharmaceutiques et de linge ;
- Le contrôle de la voie de transmission par :
  - L'hygiène des malades et des mains du personnel ;
  - L'entretien du matériel médical (désinfection, stérilisation) ;



DRS

- 
- L'hygiène de l'environnement : contrôle de l'air, contrôle de l'eau ;
  - L'entretien des locaux ;
  - L'hygiène hôtelière : contrôle du linge, de l'alimentation et des déchets.
  - Le contrôle de la porte d'entrée par la limitation des actes invasifs et promotion de l'asepsie des soins.
  - La protection de l'hôte réceptif par :
    - Un isolement protecteur ;
    - La vaccination du personnel et des malades.
  - Les mesures préventives consistent à :
    - Appliquer des mesures d'hygiène rigoureuses : hygiène des mains, utilisation des solutions hydro-alcooliques, fixation des protocoles de soins pour les différents gestes de soins médicaux et paramédicaux ;
    - Utiliser du matériel médical stérile ou à usage unique, améliorer les méthodes de stérilisation et appliquer les bonnes pratiques de désinfection du matériel ;
    - Détecter les situations à risque et d'épidémies ;
    - Détection des patients porteurs de germes multi-résistants et mise en place des protocoles pour la prise en charge des situations de colonisation à des germes multi-résistants et des situations épidémiques ;
    - Encadrement de la prescription d'antibiotiques et création des guides de bonnes pratiques (AVRIL JL. et al, 2002).

## II. Les Antibiotiques

### A. Définition

- Un antibiotique est une molécule naturelle ou synthétique, qui détruit ou bloque la croissance des bactéries.
  - Un antibiotique est dit bactéricide s'il détruit la croissance des bactéries.
  - Un antibiotique est dit bactériostatique s'il bloque la croissance des bactéries.
- Un même antibiotique peut être bactériostatique à faible dose et bactéricide à dose plus élevée (INFO SANTE, 2014).

Les antibiotiques sont majoritairement représentés par des molécules d'origine naturelle et leurs dérivés. Ils peuvent aussi être d'origine synthétique ou semi-synthétique. Les antibiotiques synthétiques sont obtenus, soit à partir de dérivés totalement artificiels, soit en recréant des substances initialement extraites de microorganismes.

Les antibiotiques semi-synthétiques sont issus de la modification, en laboratoire, de substances produites par des micro-organismes (NEWMAN et al, 2003 ; SINGH et al, 2006).

### B. Généralités



DRS

Les antibiotiques ont permis de faire considérablement reculer la mortalité associée aux maladies infectieuses au cours du 20<sup>ème</sup> siècle. Hélas, leur utilisation massive et répétée a conduit à l'apparition de bactéries résistantes à ces médicaments. Ponctuelles au départ, ces résistances sont devenues préoccupantes et conduisent à la mise en place de diverses stratégies pour éviter les situations d'impasses thérapeutiques (GUINOISEAU E. et al, 2011).

### C. Historique

En 1928, le **Dr Alexander Fleming** a été le premier à découvrir un antibiotique à base d'une moisissure *Penicillium*. Cette substance permettait d'empêcher le développement de certaines bactéries dans des cultures. Cette découverte majeure, l'une des plus importantes du 20<sup>ème</sup> siècle, a permis en 1940 la mise sur le marché de l'antibiotique pénicilline (Pénicilline G) qui permettra de sauver des millions de vies.

Cela ouvrait également la voie pour la recherche et le développement de nouvelles classes d'antibiotiques qui ont pu être utilisées par la suite contre la tuberculose, la pneumonie, les infections de la peau (CREAPHARMA, 2013).

### D. Classification des antibiotiques

La classification des antibiotiques peut se faire selon :

#### 1- Leur mode d'action

Au niveau de la paroi, la membrane cytoplasmique, la synthèse des protéines, la synthèse des acides nucléiques (MOHAMMEDID. et al, 2011).

#### 2- Le spectre d'activité

La liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large). (MOHAMMEDID. et al, 2011).

#### 3- La nature chimique

Elle est très variable et basée souvent sur une structure de base (ex : cycle  $\beta$  lactame) sur laquelle il y a hémi synthèse ((MOHAMMEDID. et al, 2011).

La classification des antibiotiques en tenant compte du spectre antimicrobien ne paraît pas être la meilleure en raison de l'évolution de la résistance bactérienne. La classification chimique permet de classer les antibiotiques en groupes assez homogènes mais éloignés des objectifs cliniques. Enfin, celle basée sur le mécanisme d'action rend compte des propriétés particulières de chaque groupe d'antibiotiques (GUINOISEAU E. et al, 2011).

### E. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques agissent à l'échelon moléculaire au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie. Ils accomplissent leur action par :

#### ● Toxicité sélective au niveau de la :

- Synthèse de la paroi bactérienne ;
- Membrane cytoplasmique ;



DRS

- 
- Synthèse des protéines ;
  - Acides nucléiques.

- **Inhibition compétitive** : dans ce cas l'antibiotique est un analogue structural, il interfère avec une fonction essentielle à la bactérie.

## 1. Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne

Les bactéries sont protégées de l'environnement extérieur par une paroi, qui doit croître quand la bactérie se divise. Cette paroi contient en particulier une couche de plus ou moins épaisse, Il existe une machinerie de synthèse qui fabrique les composants de cette paroi et qui est composée d'enzymes et de systèmes de transport acheminant les composants à la surface cellulaire.

Il existe un ensemble d'antibiotiques qui bloquent différentes étapes de cette machinerie. Le blocage de la synthèse de la paroi fragilise fortement l'enveloppe externe des bactéries.

En revanche, les antibiotiques ne sont en général actifs que sur les germes en croissance. Les bactéries quiescentes (qui ne se divisent pas) ne sont pas perturbées par l'action de ces molécules, parce que le peptidoglycane n'est produit que lors de la croissance cellulaire, pour s'adapter à l'augmentation du volume précédant la division cellulaire (YALA D. et al.,2001 ; MOHAMMEDI D., 2012).

## 2. Action sur la membrane des cellules

L'existence d'une membrane plasmique intacte est nécessaire à la survie bactérienne. Toute perturbation de l'imperméabilité de la membrane rompt ces confinements.

Il existe un certain nombre de molécules antibiotiques qui agissent sur la membrane des cellules, soit en agissant comme des détergents qui désorganisent les lipides, soit en formant un pore ou un trou dans la membrane qui va permettre la fuite des composés cellulaires (YALA D. et al.,2001 ; MOHAMMEDI D., 2012).

## 3. Inhibition de la synthèse des acides nucléiques

La synthèse des acides nucléiques, est absolument vitale pour les cellules, sans elles, la division cellulaire et la fabrication des protéines sont impossibles. Un certain nombre de composés peuvent bloquer de manière directe ou indirecte ces voies de biosynthèse des acides nucléiques et ont en conséquence une activité antibiotique.

Il existe des antibiotiques qui bloquent l'action de l'ADN gyrase.

D'autres molécules bloquent la réplication de l'ADN en introduisant des pontages covalents entre des bases voisines, soit sur le même brin soit entre les deux brins de l'ADN. Ces pontages déforment l'ADN, peuvent empêcher l'ouverture des brins et bloquent l'action de différentes enzymes agissant sur l'ADN ce qui rend donc la réplication impossible (YALA D. et al.,2001 ; MOHAMMEDI D., 2012).

## 4. Inhibition de la synthèse protéique

La synthèse des protéines est un processus essentiel des cellules vivantes. L'acteur central de ce processus dans lequel l'ARN messager est traduit en protéine est le ribosome. Il existe un grand



DRS

---

nombre de molécules antibiotiques qui sont capables de bloquer sélectivement la traduction des protéines chez les bactéries, mais pas chez l'homme ou l'animal.

De ce fait, approximativement la moitié des antibiotiques utilisés en thérapeutique ont pour cible le ribosome bactérien (YALA D. et al., 2001 ; MOHAMMEDI D., 2012).

## 5. Inhibition du métabolisme des folates

Une autre classe importante d'antibiotiques interfère avec la production de métabolites essentiels, bloquant la synthèse de différents constituants essentiels de la cellule : lipides, acides aminés, nucléotides (D.MOHAMMEDI 2011).

## F. Principales classes d'antibiotiques

### 1. Les pénicillines

Les pénicillines sont des antibiotiques les plus anciens et les mieux tolérés. Ils inhibent la formation de la membrane bactérienne et sont donc bactéricides (EUREKA SANTE, 2014).

### 2. Les céphalosporines

Comme les pénicillines, les céphalosporines sont bactéricides. Elles ont une structure qui interfère avec la synthèse de la paroi bactérienne (EUREKA SANTE, 2014 ).

### 3. Les aminosides

Ils ont un spectre d'action étroit. Ils inhibent la synthèse des protéines des staphylocoques et des bacilles Gram négatif. Ils sont parfois utilisés en association avec les pénicillines (EUREKA SANTE, 2014 ?).

### 4. Les tétracyclines

Ce sont des antibiotiques bactériostatiques qui agissent sur la synthèse des protéines bactérienne. Ce sont des antibiotiques à spectre large (EUREKA SANTE, 2014 ).

### 5. Les macrolides

Ils ont une action bactériostatique, ils se lient aux ribosomes des bactéries pour inhiber la synthèse protéique. On l'utilise souvent en remplacement de la pénicilline (EUREKA SANTE, 2014 ).

### 6. Les sulfamides

Ce sont des antibiotiques bactériostatiques synthétiques à spectre large ; actifs contre pratiquement toutes les bactéries Gram positif et de nombreuses bactéries Gram négatif. Cependant,



DRS

la plupart de ces dernières ont développé une résistance aux sulfamides (EUREKA SANTE, 2014 ).

## 7. Les quinolones et fluoroquinolones.

Les quinolones sont des antibiotiques de synthèse chimique. L'acide nalidixique est la première quinolone indiquée pour le traitement des infections du tractus urinaire par certains bacilles Gram négatif (EUREKA SANTE, 2014 ).

## 7. Les phénicolés

Ce sont des antibiotiques bactéricides. Deux molécules seulement sont utilisées en clinique : le chloramphénicol et le thiamphénicol (EUREKA SANTE, 2014 ).

## 8. Les polypeptides

Les polypeptides sont des antibiotiques bactéricides et ont une action d'inhibition de la paroi cellulaire de la bactérie. Généralement ils sont indiqués contre certaines souches staphylocoques (EUREKA SANTE, 2014 ).

## G. Antibiogramme

### 1. Définition

L'antibiogramme est un examen de routine qui permet de déterminer la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques dans une optique essentiellement thérapeutique.

Il sert aussi :

- À la surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne ;
- À l'identification bactérienne par la mise en évidence de résistances naturelles.

Sa réalisation est laissée à l'initiative du biologiste. Il doit être pratiqué en raison de la qualité, de la densité de l'espèce ou des espèces isolées, soit de l'état clinique du patient ou du siège de l'infection sur les espèces susceptibles d'engendrer un processus infectieux.

Il faut garder à l'esprit qu'en pratique, on étudie l'effet des antibiotiques *in vitro* le plus souvent et dans des conditions normalisées de culture. Ainsi, il faut déterminer de corrélations afin de présumer de l'efficacité *in vivo* de l'antibiotique et donc de la réussite (ou de l'échec) du traitement sur la base de données biologiques *in vitro* (NELLYB. et al, 2003).

### 2. Méthodes

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées, nous citons :



DRS



• **La méthode par diffusion en milieu gélosé** : des disques de papier imprégnés d'antibiotiques sont déposés à la surface d'une gélose ensemencée avec la bactérie à étudier et diffusent dans la gélose, s'entourant ainsi de zones d'inhibition circulaires, correspondant en une absence de culture. Les diamètres d'inhibition sont dépendants de la sensibilité du germe.

- **Les méthodes en milieu liquide** : qui sont le plus souvent automatisées.

#### ✚ **Interprétation de l'antibiogramme**

La lecture de l'antibiogramme doit tenir compte de l'identification de l'espèce bactérienne. Elle permet de :

- Comparer le phénotype étudié au phénotype « sauvage » de la bactérie;
- Déterminer les résistances et en déduire les mécanismes;
- Choisir le ou les antibiotiques en fonction de la sensibilité de la bactérie .

### **3. Détermination du profil de résistance d'une bactérie**

#### **4.1. La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)**

La CMI est la plus faible concentration en antibiotique, qui permet d'inhiber la croissance bactérienne dans un milieu de culture. La méthode de détermination de la CMI est une méthode de référence standardisée sur la taille de l'inoculum bactérien et le milieu de culture.

La valeur de la CMI est ensuite comparée à :

- la concentration critique inférieure "**c**", qui correspond à la concentration d'antibiotique dans le sang, après l'administration de la posologie usuelle;
- la concentration critique supérieure "**C**", qui correspond à la concentration d'antibiotique dans le sang, obtenue après l'administration de la posologie maximale.

- Une bactérie est dite sensible si la CMI est inférieure à "**c**" ;
- Une bactérie est dite résistante lorsque la CMI est supérieure à "**C**" ;
- Une bactérie est dite profil « limite » ou « intermédiaire » lorsque cette valeur est comprise entre "**c**" et "**C**" (SFM .2013)

## **III. Désinfection et désinfectants**

### **A. Généralités**

#### **a. La désinfection**

Selon l'AFNOR(1975) : « la désinfection est une opération au résultat momentané permettant d'éliminer ou de tuer les microorganismes et/ou d'inactiver les virus indésirables portés sur des milieux inertes contaminés, en fonction des objectifs fixés. Le résultat de cette opération est limité aux microorganismes présents au moment de l'opération (CCLIN, 2000).

#### **b. Les désinfectants**

Ce sont des produits chimiques ou procédés utilisés pour la désinfection ou la décontamination dans des conditions définies(AFNOR, 1981).



DRS

Les désinfectants modernes allient, dans une composition complexe, produits chimiques, savons, détergents et autres substances destinées à favoriser la pénétration des ingrédients actifs (KAHRSR., 1995).

### c. Pré-désinfection (ou décontamination)

Opération utilisant un produit détergent contenant au moins un principe actif reconnu pour les propriétés bactéricides, fongicides, sporicide ou virucides, c'est à dire un produit détergent désinfectant (SFHH, 2012).

La pré-désinfection constitue une étape préalable à la désinfection ou à la stérilisation (CCLIN, 2000).

### d. Les agents tensioactifs

Un tensioactif est une substance modifiant la tension superficielle entre deux surfaces. Les tensioactifs se composent de molécules amphiphiles présentant un côté lipophile (affinité pour les lipides) et un côté hydrophobe (affinité pour l'eau). Cette propriété leur permet également de solubiliser deux phases non miscibles.

Il existe quatre classes des agents tensioactifs selon leurs propriétés ioniques (charge électrique) dans l'eau :

- Anioniques (charge négative comme le savon) ;
- Cationiques (charge positive) ;
- Amphotères (les surfactifs de ce type peuvent être chargés positivement ou négativement, selon le milieu) ;
- Non ioniques : ne présentant aucune charge (MASSICOTTE R., 2009).

### e. Agents tensio-actifs et désinfectants

Tout comme dans le cas des détergents pour le nettoyage, les agents tensio-actifs ou sur-actifs jouent un rôle clé dans le succès de certains désinfectants. Il existe des désinfectants (fortement négatifs) pénètrent mal dans plusieurs microbes (fortement positifs). Ces désinfectants utilisés seuls sont donc des éléments ayant des capacités limitées. En ajoutant un agent tensio-actif qui facilite sa pénétration en modifiant à la baisse les charges des désinfectants, ces derniers dit « activés » deviennent des désinfectants très puissants (parce qu'ils pénètrent beaucoup mieux à l'intérieur des microbes pour les tuer). Il faut donc dans certains cas agir à la fois sur la charge du désinfectant et sur celle des microbes. La présence d'agents tensio-actifs dans une solution peut avoir également un double rôle : permettre une action de détergence et faciliter la réaction de l'agent désinfectant avec la structure microbienne (MASSICOTTE R., 2009).

## B. Historique

Depuis longtemps, la lutte contre les maladies infectieuses a tenu une place importante. Bien avant que le mot antiseptique ne soit employé, de nombreuses substances sont utilisées pour éviter le risque de contamination.

- En 1774, SCHEELE (1749-1786) chimiste suédois découvrit le chlore ;
- En 1789, BERTHOLLET (1748-1822) chimiste français, découvrit les hypochlorites. Il les développa dans le petit village de JAVEL, aujourd'hui quai de JAVEL dans le 15<sup>ème</sup>



DRS

---

arrondissement de PARIS. Ceci explique la dénomination d'un produit chloré : eau de JAVEL.

- **En 1811, BERNARD COURTOIS** (1777-1838) chimiste français isola l'iode à partir de cendres de plantes marines.
- **En 1929, LUGOL**, médecin français, utilisa ce produit dans le traitement des maladies scrofuleuses (adénopathies cervicales chroniques). La teinture d'iode a été utilisée en 1839 contre la goutte, l'anthrax, le panaris, puis largement employée pour traiter les blessures de guerre.
- Les fondements scientifiques de l'antisepsie et de la désinfection reposent sur les découvertes de **PASTEUR**. La théorie des micro-organismes responsables d'un certain nombre de maladies infectieuses marqua la rupture avec les pratiques antérieures. La microbiologie, nouvelle discipline concourut à rendre plus performantes les mesures et pratiques d'hygiène (C.CLIN Paris-Nord - Mai 2000).
- A partir de **1970**, l'élaboration par l'**AFNOR**. (Association française de normalisation) de protocoles normalisés d'étude a permis une meilleure connaissance des propriétés des antiseptiques et désinfectants. A la même période, la pharmacopée française introduit en Juillet 1985 une note pro pharmacopée sur les préparations antiseptiques. La monographie en vigueur actuellement date de 1990.
- **Un comité européen de normalisation CEN TC 216** « antiseptiques et désinfectants » a été créé dans le but d'harmoniser les normes dans les différents pays européens.(**CCLIN, 2000**).

### C. But et objectif de désinfection

La désinfection a pour but de prévenir les infections croisées et d'atteindre les niveaux de contamination les plus bas dans l'environnement des patients fragilisés.

La désinfection a pour objectif de réduire les micro-organismes (bactéries et champignons, virus) présents sur des objets, et des surfaces verticales ou horizontales (**CCLIN, 2000**).

### D. Classes, avantages et inconvénients des désinfectants

Les désinfectants peuvent être groupés en différentes classifications. Ce classement est essentiellement basé sur le principe actif dominant. En outre, des combinaisons des atomes actifs peuvent avoir lieu. Ainsi, plusieurs substances peuvent contenir à la fois du chlore et de l'oxygène ; alors que dans certains cas, on assiste à la dominance d'un principe actif (l'oxygène, le chlore,...).

L'identification du principe actif dominant se fait par la lecture du nom chimique, figurant sur la fiche technique ou signalétique du produit ou sur l'étiquette, et non du nom commercial qui dans la plupart des cas, ne donne aucun indice sur le produit actif. Ainsi, à titre d'exemple, la lecture du nom commercial « VirkonMD » ne permet pas à elle seule de connaître qu'il s'agit du peroxy sulfate.



DRS

Les principales classes de désinfectants employés dans le réseau de la santé sont : les halogénés à base de chlore, les aldéhydes, les alcools, les oxydants, les phénols et les ammoniums quaternaires (MASSICOTTE R., 2009).

## 1. Aldéhydes

Plusieurs aldéhydes sont proposés comme principes actifs désinfectants, ce sont des désinfectants à large spectre, mais ils ont l'inconvénient de fixer les protéines, c'est pourquoi, il est nécessaire de nettoyer les surfaces des instruments avant de les désinfecter au moyen d'aldéhydes. On obtient un haut niveau de désinfection. Deux molécules sont plus particulièrement utilisées:

- Le formaldéhyde
- Le glutaraldéhyde

Le premier possède une seule fonction aldéhyde, le second en possède deux (MARCJ., 2005).

### a- Avantages

L'ensemble de ces produits est bactéricide à des concentrations élevées sur les bactéries Gram-. On leur attribue également des qualités de fongicide, de virucide, de myco-bactéricide et de sporidie (MASSICOTTE R., 2009).

### b- Inconvénients

Ces produits ne sont pas efficaces sur des surfaces souillées. Ils détériorent les surfaces de plastique.

Le principal inconvénient associé à ces produits est la production de vapeurs irritantes pour les voies respiratoires ainsi que les risques de développer un cancer. La Commission de la santé et de la sécurité du travail considère toutefois que ces produits sont des sensibilisants cutanés, alors que le formaldéhyde gazeux autant que les vapeurs de glutaraldéhyde peuvent causer de la sensibilisation respiratoire (MASSICOTTE R., 2009).

### c- Mécanisme d'action

Les aldéhydes provoquent une dénaturation des acides nucléiques et des protéines des microorganismes (MARCJ., 2005).

### d- Facteurs influençant l'activité et la stabilité

Les aldéhydes sont inhibés par

- Les protéines ;
- L'activité diminue en solution alcaline ;
- La concentration ;
- La température ;
- L'humidité relative : l'efficacité du formol augmente avec l'humidité (60 à 80%)
- Le temps de contact : 2 heures - norme AFNOR NFT 72 281 (désinfection des surfaces par voie aérienne) (CCLIN, 2000)



DRS

---

## 2. Halogénés à base de chlore

Le chlore est un gaz qu'on ne peut utiliser comme tel pour composer des désinfectants. Les chimistes ont trouvé le moyen de le mettre en solution en le faisant réagir avec des produits caustiques. Cette réaction donne la formation d'hypochlorite de sodium communément appelée eau de Javel. Initialement, le chlore, l'hypochlorite de sodium, en raison de son faible coût de production et de son efficacité désinfectante, est à la base de nombreux désinfectants. L'eau de Javel est utilisée telle qu'elle est ou diluée (MARCJ., 2005).

### a. Avantages

Les produits chlorés ne coûtent pas cher et possèdent un large spectre d'activités contre les microbes. En raison de ces qualités intéressantes, l'industrie développe de nouvelles formes de produits chlorés qui pallient leurs inconvénients et principalement leur instabilité. Ces nouveaux produits, par contre, ont des coûts plus élevés.

On trouve donc actuellement sur le marché divers produits générateurs de chlores disponibles sous forme solide (poudre, comprimés, granulés) : chlorure de chaux, hypochlorite de calcium, chloramine et DCCNa. Ils diffèrent par leur teneur en chlore actif, donc par leur efficacité, leur stabilité à la chaleur, la rapidité et la durée de leur action et le pH de leur solution.

Le dichloroisocyanurate de sodium (DCCNa) est le plus récent générateur de chlore (MASSICOTTE R., 2009).

### b. Inconvénients

L'hypochlorite de sodium présente aussi certains inconvénients. Il se dégrade rapidement, surtout à la chaleur ou à la lumière. Il peut produire des odeurs irritantes pour le personnel et pour plusieurs patients. Le gaz dégagé, le chlore gazeux, peut causer une irritation des voies respiratoires, des crises d'asthme, de l'étouffement selon le degré d'exposition et la sensibilité de la personne exposée. En plus de contenir de l'hypochlorite de sodium, l'eau de Javel contient de l'hydroxyde de sodium qui retarde l'évaporation du chlore gazeux au cours de son entreposage. Cette composition en fait à la fois un oxydant et un corrosif qui peut attaquer de nombreux types de surfaces.

Un autre inconvénient de l'hypochlorite de sodium est l'absence d'un effet résiduel. Le produit n'ayant pas d'effet de rémanence, la surface désinfectée peut être contaminée quelques secondes plus tard il est donc recommandé d'utiliser d'abord un détergent pour ensuite rincer avec de l'eau avant d'utiliser de l'eau de Javel.

Du point de vue de la santé et de la sécurité des travailleurs, la manipulation de ce produit concentré nécessite les précautions d'usage prescrites pour une solution corrosive volatile (MASSICOTTE R., 2009).

### c. Mode d'action

Le pouvoir oxydant provoque la destruction de protéines au niveau membranaire et chromosomique (MARCJ., 2005)



DRS

Son pouvoir désinfectant provient de ses propriétés oxydantes dues à la présence de l'ion hypochlorite  $\text{ClO}^-$  qui s'attaque à la membrane cytoplasmique. L'hypochlorite de sodium  $\text{NaClO}$  est un sel de sodium de l'acide hypochloreux  $\text{HOCl}$ . En solution, l'hypochlorite de sodium  $\text{NaClO}$  se dissocie en ions sodium  $\text{Na}^+$  et hypochlorite  $\text{ClO}^-$ .

$\text{NaClO} \rightarrow \text{Na}^+ + \text{ClO}^-$  (MASSICOTTE R., 2009).

La forme la plus efficace ( $\text{HOCl}$ ) nécessite l'ajout d'un atome d'hydrogène (H) qu'elle prend dans l'eau. Dès que la surface se sèche, à mesure que l'eau disparaît, elle se modifie en la forme la moins efficace ( $\text{OCl}^-$ ). En raison de ce phénomène, il faut garder la surface humide pendant la durée de contact prévue si l'on désire avoir un effet sporicide, sinon on n'aura que les vapeurs de chlore sans l'assainissement souhaité (R. MASSICOTTE, 2009).

#### d. Facteurs influençant l'activité et la stabilité

- **Le potentiel d'hydrogène (pH):**

- A  $\text{pH} < 5$ , il y a dégagement de chlore gazeux : la solution perd son activité.
- A  $\text{pH} = 5$ , l'activité est maximale (CCLIN, 2000).

- **La Température**

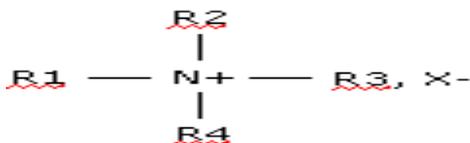
Si elle augmente, la stabilité des solutions diminue mais l'action antimicrobienne est plus rapide à  $37^\circ\text{C}$  qu'à  $22^\circ\text{C}$ .

- **Les matières organiques, les savons** : réduisent le pouvoir antimicrobien.
- **Les minéraux** : fer, cobalt, nickel, cuivre et manganèse diminuent la stabilité des solutions d'hypochlorites.
- **Les rayons ultraviolets** accélèrent la dégradation des produits chlorés (CCLIN, 2000).

### 3. Ammoniums Quaternaires

Les ammoniums quaternaires sont des tensio-actifs cationiques. Ce sont des produits dont les molécules sont constituées d'un atome d'azote (N) auquel sont accrochés quatre groupes comportant entre 8 et 35 atomes de carbone. Le nom quaternaire provient du nombre de groupes (R) attachés à l'atome d'azote, soit quatre (R. MASSICOTTE, 2009).

Formule générale :



#### a. Avantages

Puisque les ammoniums quaternaires sont des agents tensio-actifs cationiques, ils possèdent donc leur propre action détergente. En les combinant avec des agents non ioniques, on obtient des



DRS

produits très efficaces pour le nettoyage et la désinfection en une seule étape. La plupart des ammoniums quaternaires sont peu toxiques et ne sont pas des agents oxydants. Ils sont stables dans l'eau chaude (MASSICOTTE R., 2009).

#### b. Inconvénients

Les ammoniums quaternaires d'une même classe possèdent des propriétés similaires. Il faut donc une combinaison minimale de trois ammoniums quaternaires de classes différentes pour obtenir un désinfectant capable d'avoir un large spectre.

Les ammoniums quaternaires perdent considérablement leur efficacité dans l'eau fortement minéralisée, dans l'eau froide et en présence de matières organiques (exemple : l'huile).

Les ammoniums quaternaires réagissent avec l'hypochlorite de sodium. Cette réaction entraîne la formation de chloramines qui sont irritantes pour les voies respiratoires. Ils diminuent également l'efficacité germicide de l'hypochlorite de sodium. De par leur composition, ils ont un effet relativement restreint sur les spores et les levures ainsi que sur les virus (MASSICOTTE R., 2009).

#### c. Mode d'action

Leur efficacité résulte de leur pouvoir d'inactivation des enzymes et de dénaturation des protéines cellulaires (MASSICOTTE R., 2009).

#### d. Facteurs influençant l'activité

- L'activité est diminuée par les matières organiques et par l'eau dure
- Ils sont plus actifs à pH neutre ou légèrement alcalin (entre 7 et 11) et aucune activité à pH <3,5).
- Leur activité augmente avec la température (CCLIN, 2000).

### 4. Oxydants

Les produits oxydants à base d'oxygène possèdent des atomes qui travaillent généralement par paires. On parle alors de peroxyde, d'acide peracétique....

Plus ils comprennent un nombre élevé de paires d'atomes d'oxygène, plus le produit est puissant et fortement chargé négativement (-).

La formulation du peroxyde d'hydrogène est la suivante : (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), il est reconnu comme étant un oxydant puissant (MARCJ., 2005).

#### a. Avantages

Les produits à base de peroxyde d'hydrogène réagissent très rapidement avec la matière (de quelques secondes à quelques minutes, au plus) et endommagent peu les surfaces inanimées sauf les surfaces composées de fer qui sont facilement oxydables.

En général, ils ne génèrent pas de résidus ou de gaz toxiques, sauf s'ils sont mélangés avec d'autres produits comme l'acide acétique (vinaigre) tels certains produits appelés acides Peroxy-acétiques (MASSICOTTE R., 2009).

#### b. Inconvénients



DRS

La présence d'oxygène peut provoquer la corrosion des surfaces de métal oxydables tel le fer (rouille). La quantité de fer dans une solution et le pH (principalement basique) influencent significativement le pouvoir corrosif du peroxyde plus que sa concentration en elle-même. Une eau ferrugineuse peut donc influencer l'efficacité du pouvoir désinfectant du peroxyde.

La molécule de peroxyde d'hydrogène est fortement chargée électriquement. Cette caractéristique induit une mauvaise diffusion dans la membrane cellulaire. Pour obtenir une bonne diffusion, il est donc nécessaire d'y mélanger des agents tensio-actifs qui neutralisent en partie la charge et facilitent la pénétration. L'agent utilisé doit être en mesure de résister au produit actif (MASSICOTTE R., 2009).

### c. Mode d'action

Il est probable qu'il détruit les radicaux sulfhydriles et les ponts disulfures des protéines. Il agit sur toutes les doubles liaisons et détruit la fonction chimio-osmotique de la membrane cytoplasmique (MASSICOTTE R., 2009).

### d. Facteurs influençant l'activité

- Le pH ;
- La température ;
- La concentration en peroxyde ;
- Le temps de contact

L'activité est meilleure à pH acide et fortement réduite en présence de matières organiques. Il est corrosif pour les métaux (R. MASSICOTTE, 2009).

## 5. Alcools

Parmi les différents types d'alcools les plus utilisés, on trouve les molécules d'éthanol (Alcool éthylique) et d'isopropanol (alcool isopropylique appelé alcool à friction).

La formule de l'éthanol est la suivante : **CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-OH**.

La formule brute de l'alcool isopropylique est la suivante : **C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O**(MARCJ.,2005).

### a. Avantage

Les alcools sont actifs sur les bactéries Gram+ et Gram- et agissent rapidement (environ 30 secondes). L'alcool est surtout utilisé en association avec d'autres substances, comme les dérivés du phénol, ce qui permet d'en améliorer les capacités bactéricides (MASSICOTTE R., 2009).

### b. Inconvénients

L'alcool est inefficace contre les spores, peu efficace sur les virus et s'évapore rapidement. Il est inactivé par les matières organiques et a tendance à faire coller les débris organiques (salive, sang, bactéries) sur les surfaces. Il ne possède pas d'effet de rémanence.

Du point de vue de la santé et de la sécurité des travailleurs, il possède un haut indice d'inflammabilité. Le contact répété ou prolongé assèche et dégraisse la peau, ce qui peut être la cause de gerçures. Le port des gants est requis (MASSICOTTE R., 2009).

### c. Mode d'action



DRS

Son hydratation facilite la pénétration dans les cellules bactériennes (MASSICOTTE R., 2009).

#### d. Facteurs influençant l'activité

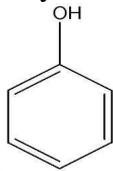
Son hydratation facilite la pénétration dans les cellules bactériennes.

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

Sa durée d'action : activité antimicrobienne brève car l'alcool est très volatil (MASSICOTTE R., 2009).

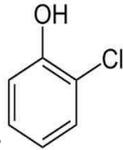
### 6. Dérivés phénoliques

D'un point de vue chimique, un phénol se définit comme une molécule aromatique, possédant un groupe hydroxyle OH fixé sur un carbone d'un cycle benzénique.



**Phénol :**

Une molécule de phénol peut servir de base à la création de divers désinfectants dont les phénols halogénés utilisés comme agents antimicrobiens, par exemple le chlorophénol.



**Chloro-phénol :**

Les composés phénoliques entrent dans la composition de nombreux savons et de nombreux produits détergents-désinfectants pour sols, surfaces et mobilier.

#### a. Avantages

Les effets des produits phénoliques sur les micro-organismes varient selon la nature des molécules qui sont associées au groupement phénol.

Les composés phénoliques possèdent une action bactéricide et fongicide. À faible concentration, ils sont bactériostatiques (0,2 %) et bactéricides à partir de 1 %. Les dérivés phénoliques dissous dans l'eau ont une excellente activité contre les mycobactéries et les virus. Il existe maintenant sur le marché de nouvelles formules combinant plusieurs phénols capables de détruire les virus hydrophiles. Ces composés sont surtout utilisés pour le nettoyage des surfaces souillées par les matières organiques (sang, salive) (MARCJ.,2005).

#### b. Inconvénients

Ils sont incompatibles avec le fer, l'hypochlorite et les ammoniums quaternaires. À forte concentration, les phénols sont corrosifs pour les métaux et de nombreux matériaux. Ils sont absorbés par le caoutchouc, ce qui en entraîne la dégradation progressive.

Dans l'environnement, les produits phénoliques sont difficilement biodégradables et peuvent être nocifs pour les organismes exposés. Du point de vue microbiologique, les virus lipophiles (enveloppés) sont détruits alors que les virus hydrophiles et les spores sont résistants (MASSICOTTE R., 2009).



DRS

### c. Mécanismes D'action

- **A concentration élevée, il y a un effet létal** : Les dérivés phénoliques pénètrent dans la cellule et précipitent les protéines cellulaires.
- **A faible concentration, il y a inhibition de la multiplication cellulaire** : Les dérivés phénoliques inactivent les systèmes enzymatiques et altèrent la membrane cytoplasmique laissant s'échapper les constituants cellulaires (MASSICOTTER., 2009).

### d. Facteurs influençant l'activité

L'activité est diminuée par les matières organiques et par l'eau dure :

- Les dérivés phénoliques sont faiblement solubles dans l'eau. En augmentant le pH des solutions, on augmente la solubilité, mais les propriétés antibactériennes sont diminuées.
- Les substances interférentes en quantité importante, telles que les matières organiques, les protéines ou l'eau dure, peuvent diminuer l'activité des dérivés phénoliques.
- L'addition de surfactifs anioniques et alcalins augmente la stabilité des solutions.
  - L'activité augmente avec la température (MASSICOTTER., 2009).

## E. Mode d'action des désinfectants

Le mode d'action des désinfectants varie d'une classe à l'autre. Certains entraînent une dénaturation des protéines cytoplasmiques et membranaires et une inhibition de la synthèse des acides nucléiques et des protéines alors que d'autres agissent en altérant la paroi cellulaire et en inhibant la synthèse des acides nucléiques et des protéines,.... Le tableau suivant résume le mode d'action des différentes classes de désinfectants (CAPP-INFO, 2007).

**Tableau 1** : Modes d'action des désinfectants (CAPP-INFO, 2007).

Classe	Exemple	Cible et mode d'action
Alcools	Ethanol, isopropanol	Dénaturation des protéines cytoplasmiques et membranaires, inhibition de la synthèse des acides nucléiques et des protéines
Aldéhydes	Formaldéhyde	Altération de la paroi cellulaire, inhibition de la synthèse des acides nucléiques et des protéines
Ammoniums quaternaires	Benzalkonium	Liaison aux acides gras et groupes phosphates de la membrane cellulaire fuite de constituants cellulaires et lyse de la cellule
Halogénés chlorés et iodés	Hypochlorite de sodium (Javel, Dakin) PVP-iodé	Destruction des protéines membranaires et Chromosomiques (halogénéation)
Oxydants	Peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée)	Production de radicaux libres qui interagissent avec les lipides, protéines et ADN



DRS

## F. Spectre d'activité des désinfectants

La plupart des produits ont une activité satisfaisante sur les bactéries et les virus enveloppés (*ex. VIH, hépatites B et C, herpes, grippe*). Par contre, l'activité sur les virus nus (*ex. poliovirus, hépatite A et E, papillomavirus*), les mycobactéries (*tuberculose*), les moisissures ou les spores varie d'un produit à l'autre. Le choix du produit dépendra du type de désinfection envisagée et de l'objectif à atteindre (CAPP-INFO, 2007).

Le spectre d'activité des différentes classes de désinfectants est présenté dans le tableau suivant.

**Tableau 2** : Spectre d'activité des désinfectants (CAPP-INFO, 2007).

familles	Spectre d'activité							
	Gram+	Gram -	Mycobactéries	Levures	Moisissures	Virus nus	Virus enveloppés	Spores
Alcools	+	+	+	+/-	+/-	+/-	+	-
Aldéhydes	+	+	+	+	+	+	+	+
Ammoniums quaternaires	+	+/-	-	+	+	+/-	+	-
Halogénés chlorés et iodés	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxydants	+	+	+	+	+	+	+	+

+ Produits actifs

+/- produits inconstamment actifs

- produits inactifs

## G. Caractéristiques Du Désinfectant Idéal

Un désinfectant « idéal » doit répondre aux critères suivants :

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



- 
- Etre facile à doser ;
  - Ne pas avoir d'odeur désagréable ;
  - Avoir une certaine stabilité.

L'activité d'un désinfectant dépend de nombreux facteurs liés à la technique utilisée et à la nature du, produit désinfectant. Parmi les facteurs liés au désinfectant, on peut citer :

- L'activité antimicrobienne du principe actif ;
- La concentration en principe actif ;
- L'effet des composants associés dans la solution commerciale ;
- La température ;
- Le temps de contact(CCLIN, 2000).

## H. Règles D'utilisation

Pour obtenir une désinfection optimale du matériel il est nécessaire de réduire préalablement le nombre de micro-organismes présents.

Toute désinfection doit être précédée :

- d'une décontamination (ou pré-désinfection, terme recommandé par le Comité technique national des infections nosocomiales) qui est le premier traitement à effectuer sur les objets et matériels souillés par des matières organiques dans le but de diminuer la population de microorganismes.
- d'un nettoyage qui constitue l'étape préalable indispensable à la désinfection ou à la stérilisation. L'objectif est d'éliminer les matières organiques et les germes présents. L'état de propreté obtenu conditionne la qualité de la désinfection ou de la stérilisation ultérieure. Pour être efficace, l'étape de décontamination-nettoyage doit respecter les quatre éléments du cercle de Sinner qui sont :

- L'action physico-chimique entre le produit et la salissure ;
- L'action mécanique : les brossages et les frottements permettent de décoller les salissures ;
- La température ;
  - - Le temps d'action du produit c'est-à-dire la durée de contact nécessaire pour que le produit soit efficace (MASSICOTTER., 2009).

## I. Conservation des désinfectants

La durée et le mode de conservation des désinfectants est un point très important. Elle a pour but d'éviter deux risques majeurs :

- L'inactivation du produit ;
- La contamination microbienne ;
- L'inactivation du produit est due surtout :
  - à l'exposition à la lumière et/ou à une température trop élevée ;
  - à la conservation du produit dans des récipients inadaptés.

La contamination microbienne n'est pas rare. Les désinfectants font l'objet de contrôles de fabrication garantissant l'absence de contamination du produit dans son conditionnement d'origine. Pour l'éviter, il faut respecter des consignes tels que la date d'ouverture, éviter les flacons contaminés, la durée de conservation de solution diluées (CCLIN, 2000).

## J. Evaluation de l'action antimicrobienne des désinfectants



DRS

---

Plusieurs méthodes ont été mises en œuvre pour vérifier l'efficacité antibactérienne des désinfectants.

### 1. Technique en microméthode

La technique en microméthode repose sur l'utilisation de microplaques stériles de 96 puits à fond plat. La croissance bactérienne est détectée grâce à un lecteur de microplaque et un spectrophotomètre (MolecularDevices® Spectromax). Le logiciel (MolecularDevices® SoftMaxPro) permet l'exploitation des données.

Chaque puits de la microplaque stérile de 96 puits à fond plat (Costar®) est inoculé par une quantité déterminée (X) de la suspension bactérienne de travail et d'une même quantité (Y) d'une des dilutions du désinfectant à tester. Les puits témoins sont inoculés par la quantité X de la suspension bactérienne de travail pour le test de fertilité ou de bouillon BHI stérile pour le test de stérilité, et de Y d'eau distillée stérile.

Pour chaque souche étudiée, trois puits tests et un puits témoin de fertilité sont utilisés. Une microplaque permet de tester 23 souches en une seule analyse.

La microplaque est recouverte d'un film étirable plastique puis disposée dans le lecteur programmé. Le schéma de plaque est établi et la lecture de l'absorbance à 490 nm est programmée pour chaque puits toutes les cinq minutes pendant 18 heures, après agitation de la plaque thermostatée à 37 °C. Le lecteur restitue une représentation graphique de l'absorbance en fonction du temps : toute augmentation progressive des valeurs au cours du temps et pour un même puits est interprété comme une croissance bactérienne. À l'inverse, une densité optique stable et nulle sera considérée comme une absence de croissance bactérienne due à l'effet au moins bactériostatique du détergent (ROUILLON S. et al, 2006 ; SCHMITTA. et al, 2009).

### 2. Technique en macrométhode : méthode de référence

Elle repose sur l'utilisation de tubes à hémolyses stériles dans lesquels est mise la suspension bactérienne (préalablement préparé par ensemencement d'un bouillon BHI et incubation à 37°C pendant 3h) à laquelle différentes concentrations de désinfectant sont rajoutées. Les tubes sont agités et incubés à 37 °C pendant 18 heures. L'absence de trouble du milieu de culture dans un des tubes permet de déterminer la dilution du désinfectant suffisante pour empêcher le développement de la souche étudiée (dilution cible) (ROUILLON S. et al, 2006).

### 3. Techniques en milieu solide.

#### a. Méthode de diffusion par utilisation des disques stériles.

Elle consiste à utiliser des disques formés par des papiers filtre stérilisés de 6 mm de diamètres, imbibés de désinfectant et déposés à la surface d'un milieu gélosé, ensemencé par inondation avec une souche bactérienne en bouillon nutritif de titre connu. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, les zones d'inhibition apparaissent autour des disques stériles sont évaluées (BURNICHONN T., 2003).

#### b. Méthode des puits.

Elle correspond à la technique des disques stériles mais légèrement modifiée. Elle consiste à faire des trous dans la gélose coulée et solidifiée ensemencé par inondation avec une souche



DRS

---

bactérienne dans les boîtes de pétrie et à les remplir d'un volume donné de détergent qui va diffuser dans la gélose. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, les zones d'inhibition apparaissent autour des disques stériles sont évaluées (BURNICHONN T., 2003).

## **IV. Résistance Bactérienne**

### **1. Définition**

Une bactérie est dite « résistante » lorsqu'elle se développe en présence d'une concentration d'antibiotique, qui habituellement, inhibe sa croissance.

### **2. Types de résistance**

#### **2.1. La résistance naturelle**

La résistance naturelle, appelée aussi résistance intrinsèque, est une caractéristique propre d'un genre ou d'une espèce bactérienne. Portée par les chromosomes, elle est stable, et transmise à la descendance. Elle constitue un caractère d'identification des bactéries et détermine le phénotype « sauvage » des bactéries (INFOSANTE, 2014).

#### **2.2. La résistance acquise**

La résistance acquise ne concerne que certaines souches bactériennes au sein d'une espèce donnée. Variable dans le temps et dans l'espace, elle se propage de façon importante. Elle est portée par le chromosome, les plasmides, ou des éléments génétiques mobiles, permettant ainsi une transmission verticale à la descendance mais aussi une transmission horizontale, parfois entre espèces différentes. Elle détermine le phénotype de résistance des bactéries et constitue un caractère épidémiologique. Elle s'acquiert soit par mutation sur un chromosome, soit par l'acquisition de gènes extra-chromosomiques (INFOSANTE, 2014).

La fréquence des résistances acquises aux désinfectants est nettement inférieure à la fréquence des résistances acquises aux antibiotiques (CCLIN, 2000).

##### **a- La résistance chromosomique**

La résistance chromosomique est rare, elle survient de façon spontanée. Préalablement existante, elle peut être révélée par l'utilisation d'un antibiotique. Elle est stable, et transmise à la descendance, car portée sur le chromosome. Elle est spécifique à un antibiotique donné ou à une famille d'antibiotiques (RABAUD A. et al, 2010).

##### **b- La résistance par acquisition de gènes**

Elle se caractérise par l'acquisition par une bactérie d'un ou de plusieurs mécanismes de résistance en recevant des gènes qui peuvent être d'origine extra-chromosomique ou chromosomique.

##### **➤ Résistance extra-chromosomique**

Le support de cette information peut être un plasmide ou un transposon, acquis par conjugaison ou plus rarement par transduction (par le biais d'un bactériophage).

##### **➤ Résistance chromosomique**



DRS

Il s'agit du phénomène de transformation du génome de la bactérie, dans lequel s'est intégré le fragment de chromosome d'une autre bactérie, qui a été préalablement lysée (**INFOSANTE, 2014**). La résistance chromosomique peut être obtenue expérimentalement en faisant cultiver certaines espèces bactériennes (bacilles à Gram négatif : *Serratia marcescens*, *Providenciastuartii*, *Klebsiellapneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*) en présence de concentrations sublétales de produit (chlorhexidine, ammoniums quaternaires, peroxyde d'hydrogène, formol, polyvinylpyrrolidone iodée ou PVPI) (**CCLIN, 2000**).

### 3. Résistance aux antibiotiques

Les résistances s'étendent quantitativement mais aussi qualitativement. Depuis plus de 20 ans, de nombreux déterminants de résistance ont été décrits avec l'émergence de bactéries de plus en plus résistantes. C'est le cas des souches de *S. aureus* résistantes à la méthicilline (SARM), à la vancomycine (SARV) ou de sensibilité diminuée aux glycopeptides (GISA), des souches de pneumocoques de sensibilité diminuée ou résistantes aux pénicillines (PSDP et PRP, respectivement), des souches d'entérocoques résistantes aux glycopeptides (ERG), des souches d'entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) ou des souches multi-résistantes de *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*. Des souches de SARMS résistantes à la daptomycine, antibiotique agréé depuis 2003, ont récemment été identifiées (**MANGILI et al., 2005 ; MARTY et al., 2006**).

L'impact de cette multi-résistance aux antibiotiques est important au niveau clinique, en termes de morbidité et de mortalité, mais aussi sur le plan économique car les infections liées aux bactéries multi-résistantes engendrent des coûts d'hospitalisation élevés (6 000 à 30 000 \$, soit 4 300 à 21 550 €) (**COSGROVE et al., 2005 ; MARAGAKIS et al., 2008**).

L'extension géographique des résistances se produit au niveau international (**AFSET et al., 2001 ; BORAS et al., 2001**) mais aussi dans le milieu de vie.

Les infections causées par les bactéries résistantes et multi-résistantes, autrefois cantonnées au milieu hospitalier, deviennent communautaires (extra-hospitalières) (**CRUM, 2005 ; MALTEZOU et al., 2006**). Ainsi, le nombre de personnes, susceptibles d'être exposées aux bactéries résistantes et multi-résistantes est continuellement démultiplié (**GUINOISEAU E., 2010**).

### 4. Résistance aux désinfectants

L'élément majeur de la résistance est la paroi de la cellule bactérienne. En effet, la majorité des désinfectants exercent leur action essentiellement au niveau de la membrane cytoplasmique et doivent donc traverser la paroi.

Chez les souches devenues résistantes, ces mécanismes de passage sont altérés. Ainsi, les mycobactéries, dont la membrane externe est très épaisse, sont plus résistantes que les bactéries à Gram négatif, elles-mêmes plus résistantes que les bactéries à Gram positif.

Il est important de signaler que le phénomène inverse intervient pour les virus enveloppés. Ainsi, les virus enveloppés (cas du VIH par exemple) sont plus sensibles que les virus nus (ex : Poliovirus) car leur enveloppe externe, riche en lipides, est facilement désorganisée par les antiseptiques et désinfectants, ce qui provoque leur inactivation (**BILLAST N. et al., 2000**).

Quelques gènes de résistance aux désinfectants sont connus :

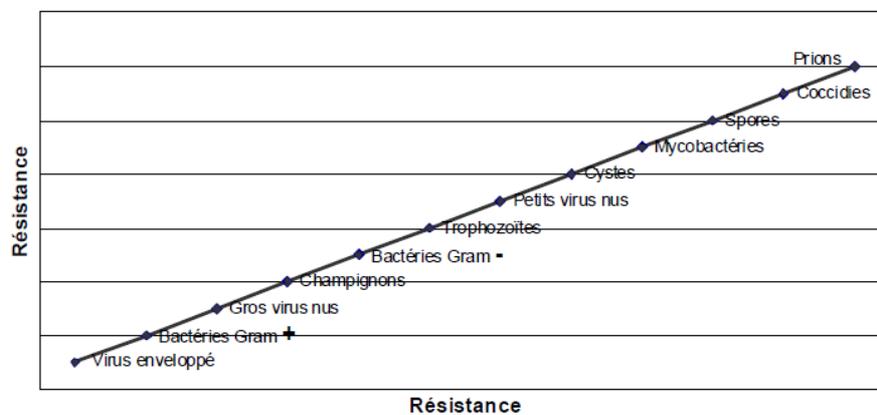


DRS

- gène *qac* (quaternary ammonium compound) code pour la résistance aux ammoniums quaternaires. Cette résistance peut être associée à une résistance à la chlorhexidine.
- gène *mer*, code pour la résistance aux dérivés mercuriels. Il s'agit d'une résistance très fréquente.

Dans la pratique, le problème se pose lorsque les bactéries sont résistantes à des concentrations proches ou supérieures de la concentration d'emploi. Une diminution de la concentration du produit peut entraîner l'émergence d'une résistance des bactéries. Les circonstances de réduction de l'activité des antiseptiques et désinfectants sont nombreuses : matières organiques, substances interférentes, vieillissement du produit...

Il est donc essentiel de respecter scrupuleusement les conditions d'utilisation des produits (concentrations et mode d'emploi) afin d'éviter l'émergence de souches résistantes (MASSICOTTE R., 2009).



**Figure 1** : Susceptibilité microbienne aux biocides (MASSICOTTE R., 2009)

## 5. Facteurs contribuant à la résistance microbienne

### 5.1. Emergence de la résistance

Elle est favorisée par :

- L'usage abusif d'antibiotiques ;
- La gravité accrue de l'état des malades hospitalisés ;
- Le manque de fidélité au traitement ;
- La durée trop courte ou dose sous-thérapeutique ;
- Le diagnostic non confirmé d'infection bactérienne ;
- L'utilisation inadéquate d'antibiotiques dans les pays en voie de développement (CARLES., 2010).



DRS

## 5.2. Propagation des souches résistantes

Les souches résistantes se propagent d'avantage en raison:

- Des mesures d'hygiène inadéquates dans les hôpitaux;
- Le non-respect des directives de lutte contre les infections ;
- La promiscuité des patients hospitalisés ;
- La réduction du personnel infirmier et de soutien ;
- Les déplacements accrus des patients (transferts de patients colonisés ou infectés entre hôpitaux et milieu communautaire) ;
- Les voyages internationaux (**CARLES., 2010**).

## 5.3. L'utilisation d'antibiotiques dans le secteur agro-alimentaire

Les antibiotiques sont utilisés dans ce secteur afin de :

- Favoriser la croissance des animaux destinés à la consommation,
- Prévenir les infections chez les animaux en santé vivants dans des espaces restreints ;
- Traiter les animaux malades;
- Limiter la production de bactéries sur les poissons;
- Allonger la période de conservation des fruits et des légumes;
- Contrôler et prévenir les infections d'origine bactérienne des végétaux (**CARLES., 2010**).

## 5.4. L'utilisation d'antiseptiques et de désinfectants

Les agents antibactériens sont contenus dans les produits d'entretien ménager, dans le dentifrice, les pastilles contre le mal de gorge, les savons, etc. (**CARLES., 2010**).

## 6. Stratégie de lutte contre les bactéries multi-résistantes

Elle nécessite une réelle prise de conscience, la mise en place des réseaux et systèmes de surveillance, d'intervention et de contrôle épidémiologique continu des résistances bactériennes à l'échelle nationale (**LKASSMIH. et al., 2011**).



DRS

---

## 1. Type et période d'étude

Il s'agit d'une étude prospective, réalisée sur une durée de 3 mois allant du 1 mars au 31 mai. Elle a comporté 2 volets :

- Le 1<sup>er</sup> a consisté en une évaluation de l'activité antibactérienne des antibiotiques sur des germes préalablement isolés de l'environnement d'hémodialyse.
- Le second volet a englobé :
  - Un aspect qualitatif : a été consacré à l'appréciation de l'activité antibactérienne de différents désinfectants sur les germes préalablement testés vis-à-vis des antibiotiques
  - Un aspect quantitatif : effectué pour déterminer la dilution minimale d'inhibition (soit l'équivalent de la CMI), et le temps de contact minimal permettant d'inhiber le développement des bactéries.

## 2. Lieu d'étude

Ce travail a été réalisé au laboratoire régional de diagnostic épidémiologique et d'hygiène du milieu de l'hôpital Al Ghassani de la ville de Fès.

## 3. Evaluation de l'activité antibactérienne et détermination de la dilution minimale inhibitrice

### 3.1. Matériels



DRS

### 3.1.1. Matériel biologique

#### a. Récolte des souches

L'activité antibactérienne des antibiotiques et des désinfectants a été appréciée sur *Staphylococcus* coagulase négative, *Streptococcus*, Bacille à Gram négatif et oxydase positive, Bacille à Gram négatif et oxydase négative, fermentaires et non fermentaire. Ces souches ont été isolées préalablement de l'environnement (surface, air, ..) du centre d'hémodialyse de l'hôpital Al Ghassani. Leur répartition est montrée dans le tableau suivant.

**Tableau n°3** : Liste des souches bactériennes testées.

Identification de la souche	Type de Gram	Code des souches testées	Nombre des souches testées
<i>Staphylococcus</i> coagulase négative		St. Nc	3
<i>Streptococcus</i>		Str	5
<i>Bacillus</i> sp		Ba sp	5
Bacille à Gram négatif et oxydase positive	Négatif	BGNOP	5
Bacille à Gram négatif et oxydase négative, fermentaires		BGNONF	5
Bacille à Gram négatif et oxydase négative, non fermentaires		BGNONNF	5



DRS

---

### b. Identification des souches

Les souches isolées ont été préalablement identifiées conformément aux normes en vigueur. Cette identification a été basée notamment sur les caractères morphologiques, la coloration de Gram, le test DNase et le test coagulase, la recherche de l'oxydase, la fermentation du glucose, la production de gaz et d' H<sub>2</sub>S sur le milieu Kligler.

Les souches identifiées ont été conservées au milieu LB additionné de glycérol à 10% dans un surgélateur à une température maintenue à  $-80\pm 5^{\circ}\text{C}$ .

### 3.1.2. Matériel et consommable utilisé

Le matériel et le consommable utilisé aussi bien pour l'évaluation de l'activité antibactérienne des antibiotiques des désinfectants, que pour la détermination de la concentration minimale inhibitrice, comprend :

- Matériel de stérilisation: autoclave ( $121\pm 3^{\circ}\text{C}$ ) et four pasteur ( $175\pm 5^{\circ}\text{C}$ ) ;
- Etuves réglé à  $37\pm 1^{\circ}\text{C}$  ;
- Matériel pour préparation et conservation de milieux de culture : balance, bain-marie, réfrigérateur réglé à  $5\pm 3^{\circ}\text{C}$  ;
- Verrerie stérile comprenant : Boîtes de pétri et tubes à hémolyse stériles,
- Bec benzen,
- Pince,
- Micropipette réglable et cônes stériles,
- Pipettes jetables,
- Disques commercialisés de diamètre 6 mm,
- Milieux de culture : Plat count agar (PCA), Bouillon HeartInfusin (BHI), Muller Hinton,

**N.B :** La composition, la préparation, et les contrôles qualités des milieux de culture sont décrits en annexe 1.

### 3.1.3. Antibiotiques utilisés

Les antibiotiques testés sont ceux recommandés par le Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie (CASFM, 2013)

Le tableau 4, montre les antibiotiques utilisés ainsi que leur charge.

### 3.1.4. Désinfectants utilisés

Nous avons évalué l'efficacité de 4 désinfectants sur les souches isolées. Il s'agit de :

- ❖ Désinfectant désigné par **D1** à base de chlore faisant partie de la classe des halogénés
- ❖ Désinfectant désigné par **D2** : un désinfectant appartenant à la classe des ammoniums quaternaires à base de chlorure de didécyl diméthyl-ammonium dont la molécule est un sel d'ammonium quaternaire représentée par un atome d'azote lié à 4 alkyles ,2 groupes de méthyles et deux groupes de decyles.



DRS

- ❖ Désinfectant désigné par **D3** : un désinfectant dont la molécule active principale est le formaldéhyde de la classe des aldéhydes.
- ❖ .Désinfectant désigné **D4** :à base d'acide acétique.

**Tableau 4** : Liste des antibiotiques testés

Classe D'AB	AB testé	Sigle de l'AB	Charge de l'AB	Souches contrôlées
Bêta-lactamines	ampicilline,	AMP	10µg	
Bêta-lactamines	amoxilline+acide clavulanique	AMC	20/20µg	
Carbapineme	imipenème.	IMP	10µg	
Quinolones	Acide fusidique	FD	10µg	
Céphalosporine	cefotaxime.	CTX	30µg	
Céphalosporine	cefaclor	CEC	30µg	
tetracycline	tétracycline	TE	30µg	
Aminoside	gentamicine	CN	10µg	
Macrolides	lincomycine.	MY	15µg	
Quinolones	ciprofloxacine	CIP	5µg	
sulfamide	sulfaméthoxazole+triméthoprim	SXT	1.23/23.75µg	

## 3.2. Méthodes

### C. Repiquage des souches sur gélose nutritive

Les souches bactériennes testées, préalablement isolées et conservées au surgélateur maintenu à une température  $80\pm 5^{\circ}\text{C}$ . Elles sontensemencées dans le milieu PCA et incubées à  $37\pm 1^{\circ}\text{C}$  pendant 24 h, pour obtenir des cultures fraîches.

### D. Préparation de l'inoculum

A partir de la gélose nutritive (PCA), un inoculum de  $10^6$  UFC/ml a été préparé pour chaque souche bactérienne par un ensemencement du milieu BHI et incubation à  $37^{\circ}\pm 1\text{C}$  pendant 3H.



---

## E. Etude de l'activité antibactérienne vis-à-vis des antibiotiques et des désinfectants

### C.1. Technique

#### a. Cas des antibiotiques

L'ensemencement par inondation du milieu Muller Hinton a été réalisé. Les disques d'antibiotiques commercialisés, contenant une quantité diffusible ont été déposés dans les boîtes inoculées. L'incubation a été effectuée à  $37\pm 1^\circ\text{C}$  pendant  $24\pm 3\text{h}$  (Voir annexe 2)

#### b. Cas des désinfectants

L'ensemencement de l'inoculum préalablement préparé et homogénéisé, a été réalisé aseptiquement, par inondation du milieu Muller Hinton. Après 15 à 30min, les disques stériles ont été déposés à l'aide d'une pince stérile dans les boîtes inoculées. L'imprégnation des disques par le désinfectant a été ensuite effectuée à raison de  $10\mu\text{L}/\text{disque}$ . L'incubation a été effectuée à  $37\pm 1^\circ\text{C}$  pendant 18 à 24heures (annexe 3).

### C.2. Lecture et expression des résultats

Après 18 à 24 H d'incubation, une mesure du diamètre des auréoles d'inhibitions en mm, à l'aide d'un pied à coulisse, a été réalisée. L'absence de la croissance microbienne se traduit par la présence d'une auréole transparente autour du disque, identique à la gélose stérile (annexe 4).

L'interprétation des antibiogrammes ont été faites selon le Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie (CASFM, 2013). La catégorisation en souches sensibles, intermédiaires et résistantes été faite selon les diamètres présentés dans le tableau suivant.

**Tableau 5** : Diamètres critiques pour les diverses classes d'antibiotiques

Antibiotique	Code	Diamètre de l'auréole d'inhibition (mm)		
		Sensible	Intermédiaire	Résistante
<b>Pénicilline</b>	<b>P</b>	$D > 29$	$29 > D \geq 8$	$D < 8$
<b>Ampicilline,</b>	<b>AMP</b>	$D > 17$	$17 > D \geq 11$	$D < 11$
<b>Amoxicilline + Acide clavulanique</b>	<b>AMC</b>	$D > 22$	$22 > D \geq 14$	$D < 14$



DRS

<b>Imipènème.</b>	<b>IMP</b>	D>22	22>D≥17	D<17
<b>Acide Fusidique</b>	<b>FD</b>	D>22	22 > D≥15	D<15
<b>Céfotaxime.</b>	<b>CTX</b>	D>21	21 > D≥15	D<15
<b>Cefaclor</b>	<b>CEC</b>	D>22	22 > D≥16	D<16
<b>Tétracycline</b>	<b>TET</b>	D>19	19 >D≥17	D<17
<b>Gentamicine</b>	<b>CN</b>	D>18	18 > D≥16	D<16
<b>Lincomycine.</b>	<b>MY</b>	D>21	21 >D≥17	D<17
<b>Ciprofloxacine</b>	<b>CIP</b>	D>22	22>D≥19	D<19
<b>Sulfaméthoxazole + Triméthoprim</b>	<b>SXT</b>	D>16	19 > D≥17	D<10

#### F. Détermination de la dilution minimale cible (CMI)

Elle a été réalisée pour les désinfectants ayant montré une efficacité élevée.

Avant le déroulement des différentes étapes suivies pour la détermination de la dilution minimale cible, nous avons d'abord repiqué les souches sur gélose nutritive et ensuite préparé l'inoculum par ensemencement de la souche testée dans 1,8ml de bouillon BHI et et incubation pendant 3 heures à 37°C (voir paragraphe 3-2-A et 3-2-B). Nous avons par la suite, réalisé une dilution en cascade (de 1/25 au 1/250) des désinfectants dans de l'eau distillée stérile. L'ajout dans chaque tube (contenant la suspension bactérienne) de 200 µl de chaque dilution du désinfectant, a été ensuite effectué. L'incubation des tubes après homogénéisation a été enfin réalisée à 37°C pendant 18 à 24h.

L'absence de trouble du milieu de culture dans un des tubes permet de déterminer la dilution du désinfectant suffisante pour empêcher le développement de la souche étudiée ; dilution cible.

#### G. Détermination du temps minimal d'inhibition (TMI)

La suspension bactérienne déjà préparé dans le BHI et incubée à 37°±1C pendant 3h, est distribuée dans des tubes, puis un ajout de 200µl de la dilution cible du désinfectant jugé efficace a été réalisé, une mesure de l'absorbance a été effectué au temps initial et après incubation à 37°±1C tous les 10 min (Soit t<sub>0</sub>, t<sub>20</sub>, t<sub>40</sub>, ...), jusqu'au moment où le trouble disparaisse et l'absorbance devienne nulle

#### 4. Outil d'analyse

La saisie et le traitement des données ont été faits à l'aide du programme Excel.



DRS



Au cours de notre étude, nous avons évalué la sensibilité de 28 souches bactériennes isolées de l'environnement du centre d'hémodialyse, vis-à-vis des antibiotiques dans un 1<sup>er</sup> volet, et vis-à-vis de 4 désinfectants appartenant à des classes différentes dans un second volet, nous avons aussi déterminé la dilution minimale ainsi que le temps de contact minimal d'inhibition, pour les désinfectants ayant prouvé une efficacité importante.

#### **A- Profil d'antibiorésistance des souches isolées vis-à-vis des antibiotiques.**

L'antibiogramme des souches testées a été réalisé par la méthode d'inondation du milieu Muller Hinton et incubation à  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  pendant 24 heures. Les diamètres des auréoles d'inhibition ont été

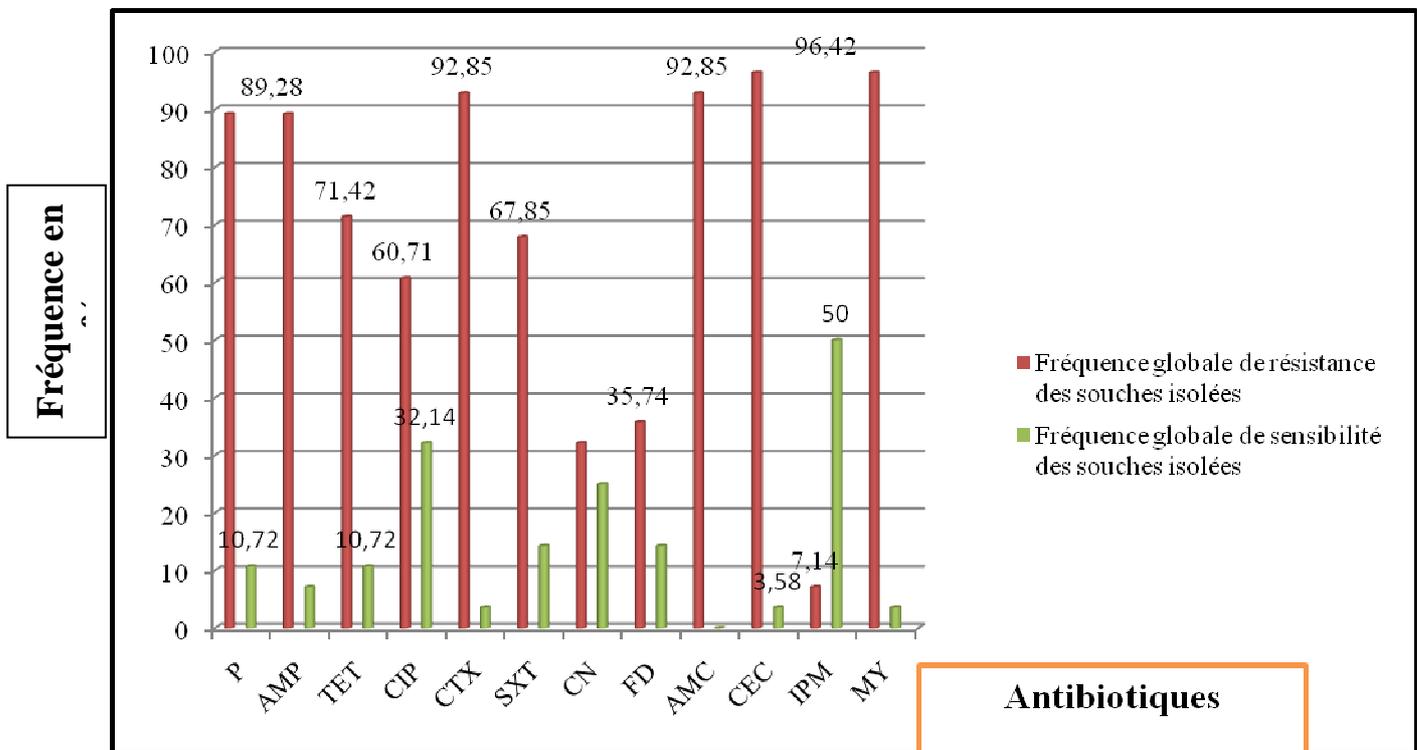


mesurés et interprétés selon le Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie (CASFM, 2013).

### 1- Détermination de la sensibilité et de la résistance globale des souches testées vis-à-vis des antibiotiques

Comme montré en figure 2, nous avons noté une résistance très élevée pour la majorité des antibiotiques testés. Elle était de 96,42% pour la Lincomycine (My) et le Céfaclor (CEC), de 92,85% pour la Céfotaxime (CTX) et l'association acide clavulanique-ampicilline (AMC).

Nous avons constaté une sensibilité moyenne (50%) pour l'Impinème (IMP), alors que pour les autres antibiotiques, elle a varié entre 3,57% et 32,14%.



**Figure2:** Fréquence de résistance et de sensibilité globale en %

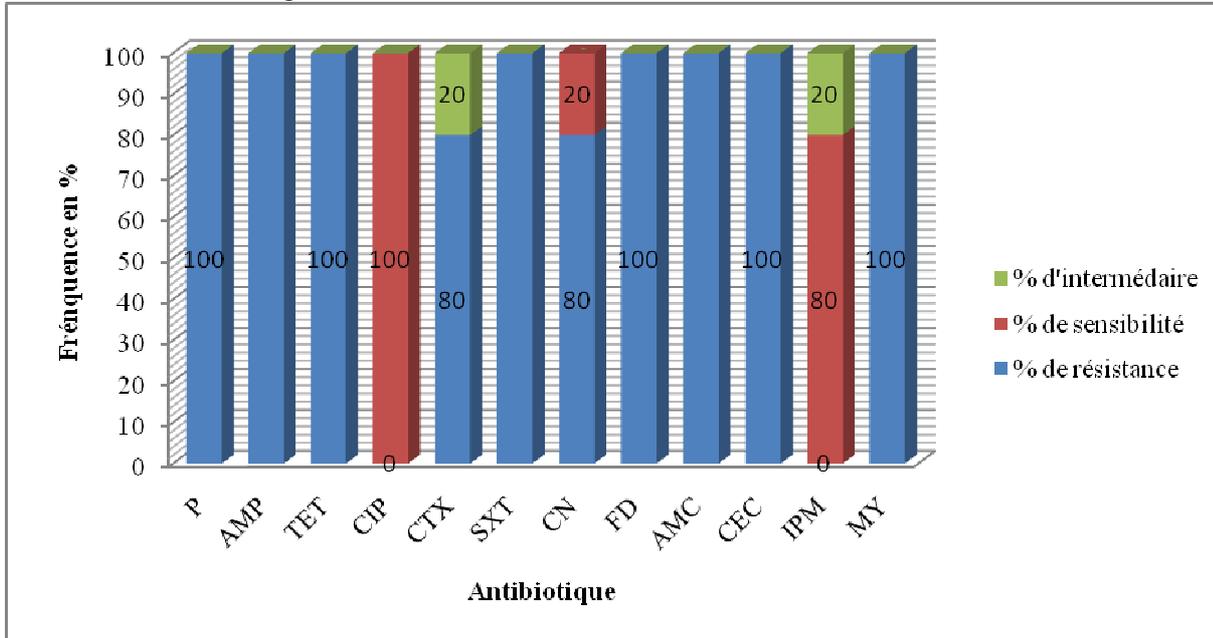
### 2- Profil d'antibiorésistance des souches de *Staphylococcus coagulase négative*

Nous avons noté une résistance totale des souches de *Staphylococcus coagulase négative* vis-à-vis de la pénicilline (P), l'ampicilline (AMP), de la tétracycline (Tet), de la lincomycine (My), de l'acide fusidique (FD), du céfclor (CEC), de l'association acide clavulanique-ampicilline (AMC),



DRS

du triméthoprim-sulfaméthoxazole (SXT). La résistance au céfotaxime (CTX) était élevée (80%), alors que la sensibilité vis-à-vis du même antibiotique était nulle. Seule la ciprofloxacine qui a montré une sensibilité de 100%. L'imipinème (IPM) a montré une efficacité de 80%. (Figure 3.)



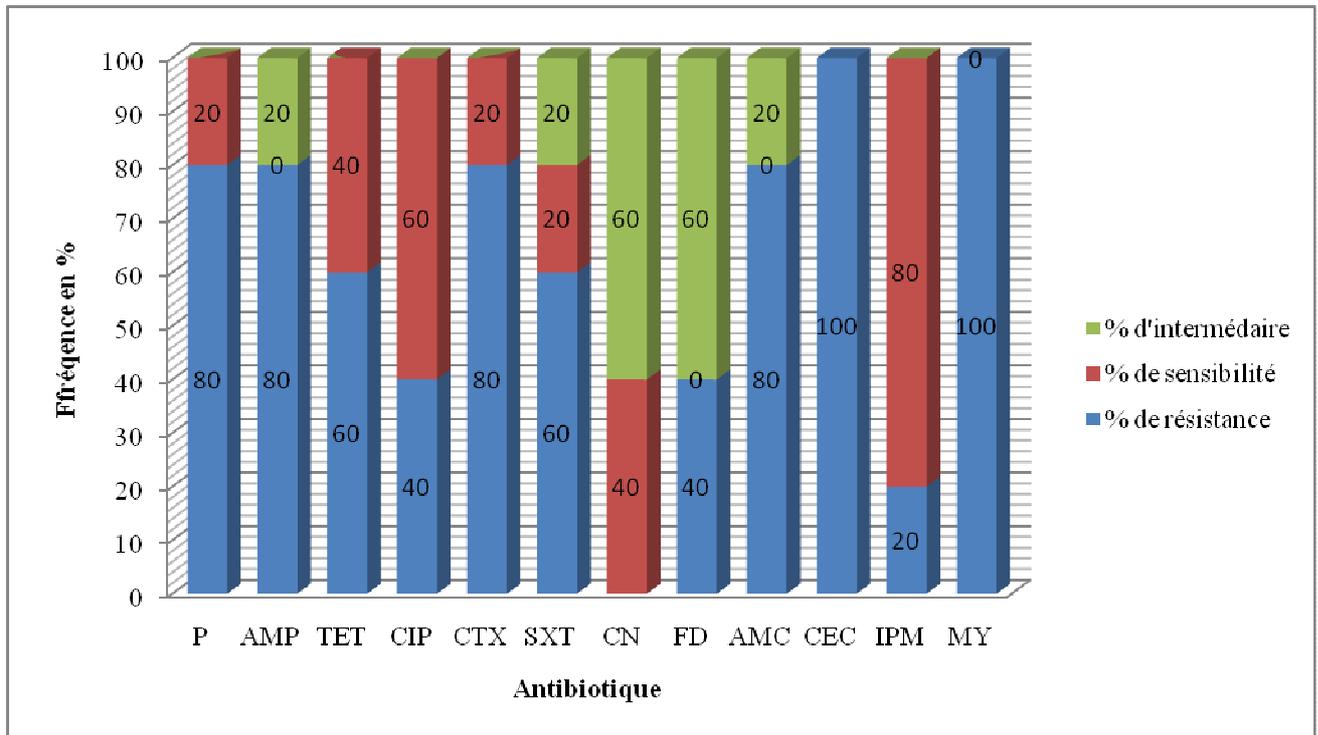
**Figure 3:** Fréquence de résistance et de sensibilité des souches de *Staphylococcus coagulanségative*

### 3- Profil d'antibiorésistance des souches de *Streptococcus sp.*

Comme illustré en figure 4, nous avons remarqué une résistance maximale (100%) des souches de *Streptococcus Spp*, vis-à-vis de la MY et du CEC, très élevée (80%) vis-à-vis de la P, l'AMP, le CTX et de l'AMC. La sensibilité de ces souches était de 80% vis-à-vis de l'IPM, de 60% pour la CIP, de 40% pour la CN, la TET, 20% pour la P, SXT, CTX.



DRS



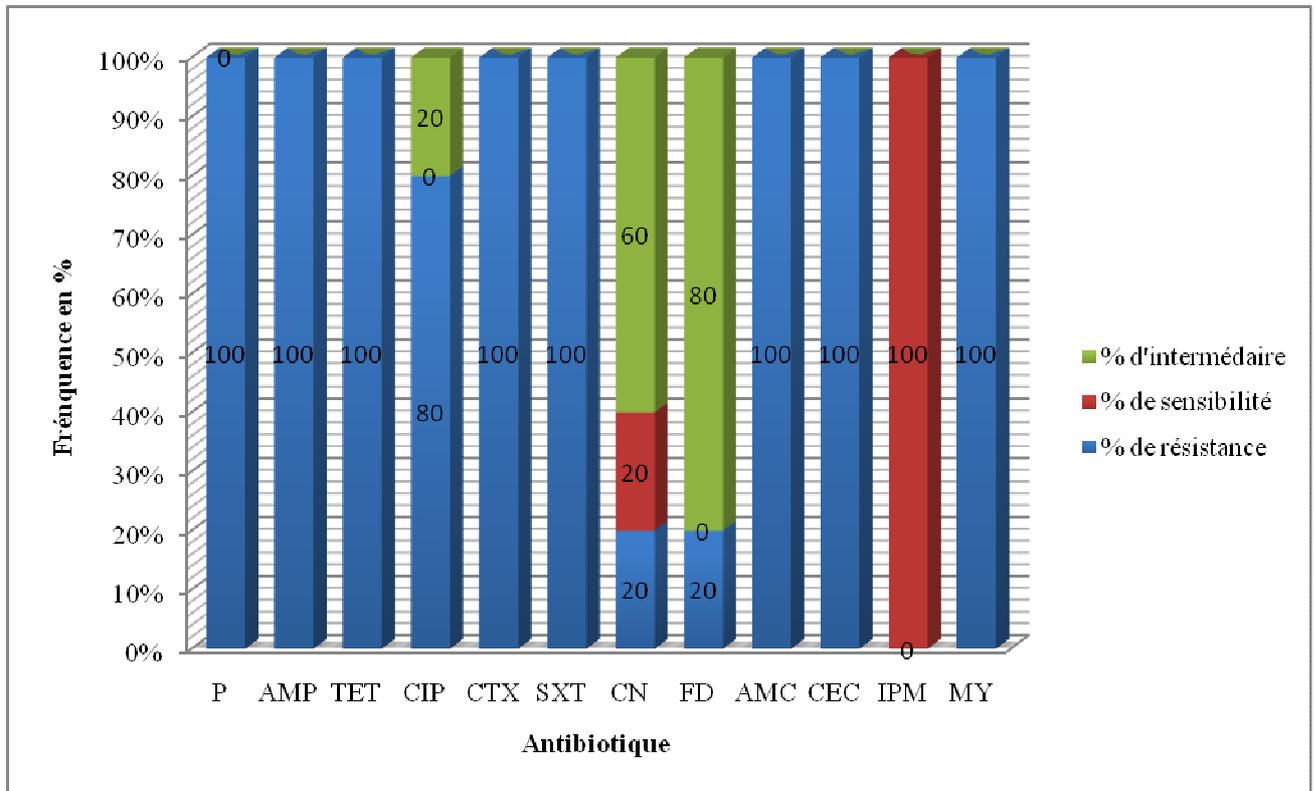
**Figure 4 :** Fréquence de résistance et de sensibilité des souches de *Streptococcus sp.*

#### 4- Profil d'antibiorésistance des souches de *Bacillus sp*

Les souches de *Bacillus sp* testées ont montré une sensibilité seulement pour l'IPM (100%) et la CN (20%). Les autres antibiotiques (P, AMP, TET, CTX, SXT, AMC, CEC et MY) ont été inefficaces sur les souches de *Bacillus sp* testées. La CN et l'FD sont efficaces mais à des doses élevées (soit respectivement 60% et 80% de souches intermédiaires) (Figure 5).



DRS



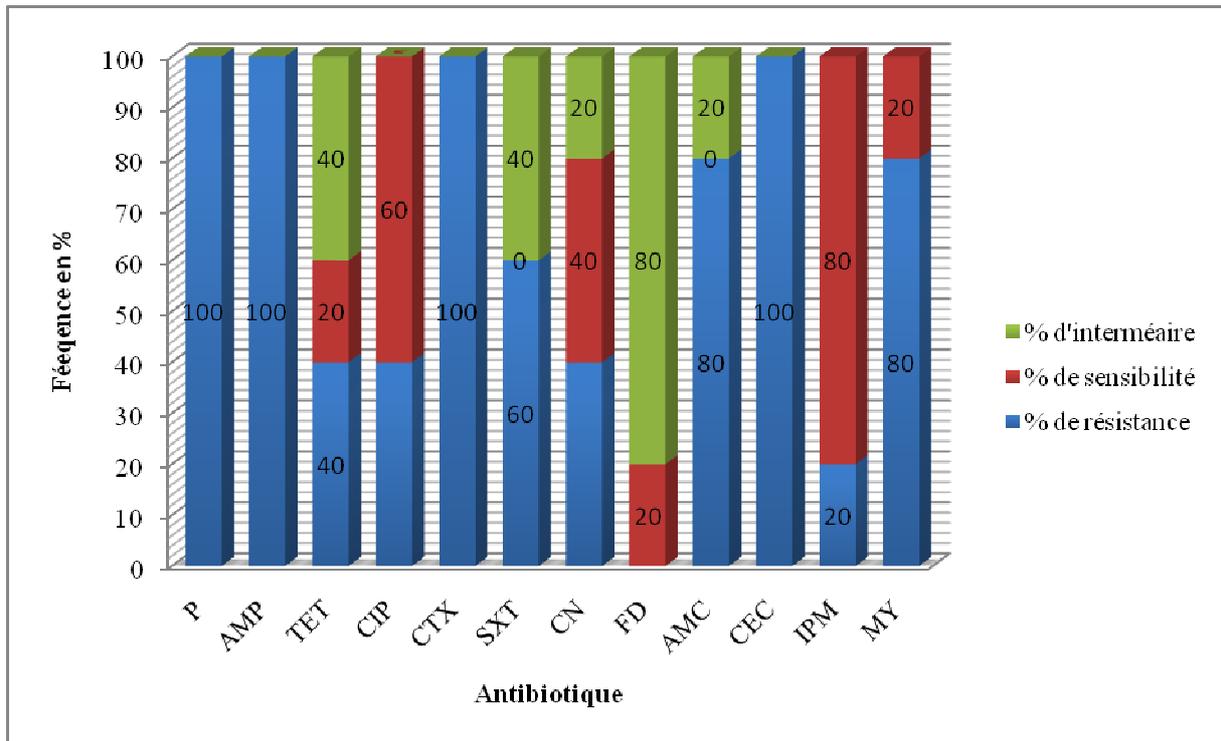
**Figure5** : Fréquence de résistance et de sensibilité des souches *Bacillus sp*

### 5- Profil d'antibiorésistance des souches de bacilles Gram négatif oxydase positive.

Comme présenté en figure suivante, nous avons remarqué que les souches de bacilles Gram négatif oxydase positive étaient non sensibles à la plupart des antibiotiques (P, AMP, CTX, CEC). Leur sensibilité était de 20% pour la CN, l'FD et le MY ; de 60% vis-à-vis de la CIP, et de 80% pour l'IPM.



DRS



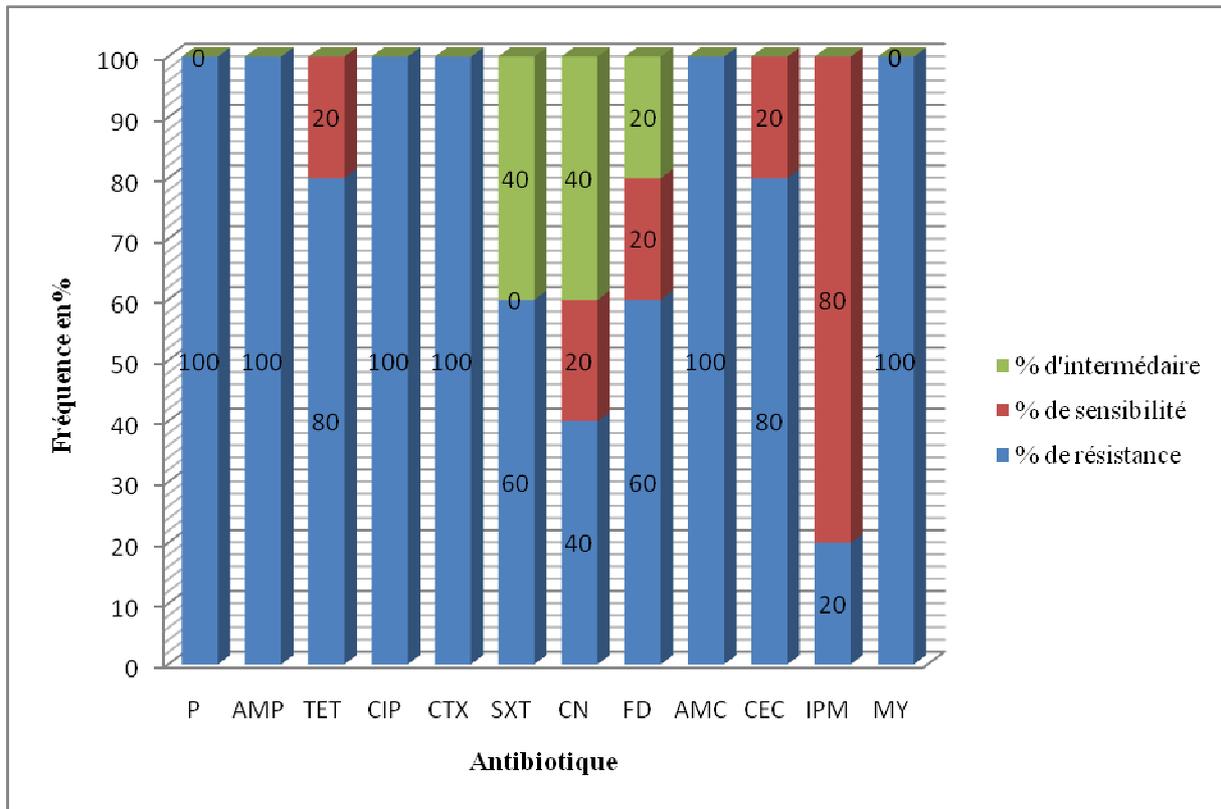
**Figure 6:** Fréquence de résistance et de sensibilité des souches bacilles Gram négatif oxydase positive.

## 6- Profil d'antibiorésistance des souches de bacilles Gram négatif oxydase négative et fermentaire

Le profil d'antibiorésistance de ces souches a révélé une résistance maximale (100%) à la P, l'AMP, la CIP, la CTX, l'AMC et la MY. Nous avons noté qu'elles étaient sensibles à l'IPM (80%) et légèrement sensibles (20%) vis-à-vis de la TET, à la CN, à la FD et au CEC (Voir figure 7)



DRS



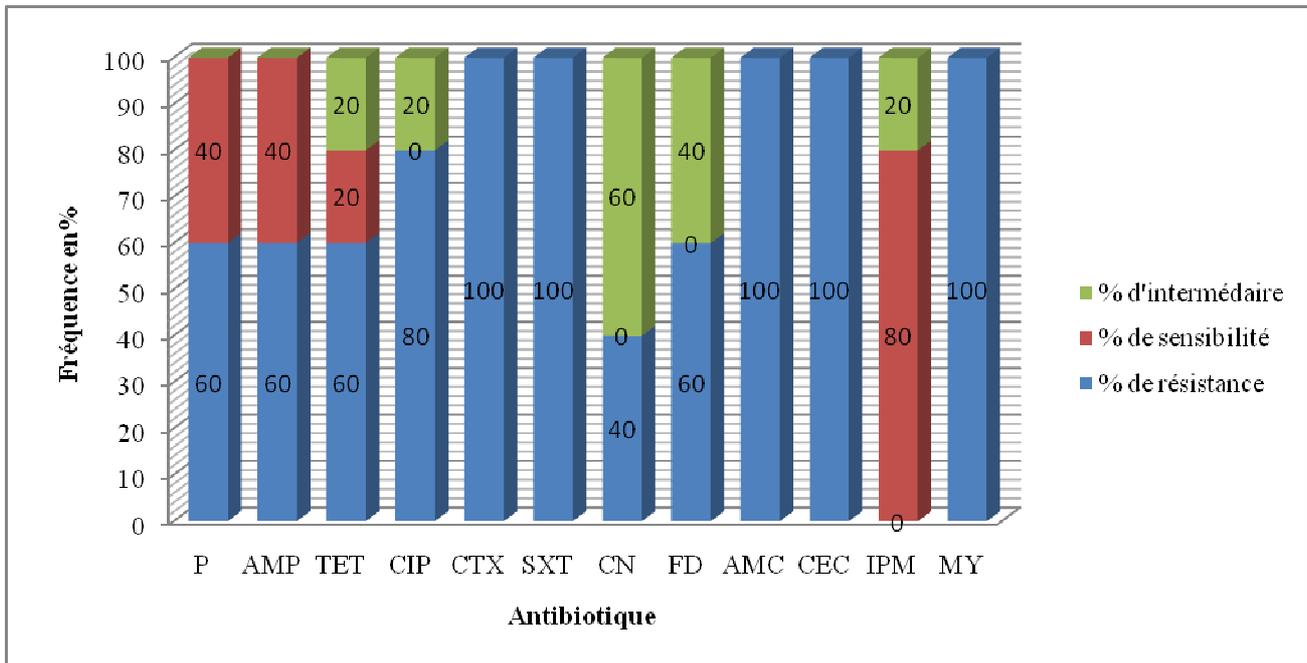
**Figure 7 :**Fréquence de résistance et de sensibilité des bacilles Gram négatif oxydase négative et fermentaire

### 7- Profil d'antibiorésistance des souches de bacilles Gram négatif oxydase négative et non fermentaire

Comme noté en figure 8,nous avons remarqué que les souches de bacilles Gram négatif oxydase négative et non fermentaire, étaient totalement insensibles à la plupart des antibiotiques (CTX, SXT, AMC et MY). Nous avons aussi noté une sensibilité légère (20%) pour la TET, modérée (40%) pour la P et l'AMP, et relativement élevée (80%) pour l'IPM



DRS



**Figure 8 :**Fréquence de résistance et de sensibilité des bacilles Gram négatif oxydase négative et non fermentaire

## B- Activité antibactérienne vis-à-vis des désinfectants

### 1- Efficacité des désinfectants

L'évaluation de l'efficacité des 4 désinfectants différents a été effectuée. Un contrôle qualité a été réalisé pour tous les désinfectants, il a consisté en mesure du potentiel d'hydrogène (pH) et de la stérilité des désinfectants. Le pH mesuré a prouvé la stabilité des désinfectants, alors que le contrôle de la stérilité a montré qu'ils étaient tous stériles (absence de contamination).

Les résultats de l'activité antibactérienne vis-à-vis des désinfectants, sont présentés dans le tableau 6

Nous avons remarqué que l'efficacité globale exprimée en % de sensibilité, était très élevée (96,43%) pour les désinfectants à base de formaldéhyde (soit le désinfectant D3), élevé (89,29%) pour ceux à base d'ammonium quaternaire (soit le désinfectant D2).

Le désinfectant D1, à base de chlore n'était efficace que sur 7,14% des souches testées ; alors que le désinfectant D4 qui est à base d'acide acétique, a montré une efficacité globale de l'ordre de 53,56%.



**Tableau 6:** Profil de résistance et de sensibilité globale vis-à-vis des désinfectants.

Désinfectant	Désinfectant1 D1	Désinfectant2 D2	Désinfectant3 D3	Désinfectant4 D4	
<b>Catégorie d'interprétation</b>					
<b>Bacille Gram négatif oxydase positive</b>	G12	R	S	S	
	G14	R	S	R	
	G29	R	S	R	
	G36	R	S	S	
	G37	R	S	S	
<b>Bacille Gram négatif oxydase négative fermentaire</b>	G16	R	S	S	
	G21	R	S	R	
	Aa1	R	S	S	
	E46a	R	S	S	
	E21a	R	S	S	
<b>Bacille Gram négatif oxydase négative non fermentaire</b>	G18	R	S	R	
	E24	R	S	R	
	E26	R	S	R	
	E27	R	S	R	
	E34	R	S	S	
<b><i>Bacillus sp</i></b>	G50	R	S	R	
	G52	R	S	S	
	E31a	R	S	R	
	T1	R	S	R	
	T2b	R	S	R	
<b><i>Staphylococcus coagulase négative</i></b>	G33	R	S	R	
	G34	R	S	S	
	G35	S	S	S	
	G55	R	S	S	
	G56	R	R	S	R
	G44	R	R	S	S

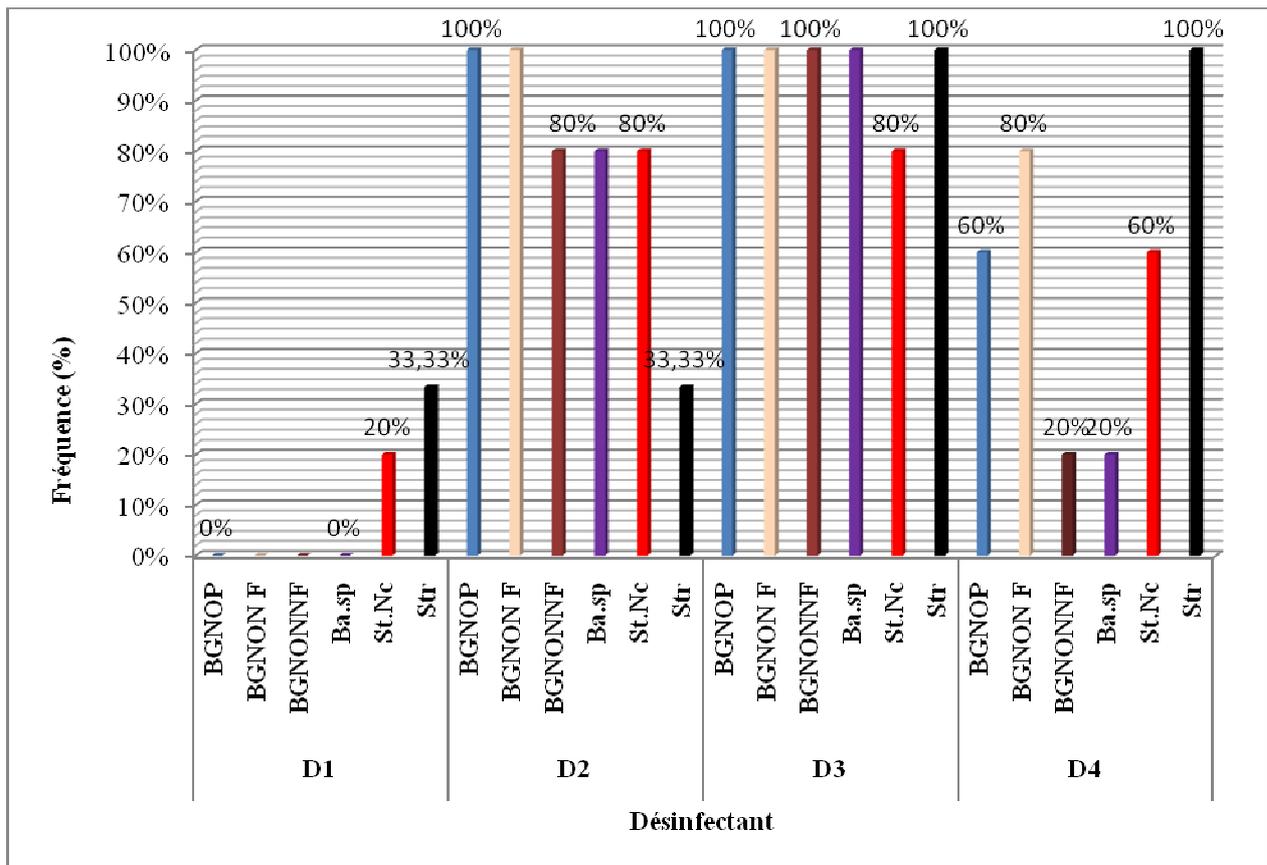


DRS

<i>Streptococcus</i>	G45	S	R	S	S
	G47	R	R	S	R
% de Résistance globale		92,85	10,71	3,57	46,42
% de Sensibilité globale		7,14	89,29	96,43	53,58

## 2. Variation de l'efficacité du désinfectant en fonction de la classe du désinfectant et des souches testées

Comme présentée en figure 9, nous avons constaté que l'efficacité des désinfectants varie d'une part en fonction de la classe du désinfectant et d'autre part en fonction du genre bactérien testé.





DRS

**Figure 9 :** Variation de l'efficacité du désinfectant en fonction de la classe du désinfectant et des souches testées

Le désinfectant D1 n'a montré une efficacité que sur les cocci Gram positif, soit respectivement 33,33% et 20% d'inhibition de la croissance des *Streptococcus sp* et des *Staphylococcus coagulase négative*.

Le désinfectant D2 a agi aussi bien sur les bactéries Gram négatif que sur les bactéries à Gram positif, avec une efficacité maximale (100%) sur les bacilles Gram négatif oxydase positive et les bacilles Gram négatif oxydase négative fermentaires, une efficacité élevée (80%) sur les bacilles Gram négatif oxydase négative non fermentaires, les *Bacillus sp* et les *Staphylococcus coagulase négative*. Cependant, son action n'était que de 33,33% sur les *Streptococcus sp*.

Le désinfectant D3 a montré une efficacité sur la majorité des souches testés,(100%) sur les bacilles Gram négatif oxydase positive, les bacilles Gram négatif oxydase négative fermentaires et non fermentaire, les *Bacillus sp* et *Staphylococcus coagulase négative*. Aussi une efficacité élevée (80%) sur *Streptococcus sp* est notée.

Le désinfectant D4 a montré efficacité moyenne (60%) sur les bacilles Gram négatif oxydase positive, *Staphylococcus coagulase négative*. une efficacité élevée (100%) (80%) respectivement sur les *Streptococcus sp*, les bacilles Gram négatif oxydase négative non fermentaires. Cependant, son action était très faible (20%) sur les bacilles Gram négatif oxydase négative non fermentaires.

### 3. Détermination de la dilution minimale d'inhibition

Elle a été réalisée par la technique en macrométhode, pour les désinfectants ayant montré une efficacité élevée sur le plus grand pourcentage de souches testées (soit le désinfectant D3 et D4). En plus de l'absence de trouble qui indique la dilution minimale d'inhibition (soit l'équivalent de la CMI), une mesure de l'absorbance de la dilution cible (ne présentant pas un aspect trouble) a été réalisée.

#### a- Désinfectant D2

Les résultats relatifs à la dilution minimale du désinfectant D2 sont montrés dans le tableau 7 et en figure 10

**Tableau 7:** Dilution minimale d'inhibition du désinfectant D2

CODE	BGN OP	BGNONF	BGNONNF	Bacillus sp	St.NC	Str.
------	--------	--------	---------	-------------	-------	------



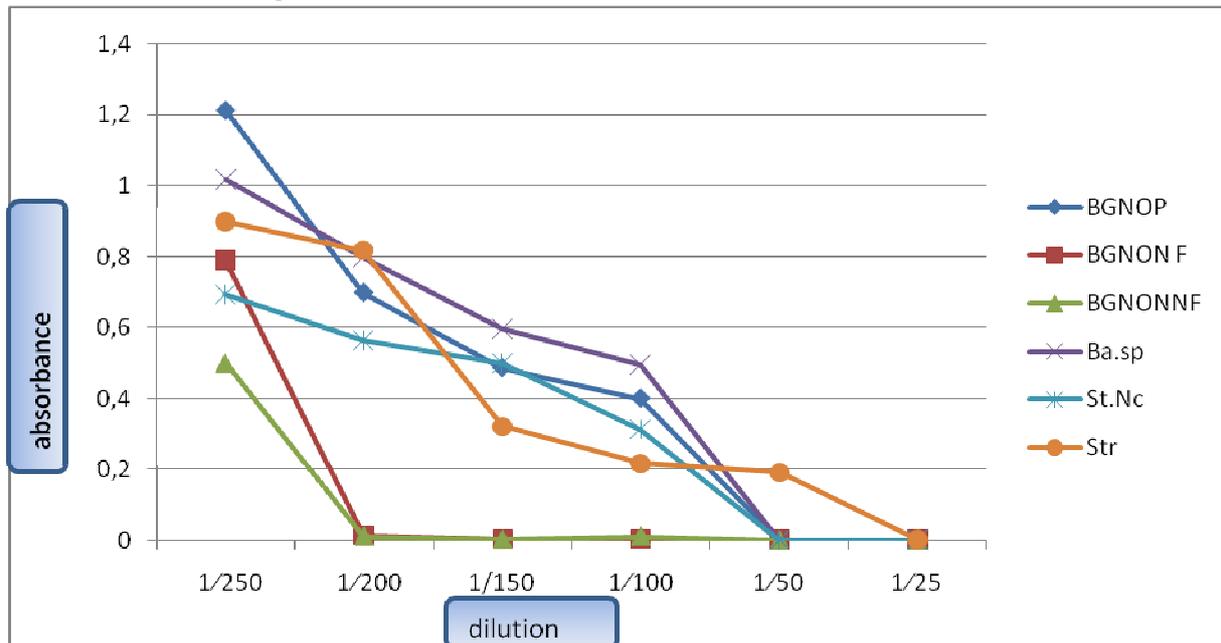
DILUTION						
1/25	-	-	-	-	-	-
1/50	-	-	-	-	-	+
1/100	+	-	-	+	+	+
1/150	+	-	-	+	+	+
1/200	+	-	-	+	+	+
1/250	+	+	+	+	+	+

(-) : inhibition de croissance ; (+) : présence de croissance

Nous avons noté d'après le tableau 7, que le désinfectant D2 a inhibé la croissance :

- Des *Streptococcus sp*, à la dilution de 1/25,
- Aussi bien des *Staphylococcus coagulase négative* que des *Bacillus sp*, et des bacilles Gram négatif oxydase positive à la dilution de 1/50,
- Des bacilles Gram négatif oxydase négative aussi bien fermentaires que non fermentaires à la dilution 1/200.

Comme montré en figure 10, l'absorbance est devenue nulle à la dilution minimale d'inhibition.



**Figure 10** : Variation de l'absorbance en fonction des dilutions du désinfectant D2

### b- Désinfectant D3

Les résultats relatifs à la dilution minimale du désinfectant D 3 sont montrés dans le tableau 8 et en figure 11

Les résultats relatifs au désinfectant D3 sont montrés dans le tableau 8 et en figure 11

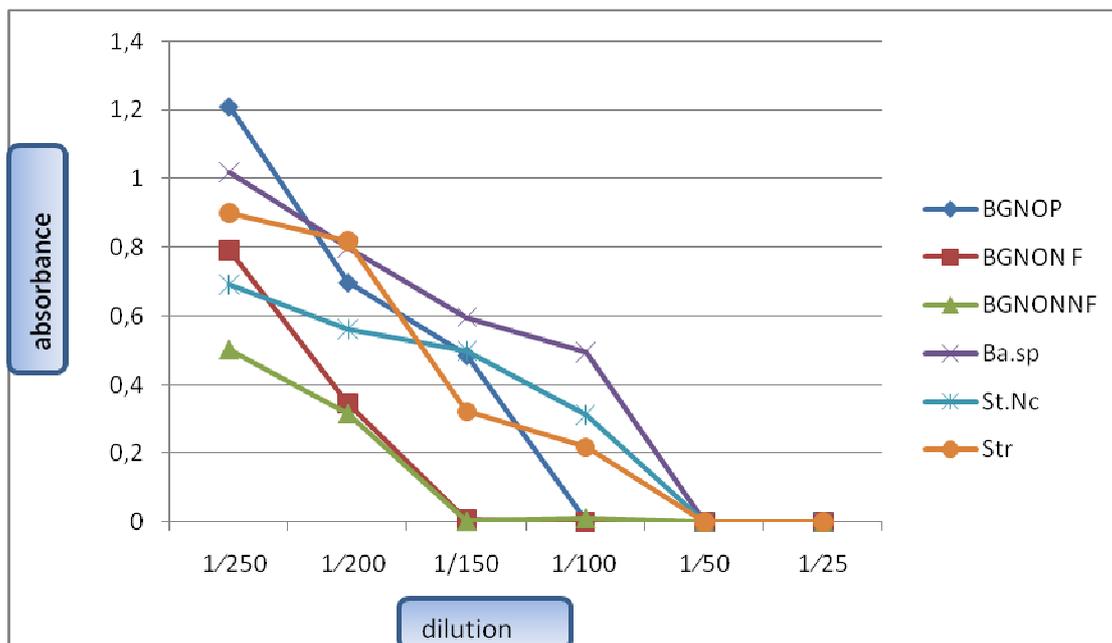


DRS

**Tableau 8** : Dilution minimale d'inhibition du désinfectant D3

CODE	BGN OP	BGNONF	BGNONNF	Bacillus sp	St.NC	Str.
<b>DILUTION</b>						
<b>1/25</b>	-	-	-	-	-	-
<b>1/50</b>	-	-	-	-	-	-
<b>1/100</b>	-	-	-	+	+	+
<b>1/150</b>	+	-	-	+	+	+
<b>1/200</b>	+	+	+	+	+	+
<b>1/250</b>	+	+	+	+	+	+

(-) : inhibition de croissance ; (+) : présence de croissance



**Figure 11** :Variation de l'absorbance en fonction des dilutions du désinfectant D3

Nous avons noté d'après le tableau 8 que le désinfectant D3 a inhibé la croissance :

- Aussi bien des *Streptococcus sp* que les *Staphylococcus coagulase négative* et *Bacillus sp.* à la dilution de 1/50.
- les bacilles Gram négatif oxydase positive s'inhibe à une dilution de 1/100.

Comme montré en figure 12, l'absorbance est devenue nulle à la dilution minimale d'inhibition



DRS

- 
- les bacilles Gram négatif oxydase négative non fermentaire et fermentaire. des Staphylococcus coagulase négative a une dilution de 1/150.

#### 4- Détermination du temps minimal de contact

La détermination du temps minimal d'inhibition permettant d'inhiber le développement des souches bactériennes isolées des surfaces des points contrôlés, a été réalisée pour les désinfectant ayant montré la plus grande efficacité sur l'ensemble des souches testées, soit les désinfectants D2 et D3

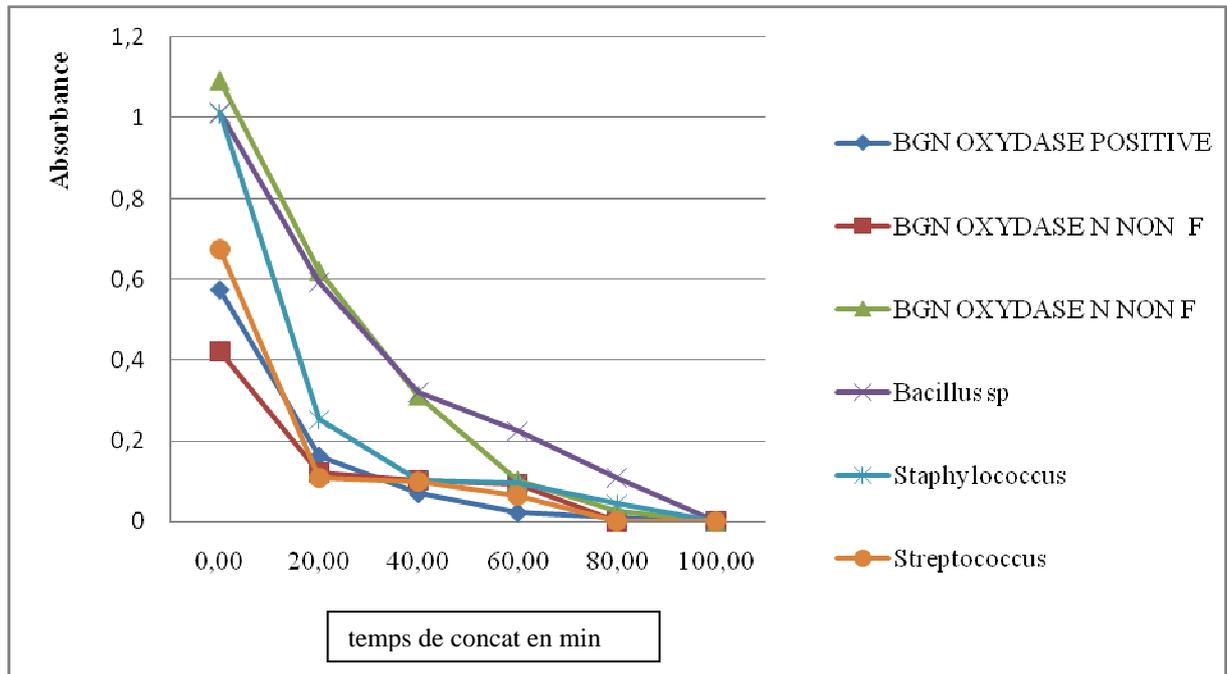
En plus de l'absence de trouble, une mesure de l'absorbance au spectrophotomètre à la longueur d'onde 490 nm a été achevée. Les résultats sont montrés en figure 12et 13.

#### Désinfectant D2

Comme présenté en figure .12, le temps minimal de contact a varié d'une souche bactérienne à l'autre. Il correspondait à l'annulation de l'absorbance et l'absence visuelle de l'aspect trouble.

Ce temps minimal était de 80 min pour. BGNOP fermentaire et non fermentaire, des Staphylococcus coagulase négative que pour des Streptococcus sp. alors que pour les *bacillus* sp, on a trouvé un temps de contact de 100 min afin d'avoir une absence visuelle de l'aspect trouble ce qui signifie l'absence de croissance bactérienne .

donc on conclut que dans un temps de contact de 100 min ,aucune croissance bacterienne ne sera noté ,avec une absence de l'aspect de trouble.



**Figure 12** :Détermination du temps minimal d'inhibition (TMI) du désinfectant D2.

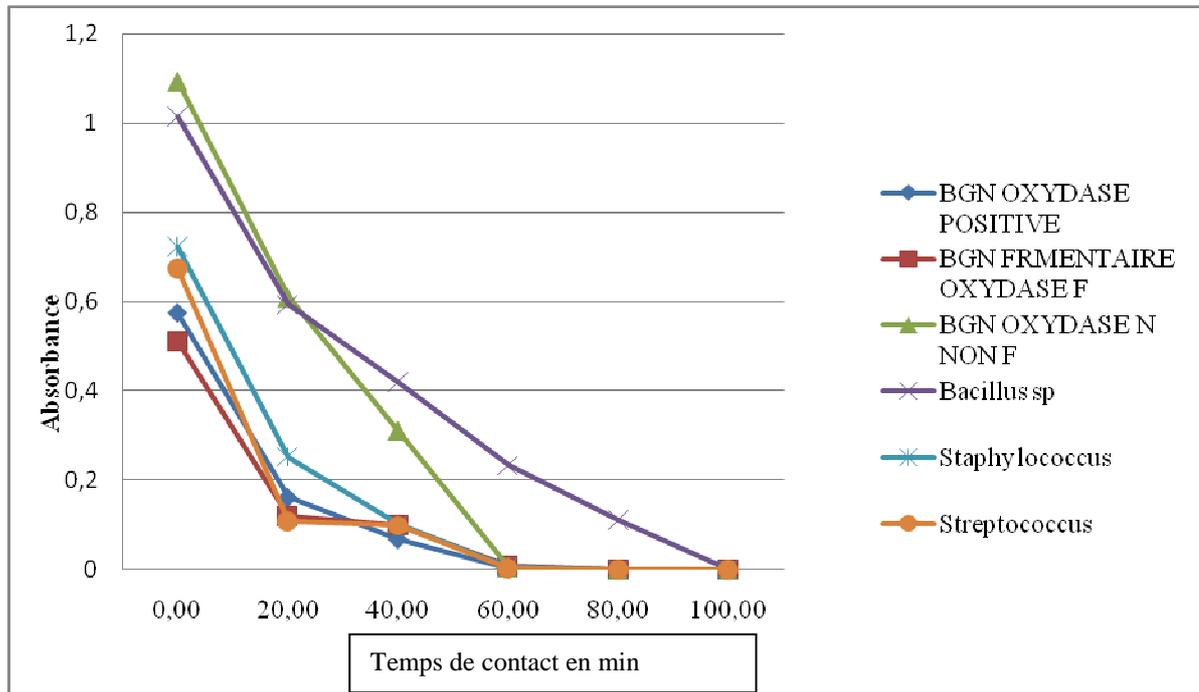
a- Désinfectant D3 :

pour le désinfectant D3 le temps minimal était de 60 min pour. BGNOP fermentaire et non fermentaire, des *Staphylococcus coagulase négative* que pour des *Streptococcus sp.* alors que pour les *Bacillus sp.*, on a trouvé un temps de contact de 100 min afin d'avoir une absence visuelle de l'aspect trouble ce qui reflète l'absence de croissance bactérienne.

Donc on conclut que dans un temps de contact de 100 min, aucune croissance bactérienne ne sera notée, avec une absence de l'aspect de trouble.



DRS



**Figure 13:** Détermination du temps minimal d'inhibition (TMI) du désinfectant D3



DRS

Les infections en hémodialyse demeurent une cause importante de mortalité et de morbidité (AVRIL JL. et al, 2002), La maîtrise du risque infectieux lié à l'environnement est un élément important de la prévention de ces infections (AURAR., 2008). Cette maîtrise ne peut être obtenue que par le renforcement et l'application de bonnes pratiques d'hygiène et de désinfection efficace.

Notre étude réalisée, d'une part pour déterminer le profil de résistance vis-à-vis des antibiotiques des bactéries préalablement isolées au service de l'hémodialyse ; et d'autre part pour évaluer la sensibilité de ces souches face à différents désinfectants, et déterminer la dilution et le temps de contact minimaux d'inhibition des désinfectants les plus efficaces.

L'activité antibactérienne des antibiotiques a été testée sur 28 souches, elle nous a permis de noter une résistance très élevée vis-à-vis de la majorité des antibiotiques. La résistance à la Lincomycine (My) et au Céfaclor (CEC), était très élevée soit 96.42%. Elle était de 92,85% pour la Céfotaxime (CTX) et pour l'association acide clavulanique-ampicilline (AMC).

Nous avons constaté une sensibilité moyenne (50%) pour l'Impinème (IMP), alors que pour les autres antibiotiques, elle a varié entre 3,57% et 32,14%.

Nous avons aussi remarqué que la résistance a varié d'un genre bactérien à l'autre et d'un antibiotique à l'autre.

Pour les *Staphylococcus* coagulase négative, une résistance maximale (100%) vis-à-vis de la plupart des antibiotiques (P, AMP, TET, SXT, FD, AMC, CEC, MY) a été notée. Une résistance très grande (80%) vis-à-vis de la CTX et de la CN a été remarquée. Nous avons trouvé une sensibilité importante face à l'IMP (80%), et une légère sensibilité vis-à-vis la CN (20%). La sensibilité légère de la CN se rapproche à celle notée par BOIRON.M 2002 soit 32.4% en 2002. Cependant, la résistance à l'FD diffère du résultat qu'il a noté puisqu'il a mentionné une sensibilité moyenne (59%).

Pour les *Streptococcus*, nous avons trouvé une résistance assez élevée. La fréquence a varié de 60% à 100% pour la P, l'AMP, la TET, la CTX, l'AMC et le CEC. Cependant, une sensibilité légèrement importante vis-à-vis de la CN (60%) a été trouvée. Ce même résultat a été trouvé par VACHEE A et al en 2001.

Les *Bacillus* ont présenté une résistance totale (100%) face à la majorité des antibiotiques testés (P, AMP, TET, CTX, SXT, AMC, CEC et MY), une insensibilité à la CIP de l'ordre de 80%. Cependant, ils ont montré une sensibilité à la CN et à la FD à des fréquences respectives de 60% et 80%.

Nous avons aussi constaté une multi-résistance des bacilles Gram négatif oxydase négative fermentaire à la plupart des antibiotiques (P, AMP, CTX, CEC, AMC et MY). Néanmoins, l'action de l'IMP sur ces bactéries était trouvée (80% de sensibilité). L'inhibition de ces bactéries par cet antibiotique a été prouvée par (BEAU F., COUDERT, C. 2003) en 2005 (100 %).



DRS

Concernant les bacilles Gram négatif oxydase négative non fermentaire, ils étaient sensibles à l'IPM (80%), résistantes aux autres antibiotiques avec une fréquence variant de 40% pour la CN à 100% pour la CTX, la SXT, l'AMC, le CECet la MY.

La multi-résistance de la plupart des bactéries et l'évolution de la résistance bactérienne par rapport aux études antérieures, pourraient expliquer l'ampleur de la gravité signalée par la majorité des chercheurs (**BABA AHMED - KAZI TANI Z. et al, 2014 ; BERTHELOT P. ; 2010**).

En outre, la maîtrise de la diffusion de ces bactéries multi-résistantes devrait être réalisée par respect :

- d'une détection précoce du portage de la BMR et sur la mise en oeuvre rapide des précautions spécifiques d'isolement.
- d'avoir un environnement architectural et matériel facilitant les isolements géographique et technique du patient porteur de BMR (bactéries multi-résistantes).
- de faire des progrès pour l'implantation du programme, en particulier pour le dépistage des porteurs et l'amélioration de l'observance précautions spécifiques d'isolement.
- d'effectuer une meilleure définition des indications et des modalités du dépistage ainsi que du traitement des porteurs permettraient d'optimiser l'efficacité de la stratégie mise en place.
- effectuer une stratégie globale associant les mesures de préventions de la diffusion à une politique de bon usage des antibiotiques (**ROGUE A.M.X VERDEF, 2004**).

Concernant l'évaluation de l'action des différents désinfectants testés (D1, D2, D3 et D4),

Nous avons noté une variation de l'efficacité d'une part en fonction de la classe du désinfectant et d'autre part en fonction du genre de bactéries testées.

Une efficacité totale sur les 28 souches testées vis-à-vis des désinfectants D2 et D3 a été observée.

Ainsi, le désinfectant désigné par D1, appartenant à la classe des halogénés a révélé une action relativement faible, puisque seulement 7.14% de la totalité des bactéries qui étaient inhibées. Bien que les désinfectants appartenant à cette classe, soient connus par leur efficacité assez élevée vu leur pouvoir oxydant, leurs propriétés de dénaturation des protéines et d'inactivation des acides nucléiques (**MOUNIER M. et al, 2009**), le désinfectant D1 a présenté aussi une inefficacité sur 100% des bacilles Gram positif oxydase positive, ainsi que sur les bacilles Gram négatif oxydase négative fermentaire et non fermentaires.

Le désinfectant D2, faisant partie de la classe des ammoniums quaternaires, a été remarqué par une sensibilité globale de 89.29% ; alors que le désinfectant D3 synthétisé à base d'aldéhydes a atteint une fréquence d'efficacité de 96.43%.

En outre, leur efficacité a varié de 80% à 100% sur les bacilles Gram négatif oxydase positive, les *Staphylococcus*, les bacilles Gram négatives oxydase négative aussi bien fermentaires que non fermentaires, ainsi que sur les *Bacillus sp*.

Les *Streptococcus sp* étaient totalement inhibés par le désinfectant D3, mais partiellement sensibles au désinfectant D2 (33.33%).



DRS

Les résultats se rapportant aux désinfectants ammoniums quaternaires, ne corrèlent pas avec **TENNSTEDT**. (2008) qui avait stipulé que cette classe de désinfectant était très active face aux BGP et moins active vis-à-vis des bactéries Gram négatif.

Le désinfectant D4 a présenté une efficacité moyenne de 53.38% vis-à-vis de toutes les souches testées.

Ce désinfectant, à base d'acide acétique, a révélé une faible action aussi bien sur les *Bacillus sp* que sur les bacilles Gram négatif oxydase négative non fermentaire. Cependant, son action a été remarquée sur les autres bactéries (*Streptococcus*, *Staphylococcus*, bacilles Gram positif oxydase positive et oxydase négative fermentaire).

La détermination de dilution minimale cible, équivalente à la concentration minimale inhibitrice (CMI) a été réalisée pour le produit D2 et D3 puisqu'ils ont montré une meilleure efficacité.

Pour le désinfectant D2, la dilution 1/25 était la dilution minimale cible pour la quasi-totalité des souches testés, alors que pour le désinfectant D3, la dilution était 1/50.

Ce résultat ne concorde pas à celui trouvé par **ROUILLON S. et al en 2006**. Ces auteurs avaient noté que le désinfectant D2 était efficace même à une dilution de 1/200.

La détermination du temps minimal d'inhibition (TMI), réalisée pour les désinfectant D2 et D3 a révélé que ce temps a varié d'une souche à l'autre et d'un désinfectant à l'autre.

Le TMI du désinfectant D2 était de 80 min pour les *Streptococcus*, les *Staphylococcus*, les bacilles Gram positif oxydase positive, et les bacilles Gram positif oxydase négative fermentaire et non fermentaire ; alors que pour les *Bacillus sp*, ce temps était plus long soit (un TMI de 100min).

Pour le désinfectant D3, le temps de contact minimal était de 60min pour les *Streptococcus*, les *Staphylococcus*, les bacilles Gram positif oxydase positive et les bacilles Gram positif oxydase négative fermentaire et non fermentaires ; et de 100min pour les *Bacillus sp*.

## Conclusions, recommandations et perspectives

✚ Au terme de ce travail, nous pouvons conclure que :

❖ Les souches de *Staphylococcus coagulase négative* étaient :



DRS

- 
- insensibles (100% de résistance) vis-à-vis de la plupart des antibiotiques (P, AMP, TET, SXT, FD, AMC, CEC, MY).
  - Très résistants (80%) face au CTX et à la CN ;
  - Sensibles à l'IMP (80%).
- ❖ Lessouches de *Streptococcus* sp, ont montré :
- une résistance assez élevée vis-à-vis de la P, l'AMP, la TET, la CTX, l'AMC et le CEC ;
  - une sensibilité moyenne (60%) vis-à-vis de la CN ;
- ❖ Lessouches de *Bacillus* sp étaient :
- totalement résistants (100%) face à la majorité des antibiotiques testés (P, AMP, TET, CTX, SXT, AMC, CEC et MY),
  - très résistants vis-à-vis de la CIP (80%)
  - Sensibles à la CN et à la FD à des fréquences respectives de 60% et 80%.
- ❖ Les souches de bacilles Gram négatif oxydase négative aussi bien fermentaires que non fermentaires, étaient multi-résistants à la plupart des antibiotiques (P, AMP, CTX, CEC, AMC et MY) ; mais sensibles à l'IMP sur (80% de sensibilité).
- ❖ Une efficacité importante du désinfectant D2, faisant partie de la classe des ammoniums quaternaires, a été trouvée (89.29% d'efficacité), avec une dilution minimale d'inhibition de 1/25 pour la quasi-totalité des souches testées, et un temps de contact minimal de 80 min pour la quasi-totalité des genres bactériens sauf le genre *Bacillus* (100min) ;
- ❖ Une forte action du désinfectant D3 à base formaldéhyde, avec un pourcentage de d'inhibition global de 96.43%, avec une dilution minimal de 1/50 et un temps de contact minimal de 60 min pour la plupart des souches testées, à l'exception des souches *Bacillus* sp (100min)
- 🚧 A la suite de notre étude, il est recommandé de :
- Sensibiliser le personnel et les responsables du service d'hémodialyse sur l'importance et le respect de la désinfection ;
  - Réaliser systématiquement un nettoyage et une désinfection selon un protocole adéquat validé par une recherche scientifique ;
  - Alternier périodiquement les désinfectants pour ne pas favoriser l'installation de souches multi résistantes ;
  - Respecter les recommandations et les bonnes pratiques d'hygiène ;
  - Sensibiliser tous les intervenants (médecins, personnel de santé, médecins vétérinaires, ingénieurs agronomes, sociétés,...) sur l'usage adéquat et rationnel des antibiotiques, pouvant sauver les antibiotiques.
- 🚧 En guise de notre travail, il serait intéressant de :



DRS



- 
- Réaliser une étude statistique permettant d'évaluer les différences entre les résultats notés ;
  - Mener une étude permettant de localiser les gènes de résistance des souches isolées ;
  - Trouver d'autres alternances pour les désinfectants, notamment des surfaces ;
  - Evaluer l'efficacité des désinfectants sur d'autres germes notamment les champignons ;
  - Mesurer l'efficacité de l'association et la synergie des désinfectants ;
  - Etudier l'effet des facteurs pouvant d'amplifier l'action antimicrobienne des désinfectants ;
  - Synthétiser de nouvelles molécules chimiques bioactives ayant un pouvoir antimicrobien.