

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالمة
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité/Option: Biologie- Santé et Hygiène hospitalière

Département: Biologie

Thème :

La contamination bactériologique des masques à oxygène dans les établissements publique de santé de proximité de la ville du Guelma

Présenté par : Khallouf Selma

Maizi Rima

Devant le jury composé de :

Benhalima L	Président	Université de Guelma
Amri S	Examineur	Université de Guelma
Braik A	Encadreur	Université de Guelma
Abdaoui W	Membre	Université de Guelma
Merabet R	Membre	Université de Guelma
Boussadia M	Membre	Université de Guelma

Juin 2017

Remerciements

Avant tout nous remercions Dieu le tout puissant, le Miséricordieux de nous avoir donné le courage, la force, la santé et la persistance et de nous avoir permis de finaliser cette étude dans de meilleurs conditions.

Avec une rigueur et un intérêt constant Mme Braïk A a dirigé ce travail avec beaucoup d'enthousiasme en nous faisant bénéficier de ses compétences scientifiques. Nous tiendrons à lui exprimer notre très grande reconnaissance et le témoignage de notre profond attachement pour l'attention qu'elle a porté à ce travail, pour les encouragements, pour la confiance qu'elle nous a toujours témoignée, sa constante disponibilité et la gentillesse dont elle a fait preuve à notre égard.

Notre sincère remerciement d'avoir accepté la responsabilité de cette étude malgré vos nombreuses obligations.

Nos remerciements les plus sincères vont aussi aux membres du jury, Mme Benhalima L. qui nous fait l'honneur de présider le jury et Mme Amri S. pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous tiendrons aussi à exprimer notre profonde gratitude au Giradi Abderrahmane, Directeur de la Direction de la Santé et de la Population de la ville du Guelma qui nous a toujours accueilli avec une gratitude sympathie et bienveillance tout au long de ce travail et qui nous a guidé dans la méthodologie de recherche.

Son enthousiasme, son dynamisme, son disponibilité, son écoute et ses remarques constructives nous ont chaque fois permis de rebondir dans les moments difficiles. Nous le remercions vivement pour l'aide

scientifique précieuse et tous les conseils qu'il a pu nous fournir et vraiment c'est grâce à lui que nous sommes parvenues à achever ce travail.

Un remerciement spécial et chaleureux à Mme Amri S maître assistante à l'Université de Guelma pour les conseils qu'elle n'a cessé de nous prodiguer durant nos séjours au laboratoire de microbiologie malgré ses importantes charges.

Nous profitons de cette occasion d'exprimer notre profonde reconnaissance à Aziz chef service des laboratoires de l'hôpital Ibn Zohr pour les réactifs qu'il nous a offerts.

Et plus nous sommes également très redevables à tous les ami(e)s du Laboratoires 5 et 10 de Microbiologie de l'Université du Guelma qui n'ont jamais été en retrait pour apporter leur aide et en particulier: Rahim, Youcef, Ahmed, Wissem et Hayet qui ont été toujours près de nous nous les remercions pour leurs soutien moral et matériel, leurs conseils et de leurs expériences au sein du Laboratoire pour lesquels nous ne trouvons pas les mots justes pour décrire ce que nous éprouvons envers eux après ces jours passés ensemble. Nous avons beaucoup appréciés leurs qualités humaines et les échanges scientifiques et culturels que nous avons eus Grand MERCI à tous.

Dédicace

Avec un énorme plaisir, une immense joie, une grande sincérité et fierté je dédie ce modeste travail :

A mon cher père «Hamid» pour ses encouragements incessants et son soutien moral aux moments difficiles qui furent pour moi les meilleurs gages de réussite. Qu'il trouve dans ce travail la preuve modeste d'une reconnaissance infinie et d'un profond amour.

A mon adorable mère «Samira» qui est toujours présente et continue de l'être pour faire mon bonheur. Merci pour être sacrifiée pour que ces enfants grandissent et prospèrent que dieu tout-puissant la protège et lui procure une bonne santé et qu'elle trouve ici la preuve de ma reconnaissance infinie.

A mon âme sœur ; mon cher mari «Chaïb Samir» : ses sacrifices, son soutien moral, sa gentillesse sans égal, son profond attachement m'ont permis de réussir mes études. Merci d'être toujours à mes côtés pour me soutenir, pour m'aider, pour m'apporter son réconfort, mais surtout pour donner du goût à ma vie par son amour et sa tendresse, j'espère qu'il trouve ici le témoignage de mon profond amour, affection et attachement.

A mon cher frère «Mohammed Yazid» et adorable sœur «Achouak» pour leur encouragement et leur amour éternel.

A ma belle-famille qui m'avez accueilli à bras ouverts dans leur famille en témoignage de mon attachement, de l'amour et de respect que dieu les protège et leurs donne une vie pleine de réussite et de bonheur.

SELMA

Dédicace

Je dédie ce mémoire à celle qui m'a donnée la vie qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, à ma très chère mère, Tu représentes pour moi le symbole de la bonté, la source de la tendresse et l'exemple de dévouement.

A mon cher père qui a été mon ombre durant toute ma vie, qui a veillé à me donner l'aide, à m'encourager et me protéger. Aucun dédicace ne serait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai toujours eus pour vous, que dieu vous bénisse.

«Soyez au paradis inchalah»

A mon twin Mondher, tu es mon ange gardien et mon Fidèle accompagnant, que dieu te Protège.

A mon feisty Dirar, tu représentes pour moi le soutien, le courage et l'amour. que dieu te Protège.

A mon petit ange Nidal, tu n'étais jamais mon Frère tu es toujours mon petit fils, je t'aime et que dieu te Protège.

A mes cheres amies Fedia, Afef, et Rawya, qui m'ont soutenu, merci d'être les meilleurs.

A tout les membres de ma famille , grands et petits, mes oncles paternelle et maternelle et tous ceux que j'aime je vous dis merci.

Rymy

Table de matières

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction.....	1

Etude bibliographique

Chapitre I : Milieu hospitalier

1. Le milieu hospitalier.....	2
1.1. Définition.....	2
1.2. Les services du milieu hospitalier	2
2. Infection nosocomiale	3
2.1. Définition	3
2.2. Types des infections nosocomiales	3
2.2.1. Infections urinaires.....	4
2.2.2. Pneumopathie	4
2.2.3. Infection du site opératoire.....	4
2.2.4. Bactériémie.....	4
2.2.5. Septicémie	5
2.3. Mode de transmission.....	5
2.3.1. Transmission endogène	5
2.3.2. Transmission exogène	5
3. Les bactéries présentes dans le milieu hospitalier	6
3.1. Les entérobactéries	6
3.1.1. Classification phylogénique des Entérobactéries.....	6
3.1.2. Caractères bactériologiques.....	6
3.1.3. Le genre Enterobacter (Enterobacter cloacae)	7

3.1.4. Le genre Serratia	7
3.1.5. Le genre Salmonella (Salmonella enterica)	7
3.1.6. Le genre Yersinia (Yersinia Enterocolitica).....	8
3.1.7. Le genre Raoultella (Raoultella ornithinolytica).....	8
3.1.8. Le genre Escherichia (Escherichia coli).....	8
3.2. Les non entérobactéries	8
3.2.1. Le genre Pseudomonas.....	8
3.2.2. Le genre Burkholderia (Burkholderia cepacia).....	9
3.2.3. Le genre Vibrio (Vibrio vulnificus)	10
3.2.4. Le genre Aeromonas (Aeromonas hydrophila)	10
3.2.5. Le genre Sphingomonas (Sphingomonas paucimobilis).....	11
3.2.6. Le genre Aerococcus (Aerococcus viridans)	12
3.2.7. Le genre Staphylococcus.....	12

Chapitre II : Oxygénothérapie et contamination

1. Oxygénothérapie.....	14
1.1. Les moyens de raccordement	14
1.1.1. Les sondes nasales à oxygène	14
1.1.2. Les lunettes nasales	14
1.1.3. Le cathéter transtrachéal.....	14
1.1.4. La cloche de Hood.....	15
1.1.5. Les masques à oxygène	16

Etude expérimentale

Chapitre III : Matériel et méthodes

1. Présentation du lieu de travail	20
2. Protocole expérimental.....	21
2.1. Prélèvement	21

2.2. Dénombrement	22
2.3. Mise en culture	23
2.3.1. Enrichissement	23
2.3.2. Isolement	23
2.3.3. Purification	25
2.3.4. Conservation.....	25
2.3.5. Identification	26

Chapitre IV : Résultats et discussion

I. Résultats.....	29
1. Dénombrement bactérien.....	29
2. Caractères macroscopique	29
3. Observation microscopique	31
3.1. Milieu Chapman	31
3.2. Milieu Hektoen.....	31
3.3. Milieu SS et Cétrimide	32
3.4. La gélose nutritive	32
4. Identification biochimique.....	33
II. Discussion	37
Conclusion.....	39
Références bibliographiques.....	40
Annexes	
Resumé	

Liste des abréviations

API : Analytical Profile Index.

BPCO : Broncho-pneumopathie chronique obstructive.

CHU : Centre hospitalier universitaire.

Cm : Centimètre.

C : Colonie.

D : Dilution.

EPSP : Etablissement publique de santé de proximité.

H : Heure.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

H₂O : Oxyde d'hydrogène (Eau).

ml : Millilitre.

NaCl : Chlorure de sodium.

O₂ : Oxygène.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

PVC : Polychlorure de vinyle.

SS : Salmonella-Shigella.

UFC : Unité formant colonie.

V : Volume.

°C : Degré Celsius.

% : Pourcentage.

Liste des figures

Figure 1 : Sonde nasale.....	14
Figure 2 : Lunette nasale.....	15
Figure 3 : Cathéter transtrachéal.....	15
Figure 4 : Cloche de Hood.....	16
Figure 5 : Composants du masque à oxygène.....	16
Figure 6 : Masque a haute concentration.....	18
Figure 7 : Masque à oxygène simple.....	18
Figure 8 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.....	21
Figure 9 : Etape de dilution.....	22
Figure 10 : Technique de dénombrement.....	23
Figure 11 : Histogramme présentatif de dénombrement bactérien.....	29
Figure 12 : Observation microscopique des cocci en grappe de raisin.....	31
Figure 13 : Observation microscopique sur milieu Hektoen.....	32
Figure 14 : Observation microscopique sur gélose nutritive.....	33

Liste des tableaux

Tableau 1 : Démarche de l'analyse bactériologique.....	20
Tableau 2 : Caractères macroscopique des colonies bactériennes isolées.....	29
Tableau 3 : Résultats de l'identification biochimique des Entérobactéries.....	34
Tableau 4 : Résultats de l'identification biochimique des non Entérobactéries.....	35
Tableau 5 : Résultats de l'identification biochimique des Staphylocoques.....	36
Tableau 6 : Résultats de l'identification biochimique des Streptocoques.....	36

Le milieu hospitalier, de par sa fonction d'assurer la qualité et la sécurité des soins, a toujours été et reste de plus en plus une structure à haut risque d'infections nosocomiales. Les infections nosocomiales demeurent un problème crucial de santé malgré les avancées remarquables de la médecine au cours des dernières années. Selon L'organisation mondiale de la santé plus de 1,4 millions de personnes dans le monde souffrent de complications infectieuses induites par les soins (OMS, 2008). Cependant la cause majeure à l'origine de ces infections est le manque d'hygiène qui doit être toujours au cœur du fonctionnement des établissements hospitaliers. En effet, les milieux hospitaliers demeurent toujours confrontés aux difficultés d'hygiène qui entravent la sécurité des soins (Machado, Abelha, 2016).

Selon l'OMS la prévalence maximale des infections nosocomiales s'observe dans les unités de soins intensifs et dans les services d'urgence. Cependant, certaines maladies infectieuses peuvent être transmises par le biais des dispositifs médicaux réutilisables tels que les masques à oxygène mal décontaminé ou non désinfecté (Kowalski, 2016).

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressées à rechercher l'éventuelle présence des bactéries dans les masques à oxygène dans les EPSPs de la ville de Guelma et d'évaluer les moyens de désinfection de ces dispositifs médicaux.

Nous avons structuré notre mémoire en quatre chapitres. Le premier et le deuxième représentent la partie théorique, rassemblant d'une part les infections nosocomiales et les bactéries présentes dans le milieu hospitalier, et d'autre part la contamination bactérienne des masques à oxygène.

Le troisième chapitre est expérimental : consacré aux méthodes et aux techniques employées pour la recherche et l'identification des bactéries présentes dans les masques à oxygène. Quant au dernier chapitre, il traite les différents résultats obtenus au cours de notre étude pratique suivi de leur discussion.

1. Le milieu hospitalier

1.1. Définition

Selon l'organisation mondiale de la santé (O.M.S) le milieu hospitalier a deux définitions : la première est pratique; « établissement desservi de façon permanente par au moins un médecin et assurant aux malades outre l'hébergement, les soins médicaux et infirmiers » l'autre définition décrit la fonction que ce milieu devrait assumer; « élément d'une organisation de caractère médical et social dont la fonction consiste à assurer à la population des soins médicaux complets, curatifs et préventifs.» (Astagneau, Ancelle, 2011).

Dans la plupart des pays développés le centre hospitalier présente l'avantage d'avoir :

- Une hygiène assurée par un personnel de nettoyage formé.
- Un accueil permanent et une surveillance continue par du personnel hospitalier médical et paramédical.
- Des équipes de soignants disposant de compétences particulières (médecins spécialistes) et de matériel (plateau technique) nécessaire à des examens et soins plus poussés (Nzabamwita, 2013).

1.2. Les services du milieu hospitalier

Le milieu hospitalier peut avoir plusieurs services qui prennent en charge les soins médicaux généraux et reçoivent vingt-quatre heures sur vingt-quatre toutes personnes se présentant en situation d'urgence médicale ou chirurgicale (Paycheng, Szerman, 2006). Ces services s'intéressent à l'étude et aux traitements des affections touchant l'appareil urinaire, l'appareil respiratoires, l'appareil cardio-vasculaire, l'appareil digestif en surveillant la survenue des cancers (Druais, Goazion, 2009). Les services s'occupent également de l'analyse de différents fluides de l'organisme en prenant en charge les pathologies infectieuses (Bernard *et al.*, 1992).

Environ 5% des patients qui séjournent à l'hôpital contractent une infection au sein de l'établissement. Le risque varie selon le profil du patient, le niveau d'hygiène ou encore les soins pratiqués. Plusieurs travaux de recherche sont en cours pour mieux comprendre la dynamique de ces infections, les prévenir et les guérir car en médecine, le « risque zéro » n'existe pas. Pour cette raison il n'est pas toujours possible d'éviter ces infections dites nosocomiales (Bonnet, Jaffre, 2003).

2. Infection nosocomiale

2.1. Définition

Une infection est dite nosocomiale quand elle est contractée au cours d'une hospitalisation. Elle est donc absente au moment de l'admission du patient dans l'établissement et se déclare au minimum 48 heures après l'admission (Hocquet Berg, Py, 2006).

Les infections nosocomiales sont liées aux soins. Elles sont dues à l'introduction d'un microbe en un site normalement stérile du corps (lors d'un geste invasif). Cette rupture des premières défenses naturelles contre l'infection autorise l'inoculation de germes dans des tissus ou des organes profonds où ils vont s'établir, se multiplier et provoquer une infection. Les infections nosocomiales peuvent être également liées à l'environnement hospitalier. Les microbes présents dans l'environnement (eau, air, poussières, autres malades, personnels eux-mêmes infectés) infectent le malade par voie respiratoire, digestive ou par contact. Il s'agit par exemple de la légionellose véhiculée par le système d'air conditionné ou le réseau d'eau ou de l'aspergillose dont les spores mises en suspension dans l'air sont inhalées par les personnes hospitalisées (Hygis, 1998).

2.2. Types des infections nosocomiales

Les infections nosocomiales n'ont pas la même fréquence. Elle dépend d'une part de l'état du patient et d'autre part de la virulence de l'agent infectieux. Les infections urinaires sont les plus nombreuses (30%) viennent ensuite les pneumopathies (16,7%), les infections du site opératoire (13,5%) et les bactériémies / septicémies (10,1%) (Daugeret *al.*, 2010).

2.2.1. Infections urinaires

Les infections urinaires ou plus précisément les infections du tractus urinaire souvent liées à la pose de sondes urinaires. Ces infections peuvent être localisées dans les voies urinaires basses (cystite, urétrite, prostatite, épидидymite) ou hautes (pyélonéphrite ou

pyélite) causées par des micro-organismes le plus souvent des bactéries telles que : *Escherichia coli* (75 % des cas), *Proteus mirabilis*, *Klebsiella* en ajoutant *Staphylococcus saprophyticus* dont la fréquence oscille entre 5 et 25 % des cas (Lobel, Soussy, 2007).

2.2.2. Pneumopathie

Une pneumopathie nosocomiale correspond à toute pneumonie associée aux soins, survenant chez un malade dont la respiration est assistée par une machine, par l'intermédiaire d'un tube endotrachéal, d'une trachéotomie, d'un masque facial ou d'un autre procédé. Elle est généralement provoquée par des bactéries, les plus fréquentes sont les pneumocoques, les streptocoques, les staphylocoques, les légionnelles et *Haemophilus influenzae* (Aubier, 2009).

2.2.3. Infection du site opératoire

Les infections du site opératoire sont des infections survenant dans les 30 jours suivant l'intervention ou dans l'année s'il y a eu pose d'une prothèse ou d'un implant. Les germes responsables d'une infection du site chirurgical sont normalement inoculés durant l'intervention et proviennent de la peau ou des muqueuses non stériles touchées durant l'intervention. Ils peuvent provenir d'un foyer infectieux distant : le personnel chirurgical, l'environnement de la salle opératoire et tous les instruments qui entrent en contact avec le site opératoire (Pebret, 2003). Ils sont généralement des *Staphylocoques doré*, ou à coagulase-négatifs, des *Entérocoques*, des *Mycobactéries*, aussi que *Escherichia coli*, *Klebsiella spp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp* et *Nocardia spp* (Fourcade et al., 2014).

2.2.4. Bactériémie

C'est un état transitoire se caractérisant par le passage momentané des bactéries dans le sang sans entraîner pour autant des manifestations pathologiques (Bouchard, 2015).

2.2.5. Septicémie

La septicémie se caractérise par des décharges importantes et répétées dans le sang de germes pathogènes provenant d'un foyer infectieux (Sholtis Brunner *et al.*, 2011).

2.3. Mode de transmission

Le milieu hospitalier met en présence des individus sains et des patients présentant des pathologies variées dont chacun en se déplaçant dans les locaux et en déplaçant du matériel

disperse des germes qui peuvent notamment se retrouver nombreux sur les chaussures, poignées de porte, interrupteurs, dispositifs médicaux, surfaces et dans l'air (Hygis, 1998).

Deux grands modes de transmission sont distingués:

2.3.1. Transmission endogène

Le patient s'infecte par ses propres germes, les portes d'entrée sont les lésions des muqueuses, les lésions cutanées (plaies, brûlures, maladies de peau). Ce mécanisme est favorisé par différents facteurs; la dissémination des germes du patient dans son environnement (le lit), par l'utilisation de traitement pouvant altérer l'immuno-compétence (corticostéroïdes, immunosuppresseurs...), par l'administration de traitements sélectionnant certaines bactéries (antibiothérapie à spectre large...) (Hygis, 1998).

2.3.2. Transmission exogène

Il existe trois types de transmission exogène.

a. Hétéro-infection

Dans ce cas, le germe responsable de l'infection nosocomiale provient d'un autre malade, la transmission étant le plus souvent manuportée par le personnel soignant intervenant auprès de plusieurs patients disséminant ainsi les germes d'une personne à l'autre. Ces infections sont dites « croisées » et c'est le mode de contamination le plus fréquemment retrouvé lors d'épidémies (Hygis, 1998).

b. Xéno-infection

Dans ce cas les agents pathogènes sont transmis par des personnes venant de l'extérieur (personnel soignant, visiteurs) et présentant eux-mêmes une pathologie infectieuse déclarée ou en cours d'incubation.

Ce mode de transmission n'est cependant pas à négliger car il peut être dévastateur pour les patients particulièrement fragiles (Hygis, 1998).

c. Exo-infection

Ce mode de transmission est dû à un dysfonctionnement technique d'un matériel (masque à oxygène, filtre à air, autoclave, ...) destiné à la protection des patients ou à une erreur commise dans l'exécution des procédures de traitement du matériel médico-chirurgical (Hygis, 1998).

3. Les bactéries présentes dans le milieu hospitalier

3.1. Les entérobactéries

3.1.1. Classification phylogénique des Entérobactéries

Les Entérobactéries sont classées comme suit (Freney *et al.*, 2000)

Règne	<i>Eubacteria</i>
Embranchement	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Enterobactériales</i>
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>

Les espèces les plus souvent isolées en bactériologie clinique appartiennent aux genres *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella* et *Yersinia* (Delarras, 2007).

3.1.2. Caractères bactériologiques

Les entérobactéries sont généralement des bacilles à Gram négatif de dimension moyenne, immobiles ou mobiles par ciliature péritriche, non exigeantes, aéro-anaérobies facultatifs, non sporulés, oxydases négatif, nitrates réductases positif (Freney *et al.*, 2000).

Leur abondance dans l'intestin, leur rapidité de multiplication, et leur fréquente résistance aux antibiotiques expliquent qu'elles soient les bactéries les plus impliquées en pathologie infectieuse humaine surtout en milieu hospitalier (Freney *et al.*, 2000).

3.1.3. Le genre *Enterobacter* (*Enterobacter cloacae*)

Ce genre comprend plusieurs espèces telles que *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter gergoviae*, *Enterobacter sakazakii* (Subhash, 2009).

Enterobactercloacae est considérée comme l'espèce type du genre *Enterobacter*, rencontrée souvent dans le sol, dans l'eau et peut se loger dans l'intestin de l'homme, pouvant causer de nombreux types d'infections y compris des abcès cérébraux, des pneumonies, des méningites, des septicémies, des infections de plaies, des infections des voies urinaires et des infections de la cavité abdominale ou des intestins (Subhash, 2009).

3.1.4. Le genre *Serratia*

Les plus connues de ce genre sont : *Serratia marcescens* et *Serratia odorifera*. D'une manière générale ce genre se trouve dans l'air, l'eau, le sol et le tube digestif, et peut causer une infection dans plusieurs sites y compris les voies urinaires, les voies respiratoires et les plaies. C'est aussi une cause des septicémies, des bactériémies associées au cathéter, des suppurations, des endocardites ainsi que des méningites (Falkow *et al.*, 2006).

3.1.5. Le genre *Salmonella* (*Salmonella enterica*)

Ce genre ne contenant qu'une seule espèce : *Salmonella enterica* divisée en 7 sous-espèces. La presque totalité des souches responsables d'infections humaines appartiennent à une sous espèce également dénommée *Enterica*. (Dromigny, 2011). On distingue près de 2000 sérovars dans cette sous espèce désignant chaque sérovar par un nom rappelant soit son pouvoir pathogène (*Salmonella choleraesuis*) soit le nom de la ville du premier isolat (*Salmonella* London) (Gentilini, 2012).

Salmonella enterica se retrouve fréquemment dans les milieux aquatiques pollués et dans les aliments notamment les viandes, le lait et les œufs. Elle peut causer trois manifestations cliniques différentes : septicémie, forme digestive et forme extra digestive (Dromigny, 2011).

3.1.6. Le genre *Yersinia* (*Yersinia Enterocolitica*)

Ce sont des bactéries présentes dans l'eau, le sol, sur les végétaux, sur les animaux malades, mais également chez l'homme. Sur le plan pathologique elles provoquent des entérites, des syndromes de la fosse iliaque droite, des érythèmes noueux et des arthrites (Denis *et al.*, 2007).

3.1.7. Le genre *Raoultella* (*Raoultella ornithinolytica*)

Ce sont des bactéries ubiquitaires présentes dans le tube digestif et dans l'appareil respiratoire de l'homme et l'animal en tant que bactéries commensales. Elles sont associées à diverses infections telles que les infections des voies respiratoires, le syndrome de la fièvre entérique et la pancréatite (Dromigny, 2011).

3.1.8. Le genre *Escherichia* (*Escherichia coli*)

E. coli est l'espèce la plus représentée dans le tube digestif de l'homme et l'animal. Elle est souvent responsable des infections urinaires, des suppurations péritonéales, biliaires,

appendiculaires ou génitales, des bactériémies, des méningites, des septicémies et des syndromes diarrhéiques (Nauciel, Vildé, 2005).

3.2. Les non entérobactéries

3.2.1. Le genre *Pseudomonas*

a. Classification phylogénique (Delarras, 2014)

Règne:	<i>Bacteria</i>
Embranchement:	<i>Proteobacteria</i>
Classe:	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre:	<i>Pseudomonadales</i>
Famille:	<i>Pseudomonadaceae</i>
Genre:	<i>Pseudomonas</i>

Ce genre comprend plus d'une centaine d'espèces ubiquitaires (*Pseudomonas aeruginosa* est l'espèce type généralement appelée bacille pyocyanique) (Delarras, 2014).

b. Caractères bactériologiques

Les bactéries du genre *Pseudomonas* sont des bacilles à Gram négatif, généralement mobiles par ciliature polaire, peu exigeantes, aérobies stricts, oxydases positif, non sporulées, isolées ou en diplobacilles souvent pigmentées.

Elles sont largement répandues dans l'environnement notamment dans le sol, l'eau, les plantes. On les rencontre aussi au niveau de la peau, de l'appareil respiratoire supérieur, de l'oreille externe et du tube digestif chez l'individu sain. Ce genre est trop souvent fréquent dans les hôpitaux du fait de sa grande résistance aux antibiotiques. Il préfère les milieux humides tels que les robinets, les siphons, les lavabos, les nébuliseurs et les humidificateurs causant des dysfonctionnements pulmonaires, des septicémies, des infections urinaires et d'autres infections superficielles telles qu'une conjonctivite, folliculite et l'otite (Delarras, 2014).

3.2.2. Le genre *Burkholderia* (*Burkholderia cepacia*)

Ce genre comporte neuf espèces différentes dont l'espèce type est *Burkholderia cepacia* (Coenye, Vandamme, 2007).

a. Classification phylogénique (Delarras, 2014).

Règne:	<i>Bacteria</i>
Embranchement:	<i>Proteobacteria</i>
Classe:	<i>Betaproteobacteria</i>
Ordre:	<i>Burkholderiales</i>
Famille:	<i>Burkholderiaceae</i>
Genre:	<i>Burkholderia</i>
Espèce:	<i>Cepacia</i>

b. Caractères bactériologiques

Ce sont des bâtonnets à Gram négatif, mobiles, aérobies obligatoires, ubiquitaires généralement retrouvées dans l'eau et le sol. Elles provoquent le plus souvent des pneumonies, des infections de la sphère ORL, des infections oculaires, des infections urinaires, des septicémies et des bactériémies secondaires liées à une contamination de cathéter et de solutés injectables (Denis *et al.*, 2007).

3.2.3. Le genre Vibrio (*Vibrio vulnificus*)**a. Classification phylogénique** (Delarras, 2014).

Règne	<i>Bacteria</i>
Embranchement	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Vibrionales</i>
Famille	<i>Vibrionaceae</i>
Genre	<i>Vibrio</i>
Espèce	<i>Vulnificus</i>

b. Caractères bactériologiques

Ces bactéries halophiles en forme de bâtonnet, sont des Gram négatifs, mobiles, aéro-anaérobies, oxydases positif et nitrates réductases positif. Elles vivent en saprophytes dans les eaux douces et salées. Cette espèce non cholérique est responsable des maladies graves exclusivement humaine: une cellulite, gastro-entérite, une septicémie (Delarras, 2014).

3.2.4. Le genre *Aeromonas* (*Aeromonas hydrophila*)

a. Classification phylogénique (Didier, 1998)

Règne:	<i>Bactéria</i>
Embranchement:	<i>Protéobactéria</i>
Classe:	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre:	<i>Aeromonadales</i>
Famille:	<i>Aeromonadaceae</i>
Genre:	<i>Aeromonas</i>
Espèce:	<i>Hydrophila</i>

b. Caractères bactériologiques

Ce sont des bactéries à Gram négatif, mobiles, chimio-organo-hétérotrophes, mésophiles, aéro-anaérobies, non sporulées, catalase, oxydases et nitrates réductases positif. Elles se trouvent dans les eaux douces, salées et les eaux d'égouts, causant des pathologies digestives et extra digestives, infections oculaires, des pneumonies et parfois des septicémies (Didier, 1998).

3.2.5. Le genre *Sphingomonas* (*Sphingomonas paucimobilis*)

a. Classification phylogénique (Chaby, 2010)

Règne:	<i>Bacteria</i>
Embranchement:	<i>Proteobacteria</i>
Classe:	<i>Alphaproteobacteria</i>
Ordre:	<i>Sphingomonadales</i>
Famille:	<i>Sphingomonadaceae</i>
Genre:	<i>Sphingomonas</i>
Espèce:	<i>Paucimobilis</i>

b. Caractères bactériologiques

Ces bactéries sont des bacilles à Gram négatif, peu mobiles avec un unique flagelle polaire, aérobies stricts, trouvées dans les habitats aqueux, terrestres, les racines végétales, les spécimens cliniques et dans les hôpitaux sur les appareils de

traitement respiratoire, les humidificateurs. Bien que les infections par *S. Paucimobilis* soient rarement graves et puissent être efficacement traitées avec des antibiotiques, elles peuvent causer des infections respiratoires, des infections urinaires, des bactériémies, des ulcères de jambe, des péritonites (chez des patients soumis à une dialyse ambulatoire chronique), des abcès cérébral et splénique et des adénopathies cervicales. (Chaby, 2010).

3.2.6. Le genre *Aerococcus* (*Aerococcus viridans*)

a. Classification phylogénique (Didier, 1998).

Règne:	<i>Bacteria</i>
Embranchement:	<i>Firmicutes</i>
Classe:	<i>Bacilli</i>
Ordre:	<i>Lactobacillales</i>
Famille:	<i>Aerococetetes</i>
Genre:	<i>Aerococcus</i>
Espèce:	<i>Viridans</i>

b. Caractères bactériologiques

Ce sont des cocci à Gram positif isolées ou en paires, non mobiles, anaérobies, asporulés, fréquemment isolées en tant qu'organisme aérien dans les milieux hospitaliers et en tant qu'organisme marin, ainsi que dans la flore microbienne endogène de l'homme et de certains animaux. Elles sont associées à des endocardites humaines et des gaffkémies (Didier, 1998).

3.2.7. Le genre *Staphylococcus*

Ce sont des cocci à Gram positifs souvent regroupés en grappe de raisin, immobiles, non capsulés, non sporulés, aéro-anaérobies, mésophiles et psychrophiles, oxydase négatifs, catalase et nitrate réductase positifs (Freney *et al.*, 2000).

a. Classification phylogénique (Freney *et al.*, 2000).

Règne:	<i>Bacteria</i>
Embranchement:	<i>Firmicutes</i>
Classe:	<i>Bacilli</i>
Ordre:	<i>Bacillales</i>
Famille:	<i>Micrococaceae</i>
Genre:	<i>Staphylococcus</i>

On dénombre une quarantaine d'espèces de staphylocoques dont le plus courant est le staphylocoque doré (*staphylococcus aureus*) (Freney *et al.*, 2000).

b. *Staphylococcus aureus*

Connu aussi par staphylocoque doré est l'espèce majeur de staphylocoques à coagulase positif, halophile d'une couleur jaune or. Elle se trouve sur la peau, les muqueuses mais également dans l'environnement (l'eau, l'air, le sol) et parfois dans les aliments ou sur les objets. Elle est au premier rang des bactéries provoquant des infections nosocomiales y compris, des infections cutanées (impétigo, furoncles), des infections urinaires, des pneumopathies, des infections de la sphère ORL (sinusite, otite), des septicémies, des intoxications alimentaires et des endocardites, (Freney *et al.*, 2000).

c. *Staphylococcus xylosus*

Elles sont des staphylocoques à coagulase négative qui ont la capacité de former des biofilms et de métaboliser le xylose. Elles se retrouvent dans l'environnement et sur la peau de l'homme, généralement identifié comme une cause d'une Pyélonéphrite humaine (Frisoni, 2007).

Dans les établissements de soins de santé environ 16,7 % de toutes les infections nosocomiales sont pulmonaires car les équipements respiratoires de la ventilation mécanique et l'oxygénothérapie qui comprennent des ventilateurs, des humidificateurs, des nébuliseurs et des masques à oxygène peuvent être des niches propices à la colonisation des bactéries pathogènes résistantes (Torres *et al.*, 2006).

1. Oxygénothérapie

C'est une méthode de réanimation indiquée surtout chez les patients atteints d'hypoxie ou de broncho-pneumopathie aigüe ou chronique obstructive (BPCO)(Brooker, 2000) permettant l'administration d'oxygène dans l'arbre trachéo-bronchique d'un patient de façon à maintenir ou rétablir un taux normal d'O₂ dans le sang ainsi qu'une oxygénation suffisante des tissus et des organes (Gervaise, Thibault, 2015).

1.1. Les moyens de raccordement

1.1.1. Les sondes nasales à oxygène

Ce moyen de raccordement est surtout utilisé en milieu hospitalier car sa mise en place est délicate. Il s'agit d'un petit tuyau souple introduit profondément dans une narine et arrive jusqu'au pharynx (Figure 1). Il doit en principe être changé tous les jours et peut aussi être nettoyé et remis en place (OMS, 2007).

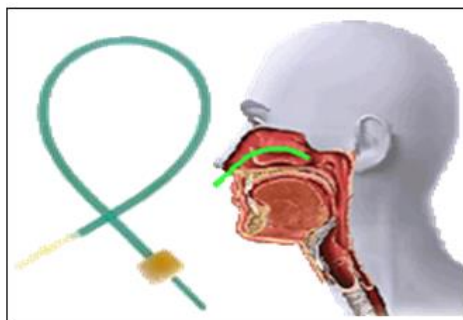


Figure 1: Sonde nasale (OMS, 2007).

1.1.2. Les lunettes nasales

Dispositif simple et pratique le plus fréquemment utilisé à domicile dont son élément essentiel est constitué de deux petits embouts souples qui doivent être placés très exactement à la base des narines et sont entrés de 0,5 à 1 cm environ suivant les modèles et c'est par ces petits embouts que l'O₂ se mélange à l'air inspiré et corrige l'insuffisance respiratoire (Figure 2). Les éléments secondaires de la lunette nasale sont des tuyaux qui font le tour complet de l'oreille pour se rejoindre en avant sous le menton et une bague

plastique permettant d'en assurer le maintien. Les lunettes doivent être nettoyées quotidiennement et changées si elles sont détériorées ou si elles durcissent au-delà de 15 jours (Chabernaude, Hertgen, 2012).



Figure 2: Lunette nasale (OMS, 2007).

1.1.3. Le cathéter transtrachéal

Le cathéter transtrachéal est un petit tuyau souple à section très fine qui est introduit dans la trachée et raccordé à l'autre extrémité à la source d'O₂ (Figure 3). La mise en place de ce moyen de raccordement nécessite une petite intervention chirurgicale sous anesthésie locale. Lors du changement de cathéter il faut éviter de laisser trop longtemps l'orifice vide et bien le nettoyer avec un désinfectant (Bolliger et Mathur, 2000).

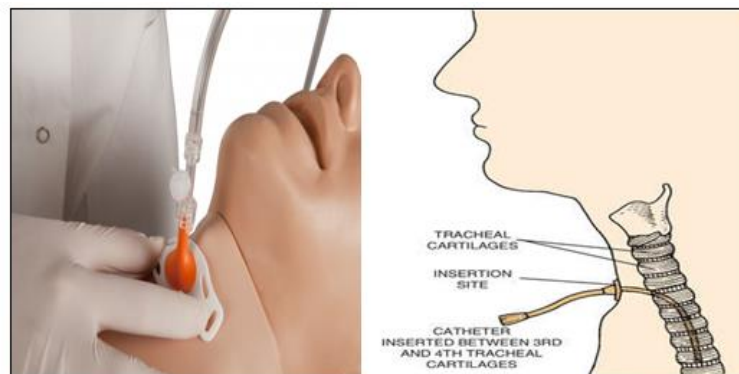


Figure 3: Cathéter transtrachéal (Sholtis Brunner *et al.*, 2011).

1.1.4. La cloche de Hood

C'est une enceinte encéphalique en plexiglas utilisée en néonatalité et en pédiatrie dont la tête ou une partie du corps de l'enfant est placée sous la cloche en lui permettant de respirer un air riche en oxygène (Figure 4). (Obladen, 1998).



Figure 4: La cloche de Hood (OMS, 2007).

1.1.5. Les masques à oxygène

Un masque à oxygène est un dispositif couvrant généralement le nez et la bouche voire parfois toute la tête permettant l'administration d'oxygène dans les voies aériennes du patient à l'aide d'un réservoir de stockage celui-ci peut être une bouteille ou un concentrateur d'oxygène entraînant par la suite une augmentation de la quantité d'oxygène dans les poumons et celle transportée par le sang jusqu'aux tissus de l'organisme notamment au niveau du cerveau (Sholtis Brunner *et al.*, 2011).

a. Les composants du masque à oxygène

Malgré la différence de la matière de composition des masques à oxygène (plastique, silicone, caoutchouc, PVC, Polycarbonate, Métal, Poly-chloroprène, Latex, Polyuréthane et de Polyamide) ils possèdent les mêmes éléments (Sholtis Brunner *et al.*, 2011) (Figure 5).

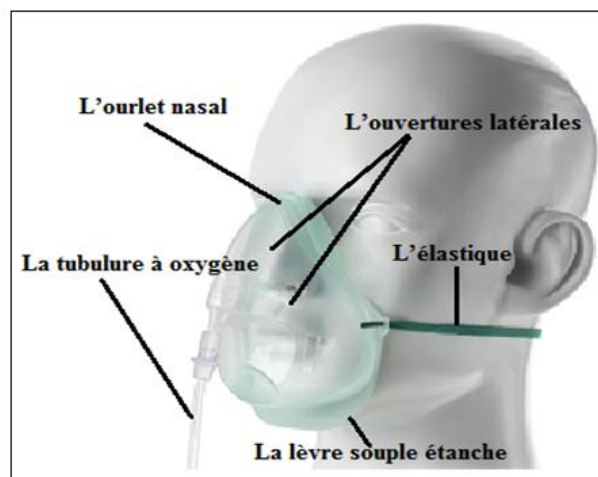


Figure 5: Les composants du masque à oxygène (Marino, 2007).

- ***La tubulure à oxygène***

Accessoire idéal à usage unique, notamment pour l'aide respiratoire. Il s'agit d'un tuyau à oxygène anti-écrasement, flexible mesurant 2.10 m de long doté d'embouts permettant l'adaptation directe et facile aux sources d'oxygène (Sholtis Brunner *et al.*, 2011).

- ***L'élastique***

Il constitue un système de maintien qui peut se positionner sur ou sous les oreilles du patient. (Sholtis Brunner *et al.*, 2011)

- ***La lèvre souple étanche***

Accroît le confort du patient et assure une parfaite adaptation du masque sur tout type de visage. (Sholtis Brunner *et al.*, 2011)

- ***L'ourlet nasal***

Il est souple et incurvé et permet le non besoin d'un pince-nez séparé et prévient toute fuite d'oxygène au niveau des yeux. (Sholtis Brunner *et al.*, 2011)

- ***L'ouvertures latérales***

Elles permettent l'évacuation du gaz expiré et l'entrée d'air ambiant. (Sholtis Brunner *et al.*, 2011)

b. Les types des masques à oxygène

- ***Masque sans ré-inhalation (haute concentration)***

Ce type de masque est le plus couramment utilisé dans le domaine ambulancier permettant d'administrer les plus hautes concentrations d'oxygène en raison de l'accumulation de celui-ci dans le sac collecteur sous le masque provenant du cylindre pendant la phase expiratoire (Figure 6). De plus, une valve unidirectionnelle empêche l'air expiré de se rendre dans le sac collecteur pour conserver ainsi l'O₂ à 100% (Sholtis Brunner *et al.*, 2011).

De chaque côté du masque des trous permettent l'entrée d'air ambiant ceux-ci sont habituellement couverts par une valve unidirectionnelle permettant à l'air de sortir (en expiration) mais pas d'entrer pendant la phase inspiratoire (pour permettre d'inspirer l'air du sac collecteur seulement). Ce type de masque permet l'administration d'environ 90% d'oxygène (Sholtis Brunner *et al.*, 2011).



Figure 6 : Masque à haute concentration (Vincent, 2009).

- **Masque avec réinhalation**

Ce masque est identique au masque sans réinhalation mais n'a pas de valve entre le sac collecteur et le masque celui-ci fait en sorte qu'une partie de l'air expiré par le malade se rend dans le sac pour ensuite être ré-inspiré. La concentration d'O₂ administrée est entre 50 et 80% (Sholtis Brunner *et al.*, 2011) .

- **Masque simple (à moyenne concentration)**

Le masque le plus couramment utilisé par les secouristes en raison de sa simplicité. Ce type ne possède pas de sac collecteur et l'oxygène est envoyé directement dans le masque (Figure 7). La concentration d'O₂ est moindre que pour les deux masques précédents (40 à 60%) (Sholtis Brunner *et al.*, 2011).



Figure 7 : Masque à oxygène simple (Henretig, King, 1997).

c. Nettoyage du masque à oxygène

Pour toute sécurité du patient un masque s'entretient afin de prévenir la survenue d'éventuelles infections. Tous ses éléments constitutifs doivent être bien nettoyés en respectant des règles qui s'appliquent à la plupart des masques (Hygis, 1998).

- ***La décontamination***

C'est une action seulement bactériostatique considérée comme le premier traitement à effectuer sur les masques à oxygène souillés. Cette opération momentanée consiste à mettre à tremper les masques dans une solution décontaminante (solution chlorée à 5%) maintenue dans un conteneur étanche (Hygis, 1998).

- ***La désinfection***

A l'opposé de la décontamination, la désinfection est obtenue par des désinfectants (acide péracétique) afin de détruire les bactéries pathogènes sur les masques à oxygène grâce à un pouvoir bactéricide. Néanmoins, aucun des procédés de désinfection n'atteint la sécurité des procédés de stérilisation (Hygis, 1998).

- ***La stérilisation***

C'est une opération que doit subir un masque à oxygène parfaitement nettoyé pour devenir exempt de tous les microorganismes qu'il contient. Les masques sont des matériaux thermosensibles qui doivent être traités par l'oxyde d'éthylène, le formaldéhyde ou à la vapeur d'eau (Hygis, 1998).

d. La contamination bactérienne du masque à oxygène

L'environnement hospitalier (air, surfaces, eaux) présente une contamination bactériologique permanente et variable d'un service à un autre. La grande majorité des bactéries pathogènes responsables des infections nosocomiales sont à l'origine de diverses activités et à la flore de la population hospitalière (personnels soignants, visiteurs, patients...) (Hocquet Berg, Py, 2006). Elles sont susceptibles de se multiplier en dehors de l'organisme et diffusent dans l'atmosphère hospitalière et en l'absence de turbulence aérienne elles sédimentent sur les dispositifs médicaux exposés à l'air. Par ailleurs, les bactéries qui sont sur le sol peuvent être par balayage à sec remises en suspension dans l'air et le cycle reprend. Les masques à oxygène qui sont accrochés au lit des soignés sont considérés comme un de dispositifs susceptibles d'être contaminés et éventuellement une source continue de transmission des infections nosocomiales (Hygis, 1998).

Il est à préciser que les masques prêts à l'emploi doivent être stockés dans des armoires ou des boîtiers et enveloppés dans un linge prévu à cet effet pour éviter d'être exposés à l'air hospitalier, à l'abri des salissures, de l'humidité et de tous contaminants (Fernandez *et al.*, 2013).

1. Présentation du lieu de travail

L'objectif de notre étude était de mettre en évidence la présence des bactéries sur des masques à oxygène préalablement nettoyés dans les établissements publics de santé de proximité et estimer aussi le degré de leur contamination. En fonction de la disponibilité des masques à oxygène dans les différents EPSPs les prélèvements ont été effectués au niveau de 3 EPSPs de la ville de Guelma à savoir (Saïd Bedjaoui, Les frères Omeddour et Ain Defla). La démarche qu'on a suivie est schématisée dans le tableau ci-dessous (Tableau1).

Tableau 1: La démarche de l'analyse bactériologique.

Les EPSPs	Date de prélèvement	Nombre de masques	Nombre de prélèvements	Temps de prélèvements
Saïd Bedjaoui	06 Mars 2017	2 masques (M ₁ , M ₂)	2 prélèvements	T ₀ (directement après nettoyage à l'eau de javel)
Les frères Omeddour	13 Mars 2017 14 Mars 2017	2 masques (M ₃ , M ₄)	4 prélèvements	T ₀ , T ₁ (après 24h du nettoyage sans usage)
Ain Defla	02 Avril 2017	1 masque (M ₅)	1 prélèvement	T ₂ (après 40 jours à l'air hospitalier sans usage)

La suite du travail a été réalisée au niveau de laboratoire de microbiologie de département de Biologie à l'Université de Guelma.

2. Protocole expérimental

Les différentes étapes du protocole expérimental sont présentées dans le schéma suivant:

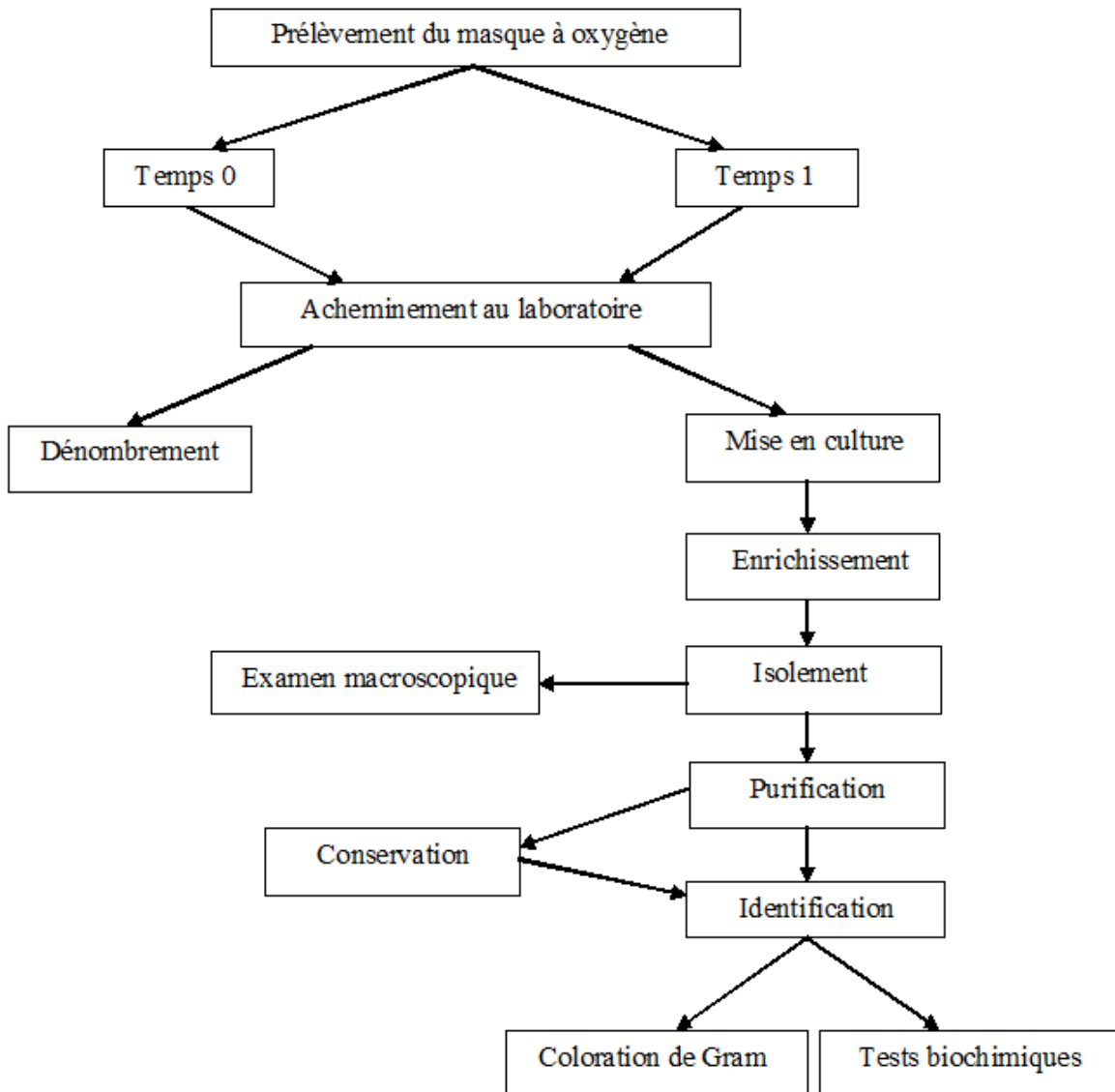


Figure 8 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

2.1. Prélèvement

Les échantillons bactériologiques ont été prélevés à l'aide de 7 écouvillons remplis précédemment de 5 ml d'eau physiologique (NaCl 9‰) en des périodes distinctes, puis acheminés rapidement au laboratoire pour la mise en culture.

2.2. Dénombrement de la flore bactérienne totale

Afin d'effectuer le comptage des bactéries présentes dans l'inoculum (eau physiologique) nous avons réalisées un dénombrement bactérien sur gélose nutritive.

Une gamme de dilutions en milieu liquide a été effectuée allant de la solution mère jusqu'à un facteur de dilution de 10^{-5} . Pour cela 5 tubes contenant 9 ml d'eau physiologique ont été préparés pour chaque prélèvement.

Pour la première dilution un volume de 1 ml de la solution bactérienne (la solution mère) est prélevé et ajouté au tube contenant 9 ml de NaCl. Ce dernier est homogénéisé pendant 10 secondes. Le schéma suivant explique la suite de la préparation des dilutions (Figure 9) (Delarras, 2007).

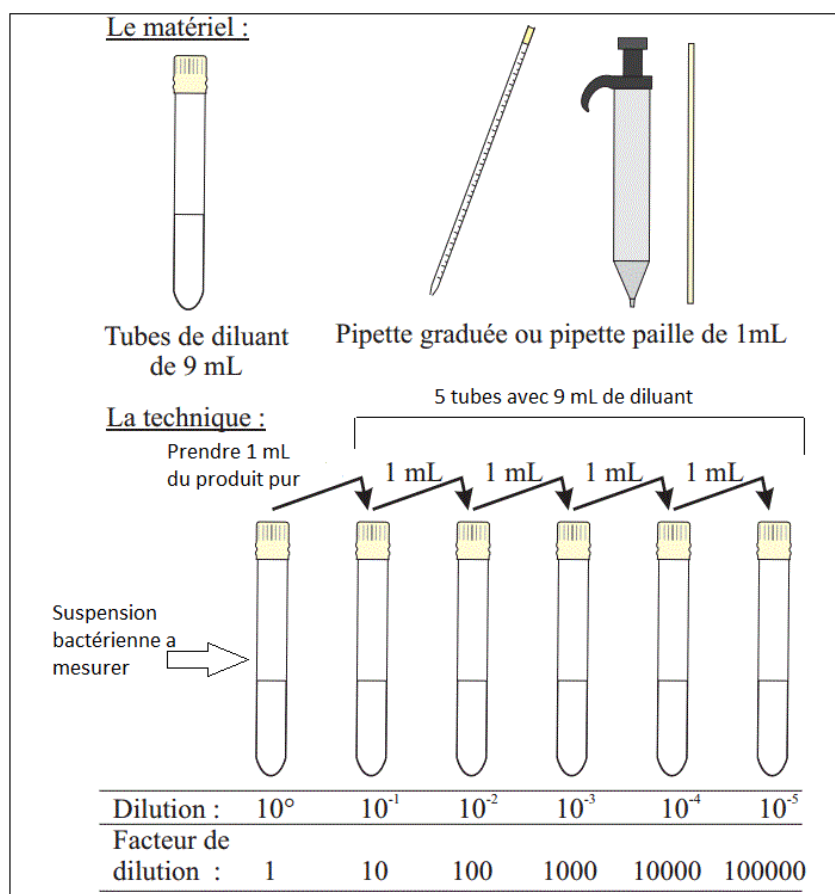


Figure 9: Les étapes de dilution (Joffin, Leyral, 2014).

Une fois que les dilutions sont préparées, 1 ml de chaque solution est prélevé et déposé dans une série de deux boîtes de pétri vides. La gélose nutritive légèrement refroidie est ensuite coulée puis homogénéisée par des mouvements circulaires. Enfin la gélose est refroidie puis incubée à 37 °C pendant 24h (Figure 10) (Delarras, 2007).



Figure 10: Technique de dénombrement.

Le résultat du dénombrement est exprimé en utilisant la formule suivante :

$$N = \frac{\sum C}{(V \times 1,1d)}$$

$\sum C$	Somme des colonies comptées sur les deux boîtes retenues
V	Volume de l'inoculum (1 mL dans la masse/0,1 mL en surface)
d	Dilution correspondant à la première boîte retenue, avec l'inoculum le moins dilué

2.3. Mise en culture

2.3.1. Enrichissement

L'enrichissement bactérien est l'augmentation de la proportion des bactéries à rechercher (Delarras, 2007). Cette étape est suivie car la charge bactérienne dans les 2 ml restants de la solution mère peut être minimale et sa présence ne peut être révélée par un isolement. En effet l'absence de colonies suspectes sur l'isolement sélectif ne suffit pas pour affirmer l'absence des bactéries dans le prélèvement. Ce volume a été enrichi dans 8 ml du bouillon nutritif et incubé à 37 °C pendant 24h.

2.3.2. Isolement

L'isolement consiste à séparer et observer les différentes colonies bactériennes d'une suspension (Delarras, 2007). Pour cela, on a choisi spécifiquement quatre milieux sélectifs, un milieu non sélectif et 2 méthodes d'ensemencement.

a. Milieux sélectifs

- **Milieu Chapman**

La gélose Chapman est le milieu sélectif permettant la croissance des bactéries halophiles et plus particulièrement celles qui fermentent le mannitol (Leloir, Gautier, 2009).

- **Milieu Cétrimide**

La gélose au cétrimide est un milieu sélectif pour l'isolement et l'identification présomptive de *Pseudomonas aeruginosa* grâce à la présence de la cétrimide et d'acide nalidixique (Fresenius *et al.*, 2012).

- **Gélose Hektoen**

La gélose Hektoen est un milieu sélectif pour l'isolement des Entérobactéries, leur identification repose sur l'utilisation des 3 glucides présents dans ce milieu (la salicine, le saccharose et le lactose) (Denis, 2007).

- **Gélose SS**

La gélose Salmonella-Shigella (S.S) est le milieu sélectif de *Salmonella* et de *Shigella*. Les agents inhibiteurs sont les sels biliaires, le vert brillant et le citrate de sodium empêchant la pousse de toutes bactéries Gram positif (Koneman *et al.*, 2006).

b. Milieu non sélectif

- **Gélose nutritive**

La gélose nutritive est un milieu permettant à toute souche bactérienne de pousser, à condition qu'elles soient non exigeantes (Delarras, 2010).

c. Méthodes d'ensemencement

Avant de commencer l'ensemencement il était important de faire couler les 5 milieux de culture sélectionnés sur les boîtes de pétri à proximité du bec benzène et les laisser refroidir.

- **Ensemencement simple**

C'est une méthode simple qui consiste à déposer 0,1 ml de la solution mère enrichie à la périphérie de la boîte de pétri contenant le milieu de culture, et à l'étaler vers le bas en râteau en utilisant une pipette pasteur stérile (sous la forme L) (Delarras, 2007).

- ***Ensemencement par quadrillage***

On a procédé de la même façon que l'ensemencement simple pour le dépôt de la suspension. Il était nécessaire de diviser la boîte de pétri en 3 cadrans, en faisant premièrement des stries serrées sur le premier cadran sans rayer la gélose, puis faire d'autres stries serrées sur le deuxième cadran et des stries larges sur le troisième cadran en utilisant une pipette pasteur boutonnée stérile. Les boîtes de pétri sont placées dans une étuve à 37°C pendant 24 h en attendant l'observation des différentes colonies obtenus (Delarras, 2007).

d. Examen macroscopique

Le but de cet examen est de distinguer les caractéristiques des colonies telles que la forme du relief (bombée, semi-bombée, plate), la taille, la couleur, l'odeur, l'allure des contours (régulier, dentelés), l'aspect de la surface (lisse ou rugueuse) et surtout de vérifier la présence d'un seul type de bactéries par colonie (Delarras, 2007).

2.3.3. Purification

A l'aide d'une anse de platine les souches non pures ont été prélevées puis transférées dans un même milieu (nouveau) ou elles ont été cultivées au départ, en laissant traîner l'extrémité de l'anse en zig zag dans le premier secteur de la périphérie vers le bas. Les boîtes sont placées à l'étuve à 37°C pendant 24h (Delarras, 2007).

2.3.4. Conservation

Généralement la conservation assure la survie des bactéries pour une période jusqu'à leur identification. Pour cela on a réparti la gélose nutritive en tubes à essai inclinés de manière à obtenir une ponte oblique puis les laissés refroidir à température ambiante. A l'aide d'une anse de platine bien chargée en bactéries à conserver l'ensemencement en surface se fait par des zigzags ascendants en prenant soins de ne pas abimer la gélose. L'incubation est toujours à 37 °C pendant 24 h et la conservation se fait par réfrigération à 4 °C.

Il est à préciser que pour les bactéries qui ont poussé sur Chapman, ce dernier reste le milieu de référence pour leur conservation (Delarras, 2007).

2.3.5. Identification**a. Coloration de Gram**

- **Réalisation du frottis**

Sur une lame dégraissée une goutte d'eau distillée stérile est déposée ensuite une colonie pure isolée est ajoutée. Le mélange est étalé en couche mince. Le frottis est fixé par passage sur le bec benzène (Pebret, 2003).

- **Réalisation de la coloration**

La coloration du frottis est effectuée par le violet de gentiane. Après le rinçage, le mordantage est fait au lugol. La décoloration à l'alcool est suivie de recoloration par la fuschine. Après le rinçage, le séchage de la lame est fait sur papier absorbant (Pebret, 2003).

- **Observation microscopique**

En ajoutant une goutte d'huile à immersion sur le frottis bactérien, les différentes formes des bactéries, leur taille et leur mode de regroupement ont été observés au microscope à objectif 100 (Pebret, 2003).

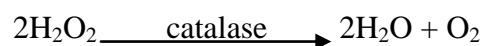
b. Tests biochimiques

- **Test d'oxydase**

Ce test est à la base de l'identification des bactéries Gram négatif permettant de mettre en évidence la phénylène diamine oxydase des bactéries. Une colonie a été étalée sur un disque préalablement imprégné par le N diméthyl paraphénylène diamine auquel une goutte d'eau distillée stérile est déposée. Le test est considéré positif si le disque prend une teinte rose ou violette après 3 à 5 secondes (Orecchioni, Gazengel, 2013).

- **Test catalase**

La catalase est une enzyme ayant la propriété de décomposer le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) avec dégagement d'oxygène selon la réaction suivante :



Sur une lame propre et sèche une colonie bactérienne est déposée à laquelle est ajouté de l'eau oxygénée. L'observation est faite immédiatement. L'effervescence indique que le test est positif (Engelkirk, 2008).

- **Galerie Api (d'après Bio-Mérieux®)**

La galerie miniaturisée API se présente sous la forme d'une série de tubules correspondant chacun à un test biochimique spécifique avec lequel les bactéries réagissent différemment. Chaque tubule est ouvert à son extrémité supérieure par une cupule pouvant

être remplie de suspension pour les tests encadrés ou d'huile de paraffine pour les tests soulignés.

➤ ***Préparation de la galerie API***

Afin de créer une atmosphère humide l'eau distillée est répartie dans les alvéoles. Les références de la souche bactérienne sont inscrites sur la languette latérale de la boîte et la galerie est déposée de façon stérile dans la boîte (Csuros, 1999).

➤ ***Préparation de l'inoculum***

L'ampoule du medium est ouverte délicatement et une colonie pure a été introduite. Il est à noter que pour les galeries qui ne possèdent pas un medium quelques millilitres d'eau distillée stérile suffisent pour réaliser une suspension bactérienne (Csuros,1999).

➤ ***Inoculation de la galerie***

La suspension bactérienne est déposée dans chaque tubule à l'aide d'une pipette pasteur stérile à pointe ouverte sur un côté de la cupule en laissant couler doucement la suspension dans le tubule en tenant la boîte légèrement inclinée pour éviter la formation de bulles.

Pour les caractères encadrés le tubule et la cupule ont été rempli par la suspension bactérienne et seulement le tubule pour les autres caractères. En ajoutant à la cupule l'huile de paraffine pour les caractères soulignés. Enfin la boîte est incubée à 37°C pendant 24 h (Csuros, 1999).

➤ ***Lecture des galeries***

Après 24h d'incubation les réactions produites se traduisent par des virages de couleur sauf pour certaines qui sont révélées par addition de réactifs (Delarras, 2007).

I. Résultats

1. Dénombrement de la flore bactérienne totale

Les résultats de dénombrement des colonies bactériennes sont schématisés dans l'histogramme ci-dessous:

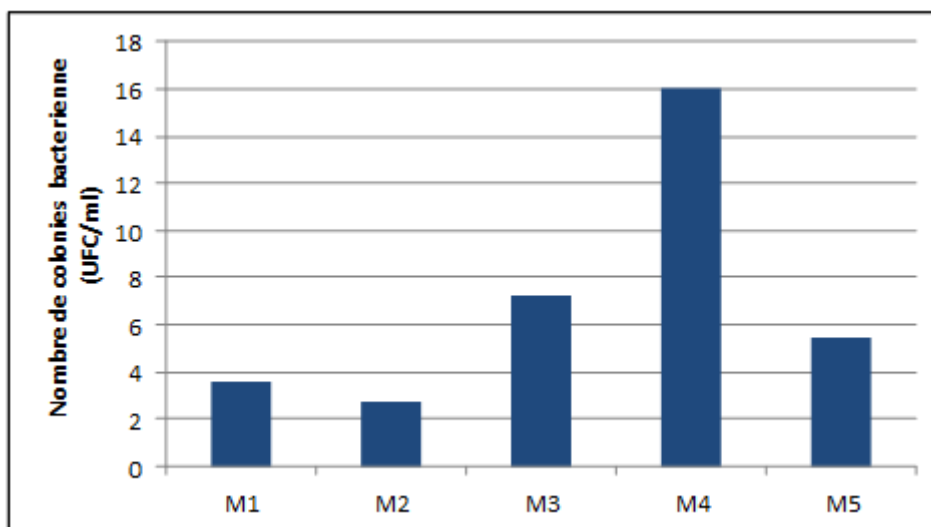



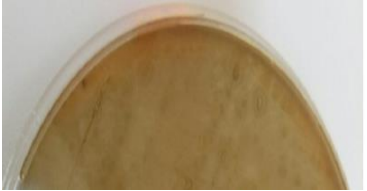
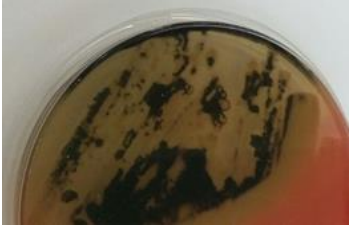
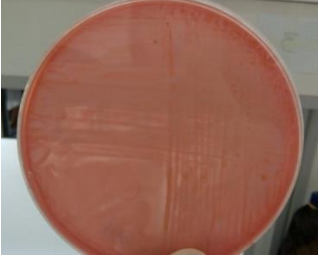
Figure 11 : Histogramme présentatif du dénombrement bactérien des différents masques.

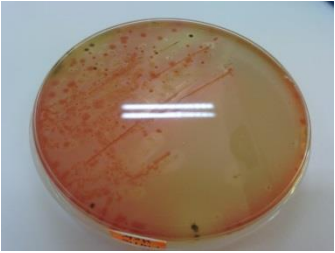

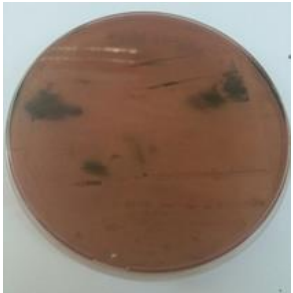
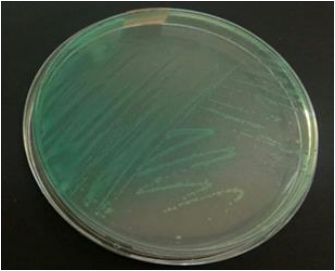

D'après les résultats obtenus on a remarqué que la contamination bactérienne du masque 4 après 24h de son nettoyage est maximale tandis qu'elle est minimale dans le masque 2 dont l'échantillon a été prélevé directement après le geste de décontamination. Concernant les masques 3 et 1, malgré que le temps de prélèvement est respectivement identique que ceux-ci des deux premiers masques la contamination est totalement modérée et également pour le masque 5 qui était exposé à l'air pendant 40 jour.

2. Caractères macroscopique

L'étude macroscopique nous a permis de distinguer les caractères des colonies sur leurs milieux de culture (Tableau 2).

Tableau 2: Caractères macroscopique des colonies bactériennes isolées.

Milieu de culture	Caractères macroscopiques	Figure
Milieu Chapman	- Colonies petites, jaune doré avec virage de couleur du milieu au jaune	
Milieu Hektoen	- Colonies vertes, bombées et à contour régulier	
	- Colonies vertes à centre noir	
	- Colonies saumon, bombées à contour régulier	

	- Colonies saumon, bombées à centre noir	
Milieu SS	- Colonies rose, bombées à contour régulier.	
	- Colonies saumon à centre noir, rondes	
Milieu Cétrimide	- Colonies vertes, rondes et bombées	
Milieu GN	- Colonies blanches, petites, bombées, à contour régulier	

3. Observation microscopique

3.1. Milieu Chapman

L'examen microscopique a révélé des Cocci en grappe de raisin, Gram positif (Figure 12).

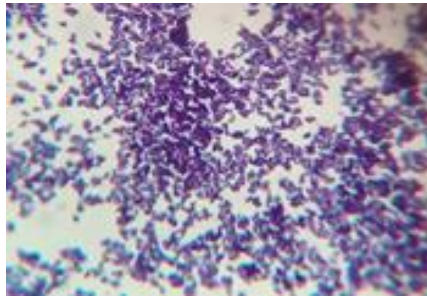


Figure 12 : Observation microscopique des cocci en grappe de raisin.

3.2. Milieu Hektoen

L'observation microscopique nous a permis d'identifier des bacilles à Gram positif (Figure 13a), des bacilles à Gram négatif (Figure 13b), des coccobacilles à Gram positif (Figure 13c) et des coccobacilles à Gram négatif (Figure 13d).

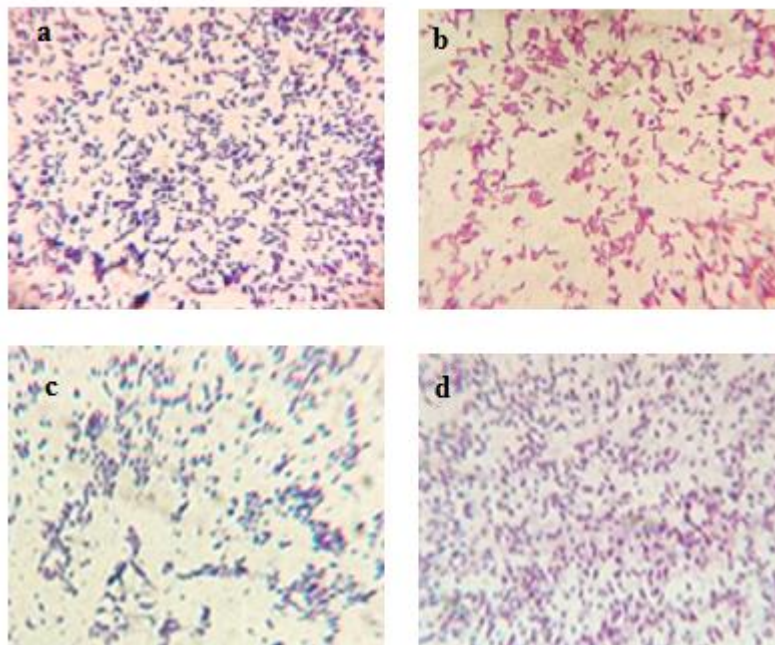


Figure 13 : Observation microscopique sur milieu Hektoen.

3.3. Milieu SS et Cétrimide

Ces deux milieux de cultures nous ont permis d'observer seulement des bacilles à Gram négatif (Figure 13b).

3.4. La gélose nutritive

Des bacilles à Gram positif (Figure 13a), des bacilles à Gram négatif (Figure 13b), des monocoques à Gram positif (Figure 14a) et cocci à Gram positif ont été observés (Figure 14b).

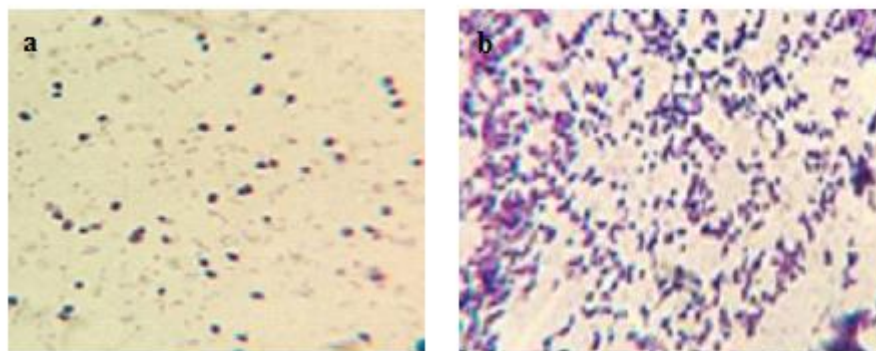


Figure 14 : Observation microscopique sur gélose nutritive.

3.5. Identification biochimique

L'étude biochimique nous a permis d'identifier 7 espèces bactériennes des Entérobactéries (Tableau 3), 6 espèces non Entérobactérie (Tableau 4), 2 espèces de Staphylocoque (Tableau 5), une de Streptocoque (Tableau 6) et 9 espèces non identifiées.

Tableau 3: Résultats de l'identification biochimique des Entérobactéries.

Les souches	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX	Catalase	%	Identification	
1	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	82	<i>Enterobacter cloacae</i>
2	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	74	<i>Serratia mercescens</i>
3	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	100	<i>Serratia odorifera</i>
4	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	60	<i>Salmonella choleraesuis</i> <i>spp arizonae</i>
5	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	63	<i>Salmonella</i> <i>spp</i>
6	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	65	<i>Yersinia</i> <i>Enterocolitica</i>
7	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	100	<i>Raoultella ornithinolytica</i>

Tableau 4 : Résultats de l'identification biochimique des non Entérobactéries.

Les souches	NO2	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNG	GLU	ARA	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC	OX	Catalase	%	Identification
1	-	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	100	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
2	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	63	<i>Pseudomonas luteola</i>
3	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	100	<i>Burkholderia cepacia</i>
4	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	73	<i>Vibrio vulnificus</i>
5	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	99	<i>Aeromonas hydrophila</i>
6	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	58	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>

Tableau 5 : Résultats de l'identification biochimique des Staphylocoques.

Les souches	0	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE	OX	Catalase	%	Identification
1	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	86	<i>Staphylococcus aureus</i>
2	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	79	<i>Staphylococcus xylosus</i>

Tableau 6 : Résultats de l'identification biochimique des Streptocoques.

Les souches	VP	HIP	ESC	PYRA	GAL	GUR	GAL	PAL	LAP	ADH	RIB	ARA	MAN	SOR	LAC	TRE	INU	RAF	AMD	GLYG	OX	Catalase	%	Identification
1	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	98	<i>Aerococcus viridans 1</i>

II. Discussion

Le milieu hospitalier abrite de nombreuses sources d'agents infectieux tels que les bactéries qui sont les prédominantes. La contamination bactérienne de l'environnement hospitalier varie qualitativement et quantitativement d'un établissement à un autre, et au sein d'un même établissement, en fonction des services, des patients, des soins pratiqués, de la capacité de survie des bactéries et de la formation des biofilms. La principale source de contamination est le patient lui-même, le personnel soignant, les visiteurs et surtout le matériel non stérilisé (Chen *et al.*, 2013).

L'objectif de notre étude était de mettre en évidence la présence des bactéries dans les masques à oxygène et de critiquer leur mode de désinfection. Nous avons effectué des prélèvements à partir de masques directement après leur trempage dans l'eau de javel et d'autres prélèvements à partir de ces mêmes masques 24 heures après avoir été séchés à l'air (accrochés à la tête de lit) sans qu'ils soient utilisés.

A partir de 7 prélèvements cette pratique de 35 jours nous a permis d'identifier 16 espèces bactériennes appartenant à des différents groupes : 7 espèces des Entérobactéries (*Enterobacter cloacae*, *Serratia mercenscens*, *Serratia odorifera*, *Salmonella choleraesuis* spp *arizonae*, *Salmonella* spp, *Yersinia Enterocolitica* et *Raoultella ornithinolytica*), 6 espèces non Entérobactéries (*Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas luteola*, *Burkholderia cepacia*, *Vibrio vulnificus*, *Aeromonas hydrophila* et *Sphingomonas paucimobilis*), 2 espèces Staphylocoques (*Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus xylosus* 1) et une espèce Streptocoque (*Aerococcus viridans* 1). 9 autres espèces à gram positif n'ont pas été identifiées à cause du manque de moyen d'identification. La détection des salmonelles, *Vibrio vulnificus* et *Aeromonas hydrophila* au niveau des masques à oxygène malgré leur abondance dans les milieux aquatiques indique que la contamination des masques à oxygène est probablement due à un rinçage par une eau contaminée par ces espèces bactériennes.

D'autre part, la contamination bactérienne des masques à oxygène peut être expliquée en premier lieu par la javellisation de ces masques, nous supposons que l'eau de javel utilisée est très diluée au point d'être inefficace vis-à-vis des bactéries résistantes ou contaminée par les résidus d'un nettoyage précédent de masques. Nous avons constaté que la javellisation des masques, considérée comme la première étape dans le traitement des masques après leur utilisation, constitue à elle seule la méthode de désinfection dans

ces établissements. La javellisation permet de réduire la charge bactérienne (Hygis, 1998) mais reste insuffisante pour maintenir un état stérile nécessaire afin d'assurer des soins de qualité.

Par ailleurs, le séchage avec des compresses non stériles ou à l'air hospitalier favorise la prolifération bactérienne à l'intérieur comme à l'extérieur des masques à oxygène.

Dans le même contexte, une étude réalisée par le laboratoire de l'hygiène environnementale de l'Université de Siena en Italie a évalué la contamination bactérienne des dispositifs médicaux réutilisables après le nettoyage tels que les stéthoscopes et d'autres objets utilisés à l'hôpital. Ces dispositifs contaminés par *Staphylococcus spp*, *Enterococcus spp*, *Pseudomonas spp* et *Escherichia coli* ont été nettoyés avec l'alcool éthylique à 30%, les UFC ont diminué à zéro dans la plupart des cas. Conformément à cette étude d'autres études ont porté sur l'éthanol, les composés à base d'isopropyle et des savons antiseptiques, les résultats sont similaires avec la même efficacité de l'alcool éthylique (Messina *et al.*, 2013).

Les niveaux accrus de bactéries trouvés sur les masques qui étaient laissés exposés à l'air hospitalier nous a permis de constater que, dans les locaux hospitaliers, les bactéries existantes dans l'air et provenant du personnel soignant, des visiteurs ou des patients eux-mêmes, nécessitent des supports inertes où se fixer pour former des biofilms. (Hygis, 1998). Ceci est aggravé par le dépoussiérage et le balayage sec, que nous avons constaté, qui aident à déplacer les poussières chargées de bactéries et les disperser dans l'air ce qui favorise leur dépôt sur toutes les surfaces inertes y compris les masques à oxygène.

En raison de la contamination bactérienne de ces masques nous avons constaté que le personnel de santé était conscient de la nécessité de respecter les précautions d'hygiène cependant la pratique est négligée et les moyens de désinfection et de nettoyage sont largement insuffisants ce qui est traduit par la transmission des infections nosocomiales.

Plusieurs points ont été abordés dans ce travail qui avait pour problématique la contamination bactérienne des masques à oxygène et le moyen de leur désinfection. Tout d'abord nos résultats ont permis de révéler la présence de plusieurs bactéries dont la majorité est pathogène. Ces résultats témoignent que la technique de la désinfection de ce type de dispositifs médicaux est mal maîtrisée ce qui constitue un risque pour la santé publique.

Le contrôle bactériologique de l'environnement hospitalier se repose sur le respect des précautions élémentaires d'hygiène, sur un choix raisonné et validé des procédures de désinfection et d'entretien et une bonne formation du personnel en hygiène hospitalière.

A travers cette étude, nous avons conclu que la configuration géométrique des masques à oxygène et ces accessoires est complexe et rend particulièrement difficile leur nettoyage par des méthodes rudimentaire (simple trempage dans l'eau de javel). Face à cette difficulté nous visons à conseiller le personnel chargé de l'hygiène hospitalière d'utiliser des cuves à ultrasons spécialement adaptées à la désinfection des masques et de tous les accessoires associés en une seule opération (Irsa *et al.* , 2015).

Il est également recommandé de :

- Utiliser des masques à oxygène à usage unique dans le cas de manque de moyen de désinfection des dispositifs réutilisables.
- Améliorer le rendement de la technique de javellisation par frottement (par une brosse) de toute la surface interne et externe du masque permettant ainsi d'atteindre tous les angles pouvant abriter les microorganismes.
- Choisir des désinfectants de bonne qualité pour le traitement des dispositifs médicaux.
- Assurer un entretien quotidien des sols, des surfaces et des mobiliers des salles des malades afin de minimiser la contamination microbienne.
- Assainir l'air hospitalier par passage sur des filtres, par le maintien de la surpression ou par le système UVGI.
- Désinfecter les mains du personnel soignant par friction hydro-alcoolique entre les soins de chaque patient et même en cas d'interruption des soins pour un même patient.

Références bibliographiques

- ASTAGNEAU Pascal., ANCELLE Thierry.** Surveillance épidémiologique: Principes, méthodes et applications en santé publique. Lavoisier. Paris : 2011, 166p. ISBN : 978-2-257-20426-4.
- AUBIER.** Traite de pneumologie. Lavoisier. Paris : 2009, 395p. ISBN: 2257225848, 9782257225849.
- BERNARD Jean., BESSIS Marcel., BINET Jacques Louis.** Histoire illustrée de l'hématologie : de l'antiquité à nos jours. DACOSTA R, 1992, 20p.
- BOLLIGER Christoph T., MATHUR Praveen N.** Interventional bronchoscopy. Karger medical and scientific publishers. 2000, 233p. ISBN : 3-8055-6851-7.
- BONNET Doris, JAFFRE Yannick.** Les maladies de passage. KARTHALA. Paris : 2003, 342p. ISBN : 2-84586-372-1.
- BOUCHARD Philippe.** Parodontologie & dentisterie implantaire. lavoisier. Paris : 2015, 185p. ISBN: 978-2-257-20555-1.
- BROOKER Christine.** Le corps humain : Etude, structure et fonction. De Boeck supérieur. Bruxelles : 2000, 261-270p. ISBN : 2-8041-3470-9.
- CHABERNAUD J.L., HERTGEN ARNETTE P.** Mémo urgences pédiatriques. 2012, 112 p.
- CHABY.** Des endotoxines aux lipopolysaccharides. Lavoisier. Paris : 2010, 323p.
- CHEN Kuo Hu., CHEN Li Ru., WANG Ying Kuan.** Contamination of Medical Charts: An Important Source of Potential Infection in Hospitals. Taiwan : HALSEY Eric S, 2013.
- COENYE Tom., VANDAMME Peter.** Burkholderia: Molecular Microbiology and Genomics. Horizon Scientific Press. 2007, 13 à 20 p.
- CSUROS Maria.** Microbiological Examination of Water and Wastewater. CRC Press, 1999, 324p. ISBN : 1-56670-179-1.
- DAUGER S., LETEURTRE S., BEAUFILS F.** Réanimation pédiatrique. Doin. 2010,352 p. ISBN 978-2-7040-1319-7.
- DELARRAS Camille.** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Edition Lavoisier. Paris : 2007,pg 67-68-76-90-92-95-96-101-247. ISBN : 978-2-7430-0945-8.

Références bibliographiques

DELARRAS Camille. Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux. Lavoisier. Paris : 2010, 588 p.

DELARRAS Camille. Pratique en microbiologie de laboratoire. Lavoisier. Paris : POITEAUX Celine, 2014, pg 233-559-560-562-683-688-375. ISBN : 978-2-7430-1565-7.

DENIS Francois., CECILE PLOY Marie., MARTIN Christian., BINGEN Edouard., QUENTIN Roland. Bactériologie médicale. Elsevier Masson. Paris : 2007, pg 375-400-401. ISBN : 978-2-294-09668-6.

DIDIER Raoult. Dictionnaire de maladies infectieuses_diagnostic, épidémiologie, répartition géographique, taxonomie, symptomatologie. Elsevier Masson. Paris : 1998, 33p.

DRUAIS Pierre Louis., GOAZION Marie. Médecine générale. Elsevier Masson SAS. Paris : 2009, 421p. ISBN : 978-2-294-06768-6.

ENGELKIRK Paul G., ENGELKIRK Janet L., ENGELKIRK Duben. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Essentials of Diagnostic Microbiology. A wolters kluwer business. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2008, 215p. ISBN: 13: 978-0-7817-9701-6.

FALKAW Stanley., ROSENBERG Eugene., SCHLEIFER Karl Heinz., STACKEBRANDT Erko. The Prokaryotes : Vol. 6: Proteobacteria : Gamma Subclass. Springer Science & Business Media. 2006, 220p. ISBN : 038725496X, 9780387254968.

FERNANDEZ Hervé., GERVAISE Amélie. , GARBIN Olivier. Hystéroscopie et fertiloscopie. Elsevier Health Sciences. 2013, 57p. ISBN : 978-2-294-71521-1.

FOURCADE Olivier., GEERAERTS Thomas., MINVILLE Vincent. , SAMII Kamran . Traité d'anesthésie et de réanimation. Lavoisier. Paris : 2014. P 314. ISBN :978-2-257-20560-5.

FRENEY Jean., RENAUD François., HANSEN Willy., BOLLET Claude. Précis de bactériologie clinique. ESKA. Paris: 2000, p 783-785-793-794-795-797-1107. ISBN : 2-86911-828-7.

FRESENIUS Wilhelm., QUENTIN Karl E., SCHNEIDER Wilhelm. Water Analysis: A Practical Guide to Physico-Chemical, Chemical and Microbiological Water Examination and Quality Assurance. Springer Science & Business Media. 2012, P 673. ISBN : 13 : 978-3-642-72612-5.

Références bibliographiques

FRISONI DORDET Emilie. Staphylococcus xylosus : cartographie du génome et diversité génétique. 2007, 247p.

GENTILINI Marc. Médecine tropicale. Lavoisier. Paris : 2012, 582p. ISBN : 978-2-257-20396-0.

GERVAISE Sylvie., THIBAUT Wanquet Pascale. Fiches techniques de soins infirmiers Initiatives Santee. 2015, 111p.

HENRETIG Fred M., KING Christopher. Textbook of Pediatric Emergency Procedures. Waverly company. Baltimore : Lippincott Williams & Wilkins, 1997, p106.

HOCQUET Sophie., BERG brunopy. La responsabilité du médecin. Heures de France. Paris : 2006, 42p. ISBN :2-85385-284-9.

HYGIS N. Hygiène hospitalière. Lyon: AUDURIER A., JARLY V., GULIAN C, 1998, p 39-40-55-56-150- 651-198-204-213-214-215-. ISBN: 2-7297-0589-9.

IRSA Alain., ROIG Robert., ROUSSEAU Rierre. Guide de l'assistante dentaire, des principe fondamentaux au travail en salle de soin.CDP. Initiatives Sante, 2015, 288p. ISBN : 978-2-84361-271-8.

JOFFIN Jean-Noël., LEYRAL Guy. Microbiologie technique: Dictionnaire des techniques, Volume 1. Centre régional de documentation pédagogique d'Aquitaine. 2014, 363p. ISBN : 2866175158, 9782866175153.

KONEMAN Elmer W., WINN Washington., ALLEN Stephen., JANDA William., PROCOP Gary., SCHRECKENBERGER Paul., WOODS Gail. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Lippincott Williams & Wilkins, 2006, 220p. ISBN : 13: 978-0-7817-3014-3.

KOWALSKI Wladyslaw. Hospital Airborne Infection Control. CRC Press. 2016, 370 p. ISBN: 143982200X, 9781439822005.

LE LOIR Yves, GANTIER Michel. Staphylococcus aureus. Lavoisier. Paris : 2009, 300p. ISBN : 978-2-7430-1195-6.

LOBEL Bernard., SOUSSY Claude. Les infections urinaires. Springer science and business media. Paris : 2007, pg 1-2,9-10. ISBN : 978-2-287-25172-6.

MACHADO José., ABELHA António. Applying Business Intelligence to Clinical and Healthcare Organizations. IGI Global. 2016, 24p. ISBN :1466698837, 9781466698833.

Références bibliographiques

MARINO Paul L. The ICU Book. A wolters kluwer business. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins, 2007, p490. ISBN: 13 : 978-0-7817-4802-5.

MESSINA Gabriele., CERIALE Emma., LENZI Daniele., BURGASSI Sandrai., AZZOLINI Elena., MANZI Pietro. Environmental Contaminants in Hospital Settings and Progress in Disinfecting Techniques. Italie : LEONE Marc, 2013.

NAUCIEL Charles., VILDE Jean Louis. Bactériologie médicale. Masson. Paris : 2005, pg 122-123 ISBN : 2-294-01858-3.

NZABAMWITA Vincent. La communication en milieu hospitalier : Personnel et patients : Exemple de la Polyclinique Internationale Saint-Joseph de Lomé-TOGO. Editions universitaires européennes EUE. 2013,132 p. ISBN 6131586195, 9786131586194.

OBLADEN Michael .Soins intensifs pour nouveau-nés. Springer Science & Business Media. 1998, 88p.

ORECCHIONI Anne-Marie., GAZENGEL Jean-Marie. Le préparateur en pharmacie- Guide théorique et pratique. Lavoisier, 2013, 313p. ISBN : 978-2-7430-1371-4.

PAYCHENG Odile., SZERMAN Stéphane. A la rencontre de l'éthique. Heures de France . Paris : 2006,140p. ISBN : 2-85.385-277.6.

PEBRET François. Maladies infectieuses: toutes les pathologies des programmes officiels des études médicales ou paramédicales. Heure de France. Paris : 2003. ISBN : 2-8538-247-4. Pg 148-149.

PITTET Didier., BOYCE John M., ALLEGRANZI Benedetta. Hand Hygiene: A Handbook for Medical Professionals. 2017. John Wiley & Sons. pg 225-250. ISBN : 1118846869,9781118846865.

SHOLTIS BRUNNER Lillian., SMELTZER Suzanne., BARE Brenda., SMITH SUDDARTH Doris. Soins infirmiers en médecine et chirurgie 2 : fonctions respiratoires, cardiovasculaires et hématologiques. De Boeck supérieur. Bruxelles : 2011, pg 834-835-836. ISBN : 2804165574.

SHOLTIS BRUNNER Lillian., SMELTZER Suzanne., BARE Brenda., SMITH SUDDARTH Doris. Soins infirmiers en médecine et chirurgie 1: Généralités. De Boeck Supérieur. Bruxelles : 2011, 433-435p. ISBN : 2804165566, 9782804165567.

Références bibliographiques

SUBHASH Chandra Parija. Text book of microbiology and immunology. Elsevier. india : 2009,273p. ISBN: 978-81-312-2163-1.

DROMIGNY Eric. Les critères microbiologiques des denrées alimentaires. Lavoisier. Paris : 2011, pg 98-99-104. ISBN: 978-2-7430-1397-4.

TORRES Antoni., EWIG Santiago., MANDELL Lionel., WOODHEAD Mark. Respiratory Infections. CRC Press. Great Britain : HODDER Arnold , 2006, pg 32-33 ISBN:1444113542, 9781444113549.

VINCENT Jean Louis. Le manuel de réanimation, soins intensifs et médecine d'urgence. Springer Science & Business Media. Paris : 2009. p75. ISBN 13:978-2-287-99032-8.

World Health Organization. Prise en charge des problèmes du nouveau-né: manuel de la sage-femme, de l'infirmière et du médecin. Suisse : World Health Organization, 2007. ISBN : 9242546222 9789242546224.

World Health Organization. Soins hospitaliers pédiatriques: prise en charge des affections courantes dans les petits hôpitaux. 2007, 323- 324p.

World Health Organization. Statistiques Sanitaires Mondiales. World Health Organization.2008, 34 p. ISBN: 9242594849, 9789242594843.

Annexe I : Les milieux de culture et les réactifs utilisés**1- Les milieux de culture****Composition**

Formule en grammes par litre d'eau distillée.

• Gélose Hektoen

- Protéase peptone.....	12
- Extrait de levure.....	3
- chlorure de sodium.....	5
- Sels biliaries.....	9
-Thiosulfate de sodium.....	5
- Citrate de fer ammoniacal.....	1,5
- Lactose.....	12
- Salicine.....	2
- Saccharose.....	12
- Bleu de bromothymol.....	0,002
- Fuchsine acide.....	0,1
- Agar.....	14
- pH final	7,5

• Gélose SS

- Extrait de viande de bœuf.....	5
- Polypeptone.....	5
- Sels biliaries.....	8,5
- Thiosulfate de sodium.....	8,5
- Citrate ferrique.....	1
- Citrate de sodium.....	10
- Lactose.....	10
- Vert brillant.....	0,00033
- Rouge neutre.....	0,025
- Agar.....	13,5
- pH final.....	7,0

• **Milieu Chapman**

- peptone tryptique de caseine.....	10
- extrait de viande.....	1
- chlorure de sodium.....	75
- mannitol.....	10
- rouge de phenol.....	0,025
- agar.....	15

• **Milieu cétrimide**

-peptone de gélatine.....	16
-peptone de caséine.....	10
-bromure de tétradonium.....	0,2
-acide nalidixique.....	15
-sulfate de potassium.....	10
-chlorure de magnésium.....	14
-agar.....	10

• **Gélose nutritive:**

- Extrait de levure.....	2
- Extrait de viande.....	1
- Peptone.....	5
- NaCl.....	5
- Agar.....	15
- pH final	7,4

2- Les réactifs

•**Réactif TDA:** pour la recherche de tryptophane désaminase

Perchlorure de fer.....3,4g

Eau distillée.....100ml

- **Réactif de Voges Proskauer:** pour la recherche de l'acétone

VP 1:

Hydroxyde de potassium.....40g

Eau distillée.....100ml

VP2:

Alpha naphthol.....6g

Ethanol100ml

- **Réactif Kovaks:** pour la recherche de l'indole

Diméthylamino-4-benzaldéhyde5g

Pentanol 1.....75ml

HCl pur.....25ml

- **Réactif NIT:** pour la recherche du nitrate réductase

NIT 1

Acide sulfanilique.....0,8g

Acide éthanoïque.....100ml

NIT 2

Naphtyl-1-amine.....0,6g

Acide éthanoïque100ml

- **Réactif ZYM :** pour la recherche de la phosphatase alcaline

ZYM A

Tris(hydroxyméthyl)amino-méthane

Lauryl sulfate

HCl

ZYM B

Fast blue BB

2-méthoxy-éthanol

NIN : pour la recherche de l'acide hippurique

Ninhydrine

2-méthoxyéthanol

Annexe II : profils biochimiques des souches obtenues.



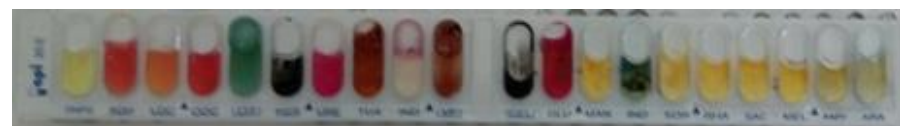
Profil biochimique de la souche *Enterobacter cloaca*.



Profil biochimique de la souche *Serratia mercescens*.



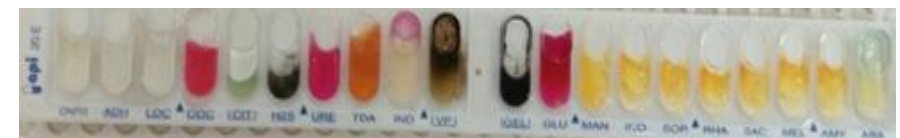
Profil biochimique de la souche *Serratia odorifera*.



Profil biochimique de la souche *Salmonella choleraesuis spp arizonae*.



Profil biochimique de la souche *Salmonella spp.*



Profil biochimique de la souche *Yersinia Enterocolitica*.



Profil biochimique de la souche *Raoultella ornithinolytica*.



Profil biochimique de la souche *Pseudomonas aeruginosa*.



Profil biochimique de la souche *Pseudomonas luteola*.



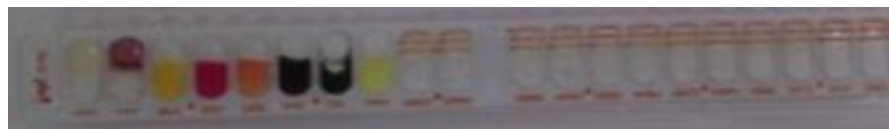
Profil biochimique de la souche *Burkholderia cepacia*.



Profil biochimique de la souche *Vibrio vulnificus*.



Profil biochimique de la souche *Aeromonas hydrophila*.



Profil biochimique de la souche *Shingomonas paucimobilis*.



Profil biochimique de la souche *Staphylococcus aureus*.



Profil biochimique de la souche *Staphylococcus xylosum* 1.



Profil biochimique de la souche *Aerococcus viridans* 1.

Résumé

Le milieu hospitalier abrite un grand nombre de microorganismes, les bactéries sont les plus fréquemment impliquées dans les infections nosocomiales. Elles peuvent coloniser les équipements respiratoires associées aux thérapies respiratoires telles que l'oxygénothérapie.

La présente étude consiste à analyser la contamination bactérienne des masques à oxygène dans les établissements publics de santé de proximité de la ville de Guelma et de critiquer le degré de leur désinfection et de leur mode de stockage après l'opération de nettoyage.

Les résultats nous montrent une microflore diversifiée: 7 espèces des Entérobactéries, 6 espèces non Entérobactéries, 2 espèces des Staphylocoques et une espèce de Streptocoque.

Suite à la vérification de la contamination bactérienne des masques à oxygène, de nouvelles mesures d'hygiène et de désinfection doivent être adoptées par les établissements publics de santé.

Mots clés : Milieu hospitalier, Infection nosocomiale, Oxygénothérapie, Masque à oxygène, Contamination bactérienne.

Abstract

The hospital environment is home to a large number of microorganisms, bacteria are the most commonly involved in nosocomial infections. They can colonize respiratory equipment associated with respiratory therapies such as oxygen therapy.

The purpose of this study is to analyze the bacterial contamination of reusable oxygen masks in public health establishments of the city of Guelma and to criticize the degree of their disinfection and their mode of storage after the cleaning operation.

The results show a diversified microflora: 7 species of Enterobacteriaceae, 6 species no Enterobacteriaceae, 2 species of Staphylococcus and a species of Streptococcus.

Following the verification of the bacterial contamination of oxygen masks, new hygiene and disinfection measures have to be adopted by the public health establishments.

Key words: Hospital environment, Nosocomial infection, Oxygen therapy, Oxygen mask, Bacterial contamination.

الملخص

تضم البيئة الاستشفائية عددا كبيرا من الكائنات الحية بما فيها البكتيريا التي تشارك في معظم الأحيان في عدوى المستشفيات. هذه البكتيريا يمكن أن تستعمر المعدات المرتبطة بعلاجات الجهاز التنفسي، مثل العلاج بالأكسجين.

تهدف هذه الدراسة الى تحليل التلوث البكتيري لأقنعة الأوكسجين المعادة الاستخدام في المرافق العامة الصحية الجوارية بمدينة قالمة، وانتقاد درجة التطهير والتخزين بعد عملية التنظيف.

أظهرت لنا النتائج وجود بكتيريا متنوعة: 7 أنواع من البكتيريا المعوية، 6 أنواع من البكتيريا لا المعوية، نوعان من المكورات العنقودية و نوع من البكتيريا السبحية.

عند التحقق من التلوث البكتيري لأقنعة الأوكسجين، لا بد من اتخاذ تدابير جديدة للنظافة والتطهير من قبل مؤسسات الصحة العامة.

الكلمات المفتاحية : البيئة الاستشفائية، العدوى المكتسبة بالمستشفيات، العلاج بالأكسجين ، قناع الأكسجين، التلوث البكتيري.