



**UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES – FES
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA VIE**



PROJET DE FIN D'ETUDES

Licence en Sciences & Techniques :

Biologie & Santé

*Etude de la qualité microbiologique de
l'environnement hospitalier-cas des
incubateurs en Néonatalogie-*

Présenté par : ZOUITA Fatima Zahrae

Encadré par :

Pr. Oumokhtar Bouchra

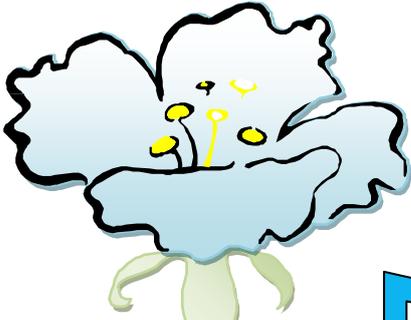
Pr. Azzouzi .A

Soutenu le : 13 Juin 2013

Devant le jury composé de:

- Pr. Azzouzi A : Président
- Pr. Oumokhtar B : Encadrant
- Pr. Aarab L : Examineur

Année Universitaire: 2012-2013



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

- ✓ Mes parents

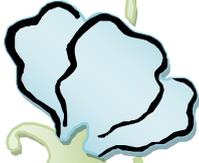
- ✓ Mon mari

- ✓ Mes frères

- ✓ Ma sœur

- ✓ Mes professeurs de l’FST

- ✓ Tous ceux qui me sont chers





REMERCIEMENTS

Mes plus grands remerciements sont consacrés à DIEU, qui m'a donné la possibilité d'exécuter cette recherche dans de bonnes conditions de réussite.

Mes remerciements les plus dévoués à mon Encadreur, Professeur Bouchra OUMOKHTAR, pour son encouragement, son attention très précieuse, son aide attentive, ces conseils qui m'ont orientés vers les résultats de mes ambitions souhaitées pour la réussite.

Mes remerciements les plus respectueux à mon encadreur, Professeur AZZOUZI, pour ses efforts considérables déployés pour atteindre le but.

Mon plus grand remerciement à mon professeur Aarab L, de sa qualité professionnelle et humaine, vous nous faites le plus grand honneur de juger ce travail, que j'espère, sera à la hauteur de votre attente.

Mes profonds remerciements au Professeur BOUHARROU A. Chef de service de Néonatalogie et de Réanimation Néonatale du Centre Hospitalier Universitaire Hassan II de Fès, ainsi qu'au personnel médical et paramédical du même service.

Mes remerciements, à mes collègues Ibtissam, Nawar, Asmae étudiantes stagiaires au laboratoire de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès, pour leurs soutiens et leurs collaborations qui m'ont été très utiles dans mes recherches.



LISTE DES TABLEAUX ET DES FIGURES

✚ Tableau 1: Flore bactérienne de surface.....	7
✚ Tableau 2: Persistances des bactéries pertinentes cliniquement sur les surfaces sèches inanimées.	8
✚ Tableau 3: Paramètres microbiologiques de l'eau bactériologiquement maîtrisée.....	10
✚ Tableau 4: Précautions "Standard" à respecter lors de soins à tout patient.....	12
✚ Tableau 5: Résultats des prélèvements au niveau des surfaces des couveuses.....	26
✚ Tableau 6: Résultats des prélèvements au niveau des surfaces des tables chauffante	27
✚ Tableau 7: Résultats du prélèvement de l'eau du réservoir des couveuses.....	28
<hr/>	
✚ Figure 1: Les 5 étapes du développement d'un biofilm sur une surface dure.....	7
✚ Figure 2: Points de prélèvements sur couveuse.....	17
✚ Figure 3: Points de prélèvements sur table chauffante.....	18
✚ Figure 4: Méthodologie suivie pour la lecture des résultats d'une Galerie Api.....	24
✚ Figure 5: Fréquence des bactéries isolées à partir des surfaces des couveuses et des tables chauffante.....	27
✚ Figure 6: Pourcentage des microorganismes isolés au niveau de l'eau du réservoir des couveuses.....	28



LISTE DES ABREVIATIONS

- ✚ IAS : Infections Associées aux Soins.
- ✚ IN : Infections Nosocomiales.
- ✚ MO : Microorganisme.
- ✚ BMR : Bactéries multirésistances.
- ✚ BHI : Bouillon coeur-cervelle.
- ✚ EMB : Milieu Eosine Bleu de Méthylène.
- ✚ PCA : Plate count Agar.
- ✚ RM : Rouge de Méthyle.
- ✚ CHU : Centre Hospitalier Universitaire.
- ✚ CLIN : Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales
- ✚ TDA : Tryptophane désaminase.
- ✚ CIT : Citrate.
- ✚ VP : Piruvate de sodium.
- ✚ GEL : Gélatine.
- ✚ ADH : Arginine déshydrolase.
- ✚ LDC : Lysine déshydrolase.
- ✚ ODC : Ornithine décarboxylase.
- ✚ H₂S : Sulfure d'hydrogène.
- ✚ URE : Uuréase.



SOMMAIRE

Introduction

Partie bibliographique

I. Infections Associées aux Soins (IAS)

1. Définition.....	3
2. Facteurs favorisant les infections nosocomiales.....	3
3. Les principales infections nosocomiales	4
4. Modes de transmission.....	5
2.1. Voie endogène.....	5
2.2. Voie exogène.....	5

II. Environnement hospitalier

1. Définition.....	5
2. Eléments d'environnement.....	6
2.1. Les surfaces.....	6
2-1-1. le biofilm.....	6
2.2.2. Formation de biofilm.....	6
2.2.3. Flores bactériennes des surfaces.....	7
2.2.4. Survie des germes sur les surfaces.....	7
2.2. L'eau.....	8
2.2.1. Natures et origines de risques.....	9
2.2.2. Critères de qualité	9
2.3. L'air.....	10

III. La prévention des infections nosocomiales

1. Précautions standards	11
2. Hygiène de l'environnement: surface, air, eau.....	13

IV. Cas du service de Néonatalogie

1. Définition d'un incubateur.....	14
2. L'importance de l'incubateur en service de néonatalogie.....	14
3. Les types d'incubateurs.....	14



4. Entretien des incubateurs.....	14
-----------------------------------	----

Matériels et méthodes

1. Service de Néonatalogie et de Réanimation néonatale.....	17
1.1. Moment de prélèvements.....	17
1.2. Localisation des prélèvements.....	17
1.3. Technique d'analyse de la surface des incubateurs.....	18
1.4. Technique d'analyse de l'eau du réservoir.....	19
2. Identification biochimique des bactéries.....	19
2.1. Coloration de gram.....	19
2.2. Test d'oxydase.....	20
2.3. Test catalase	20
2.4. Fermentation du glucose.....	21
2.5. Recherche d'uréase.....	21
2.6. Production d'indole.....	22
2.7. Test RM (au rouge de méthyle)	22
2.8. Identification par Galerie Api 20E.....	22

Résultats et discussion

1. Résultats des prélèvements des couveuses et des tables chauffantes.....	26
1.1. Bactéries isolées à partir des surfaces des couveuses et des tables chauffantes.....	26
1.2. Fréquence des bactéries isolées à partir des surfaces des couveuses et des tables chauffante.....	27
1.3. Bactéries isolées à partir de l'eau du réservoir des couveuses.....	27
1.4. Fréquence des bactéries isolées à partir de l'eau du réservoir des couveuses.....	28
2. Discussion.....	29

Conclusion	31
-------------------------	----

Annexes

Références bibliographiques



Références bibliographiques

1-Avril JL, Carlet J. : Les infections nosocomiales et leur prévention. Ellipses, Paris, 1998, 679.

2-Julie –Mis « Hygiène hospitalière et infections nosocomiale » Travail de santé publique réalisé en 2003(<http://www.remede.org/documents/article361.html>).

3- Birgand. G, Unité d 'Hygiène et de Lutte contre les Infections Nosocomiales (UHLIN) GH Bichat - Claude Bernard, Paris , Novembre 2010: Généralités sur les infections nosocomiales.

4-Organisation Mondiale de la Sante (OMS), 2008: Prévention des infections nosocomiales Guide pratique 2^{ème} édition.

5-Fabien SQUINAZI, Directeur du Laboratoire d'Hygiène de la Ville de Paris, 2006:Analyses en microbiologie -Environnement microbien (air, surfaces, eau).

6-Pessoa- Silva CL, Hugonnet S, Pfister R, et al. 2007: Reduction of health car associated infection risk in neonates by succuful hand hygiene promotion; 120 :e382-90.

7-Comité Technique Regional de l'Environnement Hospitalier et membres du groupe « Eau », 2006: l'eau dans les établissements de santé, Lyon.

8- Centre de Coordination de la Lutte contre les Infections Nosocomiales (C.CLIN) Sud-Est – Janvier 2006:

- Numération de la flore aérobie revivifiable à 22°C et 37°C ,la norme EN ISO 6222.

- Coliformes totaux et d'Escherichia coli (normes AFNOR NFT 90-414 / ISO 9308-1).

- Entérocoques (norme AFNOR NFT 90-416 / ISO 7899-2).

- Bactéries sulfito-réductrices y compris les spores si les eaux subissent un traitement de filtration (norme AFNOR NF EN 26461).

9- Centre National de Référence des Staphylocoques: Les infections à S. non aureus.

(site internet:<http://spiral.univ-lyon1.fr/M1681/web/accueil/indexstaph.htm>)

10- Barrie D, Wilson JA, Hoffman PN, Kramer JM. (1992). Bacillus cereus meningitis in two neurosurgical patients: an investigation into the source of the organism. J Infect., 25(3), 291-297.



11-IDRISSI OUADRHIRI Asmae, 2011; Projet de fin d'études: Surveillance microbiologique des dispositifs médicaux, Faculté des sciences et techniques Fès.

12- Pilly E, Maladies infectieuses et tropicales - 19ème édition 2004

13- Dr Eric Dehecq, Pr Marc Duhamel Enseignants à la Faculté Libre de Médecine de Lille : cours de microbiologie de la Faculté Libre de Médecine de Lille (le site d'internet : <http://anne.decoaster.free.fr/>)

14- Inter Clin des Hauts Cantons de l'Hérault, 2009, Guide pratique de maîtrise des bactéries multirésistantes aux antibiotiques.

Annexe 1

La composition des milieux utilisés

EMB: éosine bleu de méthylène:

Formule en g/L d'eau distillée:

Peptone de viande ou de gélatine	10
Lactose	10
Eosine	0,4
Bleu de méthylène	0,065
Hydrogénophosphate de potassium	2
Agar	15

pH=6,8

Chapman:

La composition, en grammes par litres d'eau distillée, est la suivante:

Peptones	11 g
Extrait de viande	1 g
Chlorure de sodium	75 g
Mannitol	10 g
Rouge de phénol	0,025 g
Agar	15 g
Eau distillé	1000 mL

Gélose au sang:

Formule en g/L d'eau distillée

Infusion de cœur de muscle	375g
Thiotone	10g
Chlorure de sodium	5g
Gélose	15g
pH final	7,3

 **BHI (Brain Heart Infusion) ou Bouillon cœur cervelle:**

Formule en g/L d'eau distillée

Insusion de cerville de veau	200g
Infusion de cœur de bœuf	250g
Peptone	10g
Chlorure de sodium	5g
Phosphate disodique	2,5g
Glucose	2g
pH final	7,4

 **PCA (Plate count Agar):**

Sa composition, en grammes par litres d'eau disillée, est la suivante

Tryptone	5,0 g
Extrait de levure	2,5 g
Glucose	4,0 g
Agar	9,0 g
pH	7

 **Kligler-Hajna:**

Formule en g/L d'eau distillée

Peptone	15 g
Extrait de viande	3 g
Extrait de levure	3 g
Peptone	5 g
Glucose	1 g
Lactose	10 g
Rouge de phénol	25 mg
Chlorure de sodium	5 g
Sulfate ferreux	0,2 g
Thiosulfate de sodium	0,3 g
Agar-agar	11 g
pH	7,5



 Urée-indole:

Tryptophane	3 g
Urée	20 g
Monophydrogénophosphate de potassium	1 g
Dihydrogénophosphate de potassium	1 g
Chlorure de sodium	5 g
Éthanol	10 ml
Rouge de phénol	25 mg
Eau distillée	1 L



Annexe 2

A-Désinfection de l'incubateur à la sortie de l'enfant et au minimum tous les 8 jours

Objectif: prévenir le risque infectieux lié à l'environnement

Préparation du matériel:

- Chiffonnettes à usage unique.
- Produit de nettoyage et de désinfection.
- Une brosse en plastique.
- Bacs pour le trempage et le rinçage.

Procédure:

- Débrancher et attendre le refroidissement de l'appareil.
- Emerger la tuyauterie et le bac dans un désinfectant détergent ou un détergent puis un désinfectant.
- Laisser un temps de contact et rincer.
- Stériliser la tuyauterie de l'aspirateur.
- Démonter les pièces amovibles et retirer les joints.
- Nettoyer et enlever les résidus de sparadrap ou de colle, particulièrement sur la sonde thermique.
- Immerger les pièces amovibles dans le produit de détergent-désinfection pendant un temps de contact préconisé.
- Rincer les pièces amovibles.
- Nettoyer l'habitacle, les hublots, intérieur, extérieur, châssis, roues, à l'aide de la brosse.
- Désinfecter à la vapeur.
- Enlever la tenue.
- Se laver et désinfecter les mains.
- Remonter les différentes pièces de l'incubateur.
- Vérifier l'intégrité du matelas.
- Fermer l'habitacle et les hublots.
- Ne pas remplir le bac à eau jusqu'au moment de l'utilisation.
- Vérifier le changement de filtre.

B- Entretien quotidien de l'incubateur en présence du nouveau-née

- Objectif:
- Limiter le risque infectieux lié à l'environnement.
 - Eviter les risques de toxicité vis-à-vis de l'enfant.
 - Utiliser des produits qui n'altèrent pas les matériaux.

Préparation du matériel:

- En quantité suffisante à proximité de l'incubateur.
- Matériel de nettoyage individualisé pour chaque incubateur:
 - Gants à usage unique.
 - 4 Chiffonnettes.
 - Détergent à pH neutre à usage alimentaire.
 - Eau bactériologiquement maîtrisée.

Procédure:

- Porter des gants à usage unique recommandé.
- Imbibé une chiffonnette de solution détergente en évitant le ruissèlement.
- Nettoyer les parois internes de l'habitacle.
- Nettoyer le matelas, et si possible le plateau de l'incubateur.
- Changer de chiffonnette.
- Imbibé une chiffonnette de solution détergente en évitant le ruissèlement.
- Réaliser l'essayage humide de l'habitacle.
- Changer de chiffonnette si suillé.
- Imbibé la chiffonnette de détergent.
- Nettoyer l'extérieur de l'incubateur.
- Essayer une chiffonnette propre si besoin.
- Entretenir le bac à eau:
 - 1- Vider le bac
 - 2- Le nettoyer en insistant sur les interstices.
 - 3- Rincer avec de l'eau de qualité bactériologiquement maîtrisée.
 - 4- Remplir d'eau.
- Se laver les mains.



C- Désinfection de l'incubateur à la sortie d'un bébé reconnu infecté ou colonisé

Objectif: -Maitriser l' infection et prévenir son croisement.

Préparation du matériel:

- Chiffonnettes à usage unique.
- Produit de nettoyage et de désinfection.
- Une brosse en plastique.
- Bacs pour le trempage et le rinçage.
- Générateur de vapeur.

Procédure:

- Débrancher et attendre le refroidissement de l'appareil.
- Emerger la tuyaderie et le bac dans un désinfectant détergent ou un détergent puis un désinfectant.
- Laisser un temps de contact et rincer.
- Stériliser la tuyauterie de l'aspirateur.
- Démontrer les pièces amovibles et retirer les joints.
- Nettoyer et enlever les résidus de sparadrap ou de colle, particulièrement sur la sonde thermique.
- Immerger les pièces amovibles dans le produit de détergent-désinfection pendant un temps de contact préconisé.
- Rincer les pièces amovibles.
- Nettoyer l'habitacle, les hublots, intérieur, extérieur, châssis, roues, à l'aide de la brosse.
- Désinfecter à la vapeur.
- Enlever la tenue.
- Se laver et désinfecter les mains.
- Remonter les déferents pièces de l'incubateurs.
- Vérifier l'intégrité du matelas.
- Fermer l'habitacle et les hublots.
- Ne pas remplir le bac à eau jusqu'au moment de l'utilisation.

Annexe 3

Désinfection des mains par solution hydro-alcoolique (mains visuellement propres et sèches)

→ Prendre deux doses (ou un bon creux de main) et procéder comme suit:



Paumes contre
paumes



Espaces digitaux
externes



Espaces digitaux
internes



Pulpes des doigts



Pouces



Doigts



Fig7 : Procédé de désinfection des mains par solution hydro-alcoolique [14]



Résumé

Les infections nosocomiales constituent un problème de santé publique majeur qui concerne tant la qualité des soins que des coûts importants pesant sur l'économie de la santé. Elles représentent une cause importante de mortalité évitables. La gravité de ces infections est due à la multirésistance des germes en causes.

L'objectif de notre étude est de prévenir les infections nosocomiales liées à l'environnement dans le service de réanimation Néonatale, chargées de recevoir les prématurés et les nouveaux nés.

Sur une période de deux mois, 31 prélèvements ont été réalisés sur des couveuses et des tables chauffantes dans le service de Réanimation Néonatale au CHU Hassan II de Fès. Ces prélèvements ont concerné 15 échantillons à partir de 3 points de surface des couveuses, 12 échantillon à partir de 3 points de surface des tables chauffante, 4 prélèvements d'eau distillée à partir du réservoir des couveuses.

Les résultats des analyses microbiologiques ont révélé la présence des bactéries: SCN, Bacillus sp, Pasteurella pneumotropica, Pseudomonas fluorescens, cette contamination est due essentiellement à un dysfonctionnement dans la procédure d'entretien et désinfection des couveuses et des tables chauffante.

Enfin cette étude devrait déboucher sur un véritable système de surveillance qui doit s'intéresser dans un premier temps aux services à haut risque qui devraient être ciblés par les programmes de lutte contre les infections nosocomiales. Un comité de lutte contre les infections nosocomiales vient d'être insaturé et a défini parmi ses objectifs un plan d'action s'appuyant sur un système d'alerte.