



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Projet de Fin d'Etudes

Licence Sciences & Techniques
Sciences Biologiques Appliquées et Santé
(LST - SBAS)

**L'hygiène des mains dans le milieu
hospitalier**

Présenté par: Youssra Znata

Encadré par: Pr. Abdelali TAZI (FST Fès)

Pr. Bouchra Oumokhtar (FMP-Fès)

Soutenu le : 11-06-2019

Devant le jury composé de :

- **Pr : Abdelali TAZI**
- **Pr : Bouchra Oumokhtar**
- **Pr : Mohammed IRAQUI HOUSSAINI**

Stage effectué à: la faculté de médecine et de pharmacie de Fès,

Année universitaire 2018-2019.

Sommaire

I.	Cadre de stage.....	1
•	Les techniques maitrisées Durant la période de stage.....	2
II.	Application pratique	11
•	Introduction.....	11
1^{ère}	Partie : Etude bibliographique	
I.	Historique	13
II.	Définition.....	14
1.	Hygiène des mains.....	14
III.	La Flore cutanée.....	14
1.	Flore résidante.....	15
2.	Flore transitoire.....	15
IV.	Les infections associées aux soins.....	15
1.	Définition.....	15
2.	Le mode de transmission.....	15
3.	Les germes responsables de ce type d'infections.....	16
4.	Le rôle des mains dans la transmission des germes.....	17
5.	L'importance de l'hygiène des mains dans la prévention des infections associées aux soins.....	17
V.	Types de lavage des mains.....	18
1.	Lavage simple.....	18
2.	Lavage antiseptique.....	19
3.	Lavage chirurgical.....	19
4.	Friction hydro-alcoolique.....	20
VI.	Les indications de l'hygiène des mains, pré-requis et techniques.....	21
1.	Les 5 indications de l'hygiène des mains.....	21
2.	Pré-requis.....	22
3.	Techniques de lavage des mains.....	22

2^{ème} Partie : Matériel et méthodes :

I.	Matériel biologique.....	26
1.	Milieu de culture utilisé.....	26
a.	composition de milieu.....	26
b.	préparation de la gélose au sang.....	26
II.	les techniques utilisées Durant l'application du travail qui concerne le theme de stage.....	27
1.	Empreintes des mains.....	27
1.1	Sans hygiene.....	27
1.2	Après un lavage simple avec un savon doux.....	28
1.3	Après une friction SHA des mains.....	28
2.	Empreinte de l'alliance.....	28
2.1	Après un lavage simple.....	28
2.2	Après une friction SHA des mains.....	29

3^{ème} Partie : Résultats et discussion :

I.	Résultats.....	31
II.	Discussion.....	33
	Conclusion.....	36
	Références bibliographiques.....	37

Liste des abréviations

IAS : infections associées aux soins

CDC : Centers for diseases control

SHA : Solution hydro-alcoolique

OMS : Organisation mondiale de la santé

MH : Mueller Hinton

TSA : Tryptic Soy Agar

BHI : Brain Heart infusion

Remerciements

Avant d'entamer ce rapport, je tiens à remercier du fond du cœur toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail,

Je voudrai présenter mes remerciements en premier lieu à la direction et l'ensemble du personnel de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès, de m'avoir accueilli parmi eux pour effectuer un stage au sein du laboratoire de Microbiologie et Biologie Moléculaire, dans les meilleures conditions.

*J'adresse ma reconnaissance au Pr: **Oumokhtar Bouchra**, pour avoir acceptée de diriger ce travail, je lui adresse mes sincères remerciements pour sa compréhension, sa disponibilité et ses conseils précieux.*

*Je tiens à remercier vivement mon encadrant pédagogique Pr: **Tazi Abdelali**, pour sa disponibilité, son encouragement, son soutien et son aide précieux.*

*Mes profonds remerciements s'adressent également à Pr: **Mohammed Iraqui Housaini** qui a accepté de participer et de juger ce modeste travail.*

Ainsi, que tout le personnel du laboratoire qui m'ont toujours soutenu et aidé.

Enfin, je tiens à remercier toutes les personnes qui m'ont encouragé Durant ce travail: mes parents, ma chère sœur et mes amis.



Cadre de stage :

Ce stage a été réalisé au sein du laboratoire de microbiologie de la faculté de médecine et de pharmacie de Fès, durant ce stage nous avons appris plusieurs techniques de microbiologie (préparations des milieux, ensemencement, isolement, identification...) et de biologie moléculaire (Extraction de l'ADN, PCR et électrophorèse).

I) Présentation du Laboratoire de Microbiologie et Biologie Moléculaire :

Le laboratoire de « **Microbiologie et Biologie Moléculaire** » fait partie du Laboratoire de recherche en « **Pathologie Humaine, Biomédecine et Environnement** ».

II) Structure du Laboratoire de Recherche Biologique :

Les différentes équipes dont se compose le laboratoire de **Laboratoire Pathologie Humaine, Biomédecine et environnement** :

- Anatomie Pathologique.
- Microorganismes et Facteurs oncogènes.
- Physiopathologie et Nutrition.
- Génomique et Santé.
- Maladies de l'appareil digestif.
- Les éléments traces Métalliques.



Parmi les techniques maîtrisées pendant la durée de stage :

1. Préparation et stérilisation des milieux de culture :

Durant la période de stage nous avons préparé plusieurs types de milieux :

- **Milieux sélectifs** (ex: EMB et Chapman): se sont des milieux qui favorisent la croissance des certains micro-organismes particuliers et inhibent le développement d'autres micro-organismes indésirables par la présence d'un inhibiteur (antibiotique, colorant, sel...).
- **Milieux non sélectifs** (ex: TSA et MH): c'est un milieu qui ne contient aucune molécule inhibitrice, et qui permet la croissance des bactéries non exigeantes.
« Le milieu MH est utilisé pour la réalisation de l'antibiogramme »
- **Milieu d'enrichissement** (ex: BHI): c'est un milieu liquide qui permet de favoriser la croissance d'une espèce en faible quantité dans un échantillon.
- **Milieu complexe** (ex: Hajna-Kligler): c'est un milieu dont la composition chimique n'est pas très précise puisqu'il est composé de substances complexes, c'est un milieu utilisé pour l'identification des entérobactéries.
- **Milieu synthétique** (ex: citrate se Simmons): c'est un milieu dont la composition chimique de tous les constituants est déterminée avec précision.

Pour préparer chacun de ces milieux, il existe plusieurs conditions qu'il faut respecter :

Tout d'abord dès la réception du milieu de culture, il faut bien consigner le milieu avec la date de réception d'une part, et de conserver le milieu en suivant les recommandations données sur l'étiquette d'une autre part.

Après l'ouverture du produit, il faut vérifier la date de péremption et noter la date d'ouverture du produit.

- Protocole de préparation des milieux :

Pour préparer un milieu de culture il faut suivre les étapes suivantes:

a. Dissolution:

Peser la quantité appropriée du milieu, dans un flacon Mettre en suspension la masse pesée de milieu déshydraté dans le volume de l'eau distillée nécessaire à la reconstitution, agiter lentement la solution puis, porter le mélange à l'ébullition sous agitation constante jusqu'à dissolution complète.

b. Stérilisation:

Après la dissolution totale du produit, porter ce dernier à l'autoclave à 121°C pendant 1h.

c. Refroidissement:

Après l'autoclavage, il est important de refroidir le milieu c'est pour cela, poser le flacon dans un bain d'eau thermostaté à une température comprise entre 44°C et 47°C.

d. Préparation des boîtes de pétri et écoulement des milieux:

- Après la stérilisation et le refroidissement le milieu doit être manipulé dans des conditions aseptiques afin de le protéger contre les contaminations extérieures.
- Avant de couler les milieux, il faut tout d'abord vérifier que toutes les boîtes de pétri sont stériles et en bonne état, puis il est important d'identifier le type de gélose sur la plaque des boîtes de pétri.
- Couler ensuite les milieux dans les boîtes le plus rapidement possible, puis laisser solidifier les géloses.

e. Contrôle de qualité des milieux de culture:

C'est une étape réalisée juste après la préparation des milieux de culture. Avant de les conserver au réfrigérateur à +4°C, il faut réaliser le test de stérilité qui consiste à incuber les boîtes dans une étuve à 35°C pendant 18 à 24h (couverts vers le bas), l'absence de culture bactérienne valide le test.

✚ Remarque :

Concernant la préparation des géloses en tubes, après répartition du milieu en tubes et autoclavage, incliner les tubes de manière à obtenir une pente oblique et un culot de 3cm (si l'on procède à un ensemencement par piqûre dans le culot, ex : c'est le cas pour le milieu Hajna-Kligler).

f. Conservation des milieux:

Conserver les milieux préparés dans le réfrigérateur à une température de 4°C (toujours les couvercles vers le bas).

2. Ensemencement d'un prélèvement:

Nous avons réalisé différentes techniques d'ensemencement:

1.1 Ensemencement sur un milieu solide: pour ce type d'ensemencement on distingue soit des techniques d'ensemencement **sur des boîtes** soit **sur des tubes**.

- Pour les techniques d'ensemencement sur des boîtes de pétri :

- a. **Ensemencement par épuisement:** c'est la technique des 4 quadrants qui consiste à disperser le microorganisme à la surface d'un milieu solide afin d'isoler des bactéries et d'obtenir des colonies séparées. Tout d'abord, déposer le produit ou l'échantillon sur le plus grand quadrat puis étaler. Ensuite retourner la boîte afin d'étaler les bactéries sur un quadrat plus petit, puis retourner afin d'ensemencer le dernier petit quadrat. Les stries doivent être serrées et l'anse de platine doit être flambée entre chaque quadrat.

- **C'est la technique utilisée pour l'ensemencement des milieux sélectifs (EMB et Chapman).**

- Après l'ensemencement, il faut incuber les boîtes dans l'étuve à 37°C pendant 24h pour tous les milieux sauf **le milieu Chapman** qui nécessite une incubation de **48h**.

- b. **Ensemencement en tapis:** c'est la technique utilisée pour la réalisation de l'antibiogramme.

- Pour les techniques d'ensemencement sur tubes :

- ❖ **Pour un milieu incliné en pente** : ensemercer toujours du bas en haut par des stries serrées.
 - ❖ **Pour un milieu en culot** : ensemercement par pique centrale
 - ❖ **Pour un milieu en culot + pente** : commencer par ensemercement de la pente par des stries serrées ensuite, le culot par pique centrale.
- **C'est la technique utilisée pour l'identification biochimique des entérobactéries.**

2.2 Ensementement sur milieu liquide : On peut ensemercer un milieu liquide : soit à partir d'un produit liquide : mettre quelques gouttes dans le milieu à ensemercer à l'aide d'une micropipette. Soit à partir d'un produit solide: écraser la colonie prélevée à l'aide d'une anse de platine ou pipette de pasteur sur la paroi du tube, pour obtenir une suspension homogène.

✚ **Remarque** : les différentes techniques d'ensemencement citées au dessus doivent être effectuées dans des conditions aseptiques.

3. Isolement des colonies:

Après l'ensemencement sur des milieux sélectifs, isoler les différents types de colonies puis, conserver chaque colonie dans un tube qui contient de la gélose nutritive (culture fraîche) ensuite, incuber les tubes dans l'étuve à une température de 37°C pendant 24h.

4. Identification :

4.1 Morphologiquement : selon la taille des colonies, le contour, l'opacité, l'aspect...

4.2 Coloration de Gram :

La coloration de Gram est effectuée à partir de la culture bactérienne afin d'étudier les caractéristiques morphologiques des bactéries, y compris la forme (par exemple: cocci ou bacilles) et de distinguer entre les bactéries Gram + et les bactéries Gram -.

Cette technique de coloration se fait en 2 étapes:

- 1) Préparation d'un frottis bactérien : sur une lame déposer une colonie au milieu de la lame puis ajouter une goutte d'eau distillée et étaler doucement ensuite, fixer la préparation à la flamme par des rotations jusqu'à séchage puis laisser refroidir la lame.
- 2) la coloration: immerger la lame dans la solution de cristal violet pendant 1min puis, immerger la lame dans le lugol en l'agitant et laisser agir pendant 1min cette étape s'appelle « **Mordançage au lugol** » ensuite, verser goutte à goutte de l'alcool sur la lame inclinée, surveiller la décoloration (5 à 10 secondes) enfin, contre colorer avec la solution de safranine pendant 30 secondes à 1min.

NB : un rinçage à l'eau de lame est obligatoire après chaque étape de coloration.

Sécher soigneusement la lame puis passer à l'observation sur microscope optique:

- Bactéries de couleur violet : Gram +
- Bactéries de couleur rose : Gram -

4.3 Identification par des tests biochimiques:

- Pour les Gram – (ex : *pseudomonas aeruginosa*) :

- ❖ **Test d'oxydase** : ce test nous permet de mettre en évidence des bactéries productrices de l'enzyme d'oxydase,

Technique et lecture de résultat :

- ✓ Prendre le disque pré-imprégné par le réactif puis, prélever une colonie à l'aide d'une anse stérile et la déposer sur le disque, si la coloration du disque devient mauve, on peut conclure qu'il s'agit de *pseudomonas aeruginosa*.

- Pour les entérobactéries :

- ❖ **le milieu de Hajna-Kligler** : est un milieu complexe, qui permet la recherche de plusieurs caractères biochimiques (Utilisation du glucose, utilisation du lactose, Production H₂S (formation à la limite du culot et de la pente d'un précipité noir et production de gaz).

Technique et lecture de résultat :

- ✓ Ensemencer abondamment la surface par stries serrées ou par inondation, puis le culot par simple piqûre, à l'aide de la même pipette boutonnée. Après incubation pendant 24h à 37°C.
- ✓ Un résultat positif se traduit par une acidification du milieu (Glucose+ et Lactose+)

❖ **Le milieu citrate de Simmons :** Dans ce milieu le citrate est la seule source de carbone, l'utilisation de ce substrat par la plupart des bactéries pouvant le cataboliser ce qui va provoquer une alcalinisation du milieu (coloration bleue).

Technique et lecture de résultat :

- ✓ La pente estensemencée par une strie longitudinale, réalisée à l'anse, à partir d'une suspension de la culture solide en eau distillée stérile puis incubation pendant 24h à 37°C.
- ✓ Un résultat positif se traduit par une coloration bleue du milieu : citrate +

❖ **Milieu Urée-tryptophane :** Ce milieu nous permet de mettre en évidence les bactéries productrices des enzymes suivantes : (la tryptophanase et l'uréase).

Technique et lecture de résultat :

- ✓ Déposer la suspension fraîche dans un volume de 0,3ml de milieu urée-tryptophane après incubation pendant 24h à 37°C.
- ✓ Un résultat positif se traduit par une coloration rose/rouge du milieu : Uréase+, et la formation d'un anneau rouge après l'ajout d'une goutte du réactif de Kovacs : indole +

❖ **Milieu RM:** Ce milieu nous permet de mettre en évidence les bactéries qui produisent des acides organiques par la voie des acides mixtes.

Technique et lecture de résultat :

- ✓ Ensemencer la culture fraîche dans un milieu RM dont le volume = 0,5ml après incubation pendant 24h à 37°C.

- ✓ Un résultat positif se traduit par une coloration rouge du milieu après l'ajout d'une goutte de rouge de méthyle : RM+
- La confirmation de l'identification biochimique des entérobactéries se fait à l'aide de **l'API 20 E**, cette galerie nous permet de réaliser 23 tests biochimiques afin d'identifier des bacilles Gram – appartenant à la famille des entérobacteriaceae, cette technique est réalisée en 2 étapes :
 - 1) **Préparation de l'inoculum**: Réaliser une suspension bactérienne bien homogène par ensemencement d'une colonie provenant d'une culture jeune (18 à 24h) dans un tube stérile contenant 5ml d'eau physiologique stérile, afin de préparer une suspension d'opacité 0,5 sur l'échelle de Macfarland.
 - 2) **Ensemencement de la galerie** : introduire la suspension bactérienne dans chaque tube à l'aide d'une micropipette stérile : pour les caractères CIT, VP, GEL remplir de suspension le tube et la cupule, pour les autres tests remplir le tube de suspension et recouvrir d'huile de paraffine pour créer de l'anaérobiose.
- Le code obtenu a été déchiffré en se référant au catalogue de l'API 20 E qui nous donne le nom de l'espèce recherchée

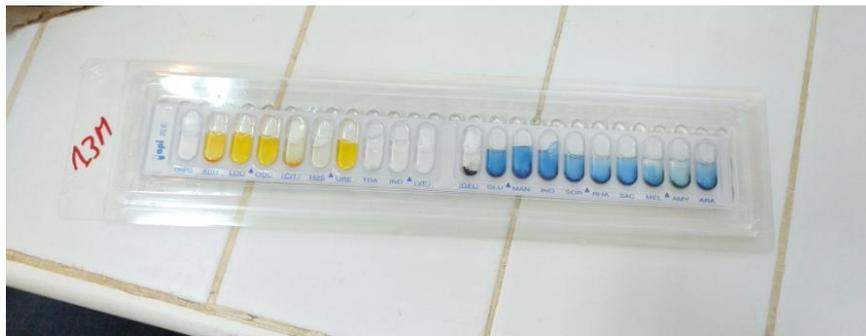


Figure 1: exemple d'une galerie de l'API 20 E

- Pour les Gram + (Ex : *staphylococcus aureus*)

- ❖ **Test de coagulase** : ce test nous permet de mettre en évidence de la coagulase libre qui permet la différenciation des espèces du genre *staphylococcus*, en effet seule l'espèce *staphylococcus aureus* qui possède cette enzyme : coagulase +

Technique et lecture de résultat:

- ✓ Prendre une colonie à partir d'une culture fraîche, dans un tube d'hémolyse ajouter un volume de 0,5ml de milieu BHI puis mettre la colonie dedans à l'aide d'une anse stérile ensuite, incuber le tube dans l'étuve à 37°C pendant 4h à 24h.
- ✓ Un résultat positif se traduit par une coagulation du milieu : coagulase +

- ❖ **Test de catalase**: ce test nous permet de mettre en évidence des bactéries productrices de l'enzyme de catalase, en effet cette enzyme est produite en abondance par les bactéries à métabolisme respiratoire qui peuvent détruire les peroxydes.

Technique et lecture de résultat:

- ✓ Sur une lame propre et sèche déposer une goutte d'eau oxygénée, après à l'aide d'une anse stérile ajouter une colonie sur la lame et observer immédiatement.
- ✓ Un résultat positif se traduit par l'apparition de bulles, dégagement gazeux de dioxygène : catalase +

5. Antibiogramme :

Nous avons réalisé 3 types d'antibiogrammes: pour les entérobactéries, pour *staphylococcus aureus* et pour *pseudomonas aeruginosa*.

- La réalisation de l'antibiogramme se fait en 3 étapes :

- 1) Préparation de l'inoculum : Réaliser une suspension bactérienne bien homogène par ensemencement d'une colonie provenant d'une culture jeune (18 à 24h) dans un tube stérile contenant 5ml d'eau physiologique stérile. Afin de préparer une suspension d'opacité 0,5 sur l'échelle de Macfarland.

- 2) Ensemencement en tapis sur milieu MH : A l'aide d'un écouvillon stérile étaler la suspension sur la gélose par des stries serrées 3 fois afin de recouvrir toute la surface de gélose.
- 3) Déposition des disques d'antibiotiques: A l'aide d'une pince stérile, déposer les disques d'antibiotiques sur la gélose (7 disques pour chaque boîte de pétri).



Figure 2: exemple d'un antibiogramme des entérobactéries

6. PCR :

Nous avons utilisé la technique de PCR pour identifier des bactéries, et pour isoler des gènes de résistance. Chaque cycle de PCR est constitué de 3 étapes : une dénaturation de l'ADN, une hybridation des amorces et une élongation grâce à l'action de la taq polymérase, ces 3 étapes sont réalisées dans un thermocycleur.

La révélation des produits de PCR est réalisée par électrophorèse sur gel d'agarose.

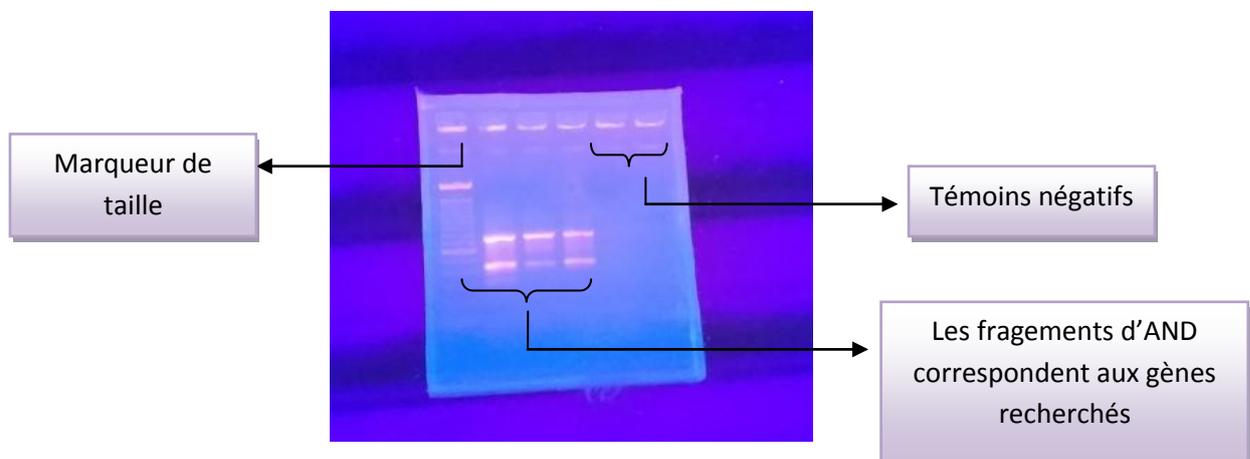


Figure 3: exemple d'une électrophorèse sur gel d'agarose visualisée sous UV

L'application pratique :

Durant cette période de stage, nous avons travaillé sur un sujet qui concerne « l'hygiène des mains dans le milieu hospitalier »

Introduction :

La main constitue la voie principale de transmission des microorganismes pathogènes[1]. Plusieurs études ont montré que la plupart des infections nosocomiales sont d'origine manuportée, et que ces infections peuvent être réduites par l'application de règles d'hygiène.

L'hygiène des mains représente la mesure la plus importante qui vise surtout à éliminer les microbes résultant d'une contamination récente généralement responsable de la transmission des infections en milieu de soins.

La pratique d'une hygiène des mains nécessite la connaissance de ses techniques, la sensibilisation et la formation des équipes et la mise à disposition de produits et des équipements adaptés aux besoins [1].

Ce travail a pour objectif :

- De connaître les flores de l'écosystème cutané.
- De connaître les différents types de lavage des mains.
- De comparer entre le lavage simple et la friction hydro-alcoolique.
- De connaître les conditions à respecter pour avoir une bonne hygiène des mains.

1ère Partie : Etude bibliographique

I. Historique :

- Le lavage des mains avec du savon et de l'eau est considéré depuis des centaines d'années comme mesure d'hygiène personnelle [2].
- Au milieu du 18^{ème} siècle : le Dr **P. Semmelweis** (Obstétricien à l'hospice général de Vienne en 1846).

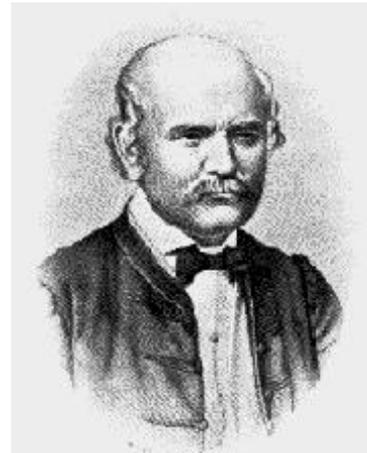


Figure 1: portrait de D^r P. Semmelweis

- Constate que dans la maternité où exercent les sages-femmes **2%** des accouchées décèdent en suite de couches.
- Par contre dans la maternité où exercent les médecins **30%** des accouchées décèdent par la fièvre puerpérale (fièvre consécutive aux accouchements = endométrite).
- Il remarque aussi que les étudiants de médecine ont des cours d'anatomie en salle d'autopsie et ils ne se lavent pas les mains en sortant avant d'examiner les patients.
- Donc, il en conclut que la maladie est transmise aux accouchées par les mains souillées et plus précisément se sont les doigts souillés des étudiants qui vont porter les fatales particules cadavériques dans les organes génitaux vu que la transmission manuportée du processus pathogène des femmes enceintes est surtout au niveau du col de l'utérus.
 - ⇒ Et il propose aux médecins et à leurs étudiants un lavage avec une solution de chlorure de chaux
- Le résultat est remarquable dans le mois suivant la mortalité par fièvre puerpérale devient presque nulle **0.23%**.

Pasteur (1878) met également en évidence le manuportage dans les actes de chirurgie, de même **Joseph Lister** (1867) [3], et **Florence Nightingale** en (1863) ont effectué des travaux concernant l'asepsie en milieu hospitalier [1].

II. Définition

1. Hygiène des mains :

Il s'agit d'un traitement des mains par un savon liquide non médicamenteux ou par un produit (savon ou gel ou solution) ayant un spectre d'activité antimicrobien ciblé sur les microorganismes de la flore cutanée afin de prévenir leur transmission [1].

En général,

L'hygiène des mains : est l'ensemble des techniques et des indications appliquées pour diminuer ou limiter le risque de transmission des micro-organismes pathogènes ou des salissures, ainsi pour prévenir la contamination des personnes ou des objets manipulés, par ces mêmes agents.

III. La flore cutanée

La flore cutanée se trouve sur les couches les plus superficielles de l'épiderme et sur la partie supérieure des follicules pileux et des conduits des glandes sébacées.

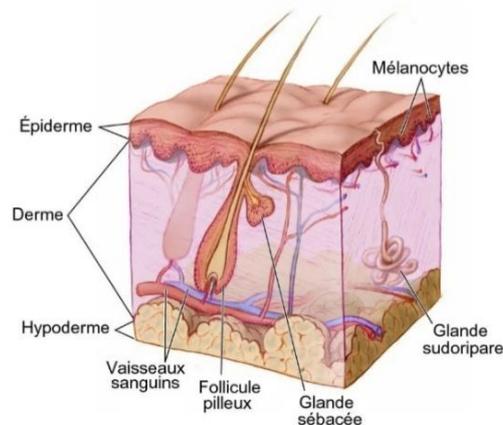


Figure 2 : coupe transversale de la peau

Plusieurs paramètres influencent sur la composition de cette flore tels que :

- **Le climat:**(Température, taux d'humidité, pH).
- **L'âge:** la peau de nouveau né est dépourvue de flore microbienne, l'activité des glandes sébacées augmente à la puberté, favorise la prolifération de plusieurs bactéries, la peau des personnes âgées étant plus sèche, la flore cutanée est moins riche [9].

L'écosystème cutané comprend 2 flores [4] :

1. **La flore résidente** : (peu virulente) c'est une flore non pathogène pour le sujet sain et qui réside de façon stable sur la peau c'est pour cela on parle de la flore permanente ou commensale, elle regroupe des germes commensaux non pathogènes d'où on y trouve essentiellement des bactéries à Gram positif. En effet, ces bactéries sont plus résistantes à l'absence d'humidité que les bactéries à Gram négatif. Les trois genres prédominants sont :

- *Staphylococcus* (essentiellement *Staphylococcus epidermidis* mais aussi d'autres espèces coagulase négative),
- *Corynébactérium*,
- *Propionibacterium* (bactéries corynéformes anaérobies strictes).

➤ Cette flore constitue une barrière efficace contre la colonisation de la peau par des microorganismes [5].

2. **La flore transitoire** : aussi appelée superficielle, c'est la flore responsable des infections nosocomiales d'origine manuportée car elle est instable et la transmission se fait facilement d'individu à l'autre, cette dernière est composée le plus souvent de bactéries saprophytes issues de l'environnement (eau, plantes...), elle peut être également composée de bactéries pathogènes issues de la flore commensale des patients soignés [4].

IV. Les infections associées aux soins

1. **Définition** :

Une infection est dite associée aux soins si elle survient au cours ou à la suite d'une prise en charge d'un patient (diagnostic, thérapeutique ou préventive...) et si elle n'était ni présente, ni en incubation au début de la prise en charge [6].

2. **La voie de transmission** :

Bien que la transmission des microbes soit possible par un véhicule commun (ex: un aliment ou de l'eau contaminés..), les trois principales voies en milieu de soins sont le contact, les gouttelettes et la voie aérienne.

- a. **Transmission par contact** : le transport du microbe d'une personne infectée vers une autre personne se produit de deux façons :
- **directe** : transfert des microorganismes suite à un contact direct (par les mains dans 99% des cas)
 - **indirecte** : environnement souillé, instruments souillés
- b. **Transmission par gouttelettes** :
- **Directe**: lorsque les particules sont projetés sur les muqueuses du visage de l'hôte (yeux, nez et bouche)
 - **Indirecte**: lorsque les microbes survivent dans l'environnement: des gouttelettes se déposent sur des surfaces ou des équipements, et des mains contaminées peuvent les porter aux muqueuses.
- c. **Transmission aérienne**: dans ce cas les microbes sont transportés dans l'air.

3. **Les germes responsables de ce type d'infections** :

Les infections nosocomiales sont un problème de santé publique majeur pour les établissements de soins.

Parmi les bactéries souvent incriminées dans ce type des infections, on trouve trois bactéries qui représentent la moitié des germes isolés:

- ***E. coli*** (26%) qui vit naturellement dans les intestins de chacun.
- ***Staphylococcus aureus*** (16%) présent dans la muqueuse du nez, dans la gorge et sur le périnée d'environ 15 à 30% des individus.
- ***Pseudomonas aeruginosa*** (8.4%), qui se développe dans les sols et en milieu humide (robinets, tuyauteries...).

Dans les autres cas, les germes isolés sont d'autres bactéries comme les streptocoques, des autres entérobactéries, *Clostridium difficile*...

Pour les champignons/levures, les parasites et les virus, ils représentant une proportion très faible 3,7%, 0,4% et 0,2% par rapport à l'ensemble des micro-organismes identifiés.

Parmi les bactéries déjà citées ci-dessus, plusieurs présentent des résistances à des antibiotiques (par exemple : pour *staphylococcus aureus* 38% des souches sont résistantes à la méticilline, parmi les souches de *Pseudomonas aeruginosa* 20% sont résistantes à la ceftazidime...).

- **Ces résistances obligent souvent à changer d'antibiotique au cours du traitement et retardent la guérison.**

4. Le rôle des mains dans la transmission des germes :

Les mains sont couramment en cause dans la transmission des infections parce qu'elles sont souvent contaminées lorsqu'une personne infectée tousse, se mouche, va aux toilettes, etc. Par la suite le microbe passe de la main à une autre personne, à un équipement ou à un élément de l'environnement.

Au cours des soins, les mains du personnel soignant sont progressivement colonisées par des germes potentiellement pathogènes et en l'absence de pratique d'une correcte hygiène des mains, plus les soins durent longtemps, plus le degré de contamination et les risques potentiels associés pour la sécurité des patients sont élevés [Larson et al. 2006].

5. L'importance de l'HM dans la prévention des IAS :

Plusieurs études ont clairement prouvé d'une manière évidente que la mise en œuvre de programmes structurés de contrôle des infections permet de réduire, à moindre coût, le nombre des IAS.

Les principes du contrôle des infections reposent sur des précautions largement simples et bien établies dont l'efficacité a été bien démontrée et reconnue.

Parmi ces précautions on distingue l'hygiène des mains qui représente l'une des importantes précautions « Standard » et la mesure individuelle la plus efficace pour prévenir la transmission des IAS [Allegranzi et al. 2006].

En plus, l'hygiène des mains est classée dans la catégorie 1 des recommandations des CDC,

- D'après la recommandation n°54: « Le lavage des mains constitue le premier moyen de lutte contre L'infection nosocomiale sur le plan historique et sur le plan de l'efficacité. C'est la barrière déterminante pour limiter les infections

nosocomiales à transmission interpersonnel. Il doit intervenir chaque fois que des soins sont effectués successivement d'un malade à l'autre.... » [8].

V. Types de lavage des mains :

Il est classique de distinguer plusieurs types de lavage ou de désinfection des mains d'efficacité,

Le choix de lavage convenable va dépendre de 3 points importants: du niveau de salissure des mains, du niveau de risque infectieux du geste qui va être ou qui a été réalisé et des équipements disponibles dans l'hôpital.

En effet, on distingue 3 types de lavage des mains :

1. Lavage simple :

- C'est un lavage non désinfectant des mains, a pour but de les nettoyer c'est-à-dire de les débarrasser de toute souillure visible ou invisible par une action mécanique réalisée avec un savon doux et de l'eau, dans ce cas une grande partie de la flore transitoire est éliminée en même temps que les souillures, mais il n'a pas d'efficacité sur la flore résidente [9].

- Matériels et produits :

- ✓ Savon doux.
- ✓ Eau du réseau est suffisante.
- ✓ Essuie-mains à usage unique. [1]

- Quand ?

Le lavage simple peut être utilisé dans le cas où le risque infectieux est limité :

- ✓ Mains visiblement souillées.
- ✓ Après le retrait de gants poudrés.
- ✓ A l'arrivée et au départ de son service.
- ✓ Gestes de la vie courante: avant et après le repas, à la sortie des toilettes, après s'être mouché, recoiffé...

2. Lavage hygiénique ou antiseptique :

- C'est un lavage désinfectant des mains réalisé avec un savon antiseptique, vise un effet bactéricide c'est-à-dire vise à détruire les germes potentiellement pathogènes sur les mains, cette désinfection hygiénique a pour but de tuer la flore transitoire, et de diminuer La flore commensale [1].
- Matériels et produits :
 - ✓ Savon antiseptique.
 - ✓ Eau du réseau est suffisante.
 - ✓ Essuie-mains à usage unique.
- Quand ?

Ce type de lavage est nécessaire lorsque les mains sont potentiellement contaminées :

- ✓ Après contact avec des liquides biologiques du patient.
- ✓ Après contact avec des objets potentiellement souillés par des liquides biologiques du patient.
- ✓ Avant et après un soin aseptique.

3. Lavage chirurgical :

- C'est un lavage désinfectant constitue la désinfection préopératoire des mains, ce type de lavage a pour but de détruire la flore transitoire et de réduire la flore résidente. Outre l'effet bactéricide immédiat, cette désinfection des mains vise un effet prolongé de 2 à 6 heures [1].
- Matériels et produits
 - ✓ Solution moussante antiseptique à large spectre (chlorhexidine ou polyvidone iodée).
 - ✓ Brosse à usage unique stérile imprégnée ou non de solution moussante antiseptique, ou brosse douce stérilisée en sachet unitaire.
 - ✓ Essuie-mains stériles.
 - ✓ Robinetterie dégagée (commande non manuelle).
 - ✓ Eau bactériologiquement contrôlée (ou maîtrisée). [1]

- Quand ?

Une désinfection chirurgicale des mains est appliquée:

- ✓ Avant tout acte chirurgical, d'obstétrique et de radiologie interventionnelle
- ✓ Avant tout acte à haut risque infectieux (pose d'un dispositif invasif, exemples: cathétérisme central, ponction lombaire...).

4. Friction avec une solution hydro-alcoolique :

Elle a une action de désinfection efficace et rapide, qui permet d'éliminer la flore transitoire et la flore résidente au même temps.

De plus, la friction avec une SHA aide à prévenir les problèmes de dermatose causée par le lavage fréquent des mains. Parce qu'elle contient des agents émoullissants, ils diminuent l'assèchement de la peau.

- Matériels et produits :

- ✓ Solution ou gel hydro-alcoolique.

- Quand ?

Ce type de désinfection s'effectue seulement sur des mains sèches, et visuellement propres (pas de salissures visibles).

Elle s'effectue immédiatement:

- ✓ **Avant** et **après** une activité de soins.
- ✓ **Avant** et **après** un contact avec un résident.
- ✓ **Après** le retrait des gans non poudrés [5].

Produits	Lavage		Désinfection
	Savon simple	Savon antiseptique	Solution hydro-alcoolique
Elimination de la flore transitoire	90%	99.9%	99.99%
Elimination de la flore résidente	Aucune action	50%	99%
Elimination des souillures	+	+	-

Tableau 1: efficacité selon le type de lavage des mains.

✚ Remarque :

Il existe certains agents infectieux transmissibles par les mains comme :

- Les parasites (sarcopte de la gale = maladie parasitaire contagieuse).
- Les spores (*Clostridium difficile*)

En cas d'infection de l'un de ces agents, les solutions hydro-alcooliques ne sont pas efficaces. Il est donc recommandé de faire un lavage simple des mains suivi d'une friction hydro-alcoolique ou alors un lavage hygiénique des mains.

VI. Les indications de l'hygiène des mains, pré-requis et techniques :

1. Les 5 indications de l'hygiène des mains :

Les indications de l'hygiène des mains représentent les indications décrites dans les recommandations de l'OMS pour l'hygiène des mains au cours des soins, En effet on distingue cinq indications ou cinq moments-clés lors desquels la pratique de l'hygiène des mains est nécessaire.

Les 5 indications de l'hygiène des mains

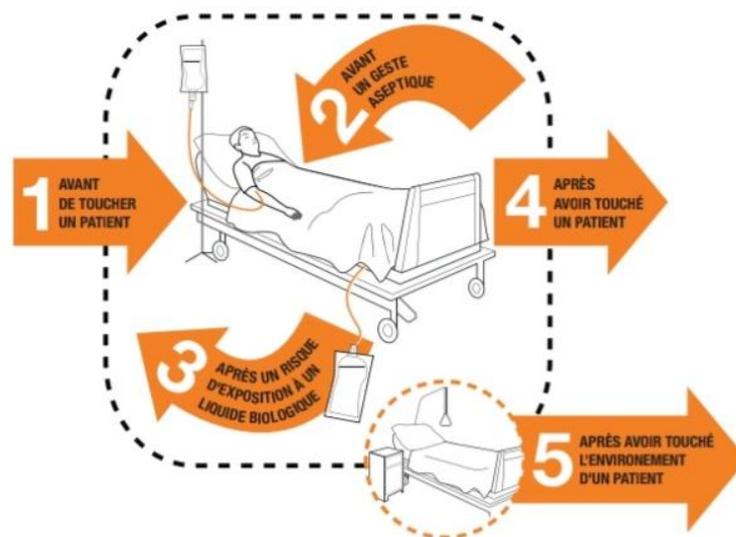


Figure 3: les 5 indications de l'hygiène des mains

- **L'indication 1:** Avant de toucher un patient.

But: pour protéger le patient des germes présents sur les mains.

- **L'indication 2:** Avant un geste aseptique.

But: pour protéger le patient de l'inoculation de germes.

- **L'indication 3:** Après le risque d'exposition à un liquide biologique.

But: pour protéger le professionnel et l'environnement de soins des germes présents sur les mains.

- **L'indication 4:** Après avoir touché un patient.

But: pour protéger le professionnel et l'environnement de soins des germes présents sur les mains.

- **L'indication 5:** Après avoir touché l'environnement d'un patient.

But: pour protéger le professionnel et l'environnement de soins des germes présents sur les mains.

2. Pré-requis :

Pour avoir une bonne hygiène des mains il faut respecter certaines conditions :

- Ne pas porter de bijoux (alliances, bracelets, montre...) aux mains lorsqu'on assure l'hygiène des mains. Les bijoux sont très difficiles à nettoyer car, ils permettent aux bactéries et aux virus d'échapper à l'action mécanique du lavage et du frottage.
- Ne pas porter des ongles artificiels d'ornements à ongles ou d'ongles trop longs car, ils captent les microbes et sont difficiles à nettoyer.
- Ne pas porter du vernis à ongles abîmé, car les bactéries peuvent se loger dans les fissures.
- Porter des manches courtes ou relever celles-ci au dessus des coudes.
- Les cheveux doivent être portés courts ou relevés en chignon en plus qu'ils soient brossés journallement et lavés fréquemment (chaque semaine par exemple).

3. Techniques de lavage des mains :

a. Lavage simple :

- Mouiller les mains abondamment,
- Appliquer suffisamment de savon pour recouvrir toutes les surfaces des mains et frictionner pendant 40 à 60 secondes :
 - ✓ Frotter paume contre paume par mouvement de rotation
 - ✓ Frotter le dos de la main gauche avec un mouvement d'avant en arrière exercé par la paume de la main droite et vice versa,
 - ✓ Les espaces interdigitaux, paume contre paume et doigts entrelacés, en exerçant un mouvement d'avant en arrière,
 - ✓ Les dos des doigts dans la paume de la main opposée avec un mouvement d'aller-retour latéral,
 - ✓ Le pouce de la main gauche par rotation dans la paume refermée de la main droite, et vice versa
 - ✓ la pulpe des doigts de la main droite par rotation contre la paume de la main gauche, et vice et versa.
- Rincer les mains soigneusement à l'eau pour éliminer toute trace de savon, ce temps de rinçage doit être supérieur ou égal au temps de lavage.
- Sécher soigneusement les mains avec une serviette à usage unique.
- Fermer le robinet à l'aide de la serviette de papier.
- Jeter l'essuie-mains dans la poubelle sans la toucher avec la main **[1]**

b. Lavage antiseptique : (même protocole seulement on utilise un savon antiseptique au lieu de savon doux)

c. Lavage chirurgical :

- Mouiller les mains
- Appliquer une dose d'une solution antiseptique
- Faire mousser en gardant les mains au dessus du niveau des coudes
- Frictionner soigneusement à partir des doigts jusqu'à les coudes pendant au moins 1min
- Pendre une brosse stérile et déposer une dose de savon antiseptique sur la brosse mouillée

- Brosser les ongles soigneusement environ 30 secondes pour chaque main
- Rincer abondamment les mains, poignets, avant-bras pendant 2 à 3 min
- Sécher minutieusement avec un essuie-mains stérile à usage unique, en allant des mains vers les coudes
- Maintenir les mains vers le haut
- Ne plus rien toucher [1].

✚ Remarque :

En plus de lavage chirurgical classique cité ci-dessus, une désinfection chirurgicale des mains par friction est aussi valable.

Cette technique comprend tout d'abord, un lavage simple des mains suivi de deux frictions avec une SHA.

d. Friction par solution hydro-alcoolique :

- Remplir la paume d'une main avec le produit hydro-alcoolique, recouvrir toutes les surfaces des mains et frictionner pendant 20 à 30 secondes :



Figure 4: technique de friction par solution hydro-alcoolique.

2ème Partie : Matériel et méthodes :

Matériel et techniques utilisés durant l'application du travail qui concerne le thème de stage :

Ce qui concerne le sujet traité, différentes empreintes des mains et des alliances ont été prises avant et après la réalisation d'un lavage des mains soit un lavage simple avec un savon doux et de l'eau soit une friction avec une SHA,

Ceci dans le but de comparer entre l'efficacité antibactérienne du savon doux et de la SHA d'une part, et de connaître l'effet du port des alliances (accessoires en général) sur l'hygiène des mains d'une autre part.

I. Matériel biologique :

1. Milieu de culture utilisé :

La gélose au sang est un milieu riche, non sélectif qui permet la culture et l'isolement des bactéries exigeantes.

a. Composition de milieu :

Composition de milieu (g/l)
Peptones : 23g
Amidon : 1g
NaCl : 5g
Sang : 5%
pH final : 7,3



Figure 7: la base de la gélose au sang

b. Préparation de la gélose au sang :

- Préparation de la base Columbia : (40g dans un litre de l'eau distillée)

1. Peser la quantité appropriée de la base Columbia (ex: 12g).
2. Dans un flacon, dissoudre la quantité dans un volume de 300ml de l'eau distillée.
3. Porter le mélange à l'ébullition jusqu'à dissolution complète.
4. Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15min.

5. Refroidir le flacon dans un bain d'eau thermostaté à une température comprise entre 44°C et 47°C.
6. A l'aide d'une seringue ajouter 15ml de sang stérile puis, agiter doucement.
7. Couler le milieu dans les boîtes de pétri.
8. Conserver les boîtes à une température de 4°C (les couvercles vers le bas).



Figure 8: les étapes de la préparation de la gélose au sang.

- 1:** la masse et le volume de l'eau distillée nécessaire pour préparer 300ml de la gélose au sang.
- 2:** la base Columbia après dissolution complète.
- 3:** la base coloumbia après l'ajout de 15ml du sang.
- 4:** Faire couler la gélose dans les boîtes de pétri.

II. Les techniques utilisées durant l'application du travail qui concerne le thème de stage :

1. Empreintes des mains :

1.1 Test 1: Sans hygiène.

- Ouvrir la boîte de pétri,
- Poser les mains souillées non lavés à la surface de la gélose avec une pression modérée,
- Refermer la boîte de pétri,
- Incuber la boîte dans l'étuve à une température de 37°C pendant 24h à 48h.

1.2 Test 2: Après un lavage simple avec un savon doux.

- Appliquer un lavage simple avec un savon doux et de l'eau,
- Utiliser un essuie-mains à usage unique,
- Ouvrir la boîte de pétri,
- Poser les mains lavées à la surface de la gélose avec une pression modérée,
- Refermer la boîte de pétri,
- Incuber la boîte dans l'étuve pendant 24h à 48h.

1.3 Test 3 : Après une friction SHA.

Ce test est réalisé selon le même protocole et sur la même gélose seulement on utilise comme produit une SHA.



Figure 9: technique d'empreinte des mains sur gélose.

2. Empreinte de l'alliance :

2.1 Test 4 : Après un lavage simple.

- Appliquer un lavage simple avec un savon doux et de l'eau sans enlever les bagues.
- Utiliser un essuie-mains à usage unique.
- Ouvrir la boîte de pétri.
- Poser l'alliance à la surface de la gélose avec une pression modérée pendant 2 à 3 secondes.
- Refermer la boîte de pétri.
- Incuber la boîte dans l'étuve pendant 24h à 48h.

2.2 Test 5 : Après une friction avec une SHA.

Ce test est réalisé selon le même protocole et sur la même gélose seulement on utilise comme produit une SHA.

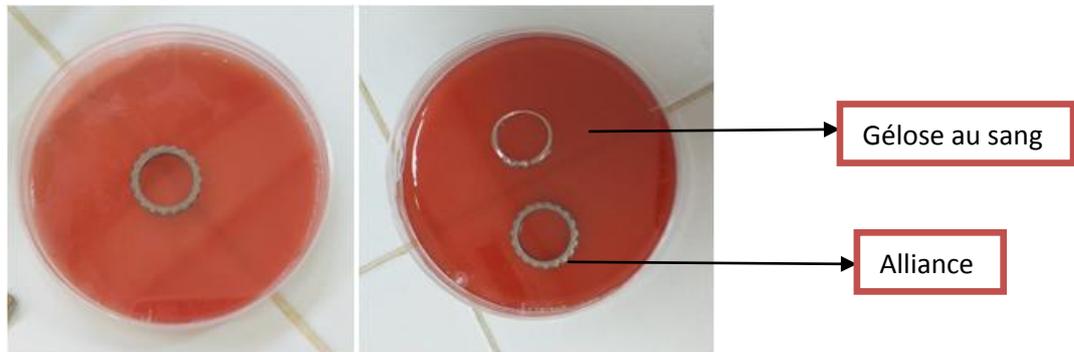


Figure 10: technique d'empreinte de l'alliance sur gélose.

3ème Partie : Résultats et discussion :

I. Résultats :

1. Empreintes des mains :

a) Sans hygiène

▪ Lecture de la gélose :

Après 48h d'incubation dans l'étuve, on observe une charge importante de différents types de bactéries: colonies entourées d'une zone d'hémolyse et d'autres non hémolytiques.



Figure 11: empreinte des doigts souillés

b) Après un lavage simple :

▪ Lecture de la gélose :

Après 48h d'incubation dans l'étuve, on observe l'apparition de quelques types de bactéries: colonies blanchâtres et d'autres entourées d'une zone d'hémolyse.



Figure 12: empreinte des doigts après un lavage simple

c) Après une friction avec une SHA :

▪ Lecture de la gélose :

Après 48h d'incubation dans l'étuve, on remarque une absence presque totale des bactéries.



Figure 13: les colonies obtenues après désinfection par la SHA

	Charge bactérienne	Type de lavage utilisé	Type de produit utilisé
Test n° 1	++++	Sans hygiène	Sans produit
Test n° 2	++	Lavage simple	Savon doux
Test n° 3	+	Friction hydro-alcoolique	SHA

Tableau 2: résultats des différents tests réalisés après 3 gestes d'hygiène des mains.

2. Empreinte de l'alliance :

a) Après un lavage simple

▪ Lecture de la gélose :

Après 48h, d'incubation dans l'étuve, on observe l'apparition des colonies blanchâtres dans l'endroit où on a mis les alliances.



Figure 14: Empreinte de l'alliance après un lavage simple

b) Après une friction SHA :

▪ Lecture de la gélose :

Après 48h, d'incubation dans l'étuve, on observe l'apparition des colonies blanchâtres dans l'endroit où on a mis l'alliance.



Figure 15: Empreinte de l'alliance après une friction SHA

	Test n° 4	Test n° 5
Charge bactérienne	++	++
Type de lavage utilisé	Lavage simple	Friction hydro-alcoolique
Type de produit utilisé	Savon doux	SHA
Résultat sur gélose	Voir figure 12	Voir figure 13

Tableau 3: résultats obtenus des tests réalisés après culture d'alliance.

II. Discussion :

L'objectif de cette étude a été de confirmer l'importance de l'hygiène des mains comme un mode de prévention contre les infections associées aux soins, et de tester l'effet antibactérien de la SHA comme un produit de désinfection des mains, en comparant son efficacité avec le savon doux utilisé dans le lavage simple des mains d'une part, et de montrer l'importance d'enlever les alliances (les accessoires en général) avant tout geste d'hygiène des mains d'une autre part.

D'après l'OMS, L'hygiène des mains est considérée comme la mesure la plus efficace des précautions générales dans la prévention des infections associées aux soins, selon les manipulations que nous avons réalisé « **test 1** » on peut confirmer l'importance de l'hygiène des mains comme un élément-clef de lutte contre les infections nosocomiales et la transmission d'agents pathogènes.

La solution hydro alcoolique (SHA) est une solution (ou gel) à séchage rapide, conçue spécifiquement pour la désinfection des mains. Elle contient de l'alcool, un émollient, et parfois un antiseptique. Ces produits sont actuellement les seuls produits disponibles pour l'inactivation rapide et efficace d'un large éventail de micro-organismes qui peuvent être présents sur les mains. C'est pour cela l'OMS a recommandé d'utiliser ce type de produits dans le cadre du plan de lutte contre les infections nosocomiales. D'après les tests que nous avons réalisé « **le test 3** », on peut confirmer l'efficacité de la SHA comme un produit de

désinfection des mains, mais cette efficacité ne peut pas être obtenue sans le respect de la durée de traitement recommandée pour la friction hydro-alcoolique.

D'un autre côté les SHA possèdent un critère de tolérance comme un facteur d'observance au lavage des mains, afin de tester ce critère, Boyce a comparé de façon prospective la tolérance de la friction hydro-alcoolique par rapport au savon doux, basée sur l'évaluation de l'état cutané (auto évaluation, échelle visuelle, mesure de l'hydratation cutanée). Il montre que les SHA, grâce aux émoullients qu'elles contiennent, sont mieux tolérées que le lavage répété des mains au savon doux [Boyce, 1999].

- Donc, on peut conclure que la désinfection des mains avec une SHA est efficace par rapport au lavage simple avec un savon doux et de l'eau (selon les résultats obtenus après la réalisation **des tests 2 et 3**).

Mais, malgré l'efficacité antibactérienne de la SHA, plusieurs études montrent que l'utilisation d'une friction hydro-alcoolique est préférable au lavage simple si et seulement si le niveau de risque infectieux est bas (gestes hospitaliers non invasifs: examen clinique, kinésithérapie, activité hôtelière, ou après le retrait de gants non poudrés...).

Par contre, Le lavage des mains devient préférable à la friction SHA si les mains sont souillées (en cas de contact avec du sang ou un liquide biologique), mouillées et poudrées.

	Lavage simple	Friction hydro-alcoolique
Type de produit utilisé	Savon doux	SHA
Efficacité antibactérienne	+	+++
Elimination des souillures	+	-
Durée de la procédure	60 à 90 secondes	20 à 30 secondes

Tableau 4: comparaison entre le lavage simple et la désinfection hydro-alcoolique.

le port de bagues (y compris d'une alliance lisse) est associé à des contaminations bactériennes des mains pouvant être à l'origine d'infections nosocomiales, le risque de cette contamination cutanée a été démontré à l'occasion de plusieurs études: Trick montrait en 2003 que le port de bagues est associé à une présence dix fois plus importante de germes colonisant les mains [9]. D'après les résultats observés après la réalisation **des tests 4 et 5** concernant l'empreinte de l'alliance après un lavage simple et une friction hydro-alcoolique on peut confirmer que tout objet ornant les mains doit être éliminé au moment de lavage ou de désinfection des mains, afin d'avoir une parfaite hygiène des mains.

Conclusion

Ce stage a été une très bonne opportunité grâce à laquelle on a pu apprendre et maîtriser diverses techniques de microbiologie (préparation des milieux, ensemencement, identification, antibiogramme...) et même de biologie moléculaire (extraction de l'ADN, PCR, électrophorèse).

Durant ce stage j'ai travaillé sur un sujet dont le thème concerne l'hygiène des mains dans le milieu hospitalier, d'après les tests réalisés et les résultats obtenus on peut conclure que l'hygiène des mains constitue un acte essentiel de prévention hospitalière et de lutte contre les infections nosocomiales.

C'est pour cela, il faut bien choisir le produit de nettoyage en fonction de degré d'efficacité ou de tolérance et de maniabilité, et d'enlever tout accessoire qui peut entraver le nettoyage des mains.

Parmi les produits utilisés durant ce travail : le savon doux et la SHA

le savon doux élimine seulement les salissures et n'a pas d'efficacité sur la flore résidente, par contre la désinfection avec une SHA est beaucoup préférable que le lavage simple car elle est très efficace par rapport au lavage simple avec un savon doux et de l'eau, et même la durée du procédé est rapide.

Il faut bien noter que la désinfection avec une SHA n'est pas valable toujours, mais seulement lorsque le niveau de risque infectieux est bas, autrement dit pour désinfecter les mains avec une SHA, il faut que les mains ne soient ni mouillées ni souillées ni poudrées.

Références bibliographiques

[1]: C Clin Paris Nord: Hygiène des mains, guide de bonnes pratiques, décembre 2001 ,3^{ème} édition.

[2]: World Health Organization. WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care. Geneva: World Health Organization; 2009.

[3]: J.Lister, "On a new method of treating compound fracture, abscess, ETC".The Lancet, July 27, 1867; 90: 95-96.

[4]: Fleurette J. Les flores microbiennes commensales de la peau et des muqueuses antisepsie et désinfection.Ed Eska;1995.

[5]:<http://www.chu-st-etienne.fr/ProfessionnelSante/Hygiene/JourneesInter/2015/11HygieneMains.pdf>

[6]:<https://www.urps-infirmiere-paca.fr/les-bonnes-pratiques/les-infections-associes-aux-soins-ias/>

[7]: Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France. Comité Technique National des Infections Nosocomiales. 100 recommandations pour la surveillance et la prévention des infections nosocomiales.BEH 1992, numéro spécial, 1ère édition.

[8]: <http://www.md.ucl.ac.be/didac/hosp/cours/main.htm>.

[9]: Trick w, Vernon m, hayes r, et al. Impact of ring wearing on hand contamination and comparison of hand hygiene agents in hospital. Clin Infect Dis 2003; 36: 1383-1390.