

EVALUATION PER-OPERATOIRE DE L'EFFICACITE D'UN SAVON ANTISEPTIQUE A BASE DE CHLORHEXIDINE SUR LA DESINFECTION DES MAINS

THESE

pour obtenir le grade de DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

présentée et soutenue publiquement en 2009 devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse

par Aurore, Véronique MASSON

Née le 7 juillet 1982 à Chambray-lès-Tours (Indre-et-Loire)

Directeur de thèse : Mme le Professeur Patricia MEYNAUD

JURY

PRESIDENT:

M. Paul BONNEVIALLE

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESSEUR:

Mme Patricia MEYNAUD
M. André AUTEFAGE
MEMBRE INVITE:
M. Laurent FLAUS

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Docteur Vétérinaire







M. BODIN ROZAT DE MENDRES NEGRE

Ministère de l'Agriculture et de la Pêche ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur:

M. A. MILON

Directeurs honoraires

M. G. VAN HAVERBEKE.

M. P. DESNOYERS

Professeurs honoraires:

M. L. FALIU M. J. C M. C. LABIE M. JF.

M. J. CHANTAL

M. JF. GUELFI

M. C. PAVAUX
M. F. LESCURE

M. EECKHOUTTE M. D.GRIESS

M. A. RICO

M. CABANIE

M. A. CAZIEUX

M. **DARRE**

Mme V. BURGAT

M. HENROTEAUX

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. BRAUN Jean-Pierre, Physique et Chimie biologiques et médicales
- M. DORCHIES Philippe, Parasitologie et Maladies Parasitaires
- M. **EUZEBY Jean**, Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie
- M. TOUTAIN Pierre-Louis, Physiologie et Thérapeutique

PROFESSEURS 1° CLASSE

- M. AUTEFAGE André, Pathologie chirurgicale
- Mme CLAUW Martine, Pharmacie-Toxicologie
- M. CORPET Denis, Science de l'Aliment et Technologies dans les Industries agro-alimentaires
- M **DELVERDIER Maxence.** Anatomie Pathologique
- M. ENJALBERT Francis, Alimentation
- M. FRANC Michel, Parasitologie et Maladies parasitaires
- M. MARTINEAU Guy, Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour
- M. PETIT Claude, Pharmacie et Toxicologie
- M. **REGNIER Alain**, Physiopathologie oculaire
- M. SAUTET Jean, Anatomie
- M. SCHELCHER François, Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour

PROFESSEURS 2° CLASSE

Mme BENARD Geneviève, Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale

- M. BERTHELOT Xavier, Pathologie de la Reproduction
- M. BOUSQUET-MELOU Alain, Pharmacologie et Thérapeutique
- M. CONCORDET Didier, Mathématiques, Statistique, Modélisation
- M. DUCOS Alain, Zootechnie
- M. **DUCOS DE LAHITTE** Jacques, Parasitologie et Maladies parasitaires
- Mme GAYRARD-TROY Véronique, Physiologie de la Réproduction, Endocrinologie
- M. **GUERRE Philippe**, Pharmacie et Toxicologie
- Mme HAGEN-PICARD Nicole, Pathologie de la Reproduction
- M. LEFEBVRE Hervé, Physiologie et Thérapeutique
- M. LIGNEREUX Yves, Anatomie
- M. PICAVET Dominique, Pathologie infectieuse
- M. SANS Pierre, Productions animales
- Mme TRUMEL Catherine, Pathologie médicale des Equidés et Carnivores

- M. TAMZALI Youssef, Responsable Clinique Equine
- M. REYNOLDS Brice, Médecine, Ophtalmologie

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

Mme MICHAUD Françoise, Professeur d'Anglais

A SEVERAC Benoît, Professeur d'Anglais

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

M. JOUGLAR Jean-Yves, Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

- M. ASIMUS Erik, Pathologie chirurgicale
- M. BAILLY Jean-Denis, Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale
- Mme BENNIS-BRET Lydie, Physique et Chimie biologiques et médicales
- M. BERGONIER Dominique, Pathologie de la Reproduction
- M. BERTAGNOLI Stéphane, Pathologie infectieuse
- Mme BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle, Biologie cellulaire et moléculaire
- Mle BOULLIER Séverine, Immunologie générale et médicale
- Mme BOURGES-ABELLA Nathalie, Histologie, Anatomie pathologique
- M. BRUGERE Hubert, Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale
- Mle CADIERGUES Marie-Christine, Dermatologie
- M. CORBIERE Fabien, Pathologie des ruminants
- Mle DIQUELOU Armelle, Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores
- M. DOSSIN Olivier, (DISPONIBILITE) Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores
- M. FOUCRAS Gilles, Pathologie du Bétail
- M. GUERIN Jean-Luc, Elevage et Santé avicoles et cunicoles
- M. JACQUIET Philippe, Parasitologie et Maladies Parasitaires
- M. JAEG Jean-Philippe, Pharmacie et Toxicologie
- Mle LACROUX Caroline, Anatomie Pathologique des animaux de rente
- M. LYAZRHI Faouzi, Statistiques biologiques et Mathématiques
- M. MATHON Didier, Pathologie chirurgicale
- M MEYER Gilles, Pathologie des ruminants.
- Mme MEYNAUD-COLLARD Patricia, Pathologie Chirurgicale
- M. MOGICATO Giovanni, Anatomie, Imagerie médicale
- M. MONNEREAU Laurent, Anatomie, Embryologie
- Mle PALIERNE Sophie, Chirurgie des animaux de compagnie
- Mme PRIYMENKO Nathalie, Alimentation
- Mme LETRON-RAYMOND Isabelle, Anatomie pathologique
- Mme TROEGELER-MEYNADIER Annabelle, Alimentation
- M. **VOLMER Romain**, Microbiologie et Infectiologie
- M. VERWAERDE Patrick, Anesthésie, Réanimation

MAITRES DE CONFERENCES CONTRACTUEL

- Mlle BUCK-ROUCH, Médecine interne des animaux de compagnie
- M. CASSARD Hervé, Pathologie du bétail
- M. DOUET Jean-Yves, Ophtalmologie
- M. SEGUELA Jérôme, Médecine interne des animaux de compagnie
- M VERSET Michaël, Chirurgie des animaux de compagnie

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- Mle BIBBAL Delphine, Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale
- M. CONCHOU Fabrice, Imagerie médicale
- M. GIN Thomas, Production et pathologie porcine
- M. LIENARD Emmanuel. Parasitologie et maladies parasitaires
- M. NOUVEL Laurent, Pathologie de la reproduction
- M. RABOISSON Didier, Productions animales
- Mle TREVENNEC Karen, Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins

A notre Président de thèse,

Monsieur le professeur Paul BONNEVIALLE

Professeur des Universités

Praticien hospitalier

Chirurgie orthopédique

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse, Hommages respectueux.

A notre jury de thèse,

Madame le Docteur Patricia MEYNAUD-COLLARD

Maître de Conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse Chirurgie des carnivores domestiques

Qui nous a guidé dans la réalisation de ce travail, pour ses conseils et sa disponibilité, Sincère reconnaissance.

Monsieur le Professeur André AUTEFAGE

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse Chirurgie des carnivores domestiques

Qui nous a encadré au cours de nos études et par la suite, Sincère reconnaissance.

Remerciements

A mes parents, pour leur soutien, leur amour et leur confiance en moi inébranlables,

A mon frère et ma toute nouvelle belle-sœur, Alex et Alice, pour les changements que vous savez apporter dans ma vie,

A mes grands-parents, pour la fierté permanente que je lis dans vos regards,

A Bep, mon coloc qui m'a rendu la vie plus facile pendant ces 3 années sans discontinuer,

A mes amies les plus chères, Aurélie, Emmanuelle et Julie, la vie est moins drôle sans vous...

A Caro et Camille, mes copines de Tours, les dernières...

A tous mes amis: mes collègues de chirurgie, Alexis, Fanny et Iban, mes co-internes, Aurélie D., Camille, Charlotte, Jon, Mini Soph', Ben, mes anciens et nouveaux internes, Sèv, vous tous qui m'avez certainement rendue meilleure.

A Morphine, Hermès, Eva, Vicky, Pompom, origines d'une vocation...

A tous ceux qui ont compté, même sans le savoir.

Qu'aucun de vous n'oublie, et encore merci.

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES	8
TABLE DES ILLUSTRATIONS ET TABLEAUX	11
INTRODUCTION	13
I - DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES	14
A - La désinfection chirurgicale	14
1 - Définitions.	14
 a – La norme AFNOR (Association Française de NORmalisation) b – Selon le Comité Européen de Normalisation 	14 16
2 - Evaluation de l'activité des antiseptiques et des désinfectants : normes AFNOR et EN.	5 17
 a – Les normes AFNOR b – Principes de la normalisation européenne : les normes EN b1 – Normes de base (phase 1) b2 – Normes d'applications 	17 18 18 18
3 - Ecologie microbienne de la peau : la flore cutanée et ses caractéristique	ies. 19
 a – La flore résidente b – La flore transitoire c – Présentation bactériologique des principaux germes c1 – Les staphylocoques c2 – Les streptocoques et entérocoques c3 – Les Neisseria c4 – Les corynébactéries c5 – Propionibacterium spp. d – Estimation quantitative de la flore cutanée des mains et des 	19 20 21 21 22 23 23 24 8 avant-
bras	24
4 - Les enjeux de la désinfection chirurgicale.	26
5 - Hygiène des mains et désinfection chirurgicale des mains.	29
 a – Classification et caractéristiques des antiseptiques b – Efficacité, toxicité et tolérance des familles d'antiseptiques c – Hygiène des mains 	29 35 36

B - Présentation du savon chirurgical testé dans l'étude : savon dés RIVADOUCE® II - ETUDE EXPERIMENTALE	sinfecta 41 43
A - Objectifs de l'étude	43
B - Matériels et méthodes	43
1 – Protocole expérimental.	43
 a – Préparation des chirurgiens b – Protocole de désinfection chirurgicale des mains c – Protocole de prélèvement bactériologique d – Préparation du patient 	44 44 47 49
2 - Modifications apportées au protocole en cours d'étude.	49
C – Présentation des résultats	50
1 – Germes rencontrés avant lavage sur l'ensemble des prélèvements.	50
2 – Résultats de la première série : deux lavages d'une durée d'une min	ute.51
 a – Prélèvements réalisés avant lavage des mains b – Prélèvements réalisés au changement de gants c – Prélèvements réalisés à la fin de l'intervention d – Prélèvements réalisés au sein du site d'intervention 3 – Résultats de la seconde série : trois lavages d'une durée d'une minu 	51 55 55 60 te.61
 a – Prélèvements réalisés avant lavage des mains b – Prélèvements réalisés au changement de gants c – Prélèvements réalisés à la fin de l'intervention d – Prélèvements réalisés au sein du site d'intervention 	61 64 64 65
D – Discussion des résultats	66
III - CONCLUSION	73
IV – BIBLIOGRAPHIE	75
V – ANNEXES	80
ANNEXE 1 : Exemples de Normes AFNOR et EN applicables aux antiseptique et désinfectants miscibles à l'eau	es 81
ANNEXE 2 : Composition de la flore résidente	82
ANNEXE 3 : Résultats bactériologiques de la 1 ^{ère} intervention chirurgicale	83

ANNEXE 4 : Résultats bactériologiques de la 2 ^{ème} intervention chirurgicale	84
<u>ANNEXE 5</u> : Résultats bactériologiques de la 3 ^{ème} intervention chirurgicale	85
<u>ANNEXE 6</u> : Résultats bactériologiques de la 4 ^{ème} intervention chirurgicale	86
<u>ANNEXE 7</u> : Résultats bactériologiques de la 5 ^{ème} intervention chirurgicale	87
<u>ANNEXE 8</u> : Résultats bactériologiques de la 6 ^{ème} intervention chirurgicale	88
<u>ANNEXE 9</u> : Résultats bactériologiques de la 7 ^{ème} intervention chirurgicale	89
<u>ANNEXE 10</u> : Résultats bactériologiques de la 8 ^{ème} intervention chirurgicale	90
<u>ANNEXE 11</u> : Résultats bactériologiques des interventions 1 et 2 de la série 2	91
<u>ANNEXE 12</u> : Résultats bactériologiques des interventions 3, 4 et 5 de la série 2	93
ANNEXE 13 : Résultats bactériologiques de la 6 ^{ème} intervention de la série 2	95

TABLE DES ILLUSTRATIONS ET TABLEAUX

<u>Tableau 1</u> : Estimation quantitative de la flore cutanée des mains et des avant-bras	25
<u>Tableau 2</u> : Propriétés des principales familles d'antiseptiques à l'exception biguanides et des ammoniums quaternaires Spectre d'activité des principales familles d'antiseptiques	
<u>Tableau 3</u> : Spectre d'activité des principales familles d'antiseptiques à l'exception biguanides et des ammoniums quaternaires	n des 31
<u>Tableau 4</u> : Synthèse des données concernant la chlorhexidine et les ammon quaternaires	niums 32
<u>Tableau 5</u> : Comparaison des différentes techniques d'hygiène des mains	37
<u>Tableau 6</u> : Niveau de risque des gestes médico-chirurgicaux et antisepsie à mett œuvre	re en 40
<u>Tableau 7</u> : Résumé des études microbiologiques réalisées sur le "savon désinfe RIVADOUCE®"	ectant 41
<u>Tableau 8</u> : Récapitulatifs des résultats bactériologiques (série 1)	54
<u>Tableau 9</u> : Influence du changement de protocole sur les résultats obtenus en fin d'intervention	57
<u>Tableau 10</u> : Répartition des germes en fonction du nombre de cas et du nombre de colonies observés	58
<u>Tableau 11</u> : Récapitulatif des résultats bactériologiques (série 2)	63
Photo 1 : Mise en place d'une blouse et de gants stériles	44
<u>Photo 2</u> : Bouteille de savon désinfectant Rivadouce® avec pompe doseuse	45
Photo 3: Lavage des mains avec le savon Rivadouce®	45
Photo 4: Lavage soigneux des mains et des avant bras	46
<u>Photo 5</u> : Séchage avec un essuie main stérile	46
<u>Photo 6</u> : Prélèvement bactériologique avant lavage des mains	47
<u>Photo 7</u> : Prélèvement bactériologique après désinfection des mains	48
Figure 1 : Germes rencontrés sur les mains avant lavage et leur fréquence d'apparit	ion 50
<u>Figure 2</u> : Espèces de <i>Staphylococcus</i> rencontrées sur les mains avant lavage et fréquence d'apparition	

<u>Figure 3</u> : Evolution du nombre de colonies en fonction du temps (série 1)	52
Figure 4 : Nombre de colonies prélevées immédiatement après lavage (série 1)	52
Figure 5 : Germes rencontrés immédiatement après lavage (série 1)	53
Figure 6 : Nombre de colonies identifiées en fin d'intervention (série 1)	56
<u>Figure 7</u> : Influence du temps sur la contamination bactérienne des mains après l'chirurgical (série 1)	lavage 57
Figure 8 : Evolution du nombre de colonies en fonction du temps (série 2)	62

INTRODUCTION

Le laboratoire Axience commercialise un savon destiné à la désinfection chirurgicale des mains : le savon de la gamme Rivadouce[®]. Ce savon est composé de chlorhexidine associée à un ammonium quaternaire et à des agents surgraissants.

Ce produit a fait l'objet d'une thèse pour tester son activité bactéricide et sa rémanence sur la flore cutanée des mains hors conditions chirurgicales. Lors de cette étude, il a été montré que le taux de réduction bactérienne était de 100% immédiatement après un lavage chirurgical soigneux de 2 minutes et qu'il le restait au moins jusqu'à 4 heures après ce lavage [1].

Cependant, même si l'association de chlorhexidine avec un ammonium quaternaire et des agents surgraissants est efficace hors conditions chirurgicales, cette efficacité peut être remise en cause lors d'intervention chirurgicale car les gants chirurgicaux peuvent devenir poreux au contact des fluides biologiques ou se percer [2,3,4]. En outre, le port des gants agit comme un catalyseur de la multiplication bactérienne en créant une atmosphère humide et chaude à la surface de la peau.

Cette thèse a donc pour but de tester l'activité bactéricide du savon Rivadouce[®] sur la flore cutanée des mains au cours du temps opératoire, pour en déterminer l'efficacité en conditions chirurgicales.

Dans un premier temps, seront exposés des données bibliographiques concernant la désinfection chirurgicale, la présentation du savon à tester et les principes actifs utilisés dans ce produit.

Les chapitres suivants de cette thèse seront consacrés à la description, à la présentation des résultats et des analyses de l'étude expérimentale testant l'efficacité et la rémanence du savon chirurgical Rivadouce[®] réalisée à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

I DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

Les données bibliographiques recueillies dans ce chapitre visent à définir le vocabulaire relatif à la désinfection chirurgicale, à donner une vue d'ensemble sur l'écologie microbienne cutanée ainsi que les enjeux de la désinfection chirurgicale des mains et enfin à présenter les normes françaises et européennes en matière de désinfection. Une présentation du savon sera réalisée ainsi qu'une synthèse bibliographique concernant les différents principes actifs.

A - La désinfection chirurgicale

1 - Définitions

Les antiseptiques et les désinfectants sont des produits capables soit d'inhiber la croissance des micro-organismes (bactériostase, fongistase, virustase), soit d'avoir une action létale sur ceux-ci (bactéricidie, fongicidie, virucidie, sporicidie). Certains antiseptiques et désinfectants présentent ces deux modes d'action en fonction des doses utilisées et des germes rencontrés.

Le mécanisme d'action des produits varie d'une famille à l'autre : coagulation des organites intracellulaires, altération de la membrane... Selon leur nature et leur concentration, les antiseptiques et désinfectants ont une ou plusieurs cibles à l'intérieur de la cellule. Ils doivent donc traverser la paroi cellulaire pour exercer leur action. [5]

De nombreux termes existent pour décrire les modes de luttes contre les germes : la décontamination, la désinfection, l'antisepsie. Il convient dans un premier temps d'en donner les définitions précises.

a - La norme AFNOR (Association Française de Normalisation).

La norme AFNOR NF T 72-101 de mars 1981 permet de mieux cadrer les notions d'antisepsie et de désinfection [6].

La **décontamination** (ou pré-désinfection) est le « premier traitement à effectuer sur les objets et matériels souillés par des matières organiques dans le but de diminuer la population des micro-organismes et de faciliter le nettoyage ultérieur. La

décontamination a également pour but de protéger le personnel lors de la manipulation des instruments, elle permet aussi d'éviter la contamination de l'environnement » [7].

L'antisepsie (du grec "anti" : contre et "septikos" dérivé de "sepein" : corrompre), désigne une « opération au résultat momentané permettant, au niveau des tissus vivants, dans la limite de leur tolérance, d'éliminer ou de tuer les microorganismes et/ou d'inactiver les virus, en fonction des objectifs fixés. Le résultat de cette opération est limité aux micro-organismes et/ou virus présents au moment de l'opération » [7].

Un **antiseptique** est un « produit ou procédé utilisé pour l'antisepsie dans des conditions définies. Si le produit ou le procédé est sélectif, ceci doit être précisé. Ainsi, un antiseptique ayant une action limitée aux champignons est désigné "antiseptique à action fongicide". Il est présenté dans sa forme d'utilisation et doit être utilisé comme tel sauf exception justifiée et autorisée».

Les antiseptiques sont donc des préparations ayant la <u>propriété d'éliminer les</u> <u>micro-organismes ou d'inactiver les virus sur des tissus vivants</u> (peau saine, muqueuses, plaies). (Xème édition de la Pharmacopée française (Janvier 1990)). [5]

L'action des antiseptiques est de courte durée et vise les micro-organismes présents au moment de l'application : ils ne préviennent pas une possible recontamination. Enfin, comme le rappelle la définition, on ne peut s'attendre à une décontamination totale et les «objectifs fixés» demeurent une diminution optimale du titre bactérien [7]. Ils n'altèrent pas les tissus sur lesquels ils sont placés.

La désinfection est une « opération au résultat momentané permettant d'éliminer ou de tuer les micro-organismes et/ou d'inactiver les virus indésirables portés par des milieux inertes contaminés, en fonction des objectifs fixés. Le résultat de cette opération est limité aux micro-organismes et/ou virus présents au moment de l'opération » [7].

Une désinfection vise à supprimer le danger lié à la présence de certains microorganismes. Son but est de réduire le nombre de micro-organismes à un niveau tel que le risque de transmission d'une infection puisse être éliminé dans une application particulière [8]. Un désinfectant est un "produit ou procédé utilisé pour la désinfection ou la décontamination dans des conditions définies".

b - Selon le Comité Européen de Normalisation :

- → Le terme d'antisepsie devrait être réservé au cas où l'opération est destinée au traitement d'une infection constituée.
- → Le terme de **désinfection** désigne une opération visant à prévenir une infection.

On parle ainsi de désinfection de la peau saine, de désinfection des mains, mais d'antisepsie d'une plaie.

En ce qui concerne le lavage et la désinfection des mains, la normalisation européenne utilise le terme "hygiénique" à la place du terme "antiseptique". On parle ainsi de lavage hygiénique des mains lorsqu'on utilise un savon antiseptique, et de friction hygiénique lorsqu'on utilise une solution hydro-alcoolique pour la désinfection des mains sans rinçage [5].

Si jusqu'ici la distinction mentionnée par l'AFNOR avait le mérite de la clarté, la définition selon les normes européennes est différente : un désinfectant est un produit de désinfection destiné à être appliqué sur les matières inertes mais aussi sur la peau saine.

Ceci introduit une confusion, car un produit comme la chlorhexidine sera à la fois un désinfectant (appliqué sur la peau saine) et un antiseptique (appliqué sur la peau lésée ou des muqueuses), alors qu'elle est inadéquate pour la désinfection des matières inertes [8].

La rémanence désignera la persistance de l'effet anti-microbien de l'antiseptique sur la peau ou du désinfectant persistant sur une surface ou sur la peau [5].

2 - Evaluation de l'activité des antiseptiques et des désinfectants : Normes AFNOR et EN

Les antiseptiques et les désinfectants doivent répondre à certaines normes pour pouvoir être commercialisés en tant que tels. En France, ces normes sont fixées par l'AFNOR (Association Française de NORmalisation) et par le Comité Européen de Normalisation (annexe 1).

a - Les normes AFNOR

L'AFNOR (Association Française de NORmalisation) a été créée en 1926. L'étude de l'activité des antiseptiques et des désinfectants est standardisée par l'AFNOR depuis 1975. Les normes AFNOR décrivent des méthodes *in vitro* permettant d'évaluer la concentration minimale du produit qui, dans des conditions déterminées de température et pour un temps de contact donné, provoque la réduction, dans des

La réalisation de ces normes s'effectue en trois phases :

proportions préalablement définies, d'une population initiale microbienne. [5]

- 1. mise en contact du produit à tester avec un inoculum microbien ;
- 2. annulation de l'activité du produit à l'issue du temps de contact selon deux méthodologies possibles :
 - par dilution/neutralisation du mélange (micro-organismes / produit) (norme NFT 72-190) ;
 - par filtration du mélange sur une membrane (norme NFT 72-151) ;
 - 3. mise en culture en milieu approprié des germes survivants.

Les tests sont réalisés à la température de 20°C.

Chacune des deux méthodologies présente des avantages et des inconvénients : la norme NFT 72-151 est facile à réaliser, permet de tester un grand nombre de produits en peu de temps, mais s'éloigne des conditions réelles dans lesquelles a lieu l'antisepsie. La norme NFT 72-190 est plus proche de la pratique mais d'exécution plus délicate. En outre, il est impossible à l'issue du temps de contact micro-organisme / produit, d'interrompre rapidement et complètement l'action de l'antiseptique qui se poursuit dans le diluant, ceci pouvant biaiser les résultats ; le recours à des neutralisants ou une

réalisation très rapide des dosages nécessaires à l'établissement des normes sont souvent nécessaires. [5, 7].

b - Principe de la normalisation européenne : les normes EN

Les normes européennes comportent des normes de base (normes dites de phase 1) et des normes d'application (normes de phases 2 et 3) adaptées au domaine d'utilisation : désinfection des surfaces en agro-alimentaire, désinfection des dispositifs médicaux... [5]

b1 - Normes de base (phase1):

Il s'agit d'essai en suspension pour évaluer l'activité de base du produit. Cette phase, appliquée aux activités bactéricides (NF EN 1040 ou NF T 72-152) et fongicides (NF EN 1275 ou NF T 72-202), correspond aux anciennes normes AFNOR NF T 72-150/151 et NF T 72-200/201.

<u>b2 - Normes d'applications :</u>

La norme de phase 2 est établie par un essai en laboratoire dans des conditions les plus représentatives possibles de la pratique hospitalière pour déterminer la concentration efficace et les indications. Cette phase est divisée en 2 étapes :

- 1ère étape : essai en suspension comme pour la phase 1, dans des conditions plus proches de la pratique, par exemple des espèces de micro-organismes spécifiques de l'application et/ou en présence de substances interférentes définies (protéines, eau dure, etc...).
- 2ème étape : essai simulant la pratique, par exemple sur porte-germes pour les désinfectants de surface, sur des mains artificiellement contaminées pour les produits destinés à la désinfection des mains par lavage ou friction.

Enfin, la norme de phase 3 se définit au travers d'un essai sur le terrain, dans des conditions pratiques d'utilisation, afin de confirmer la concentration efficace : ces essais sont pratiqués avec des souches hospitalières. [5]

3 - Ecologie microbienne de la peau : la flore cutanée et ses caractéristiques

De nombreuses bactéries sont normalement présentes sur la peau et les muqueuses des sujets sains. Elles constituent les flores commensales résidentes. Celles-ci participent activement au maintien de la santé, en prévenant par son équilibre la prolifération de bactéries commensales potentiellement dangereuses et en empêchant la colonisation par des bactéries pathogènes.

La flore cutanée est constituée, outre la flore résidente, d'une flore transitoire, de contamination récente [9].

La flore cutanée est variable en qualité et en quantité (10² à 10⁶/cm²) selon la topographie. Les mains portent souvent une flore transitoire abondante d'où leur rôle dans la transmission croisée.

a - La flore résidente

La flore résidente ou de séjour ou commensale est la flore normale non pathogène. Elle est constituée de bactéries qui vivent et se multiplient sur la peau (annexe 2). La plupart de ces micro-organismes est située dans les couches superficielles de la peau mais une partie d'entre eux se trouve aussi dans les couches profondes. Ces espèces se sont installées de façon prolongée, voire permanente, au niveau de l'épiderme et dans les canaux des glandes sébacées et des follicules pileux. Elles y trouvent les éléments nécessaires à leur métabolisme et à leur multiplication.

La flore résidente comprend des bactéries (annexe 2) :

- aérobies : surtout germes Gram +, staphylocoques à coagulase négative comme *Staphylococcus epidermidis*, corynébactéries, microcoques ;
 - anaérobies : essentiellement *Propionibacterium acnes*.

Ces bactéries sont habituellement peu pathogènes chez l'homme sain, car elles jouent un rôle de barrière en s'opposant à l'implantation d'autres espèces potentiellement pathogènes. Elles sont à l'origine d'infection lorsqu'elles sont introduites dans l'organisme lors de procédures invasives, telles qu'une intervention chirurgicale, une ponction, un cathétérisme...

Cette flore est difficile à éliminer et se reconstitue rapidement (4 à 6 heures), à partir de la flore de voisinage et des bactéries survivantes. Le port de gants chirurgicaux

en accélère le processus. Elle est seulement réduite malgré l'action mécanique du lavage et l'action bactéricide des antiseptiques [9,10].

b - La flore transitoire

La flore transitoire est plus polymorphe, composée de micro-organismes ayant contaminés récemment la peau, potentiellement pathogènes et provenant du tube digestif, de l'environnement, de matériel contaminé ou encore du contact avec des individus colonisés ou infectés.

Ces micro-organismes font un bref séjour sur la peau car ils sont incapables de se multiplier en surface ni de survivre plus de quelques heures au niveau de la peau saine. La flore résidente a un effet protecteur qui empêche ces micro-organismes de survivre longtemps. En outre, l'environnement cutané est peu favorable à leur croissance (froid, sécheresse...) [9,10].

La flore transitoire se compose essentiellement de :

- Entérobactéries ;
- Pseudomonas spp provenant de l'environnement ;
- Klebsielles;
- Streptocoques du groupe A;
- Enterococcus spp;
- Staphylococcus aureus;
- Candida albicans, chez les sujets immunodéprimés ou diabétiques ;
- Spores de *Bacillus spp* et *Clostridium spp*, provenant de l'environnement.

Cette flore est totalement éliminée par un lavage simple ou hygiénique des mains avec un savon antiseptique [9,11].

c - Présentation bactériologique des principaux germes [12]

c1- Les staphylocoques :

Les bactéries du genre *Staphylococcus* sont des coques (cocci) à Gram positif, groupés en amas ayant la forme de grappes de raisin, immobiles, non sporulés, catalase positive et oxydase négative. Parmi les 27 espèces du genre actuellement répertoriées, les principales sont *Staphyloccus aureus*, *S. epidermidis* et *S. saprophyticus*. L'espèce *S. aureus* sera prise comme exemple représentatif du genre.

S. aureus est un germe commensal de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux (rhino-pharynx, intestin). On le trouve sur la muqueuse nasale d'environ un tiers des sujets normaux. Eliminée dans le milieu extérieur, cette bactérie peut survivre longtemps dans l'environnement.

Germe pyogène par excellence, *S. aureus* est le microbe de la suppuration. Certaines souches agissent aussi par libération d'une ou de plusieurs toxines (intoxication alimentaire, syndrome de choc toxique, impetigo).

La fréquence et la gravité des infections à staphylocoques sont liées à trois principaux facteurs :

- le caractère ubiquitaire du germe ;
- l'abaissement des défenses locales et générales des malades soumis à des soins intensifs, des interventions chirurgicales graves, etc...;
- la fréquente résistance aux antibiotiques du staphylocoque, notamment du staphylocoque hospitalier.

Les infections staphylococciques peuvent revêtir 3 formes : les formes cutanées, les formes muqueuses et les formes généralisées.

Les formes cutanées peuvent entraîner une atteinte plus ou moins sévère des follicules pilo-sébacés (folliculite, furoncle, anthrax), une atteinte péri-unguéale (onyxis, perionyxis) ou une atteinte du tissu sous-cutané (panaris, phlegmons). Certaines formes cutanées superficielles, comme l'impetigo, peuvent se compliquer de lésions bulleuses graves lorsque la souche de staphylocoque est productrice d'exfoliatine

Les formes muqueuses sont responsables d'otites, de sinusites, de mastoïdites et de conjonctivites d'intensité assez variable en fonction de la souche.

Ces deux formes sont dans la majorité des cas des affections relativement bénignes mais peuvent conduire à des formes généralisées.

Une forme généralisée est caractérisée par une septicémie succédant à un foyer initial cutanéo-muqueux. On l'observe principalement chez les sujets ayant des défenses immunitaires affaiblies, les sujets traumatisés ou soumis à une intervention chirurgicale grave, les patients en unité de soins intensifs, les diabétiques, les personnes âgées ou les nourrissons. Les septicémies à staphylocoques, qui sont de pronostic redoutable (20 à 30 % de mortalité), sont souvent compliquées par des localisations viscérales, même lorsqu'elles sont peu symptomatiques : pleuro-pulmonaires (abcès bulleux), ostéo-articulaires (ostéomyélites), uro-génitales (phlegmon périnéphrétique), cérébrales (abcès du cerveau), cardiaques (endocardite aiguë).

Les formes généralisées peuvent parfois revêtir l'aspect de formes intestinales ou de syndrome de choc toxique.

c2 - Les streptocoques et entérocoques :

Les bactéries des genres *Streptococcus* et *Enterococcus* sont des cocci à Gram positif, catalase négative, à métabolisme anaérobie. Le genre *Streptococcus* rassemble les streptocoques *sensu stricto* et le pneumocoque. Le genre *Enterococcus* regroupe les streptocoques du groupe D, excepté *Streptococcus bovis*.

Les streptocoques sont des cocci de taille et de forme irrégulières, groupés en chaînettes plus ou moins longues et flexueuses, immobiles, acapsulés, asporulés.

Ce sont des germes exigeants qui ne poussent pas sur les milieux de culture ordinaires. Ceux-ci doivent être additionnés de sérum ou de sang frais. En bouillon, les streptocoques poussent en donnant des flocons et un dépôt au fond du tube lié aux longues chaînettes et évoquant de la mie de pain. Sur gélose au sang, ils donnent de petites colonies grisâtres, translucides, en grain de semoule, entourées d'une zone d'hémolyse totale (hémolyse β) pour les streptocoques des groupes A, C, G, tandis que les autres streptocoques donnent une hémolyse partielle (hémolyse α) ou pas d'hémolyse du tout.

Les streptocoques sont des bactéries à métabolisme anaérobie mais aérobie tolérants. Ils n'ont pas de catalase (enzyme respiratoire), à l'inverse des staphylocoques.

Les streptocoques regroupent de nombreuses espèces :

- les streptocoques des groupes A, C et G de Lancefield, parasites de l'espèce humaine ;
- les streptocoques du groupe B et streptocoques non groupables et non hémolytiques, commensaux de la muqueuse buccale ;
- les streptocoques du groupe B, commensaux de la muqueuse génitale ;
- les anciens streptocoques du groupe D ou entérocoques considérés comme faisant partie d'un genre à part, le genre *enterococcus*, commensaux de l'intestin.

D'autres espèces de streptocoques sont des commensaux des animaux ou des saprophytes.

Les streptocoques sont, après les staphylocoques, les principales bactéries pyogènes. Le plus pathogène d'entre eux est le streptocoque β-hémolytique du groupe A de Lancefield, appelé *Streptococcus pyogenes*, qui est responsable de la majorité des affections provoquées par les streptocoques.

c3 - Les Neisseria:

Les *Neisseria* sont des cocci à Gram négatif, en diplocoques, aérobies stricts, oxydase positive. Certains sont des commensaux des cavités naturelles, tandis que deux espèces *Neisseria meningitidis* et *Neisseria gonorrhoeae* sont des pathogènes stricts de l'homme. Les Neisseria commensales poussent bien sur les milieux de culture usuels à 22°C. La recherche et l'identification des *Neisseria* commensales dans la gorge, qui est longue et relativement difficile, sont réservées aux enquêtes épidémiologiques.

c4 - Les corynébactéries :

Les corynébactéries sont des bacilles à Gram positif, aéro-anaérobies facultatifs immobiles et asporulés, souvent granuleux et à extrêmités élargies. Leur groupement en palissades ou en lettres de l'alphabet est souvent caractéristique. La coloration met en évidence des granulations métachromatiques, de siège polaire. De nombreuses espèces font partie de la flore normale de l'arbre respiratoire, des autres muqueuses et de la peau.

Mais *Corynebacterium diphteriae* est responsable de la diphtérie par la production de toxines

c5 - Propionibacterium spp:

Les *propionibacterium spp*. sont des bactéries à Gram positif communément trouvées au niveau intestinal chez les animaux et dans les pores cutanés chez l'homme. L'espèce prise en exemple est *Propionibacterium acnes*, responsable de l'acné chez l'homme.

Il s'agit d'une bactérie anaérobie, aérotolérante à croissance lente. Elle peut être responsable d'acné, de blépharite chronique et d'uvéite. Ces bactéries peuvent produire des enzymes ayant la capacité de dégrader la peau et ses protéines. Cette propriété les rend facilement immunogènes.

Dans de très rares cas, des infections par ces bactéries ont pu conduire à des endocardites bactériennes.

d - Estimation quantitative de la flore cutanée des mains et des avant-bras [13].

Si la flore cutanée varie en qualité au cours du temps ou en fonction des régions corporelles, il en va de même pour l'estimation quantitative de cette flore. La densité bactérienne est en moyenne plus élevée sur les mains que sur les avant-bras. Les follicules pilo-sébacés sont des zones également contaminées de manière relativement importante, en grande majorité par des *Propionibacterium spp*, contrairement au reste de la peau (tableau 1).

Localisation	Densité bactérienne
Mains	• 4 à 7 log ₁₀ /cm ²
Avant-bras et pli du coude	 1,2 à 5,6 log₁₀/cm² dont 2,1 log₁₀/cm² de corynébactéries
Follicules pilo-sébacés	 3,5 à 5,6 log₁₀/cm² de staphylocoques et 5 log₁₀/cm² de <i>Propionibacterium spp</i>

Tableau 1 : Estimation quantitative de la flore cutanée des mains et des avantbras.

4 - Les enjeux de la désinfection chirurgicale

L'histoire de l'asepsie des mains, de la prévention et de la lutte contre les infections nosocomiales est émaillée de personnalités célèbres : Larrey dès 1799 et lors des campagnes napoléoniennes, Holmes (1843), Lister (1867), Nightingale (1863), auteurs de travaux sur l'asepsie en milieu hospitalier, sans oublier Pasteur, le père de la bactériologie.

En 1847, Ph. I. Semmelweiss, étudiant la transmission de la fièvre puerpérale, a conclu que le "portage de particules cadavériques" par les mains des étudiants était la voie de transmission des miasmes responsables de l'infection des jeunes femmes. Il a instauré en mai 1847 l'antisepsie des mains avec une solution de chlorure de chaux. Outre que cet exemple est historique à plus d'un titre pour la résolution des épidémies d'infections nosocomiales, il nous montre que même en l'absence de la compréhension exacte du phénomène (Semmelweiss ne connaissait pas les bactéries), une solution efficace avait été instaurée [14]. A la même époque, Pasteur a également mis en évidence le manuportage dans les actes de chirurgie. Il énonça alors le postulat suivant :

"Au lieu de s'ingénier à tuer les microbes dans les plaies, ne serait-il plus raisonnable de ne pas en introduire ?" [15]

En 1936, Price a publié le bilan de ses études portant sur les flores de la peau des mains [16]. Il y décrivait deux flores, la flore de passage et la flore résidente, et évaluait à plusieurs millions le nombre de germes présents sur la peau des mains. J.B. Hann [17] a confirmé les résultats de Price et conclu que la localisation principale des germes résidents était l'espace sub-unguéal, résultats corroborés par les études de K.J. Mc Ginley en 1988 [18]. La flore retrouvée sur les mains des personnels des établissements de soins est souvent caractérisée par la présence significativement élevée de bactéries à gram négatif et de bactéries résistantes aux antibiotiques. Horn [19] retrouve jusqu'à 26 % de *S. aureus* résistant à la méthicilline chez le personnel d'un service de dermatologie, et près de 66 % dans un service d'oncologie. Les mains représentent donc une voie de transmission de bactéries, en particulier en milieu hospitalier. Principalement dans les services où le nombre d'infections hospitalières est élevé et la pression antibiotique importante (réanimation, gériatrie...). Tous ces résultats sont renforcés par les études de Gould montrant combien les mains des personnels soignants sont responsables de la transmission des germes [22].

E. Larson [20], dans une très vaste revue de la littérature mondiale des articles publiés entre 1879 et 1986, est arrivé à la conclusion que le lavage et l'antisepsie des mains représentaient la mesure de base de la prévention de la transmission d'agents pathogènes susceptibles d'être responsables d'infections acquises en milieu hospitalier, ceci malgré le très faible nombre d'études récentes probantes [21]. Un point sur lequel il convient d'insister, qui ne remet nullement en cause la véracité de ces conclusions, tient au fait que le taux moyen d'infections acquises en milieu hospitalier est extrêmement faible. Par conséquent, aucune étude expérimentale randomisée n'est réalisable en raison des effectifs trop faibles.

La désinfection chirurgicale des mains devrait permettre de tuer ou d'éliminer tous les micro-organismes présents sur les mains du chirurgien, et par le fait même empêcher une nouvelle croissance de la flore bactérienne cutanée dans les conditions propices (analogues à celles d'une «serre») provoquées par le port des gants. La perforation des gants pendant une intervention chirurgicale est chose courante et il arrive que le porteur des gants ne s'en aperçoive pas. Dans ces circonstances, le mouvement des mains favorisera le passage des liquides de l'extérieur vers l'intérieur du gant et vice versa. Des micro-organismes provenant de la peau du chirurgien pourront alors se déposer dans la plaie. Ces micro-organismes ont habituellement un faible pouvoir pathogène. Ils peuvent cependant représenter un risque réel chez les sujets immunodéprimés ou si du matériel étranger de taille importante, comme une prothèse orthopédique, est implanté. Or, de nombreux problèmes d'observance des procédures de désinfection des mains existent parmi les membres du personnel hospitalier en raison des contraintes de cette désinfection [23].

Toutes ces conclusions sont évidemment transposables en médecine vétérinaire, notamment lors des interventions chirurgicales puisque ces actes invasifs sont particulièrement sujets à la transmission de germes. Des germes présents sur la peau de l'homme peuvent se révéler pathogènes pour les animaux, notamment s'ils sont disséminés dans les tissus profonds. Ainsi, les germes rencontrés peuvent être issus des mains de l'homme aussi bien que de l'animal lui-même.

Les infections cutanées des carnivores domestiques sont principalement liées aux germes suivants : *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus aureus spp aureus*, *Streptococcus canis*, streptocoques du groupe C, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacteriaceae* (dont *Escherichia coli*, *Proteus sp.*), *Enterococcus sp.*,

staphylocoques à coagulase négative, mycobactéries atypiques, *Corynebacterium auriscanis* [24]. Ces bactéries peuvent faire partie de la flore transitoire des mains chez les hommes.

Staphylococcus intermedius ainsi que d'autres staphylocoques à coagulase positive (Staphylococcus aureus spp aureus) font partie des principaux agents de pyodermites, d'infections de plaies et d'abcès, d'infections auriculaires, urinaires, osseuses (ostéomyélite, discospondylite, arthrite), génitales et mammaires ainsi que dans de nombreux cas d'endocardites.

Des spores de bactéries anaérobies peuvent être à l'origine d'infections des plaies chirurgicales et de la formation d'abcès, comme *Clostridium sp*..

La majorité des ostéomyélites du chien est secondaire à un traumatisme, qui peut être chirurgical, et le plus souvent les prélèvements sont polymicrobiens. Dans ce cadre, il faudrait rechercher les bactéries anaérobies systématiquement, notamment des *Bacillus sp.* et des *Clostridium sp.*, dont les spores peuvent être transportées par les mains d'un chirurgien. Les ostéomyélites apparaissent aussi à la suite de l'extension de lésions de voisinage. Seules 3 à 7 % des ostéomyélites du chien ont une origine hématogène; elles concernent alors plus particulièrement le jeune animal.

Les infections urinaires et génitales sont très souvent dues à des agents pathogènes présents de manière physiologique à la surface de la peau ou des muqueuses mais qui se multiplient de manière anormale suite soit à une immunodéficience soit à des traumatismes iatrogènes accompagnés de conditions hygiéniques insuffisantes. Ces germes sont majoritairement des Klebsielles, des Entérobactéries, des staphylocoques à coagulase -, streptocoques, *Enterococcus sp., Corynebacterium sp.* ... [24]

Pour éviter ces affections nosocomiales, il convient d'utiliser des antiseptiques adaptés et efficaces lors de la désinfection chirurgicale des mains ainsi qu'une technique consciencieuse et la moins contraignante possible pour limiter les phénomènes de non observance [26].

5 - Hygiène des mains et désinfection chirurgicale des mains

La désinfection chirurgicale des mains constitue la désinfection pré-opératoire. Cette forme de désinfection des mains détruit la flore transitoire, réduit la flore résidente et en freine le développement. En plus de l'effet bactéricide immédiat, cette désinfection chirurgicale recherche un effet prolongé de 2 à 6 heures.

Il existe plusieurs produits et différentes techniques de lavage chirurgical des mains. De très nombreuses études ont été consacrées à la détermination de la technique et du temps de lavage appropriés en fonction des différents produits et des résultats escomptés.

a - Classification et caractéristiques des antiseptiques [25] :

Les propriétés des différentes familles d'antiseptiques, à l'exception des biguanides et des ammoniums quaternaires traités plus tard, sont présentées succinctement dans les tableaux 2 et 3.

Halogénés chlorés Pouvoir oxydant Halogénés iodés (povidone iodée) (povidone iodée) Alcools Destruction de protéines prouvoir oxydant Inhibition par matières organiques Alcools Dénaturation des protéines bactériennes par leur coagulation Inhibition par matières organiques Diamidine Propriétés tensio-actives Attro	nutes in nute in vivo	Antisensie de la neau des muduenses et		
Destruction de protéines enzymatiques et membranaires par pouvoir oxydant Inhibition par matières organiques Dénaturation des protéines bactériennes par leur coagulation Inhibition par matières organiques Propriétés tensio-actives	nutes in nute in vivo	des plaies	Antagonisme, inactivation avec autres antiseptiques	Solution de Dakin stabilisé, usage externe
Dénaturation des protéines bactériennes par leur coagulation Inhibition par matières organiques Propriétés tensio-actives		Détersion, antisepsie de la peau et des muqueuses saines ou lésées Lavages antiseptique et chirurgical des mains Douche pré-opératoire Détersion du champ opératoire	Incompatibilité avec les réducteurs Inactivé par thiosulfate de sodium Instable à la chaleur, à la lumière et à pH alcalin	Savon Solution aqueuse Solution alcoolique
Propriétés tensio-actives		Antisepsie de la peau saine pour actes peu invasifs (sites d'injection, prélèvements sanguins) Désinfection hygiénique ou chirurgicale des mains préalablement savonnées (produits hydro-alcooliques)		Alcool éthylique de 60 à 70° Solutions et gels hydro-alcooliques
~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~	nutes in	Traitement d'appoint des affections dermatologiques		Solution dermique Poudre
Oxydants nettoyage grâce à (peroxyde effervescence Inactivation par matières organiques		Nettoyage à visée antiseptique de la peau érodée et des petites plaies		Solution à usage externe
Colorants Propriétés insuffisantes pour le milieu médical				
Carbanilides		Détersion de la peau et de la muqueuse vaginale	Incompatibilités avec dérivés cationiques Toxicité si dilution avec eau chaude Trop forte concentration favorise dermites irritatives et dessèchement cutané	Solution à usage externe

Tableau 2 : Propriétés des principales familles d'antiseptiques à l'exception des biguanides et des ammoniums quaternaires [25, 26]

Familles	:II-s		S.	Spectre d'activité des principales familles d'antiseptiques	des princip	ales familles d	antisepti	dnes	
d'antisentiones	otiones	Crom+	Crom	Wyoobootórios	SOAHAO I	Moisissmos	Virus	Virus	Choroc
	- Induce			Mycobacteries	reamies	rioisissui ca	snu	enveloppés	Solodo
	Chlorés	Bonne	Ronne	Воппе	Воппе	Воппе	Ronne	Ronne	Ronne
	$(Dakin^{\circledR})$								
Halogánás	Iodés								
Halogollos	(PVPI,	Donno	Donne	Donno	Donne	Donne	Donno	Donne	Donne
	alcool	Dolling	DOILLE	Domic	DOIIIIC	Dolling	DOILLE	DOIIIIC	Dolling
	iodé)								
Alcools (Ethanol à	Ethanol à								
70°, alcool	lcool	Bonne	Bonne	Bonne	Variable	Variable	Variable	Bonne	Mauvaise
isopropylique à 60°)	lue à 60°)								
Diamidine	idine	17021.10	1	,	M		7		7
(Hexamidine)	nidine)	variable	Mauvaise	Manyaise	Mauvaise	Manvaise	Manvaise	Mauvaise	Mauvaise
Oxydants	ants	Воппа	Воппа	Monxoica	Non	Воппа	Variable	Ronna	Manxio
(Eau oxygénée 3%)	énée 3%)	Domini	Dolling	Madyaiso	documentée	Domic	v al laule	Domin	iviau vaisc
Colorants	ants	Mauvaise	Mauvaise	Mauvaise	Mauvaise	Mauvaise	Mauvaise	Mauvaise	Mauvaise
Carbanilides	ulides	Mauvaise	Mauvaise	Mauvaise	Mauvaise	Mauvaise	Mauvaise	Mauvaise	Mauvaise

Tableau 3 : Spectre d'activité des principales familles d'antiseptiques exceptés les biguanides et les ammoniums quaternaires [25].

Après ces récapitulatifs, nous allons étudier de manière plus approfondie les familles des composants de notre savon. Les biguanides, famille de la chlorhexidine, sont utilisés généralement sous forme de digluconate ou de diacétate de chlorhexidine. Les préparations pharmaceutiques sont des solutions moussantes contenant un tensioactif, des solutions aqueuses et des solutions alcooliques.

La chlorhexidine a un effet bactéricide sur les bactéries à Gram positif ou négatif. *In vitro*, elle exerce cette activité en moins de cinq minutes ; *in vivo*, l'action est de l'ordre de quelques minutes et la rémanence est excellente [27]. Elle possède une activité antifongique sur *Candida albicans*. Elle est peu active sur les mycobactéries sauf en solution alcoolique, non sporicide, non virucide (tableau 4).

	Chlorhexidine	Ammonium quaternaire
Mécanisme d'action	Destruction de la paroi	Déstabilisation de la paroi Dénaturation des protéines
Action sur les Gram +	Excellente	Bonne
Action sur les Gram -	Bonne	Bonne
Action sur M. tuberculosis	Mauvaise	Mauvaise
Action sur Candida spp	Moyenne	Bonne
Action sur les virus nus	Moyenne	Nulle à moyenne
Action sur les virus enveloppés	Moyenne à bonne	Moyenne
Action sur les spores	Mauvaise	Mauvaise
Rapidité d'action	Quelques minutes (2-5 min)	Quelques minutes (2-5min)
Rémanence	Excellente	Mauvaise
Inactivation par la matière organique	Minime	Forte
Sécurité, toxicité	Réactions allergiques cutanées rares, ototoxicité	Ototoxicité, ne pas appliquer sur les yeux et les muqueuses, hémolytique et curarisant par voie orale

Tableau 4 : Synthèse des données concernant la chlorhexidine et les ammoniums quaternaires [5, 27, 32]

La chlorhexidine est un agent cationique qui réagit avec les groupements chargés négativement de la paroi bactérienne. Elle est immédiatement adsorbée à la

surface des bactéries. L'effet sur la cellule bactérienne dépend de la quantité de produit adsorbé et du type de micro-organisme. Pour des concentrations faiblement bactéricides, la paroi cellulaire est altérée induisant une fuite des éléments cytoplasmiques et une inhibition de certaines enzymes cellulaires. Pour des concentrations fortement bactéricides, la cellule paraît intacte mais le cytoplasme apparaît coagulé, probablement par précipitation des protéines et de l'acide nucléique.

L'activité est influencée par différents facteurs. La chlorhexidine se comporte comme un cationique en milieu acide. Elle est donc incompatible avec tous les dérivés anioniques :

- les halogènes;
- les aldéhydes;
- les mercuriels;
- les tensio-actifs anioniques et non ioniques ;
- les savons ;
- les récipients en polyéthylène à basse densité ;
- le tannin contenu dans les bouchons de liège;
- certains colorants.

Le milieu alcalin est inhibiteur. Les matières organiques et les phospholipides ainsi que les protéines dans une moindre mesure sont partiellement inhibiteurs. Les minéraux, l'eau dure et un pH > 8 provoquent une précipitation de la chlorhexidine. L'association avec les ammoniums quaternaires et l'alcool potentialise l'activité de la chlorhexidine [5].

Les indications de la chlorhexidine sont nombreuses :

- nettoyage et antisepsie des plaies ;
- balnéothérapie des brûlés ;
- antisepsie des plaies chirurgicales et traumatiques peu profondes ;
- lavage des mains : hygiénique, antiseptique ou chirurgical ;
- préparation du champ opératoire ;
- hygiène bucco-dentaire.

Quelques contre-indications sont décrites : de rares réactions allergiques cutanées locales ainsi qu'une toxicité pour les éléments de l'oreille moyenne, ceci

rendant l'utilisation dans le conduit auditif impossible en cas de perforation tympanique [6].

Les ammoniums quaternaires, autre composant de notre savon, sont des tensioactifs cationiques, ils ont de bonnes propriétés détergentes. Les deux principaux composés sont le chlorure de benzalkonium et le bromure de cétyltriméthyl-ammonium. Ils sont toujours utilisés en association avec de l'alcool pour potentialiser leur action [8, 33]. Le chlorure de benzalkonium et le bromure de benzalkonium sont utilisés en association avec d'autres antiseptiques comme par exemple la chlorhexidine et l'alcool benzylique.

Les ammoniums quaternaires sont bactéricides ou bactériostatiques sur les bactéries à Gram positif selon les concentrations et bactériostatique sur les bactéries à Gram négatif qui n'ont pas de paroi. Ils sont faiblement fongistatiques mais n'ont aucune activité sur les mycobactéries et sur les spores. L'activité est faible sur les virus enveloppés et nulle sur les virus nus (tableaux 2 et 3).

L'activité antibactérienne est attribuée à différents mécanismes :

- la dénaturation plus ou moins sélective de protéines ou d'enzymes, par solubilisation et dépolymérisation; cette dénaturation est responsable de l'inactivation de déshydrogénases et d'enzymes intervenant dans la respiration et la glycolyse. L'inactivation enzymatique peut être réversible en début d'action mais devient définitive après un contact prolongé entre bactéries et antiseptique;
- la fixation au niveau des ribosomes avec arrêt de la synthèse protéique ;
- la lyse de la membrane cellulaire avec perturbation des échanges osmotiques;
- l'agent tensio-actif cationique.

Par ces différents mécanismes, les ammoniums quaternaires perturbent la perméabilité de la paroi des cellules. Les substances contenues dans les cellules se retrouvent alors dans le milieu extérieur, entraînant la destruction de celles-ci [32].

L'activité antimicrobienne est variable en fonction des conditions extérieures. Les facteurs favorisants sont un pH alcalin et une température de 37°C. Les ammoniums quaternaires sont inactivés par les composés anioniques (savons), les eaux trop dures, les matières organiques et certains composés non ioniques. Les fibres cellulosiques et le coton inhibent l'activité antibactérienne de ces antiseptiques externes cationiques en solution aqueuse.

L'abaissement de la tension superficielle contribue à réaliser un contact plus étroit entre les bactéries et l'antiseptique.

Les indications des ammoniums quaternaires sont le traitement d'appoint des affections dermatologiques ainsi que l'antisepsie et le nettoyage de la peau saine et des muqueuses [5].

En revanche, ils sont toxiques pour l'oreille moyenne et sont donc contreindiqués dans le conduit auditif en cas de perforation tympanique. Le contact avec les muqueuses génitales est déconseillé en raison de risques de vaginite et de balanite. Les ammoniums quaternaires sont hémolytiques et curarisants par voie orale [5].

En France, les ammoniums quaternaires ne sont commercialisés que sous forme d'association. Ils sont réservés à un usage externe.

b - Efficacité, toxicité, tolérance des familles d'antiseptiques [25] :

Les grandes familles d'antiseptiques citées peuvent faire l'objet de diverses associations dans l'optique de potentialiser leur activité et d'obtenir un spectre d'action le plus large possible.

Les savons simples n'ont que des propriétés de détergence, qui permettent d'éliminer la flore de passage, sans atteindre la flore résidente. Les produits ou savons antiseptiques dits "scrub" associent des propriétés de détergence et antimicrobienne. Les préparations hydro-alcooliques n'ont aucune propriété de détergence, mais une activité bactéricide en fonction de leur spectre d'activité [26].

Seule l'utilisation d'un produit antiseptique permet d'espérer une destruction de la flore bactérienne. Plusieurs critères importants concourent au choix des produits : l'activité, l'efficacité, la toxicité, la tolérance et le coût.

L'activité est testée selon les normes AFNOR, qui permettent d'établir par l'étude *in vitro* sur des souches de collection le niveau d'activité et le spectre des produits.

L'évolution de la normalisation européenne verra se substituer aux normes AFNOR des normes du Comité Européen de Normalisation dans les mois et années à venir.

L'efficacité est le résultat d'une étude *in vivo*, visant à évaluer la réduction de la flore exprimée en log 10 et confirmer le spectre d'activité sur les germes normalement présents sur la peau des mains. Pour le lavage chirurgical des mains, une réduction d'au moins 2 log 10 est recherchée.

D'une façon générale, la tolérance est la capacité d'un organisme, d'un organe, d'un tissu, à supporter sans dommages apparents, les effets des agressions chimiques ou physiques auxquelles il est soumis. La tolérance médicamenteuse ou tolérance toxicologique est la capacité d'un organisme à supporter des médicaments ou/et autres produits plus ou moins toxiques, sans subir de dommages.

La toxicité, quant à elle, est la propriété d'un médicament à agir comme un poison pour un organisme, un organe ou un tissu. On peut définir une toxicité aiguë lorsqu'une seule exposition au produit entraîne une réaction néfaste ou une toxicité chronique si les effets toxiques sont objectivés en cas d'expositions répétées.

En ce qui concerne les produits à usage externe, c'est à dire utilisables uniquement sur la peau saine, les produits pour le lavage des mains disponibles sur le marché répondent aisément aux critères de toxicité et de tolérance, exceptés dans de très rares cas : les produits à base d'iode peuvent perturber la fonction thyroïdienne chez les sujets prédisposés ; ceux à base de chlorhexidine sont reconnus comme pouvant provoquer des réactions allergiques chez les utilisateurs (rare).

Le coût du produit est un critère non négligeable qui n'appelle pas de commentaire particulier [26].

c - Hygiène des mains :

Il existe différents niveaux d'hygiène des mains : le lavage simple, la désinfection hygiénique et la désinfection chirurgicale [27, 29].

Les différents effets de ces techniques sont résumés dans le tableau 5.

Type d'hygiène	Lavage simple des mains	Désinfection hygiénique des mains			
des mains Savon simple Savon antiseptique Soluti		Solution hydro-alcoolique			
Elimination de la flore transitoire	90%	99,9%	99,999%		
Elimination de la flore résidente	Aucune action	50%	99%		
Elimination des souillures	+	+	-		

Tableau 5 : Comparaison des différentes techniques d'hygiène des mains [29].

Les objectifs du lavage simple des mains sont une élimination des souillures et des squames cutanées et une réduction de 90% de la flore transitoire des mains. Les produits utilisés associent un savon sans action antimicrobienne et de l'eau du réseau propre dite eau de qualité bactériologiquement maîtrisée niveau 1. Pour une efficacité optimale, il convient d'avoir les ongles courts propres et sans vernis ; les bijoux doivent être enlevés et les manches remontées au-dessus du coude [28]. La technique de Ayliffe [27] est la technique de lavage recommandée par les normes européennes. Cette technique consiste en 6 étapes qui doivent toutes être répétées 5 fois avant de passer à l'étape suivante :

- 1. frotter paume contre paume ;
- 2. frotter paume de la main droite sur le dos de la main gauche et inversement ;
- 3. frotter paume contre paume avec les doigts entrelacés ;
- 4. frotter le dos des doigts contre la paume opposée avec les doigts emboîtés ;
- 5. réaliser une friction circulaire du pouce droit enchâssé dans la paume gauche et vice versa ;
- 6. frictionner avec des mouvements de rotation et de va-et-vient les doigts joints de la main droite dans la paume gauche et vice versa.

Au bout de 30 secondes, la diminution du nombre de bactéries est de l'ordre de 1,8 à 2,8 log et de l'ordre de 2,7 à 3,0 log au bout de 60 secondes. La durée minimale du lavage simple des mains est de 30 secondes, hors temps de rinçage. La durée standardisée des normes européennes est de 60 secondes. Suite à ce lavage, il faut

réaliser un rinçage et un séchage par tamponnement avec un essuie-main à usage unique.

La désinfection hygiénique des mains consiste à réduire les micro-organismes de la flore transitoire afin de prévenir leur transmission et de diminuer la flore résidente des mains sans présager de la durée de cette diminution. Deux techniques différentes peuvent être utilisées en fonction du produit : soit un lavage antiseptique (ou hygiénique) des mains, soit une antisepsie simple des mains.

Le lavage est réalisé à l'aide d'une solution antiseptique moussante, selon le protocole précédemment décrit pour le lavage simple des mains, pendant une durée minimale de 60 secondes, hors temps de rinçage.

L'antisepsie simple des mains est réalisée à l'aide d'une solution hydroalcoolique. L'application de cette solution doit être réalisée sur des mains sèches non souillées. Il existe deux techniques :

- par friction des mains (friction hygiénique des mains selon les normes européennes), en suivant les gestes de la technique de Ayliffe pendant au moins 60 secondes et jusqu'à séchage complet des mains ;
- par trempage des mains dans un bain de chlorhexidine alcoolique pendant 20 à 30 secondes.

La désinfection chirurgicale des mains permet d'éliminer les souillures et les micro-organismes de la flore transitoire et réduire la flore résidente des mains. Ceci a pour but de diminuer leur diffusion dans le site opératoire en cas de piqûre ou de déchirure des gants pendant l'intervention et ainsi prévenir le risque d'infection du site opératoire. D'autre part, cette désinfection permet une action prolongée dans le temps en l'absence de nouvelles contaminations microbiennes. Il s'agit cette fois de se laver non seulement les mains mais aussi les poignets et les avant-bras. Deux techniques sont également utilisables : le lavage chirurgical des mains et l'antisepsie chirurgicale des mains.

Le lavage chirurgical des mains comprend trois étapes :

1. la préparation : elle consiste à retirer la totalité des bijoux portés par le chirurgien et à s'équiper d'un masque et d'un calot ;

- 2. le lavage et la désinfection des mains et des avant-bras :
 - *Premier temps:
- mouiller les mains et les avant bras jusqu'aux coudes. Actionner à cet effet le levier du robinet au moyen du coude et le régler afin d'obtenir un débit et une température modérés ;
- mettre du savon désinfectant dans la paume de la main en poussant le levier du distributeur à l'aide du coude ou du front ;
- frotter les mains et les avant-bras durant le temps prévu sans ajouter d'eau. Veiller à frotter toutes les parties des mains ;
- utiliser une brosse pour les ongles et les espaces interdigitaux. Brosser soigneusement les ongles ;
- rincer abondamment les mains et les avant-bras en veillant à ce que les mains restent plus haut que les coudes, afin d'éviter que l'eau de rinçage ne reflue pas sur les mains.
 - *****Deuxième temps:
- prendre à nouveau le même savon désinfectant dans la paume de la main en actionnant le levier du distributeur au moyen du coude ou du front ;
- frotter les mains et les avant bras sans ajouter d'eau durant le temps prescrit, en veillant à laver toutes les parties des mains ;
- rincer les mains et les avant-bras de la même manière que précédemment.
 - 3. le séchage : la première main est séchée à l'aide d'une serviette stérile en tamponnant, en commençant par les doigts, ensuite la paume et enfin, l'avant-bras. La serviette est alors jetée et la même opération est réalisée pour l'autre main et l'avant-bras avec une nouvelle serviette stérile.

L'antisepsie chirurgicale des mains est réalisée avec une solution hydroalcoolique. Dans un premier temps, un lavage simple des mains, poignets et avant-bras est réalisé. Après séchage, deux frictions de ces zones en insistant sur le pourtour des ongles et les espaces interdigités sont réalisées jusqu'au séchage complet. Cette procédure doit durer 5 minutes et 15 à 25 mL de solution antiseptique sont utilisés.

En fait, nous constatons que le choix de la technique à adopter dépend surtout de deux facteurs : le niveau de risque infectieux et le geste à pratiquer.

Trois niveaux de risque peuvent être distingués : haut, intermédiaire et faible (tableau 6).

Type d'intervention	Niveau de risque	Niveau de risque	Niveau de risque
Type d intervention	élevé	intermédiaire	faible
Chirurgie et « parachirurgie »	Lavage chirurgical		
« paraemituigie »		Lavage antiseptique	
Gestes invasifs		ou antisepsie simple	
Gestes non invasifs			Lavage simple

Tableau 6 : Niveau de risque des gestes médico-chirurgicaux et antisepsie à mettre en œuvre [26].

Les gestes invasifs regroupent la pose de cathéters courts périphériques, la pose de sonde urinaire ou encore la manipulation des cathéters lors d'injections ou de pose de perfusion. La pose d'un drain pleural ou d'un cathéter vasculaire central nécessite une maîtrise plus parfaite de l'asepsie et relèvent donc de la catégorie parachirurgicale. Chez les malades réellement immunodéprimés, il convient d'effectuer avant les soins un lavage antiseptique ou une antisepsie à l'aide d'une préparation hydro-alcoolique après un lavage des mains si nécessaire. Le lavage simple est toujours prohibé.

Pour les activités hospitalières et dans le cadre de la sécurité du soignant, si le patient n'est pas infecté, un lavage simple suffit. En cas d'infection ou de contact avec du sang ou des liquides biologiques, il faut effectuer après le geste une antisepsie des mains avec une solution hydro-alcoolique.

B - Présentation du savon chirurgical testé dans l'étude

Le savon à tester est le savon désinfectant RIVADOUCE[®], anciennement appelé savon liquide nettoyant et antiseptique DYNADERM[®]. Il s'agit d'un savon liquide lavant et désinfectant, formulé spécialement pour le lavage hygiénique des mains.

L'association de la chlorhexidine et d'un ammonium quaternaire permet d'obtenir une activité bactéricide EN 1040 et une activité fongicide EN 1275 sur *Candida albicans* (tableau 7). Son pouvoir détergent est assuré par une composition particulière de tensio-actifs non ioniques.

Normes	Concentration (%)	Temps de contact	T° d'essai	N° de rapport et date	Laboratoire d'expertise
Bactéricide EN 1040	0,25%	5 min <u>+</u> 10 s	20 <u>+</u> 1°C	314/0701-1 16/08/01	IRM Mitry Mory
Fongicide EN 1275 (Candida albicans)	5%	15 minutes	20 <u>+</u> 1°C	51/F-10-091/C 19/10/01	Laboratoire RIVADIS

Tableau 7 : Résumé des études microbiologiques réalisées sur le savon désinfectant RIVADOUCE® [31]

En pratique, ces normes signifient [5, 30, 31] :

- > pour la norme EN 1040, la capacité de réduire *in vitro* de 5 log en 5 minutes une population bactérienne composée de :
 - Staphylococcus aureus;
 - Enterococcus hirae;
 - Pseudomonas aeruginosa;
 - Escherichia coli:
 - Mycobacterium smegmatis.
- ➤ pour la norme EN 1275, la capacité de réduire *in vitro* une population de *Candida albicans* de 4 log en 15 minutes.

Ce savon est indiqué pour le lavage hygiénique ou chirurgical des mains avant tout geste aseptique et de façon systématique avant et après tout contact avec un patient ou du matériel contaminant. Il peut aussi être utilisé pour la toilette du patient (douche pré-opératoire). [31]

Selon les données du fabricant, le savon se présente sous forme d'un liquide limpide à légèrement trouble de couleur jaune pâle et à odeur de chèvrefeuille. Le pH du produit pur à 20°C est de 6,75 +/- 0,5. Sa durée de conservation est d'un mois après ouverture.

Le laboratoire Axience insiste sur l'avantage représenté par l'action synergique d'un ammonium quaternaire et de la chlorhexidine (tableau 3).

D'autre part, ce savon présenterait des qualités cosmétiques grâce à sa base lavante sans savon, son pH neutre et la présence d'agents surgraissants. De plus, le conditionnement en flacon de 1000 mL avec pompe doseuse de 2 mL est hygiénique et facile d'emploi [30].

La méthode de désinfection hygiénique recommandée par le laboratoire est identique aux méthodes recommandées par les normes européennes. La méthode de désinfection chirurgicale recommandée consiste en deux lavages d'une minute accompagnés d'un brossage minutieux des ongles.

Il s'agit d'un produit à usage externe et il convient donc de ne pas l'avaler. En cas de contact avec les yeux, il est recommandé de procéder à un lavage immédiat et abondant avec de l'eau et de consulter un spécialiste. Enfin, s'agissant d'un produit à base de chlorhexidine, il ne faut pas l'utiliser dans le conduit auditif externe en cas de perforation tympanique.

Lors d'une étude de toxicité réalisée sur le produit dilué à 5%, aucun effet irritant n'a été révélé au niveau cutané après port d'un patch pendant 24h par 10 volontaires adultes. Lors de l'évaluation de la toxicité aiguë chez le rat par voie orale sur produit pur, le produit a été qualifié non toxique (DL 50 > 2 mg/kg) [31]. Par contre, un effet légèrement irritant a été noté lors de l'évaluation de la tolérance oculaire aiguë sur modèle *in vitro*.

II ETUDE EXPERIMENTALE

A - Objectifs de l'étude

Les objectifs de cette étude ont été de tester l'efficacité bactéricide et la rémanence du savon chirurgical désinfectant de la gamme Rivadouce[®], à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse au cours d'interventions chirurgicales. Les effets de l'association chlorhexidine – ammonium quaternaire – agents surgraissants sur le pouvoir bactéricide des désinfectants ont fait l'objet d'un précédent travail mais non en conditions chirurgicales.

Un protocole expérimental a été élaboré en s'inspirant d'autres études décrites portant sur l'efficacité de l'alcool, de la chlorhexidine ou de la povidone iodée lors de désinfection chirurgicale [34 à 37]. Des prélèvements bactériologiques ont été effectués sur les mains de plusieurs chirurgiens avant lavage et à différents temps chirurgicaux après le lavage des mains afin d'observer la capacité de réduction bactérienne du savon.

B - Matériels et méthodes

1 - Protocole expérimental :

Dix chirurgiens occupant des postes de chargé de consultations, de maître de conférence ou d'enseignant-chercheur ont participé aux différents prélèvements. Ces opérateurs ne présentaient pas de lésions et ne portaient aucun bijou au cours des différentes interventions.

Des journées de prélèvements ont été fixées indépendamment des interventions chirurgicales programmées. Par conséquent, aucune sélection n'a été réalisée en terme de durée, de risque septique ou de technicité des interventions. Les prélèvements ont été réalisés au cours de quatorze interventions chirurgicales. Tous les prélèvements ont été réalisés dans les blocs chirurgicaux de l'ENVT. Différentes salles ont été utilisées en fonction de l'aspect plus ou moins septique des interventions. Un seul intervenant non chirurgien était chargé de la manipulation des boîtes de prélèvement. Le matériel

chirurgical spécifique nécessaire à chacune de ces interventions était stérilisé par le personnel du bloc opératoire de l'ENVT avant chaque intervention.

a – Préparation des chirurgiens :

Les chirurgiens étaient habillés avec des pyjamas, des surchaussures et des sabots. Avant le lavage chirurgical des mains, un masque et un calot étaient mis en place. Tout ce matériel était propre mais non stérile.

Après le lavage chirurgical des mains, les chirurgiens étaient habillés par des intervenants non stériles avec une casaque et des gants stériles adaptés à leur taille (Photo 1).



Photo: ENVT

Photo 1 : Mise en place d'une blouse et de gants stériles

b – Protocole de désinfection chirurgicale des mains :

Deux séries de prélèvements ont été réalisées se différenciant par la durée du lavage des mains. Dans la première série, le chirurgien procédait à deux lavages chirurgicaux des mains d'une durée d'une minute chacun; dans la seconde série, le chirurgien procédait à trois lavages chirurgicaux d'une durée d'une minute chacun. Les lavages ont suivi la technique de Ayliffe [27].

Les opérateurs ont utilisé le savon désinfectant Rivadouce[®] (photo 2) et l'eau courante du robinet. A l'aide de la pompe doseuse, 2mL de savon ont été délivrés à chaque pression sur le levier de distribution.



Photo: ENVT

Photo 2 : Bouteille de savon désinfectant Rivadouce® avec pompe doseuse.

Les mains et les avant-bras ont été soigneusement lavés une première fois, pendant une minute, avec deux doses de savon Rivadouce® soit environ 4 mL (photo 3).



Photo: ENVT

Photo 3 : Lavage des mains avec le savon Rivadouce®

Aucune brosse n'a été utilisée pour ce lavage (photo 4). Les mains ont été rincées à l'eau courante, le temps de rinçage n'étant pas prédéterminé par le protocole, et

relavées une deuxième voire une troisième fois de la même manière, pendant une minute.



Photo: ENVT

Photo: ENVT

Photo 4 : Lavage soigneux des mains et des avant bras

L'opérateur s'est ensuite séché les mains avec des serviettes en papier stériles à usage unique (photo 5).



Photo 5 : Séchage avec un essuie main stérile

c – Protocole de prélèvement bactériologique :

Les prélèvements bactériologiques ont été réalisés sur des boites de gélose nutritive contenant un milieu de culture standard pouvant se conserver à température ambiante : gélose tryptone soya avec agents neutralisants plus du Laboratoire Oxoid (série 1) et des lames de surface avec deux types de géloses, Plate Count Agar (numération des germes totaux) et gélose de Mac Conkey (germes coliformes) contenant toutes deux des neutralisants du Laboratoire Oxoid (série 2). Ces géloses ont été fournies par le Laboratoire Départemental Vétérinaire de Haute-Garonne.

Lors de chaque intervention, un premier prélèvement bactériologique a été réalisé avant lavage des mains. L'opérateur a posé la face palmaire des phalanges distales et moyennes des doigts 2, 3 et 4 (index, majeur et annulaire) de sa main droite au centre de la boite de gélose pendant une à deux secondes (photo 6). Sur la même boite, l'opération a été renouvelée avec les doigts de la main gauche en croisant les empreintes de la main droite (angulation de 45 à 90° entre les deux mains).

La boite de gélose a été manipulée avec précaution par un opérateur non chirurgien et dont les mains n'étaient pas stériles. Cet opérateur était chargé d'ouvrir et de refermer la boite dans un délai le plus court possible pour éviter toute contamination aérienne, et sans toucher les bords pour éviter toute contamination manuportée.



Photo · ENVT

Photo 6 : Prélèvement bactériologique avant lavage des mains

D'autres prélèvements bactériologiques ont été réalisés de manière identique au premier en différents temps : immédiatement après le lavage des mains avant l'habillage du chirurgien (photo 7), au changement de gants stériles lors d'intervention comportant

un temps septique et un temps aseptique et systématiquement en fin d'intervention, lors du retrait des gants.



Photo 7 : Prélèvement bactériologique après désinfection des mains

Lors du prélèvement en cours d'intervention lorsqu'il existait ou celui en fin d'intervention, les gants ont été retirés des deux mains puis le prélèvement réalisé d'abord pour la main droite puis pour la main gauche, comme précédemment décrit.

Lors de chaque intervention chirurgicale, un écouvillon stérile contenant un milieu de culture pour bactéries aérobies et anaérobies à température ambiante (Amies-Copan[®]) a été utilisé pour réaliser un prélèvement bactériologique au sein du site opératoire, afin de comparer les prélèvements réalisés *in situ* et sur les mains des chirurgiens.

Suite à ces prélèvements, les boites de gélose et les écouvillons ont été envoyés au Laboratoire Départemental Vétérinaire de Haute-Garonne pour culture (72h à 30°C) et identification des populations bactériennes et des moisissures au moyen d'une galerie d'identification API.

d – Préparation du patient :

En parallèle de ces différentes interventions, le patient a été préparé. Lors de toutes les interventions, après induction de l'anesthésie générale, la zone opératoire a été tondue puis la désinfection pré-opératoire du patient a été réalisée avec un savon et une solution à base de chlorhexidine appliqués à l'aide de compresses non stériles, en respectant un temps de contact entre le savon et la peau du patient d'au moins sept minutes au total. Les rinçages étaient assurés à l'aide d'une solution d'alcool à 70°. La zone opératoire a été ensuite recouverte par des champs opératoires stériles à usage unique et par des chaussettes stériles si l'intervention était pratiquée sur un membre.

2 - Modifications apportées au protocole en cours d'étude :

Suite aux 3 premières interventions chirurgicales de la série 1, il a été décidé de modifier légèrement le protocole. Tout d'abord, l'opérateur chargé de l'ouverture et de la fermeture des boites devait désormais porter des gants stériles, enfilés le plus proprement possible sans avoir fait de désinfection chirurgicale des mains au préalable.

Lors du retrait des gants stériles, le gant de la main droite a été retiré et le prélèvement immédiatement réalisé; ensuite, le gant de la main gauche a été retiré à son tour toujours en prenant soin de ne pas contaminer les doigts et le prélèvement réalisé sur la seconde main.

Ainsi, au sein de la série 1, deux types de résultats sont disponibles : les résultats avant modification et après modification du protocole. Les modifications ont été conservées pour l'ensemble de la série 2.

C - Présentation des résultats :

Différentes informations ont pu être répertoriées au cours de l'étude. Au total, dix chirurgiens ont participé aux quatorze interventions, certains chirurgiens participant plusieurs fois. Sept chirurgiens sont intervenus au cours de la série 1, neuf au cours de la série 2, six d'entre eux ont participé aux deux. Parmi eux, on a dénombré cinq enseignants-chercheurs et cinq chargés de consultations.

1- Germes rencontrés avant lavage sur l'ensemble des prélèvements :

Les prélèvements avant lavage étaient très riches : de dix colonies à plus de cent colonies (prélèvements polycontaminés) (annexes 3 à 15). C'est pourquoi, les germes rencontrés seront présentés en fonction de la fréquence de leur apparition et non en nombre de colonies.

Seize types de germes ont été rencontrés lors de ces prélèvements, dont huit espèces différentes de staphylocoques. Les staphylocoques ont représenté 51% des germes présents, les corynébactéries 19,6%, les germes du genre Bacillus 13,7%, les six autres types de germes représentant chacun entre 2 et 6% des cas (figures 1 et 2).

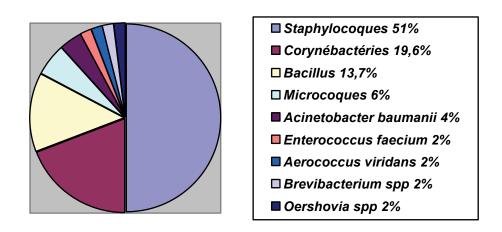


Figure 1 : Germes rencontrés sur les mains avant lavage et leur fréquence d'apparition

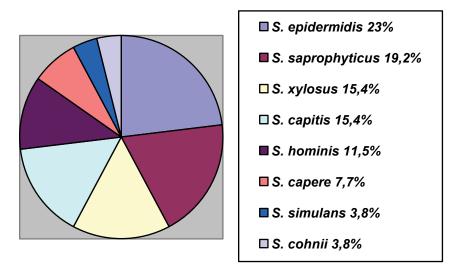


Figure 2 : Espèces de <u>Staphylococcus</u> rencontrées sur les mains avant lavage et leur fréquence d'apparition

2- Résultats de la première série : deux lavages d'une minute

Huit interventions ont été réalisées au cours de cette première série, dont sept interventions présentant un risque septique (cystotomies, péritonite septique, raccourcissement de voile du palais, exérèse de glandes anales...). Ces interventions ont eu une durée comprise entre 1h30 et 3h30.

Les prélèvements ont été réalisés sur un seul des 2 chirurgiens pour six interventions et sur les deux chirurgiens pour les deux autres interventions, soit dix séries de prélèvements en tout (immédiatement après lavage et en fin d'intervention). Les chirurgiens ont été identifiés à l'aide de chiffres allant de 1 à 10. Parmi les huit interventions, des changements de gants ont eu lieu dans trois cas, dont un sur les deux chirurgiens d'une même intervention, représentant quatre prélèvements en tout.

Pour ces prélèvements, le nombre de colonies étant faible, les résultats sont donc exprimés en nombre de colonies, contrairement au comptage avant lavage. L'ensemble des résultats bruts est présenté dans les annexes 3 à 8.

a - Prélèvements réalisés avant lavage des mains :

Les résultats des prélèvements réalisés immédiatement après lavage sont présentés dans les figures 3 et 4.

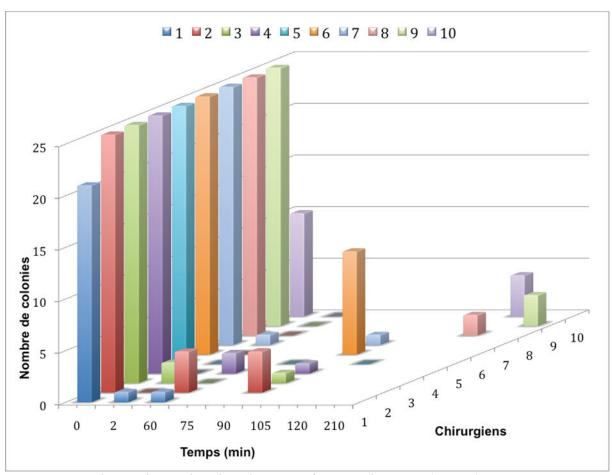


Figure 3: Evolution du nombre de colonies en fonction du temps (série 1).

Dans un souci de lisibilité, le niveau supérieur du nombre de colonies a été fixé à 25. Par conséquent, "25" représente en réalité des comptages supérieurs ou égaux à 25. La mesure réalisée au temps 0 correspond au prélèvement avant lavage, les temps suivants sont donc exprimés en minutes après lavage.

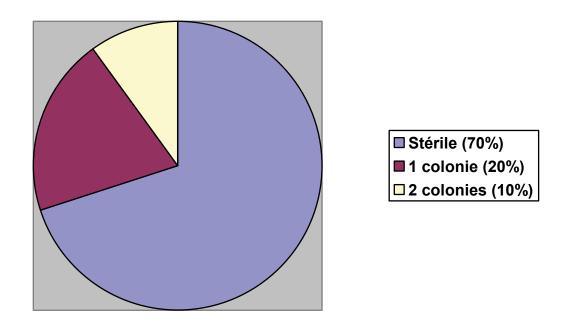


Figure 4 : Nombre de colonies prélevées immédiatement après lavage (série 1)

Immédiatement après lavage, sept chirurgiens ont présenté un prélèvement stérile (tableau 8), alors que les prélèvements réalisés avant lavage des mains contenaient de 10 à plus de 100 colonies.

Dans trois cas, soit 30% des prélèvements, une ou deux colonies ont pu être isolées (chirurgiens 1, 3 et 7). Toutes ces colonies étaient des staphylocoques :

- Staphylococcus epidermidis pour le chirurgien 7 (1 colonie) et le chirurgien 3 (2 colonies). Dans les 2 cas, les prélèvements d'avant lavage étaient polycontaminés. Pour le chirurgien 3, le germe avait déjà été isolé sur les mains avant lavage, ce qui n'était pas le cas pour le chirurgien 7;
- *Staphylococcus capitis* pour le chirurgien 1 (figure 5). Le prélèvement avant lavage contenait 21 colonies parmi lesquelles le *S. capitis* était absent.

Ces germes rencontrés immédiatement après lavage sont uniquement des germes de la flore résidente.

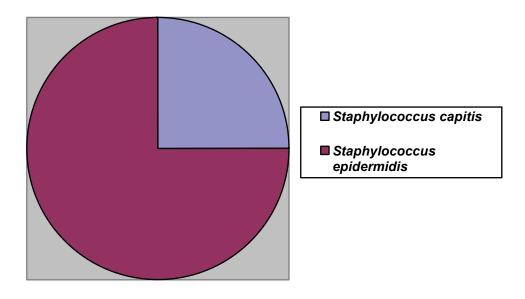


Figure 5 : Germes rencontrés immédiatement après lavage (série 1)

Après modification du protocole de prélèvement, le nombre de prélèvements contaminés immédiatement après lavage des mains qui s'élevait à 50% (2 sur 4) n'était plus que de 17% (1 sur 6).

N°	Avant	Après	Changement de gants	Fin	Durée	Ecouvillon
1	21 colonies Bacillus Corynebacterium	1 colonie S. capitis		1 colonie S. epidermidis	60 min	Stérile
2	51 colonies Bacillus S. epidermidis	Stérile	4 colonies S. epidermidis	4 colonies S. epidermidis	90 min	Klebsiella
3	Polycontaminé Acinetobacter	2 colonies S. epidermidis	Stérile	1 colonie S. hominis	90 min	E. coli
4	Polycontaminé Acinetobacter	Stérile	2 colonies S. epidermidis	1 colonie Enterococcus faecium	90 min	E. coli
5	60 colonies Enterococcus faecium Corynebacterium	Stérile	Stérile	Stérile	105 min	Serratia
6	30 colonies Corynebacterium S. epidermidis	Stérile		10 colonies S. epidermidis	90 min	Stérile
7	62 colonies Corynebacterium S. epidermidis	1 colonie S. epidermidis		1 colonie S. epidermidis	90 min	Stérile
8	> 100 colonies Bacillus Corynebacterium S. saprophyticus	Stérile		2 colonies S. saprophyticus	120 min	Stérile
9	32 colonies Bacillus Corynebacterium S. saprophyticus	Stérile		3 colonies S. saprophyticus	210 min	Stérile
10	10 colonies S. hominis S. simulans	Stérile		4 colonies S. hominis	220 min	Proteus Enterococcus

Tableau 8 : Récapitulatif des résultats bactériologiques (série 1).

Les résultats correspondent aux prélèvements réalisés avant, après lavage des mains, au changement de gants et à la fin de l'intervention. La durée correspond à l'intervalle entre le lavage des mains et la fin de l'intervention. La colonne "écouvillon" rapporte les résultats du prélèvement réalisé au sein du site chirurgical.

b - Prélèvements réalisés au changement de gants :

Trois interventions chirurgicales ont donné lieu à des prélèvements intermédiaires au moment du changement de gants entre les temps septiques et aseptiques (chirurgiens 2, 3, 4 et 5). Ils ont tous eu lieu entre 1h et 1h15 après lavage.

Sur quatre prélèvements, deux étaient stériles (figure 3). Sur ces 2 prélèvements stériles, l'un était déjà stérile après lavage (chirurgien 5). Ce prélèvement a été réalisé 75 minutes après lavage. En revanche, dans le second (chirurgien 3), 2 colonies de *S. epidermidis* avaient été isolées immédiatement après lavage. Ce germe n'était pas présent dans le prélèvement d'avant lavage. Le changement de gant est intervenu 60 minutes après lavage des mains.

Pour les 2 prélèvements non stériles, l'un a mis en évidence deux colonies (chirurgien 4) et l'autre quatre colonies de *S. epidermidis* (chirurgien 2). Les prélèvements étaient stériles immédiatement après lavage. Seul le prélèvement du chirurgien 2 (4 colonies) contenait des germes déjà isolés avant lavage sur les mains.

Après modification du protocole de prélèvement, le nombre de prélèvements contaminés au changement de gants qui s'élevait à 67% (2 sur 3) était de 0% (0 sur 1).

c - Prélèvements réalisés à la fin de l'intervention :

Les résultats des prélèvements réalisés en fin d'intervention sont présentés dans les figures 3 et 6. Les interventions se sont achevées entre 60 et 210 minutes après lavage des mains.

90% de ces prélèvements étaient contaminés, une à quatre colonies étant isolées dans 80% des cas et 10 colonies pour les 10% restants (chirurgien 6). Seul le chirurgien 5 a présenté un prélèvement stérile 105 minutes après lavage des mains.

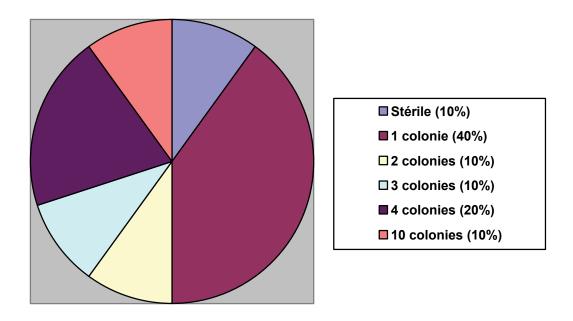


Figure 6 : Nombre de colonies identifiées en fin d'intervention (série 1)

La figure 7 présente la répartition des contaminations en fonction du temps passé après le lavage des mains. Le nombre de prélèvements est insuffisant pour réaliser une étude statistique fiable. Les résultats n'évoluent pas strictement de façon homogène, néanmoins, plus le délai entre la fin de la chirurgie et le lavage des mains augmente, plus le nombre de colonies a tendance à augmenter. Cependant, cette contamination reste de faible amplitude dans la majorité des cas : 88,9% des contaminations ne sont constituées que de 1 à 4 colonies.

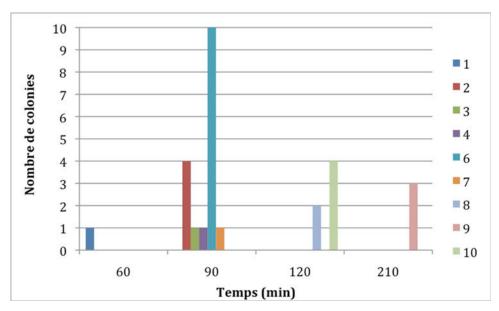


Figure 7 : Influence du temps sur la contamination bactérienne des mains après lavage chirurgical (série 1)

Les données correspondant au changement de protocole lors de la réalisation des prélèvements sont présentées dans le tableau 9.

Changement du	Prélèvements	Nombre de colonies	Durée de	
protocole	contaminés	Nombre de colonies	l'intervention	
Avant	100%	1 colonie 75%	60 min	
Avant	100%	4 colonies 25%	90 min	
Après		1 colonie 20%	90 min	
		2 colonies 20%	120 min	
	83%	3 colonies 20%	210 min	
		4 colonies 20%	120 min	
		10 colonies 20%	90 min	

Tableau 9 : Influence du changement de protocole sur les résultats obtenus en fin d'intervention

Le changement de protocole n'a que peu amélioré les résultats à long terme : seul 1 chirurgien sur les 6 a présenté une stérilité de la totalité de ses prélèvements, soit 83% de contamination versus 100%. Ce résultat a été obtenu malgré un changement de gants. En raison de variations importantes, il est difficile d'observer un effet réel sur le nombre de colonies s'étant développées sur les différents prélèvements.

Quatre germes différents sont à l'origine des contaminations des prélèvements de fin d'intervention. Exceptée une colonie d'*Enterococcus faecium*, tous les germes

rencontrés en fin d'intervention étaient des staphylocoques : 16 colonies de *S. epidermidis*, 5 colonies de *S. hominis* et 5 colonies de *S. saprophyticus (Tableau 10)*.

	Nombre de cas*			Nombre de colonies*		
Germes	Série	Avant	Après	Série	Avant	Après
S. epidermidis	4 (44,5%)	2 (50%)	2 (40%)	16 (59%)	5 (71,4%)	11 (55%)
S. hominis	2 (22,2%)	1 (25%)	1 (20%)	5 (18,5%)	1 (14,3%)	4 (20%)
S. saprophyticus	2 (22,2%)	0	2 (40%)	5 (18,5%)	0	5 (25%)
Enterococcus faecium	1 (11,1%)	1 (25%)	0	1 (4%)	1 (14,3%)	0
Total	7	4	5	27	7	20

Tableau 10 : Répartition des germes en fonction du nombre de cas et du nombre de colonies observés (* Nombre (pourcentage))

Globalement, les *Staphylococcus* ont représenté 96% du nombre de colonies observées à la fin des interventions. Avant changement du protocole, ils représentaient 85,7% et 100% après le changement. C'est *S. epidermidis* qui est le plus représenté avec 71,4% avant changement et 55% après changement.

Les *S. epidermidis* ont été isolés dans 4 cas en fin d'intervention : les chirurgiens 1, 2, 6 et 7 qui sont intervenus dans 4 interventions différentes (tableau 7 et figure 3). Dans 3 cas sur 4 (chirurgiens 2, 6 et 7), le germe avait déjà été isolé sur les mains avant lavage. Le prélèvement du chirurgien 1 avant lavage contenait 21 colonies mais aucune de *S. epidermidis*.

Après lavage, 2 prélèvements étaient stériles (chirurgiens 2 et 6). A la fin de l'intervention du chirurgien 6 (90 minutes après lavage des mains), 10 colonies de *S. epidermidis* ont été isolées. L'écouvillon prélevé au sein du site chirurgical était stérile. Les prélèvements réalisés au moment du changement de gants du chirurgien 2 étaient contaminés par 4 colonies de *S. epidermidis*. L'écouvillon réalisé au niveau du site chirurgical a permis de mettre en évidence des *Klebsiella*.

Après lavage des mains, le prélèvement du chirurgien 7 a révélé la présence de 1 colonie de *S. epidermidis*. Dans celui du chirurgien 1, c'est 1 colonie de *S. capitis* qui a été identifiée. Au terme de chaque intervention (90 minutes et 60 minutes après lavage des mains pour les chirurgiens 7 et 1 respectivement), 1 colonie de *S. epidermidis* a été isolée dans chacun des prélèvements. Dans les 2 cas, l'écouvillon prélevé au sein du site chirurgical était stérile.

Outre *S. epidermidis*, 2 cas de *S. hominis* ont été mis en évidence dans les prélèvements des chirurgiens 3 et 10 (tableau 7 et figure 3). Ce germe n'avait été isolé dans aucun autre prélèvement antérieur (avant, après lavage et changement de gants) pour le chirurgien 3 mais était déjà présent avant lavage des mains pour le chirurgien 10.

Après lavage des mains, 2 colonies de *S. epidermidis* ont été observées sur le prélèvement du chirurgien 3 alors qu'au changement de gants, le prélèvement était stérile. Au terme de l'intervention (90 minutes), ce sont 2 colonies de *S. hominis* qui ont été identifiées. L'écouvillon réalisé au niveau du site chirurgical a permis de mettre en évidence des *Escherichia Coli*.

Après lavage des mains, le prélèvement du chirurgien 10 était stérile. Il n'y a pas eu de changement de gants. A la fin de l'intervention (120 minutes après lavage des mains), le prélèvement contenait 3 colonies de *S. hominis*. L'écouvillon réalisé au niveau du site chirurgical a permis de mettre en évidence des *Proteus* et des *Enterococcus avium*.

Le prélèvement du chirurgien 4 a permis d'isoler un *Enterococcus faecium* (tableau et figure 3). Ce germe n'avait été isolé dans aucun des prélèvements antérieurs que ce soit avant lavage (polycontaminé), après lavage (stérile), au changement de gants (2 colonies de *S. epidermidis*). Les derniers prélèvements ont été réalisés 90 minutes après lavage des mains. Les chirurgiens 3 et 4 ont participé à la même intervention. L'écouvillon réalisé au niveau du site chirurgical a permis de mettre en évidence des *Escherichia Coli*.

Les *S. saprophyticus* ont été identifiés sur les prélèvements des chirurgiens 8 et 9 au cours d'une unique intervention (tableau et figure 3). Le germe était déjà présent sur les mains des 2 chirurgiens avant lavage. Les 2 prélèvements après lavage étaient stériles. Au terme de l'intervention (120 minutes pour le chirurgien 8 et 210 minutes pour le 9), les prélèvements comportaient respectivement 2 et 3 colonies.

Au cours de cette série, il faut noter que le prélèvement de certains chirurgiens présentant une contamination immédiatement après le lavage est devenu stérile ou a diminué son nombre de colonies par la suite (chirurgiens 3 et 4) ou a présenté des germes différents entre les divers prélèvements (chirurgiens 1, 3 et 4).

d - Prélèvements réalisés au sein du site chirurgical :

Les prélèvements réalisés à l'aide d'écouvillons au sein des sites d'intervention ont été contaminés dans 44% des cas de la série 1. Les germes rencontrés étaient très variés : *Klebsiella oxytoca* lors d'une cystotomie, *Escherichia coli* lors d'une laparotomie sur péritonite septique, *Serratia marcescens* lors d'une cystotomie, *Proteus* et *Enterococcus avium* lors d'une exérèse de glandes anales. Aucun de ces germes n'a été retrouvé sur les prélèvements des chirurgiens correspondants.

3- Résultats de la seconde série : trois lavages d'une durée d'une minute

Six interventions ont été réalisées pour cette seconde série. Dans tous les cas, le risque septique était limité : interventions articulaires et orthopédiques et une ligature de shunt porto-systémique. Leur durée a été comprise entre 1h30 et 4h45.

Les prélèvements ont été réalisés sur un seul des 2 chirurgiens au cours d'une intervention, deux chirurgiens au cours de quatre interventions et trois chirurgiens au cours d'une intervention, soit 12 séries de prélèvements au total. L'identification des chirurgiens a été réalisée à l'aide de lettres (A à L).

Parmi les six interventions, une seule a été à l'origine d'un changement de gants pour deux des chirurgiens. En effet, au cours de cette intervention, deux gestes ont été réalisés faisant appel à différents chirurgiens (A, B et C). Ainsi, entre le premier et le second geste (90 minutes après lavage des mains), le chirurgien C a quitté le bloc, pendant que les 2 autres changeaient de gants et réalisaient le second geste qui s'est achevé 300 minutes après lavage des mains. L'ensemble des résultats bruts est présenté dans les annexes 9 à 15.

a - Prélèvements réalisés avant lavage des mains :

A l'exception d'un, les prélèvements réalisés immédiatement après lavage ont tous été stériles bien que les mains soient très variablement contaminées au préalable (figure 8 et tableau 11). Une seule colonie de *S. saprophyticus* a été isolée sur le chirurgien C, soit 8,3% des cas. Le prélèvement avant lavage avait permis d'isoler 3 colonies différentes constituées entre autres de *S. saprophyticus*. Or, le prélèvement réalisé en fin d'intervention sur ce chirurgien a été stérile.

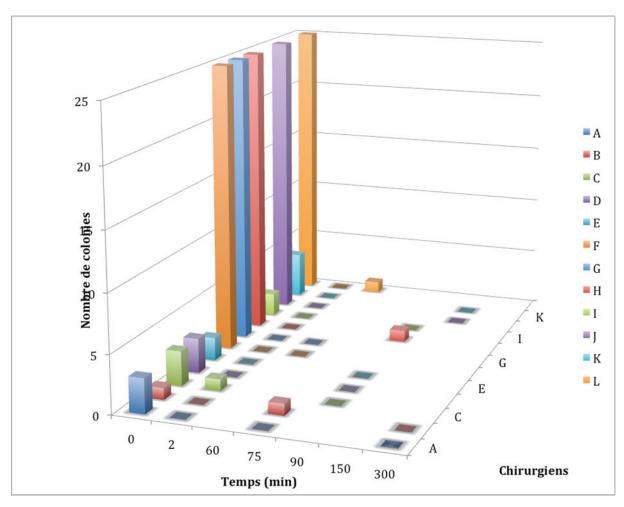


Figure 8 : Evolution du nombre de colonies en fonction du temps (série 2).

Dans un souci de lisibilité, le niveau supérieur du nombre de colonies a été fixé à 25. Par conséquent, "25" représente en réalité des comptages supérieurs ou égaux à 25. La mesure réalisée au temps 0 correspond au prélèvement avant lavage, les temps suivants sont donc exprimés en minutes après lavage.

N°	Avant	Après	Changement de gants	Fin	Durée	Ecouvillon
A	3 colonies Bacillus S. capitis S. saprophyticus	Stérile	Stérile	Stérile	300 min	Stérile
В	1 colonie S. capitis	Stérile	3 colonies S. hominis	Stérile	300 min	Stérile
С	3 colonies Micrococcus S. capitis S. saprophyticus	1 colonie S. saprophyticus		Stérile	90 min	Stérile
D	3 colonies Micrococcus S. capitis S. saprophyticus	Stérile		Stérile	90 min	
Е	2 colonies Micrococcus Brevibacterium	Stérile		Stérile	90 min	
F	30 colonies Corynebacterium S. epidermidis S. hominis	Stérile		Stérile	60 min	Stérile
G	58 colonies Corynebacterium S. epidermidis S. hominis Aerococcus viridans	Stérile		Stérile	60 min	Stérile
Н	35 colonies Bacillus S. xylosus S. cohnii	Stérile		1 colonie S. epidermidis	90 min	Stérile
I	2 colonies Corynebacterium S. epidermidis	Stérile		Stérile	90 min	Stérile
J	> 100 colonies Corynebacterium S. epidermidis S. capere S. xylosus	Stérile		Stérile	150 min	8 colonies S. epidermidis
K	4 colonies Corynebacterium Bacillus S. capere S. xylosus	Stérile		Stérile	150 min	8 colonies S. epidermidis
L	> 25 colonies S. xylosus Oershovia spp	Stérile		1 colonie Brevibacterium spp	60 min	Stérile

Tableau 11 : Récapitulatif des résultats bactériologiques (série 2).

Les résultats correspondent aux prélèvements réalisés avant, après lavage des mains, au changement de gants et à la fin de l'intervention. La durée correspond à l'intervalle entre le lavage des mains et la fin de l'intervention. La colonne "écouvillon" rapporte les résultats du prélèvement réalisé au sein du site chirurgical.

b - Prélèvements réalisés au changement des gants :

Les prélèvements intermédiaires réalisés au moment du changement de gants se sont révélés négatif pour l'un (chirurgien A) et positif pour l'autre (chirurgien B) : une colonie de *S. hominis* présente 90 minutes après lavage (figure 8 et tableau 11). Ces deux prélèvements ont été réalisés au cours d'une intervention multiple sur un même chien, au moment du changement de gants entre l'arthroscopie d'un genou et l'arthrotomie du second. Le germe isolé n'était pas présent lors du prélèvement réalisé avant lavage. Après lavage, aucun germe n'avait été mis en évidence. A la fin de l'intervention (300 minutes après lavage), le prélèvement était à nouveau stérile. L'écouvillon prélevé sur le site chirurgical est resté stérile.

c - Prélèvements réalisés à la fin de l'intervention :

En fin d'intervention, entre 60 et 300 minutes après lavage, dix prélèvements sur douze étaient stériles, soit 83% (figure 8 et tableau 11).

Le onzième présentait une colonie de *S. epidermidis*, 90 minutes après lavage (chirurgien H). Le germe n'avait pas été isolé sur le prélèvement réalisé avant lavage des mains (35 colonies composées de *Bacillus*, *S. xylosus* et *S. cohnii*). Sur le douzième (chirurgien L), une colonie de *Brevibacterium spp.* a été identifiée 60 minutes après lavage. Ce germe n'avait pas été isolé sur les mains avant lavage. Ces deux contaminations ont été observées sur les mains de deux chirurgiens différents réalisant des ligamentoplasties suite à des ruptures du ligament croisé crânial.

Comme dans la série 1, les germes en cause lors de contamination des prélèvements après lavage des mains appartiennent à la flore résidente et plus précisément sont dans 75% des cas des Staphylocoques avec 1 *S. epidermidis*, 1 *S. saprophyticus* et 1 *S. hominis*. Le quatrième germe était un *Brevibacterium spp*.

Au cours de cette série, une nouvelle fois, 3 résultats sur les 14 prélèvements au total réalisés après lavage des mains (changements de gants compris) ont évolué dans le temps :

- identifications de germes absents sur les prélèvements antérieurs : isolement pour la première fois d'une colonie de *Brevibacterium spp*. en fin d'intervention pour le chirurgien L ;
- des prélèvements contaminés sont devenus stériles au cours du temps opératoire : dans un cas, un *S. hominis* a été isolé lors du changement de gants à 90 minutes après lavage alors que les prélèvements étaient stériles après lavage et à la fin

de l'intervention (chirurgien B). Ce germe était également absent du prélèvement avant lavage. Dans le second cas (chirurgien C), le germe a été isolé après lavage des mains. Il était déjà présent avant lavage. Or, le prélèvement de la fin de l'intervention soit à 90 minutes après lavage était stérile.

Parmi les dix chirurgiens participants à cette série, deux ont présenté des réactions de type allergique après lavage des mains. Ces deux personnes n'ont pas rapporté d'allergie cutanée connue. Des zones de rougeur et de démangeaison sont apparues sur les mains et les avant-bras suite au lavage chirurgical. Les sensations de brûlures et de démangeaison étaient amplifiées par le port des gants en latex et se sont poursuivies jusqu'à 8 heures après le lavage. Les réactions sont apparues après la seconde application pour le premier sujet et après la 4ème ou la 5ème application pour le second sujet. Celui-ci avait déjà utilisé ce savon de nombreuses fois avant le début de l'étude. Il a cependant noté une aggravation des effets indésirables au fur et à mesure des applications. Ces personnes n'ont pas manifesté de réaction lors de l'utilisation d'autre savon à base de chlorhexidine (Hibiscrub®).

d - Prélèvements réalisés au sein du site chirurgical :

Les prélèvements réalisés au sein des sites opératoires ont été positifs dans 14% des cas, soit un écouvillon positif sur sept réalisés. Huit colonies de *S. epidermidis* ont été identifiées. Les prélèvements réalisés sur les mains des deux chirurgiens correspondants à cette intervention ont tous été stériles après lavage et en fin d'intervention.

D – Discussion des résultats :

L'ensemble de la méthodologie et des résultats appelle quelques remarques et discussions.

Tout d'abord, en ce qui concerne la flore observée avant lavage, les germes isolés dans notre étude sont des germes fréquemment rencontrés et décrits dans la littérature [9, 16, 18]. Ce sont des germes :

- de la flore résidente représentés notamment par toutes les espèces de Staphylocoques et les Corynébactéries;
- de la flore transitoire, principalement *Bacillus spp*.

Cependant, aucune bactérie anaérobie du genre *Propionibacterium spp.* n'a été mise en évidence alors que la littérature rapporte leur présence en grande quantité dans les follicules pileux (tableau 1). Ceci peut être expliqué par la méthodologie mise en œuvre lors des prélèvements : en effet, les prélèvements ne concernaient que la face palmaire des doigts, région anatomique sans follicule pileux. En outre, les milieux de culture contenus dans les boites de prélèvements n'étaient pas adaptés à la survie et au développement de ce type de germes. Il paraît donc logique qu'aucune bactérie anaérobie n'ait été mise en évidence au cours de notre étude.

Au cours d'une précédente étude, l'efficacité du savon avait été testée : un opérateur s'était lavé les mains, 2 fois 1 minute de savonnage avec le produit utilisé dans ce travail [1]. Quatre séries de lavages de mains avaient été effectuées suivies d'un prélèvement bactériologique immédiatement après lavage, habillage de l'opérateur comme pour opérer puis réalisation de prélèvements bactériologiques à 30 minutes, 1, 2, 3 puis 4 heures après lavage des mains. Cette étude a démontré une efficacité complète du produit puisque tous les prélèvements obtenus après lavage ont été stériles. Néanmoins, cette étude présentait quelques limites : elle ne portait que sur un seul opérateur qui n'opérait pas. Il n'était donc pas placé en situation de risque faisant intervenir la concentration, le stress. Aucun contact entre les gants et un éventuel site chirurgical, contaminé ou non, n'était présent. C'est dans ce contexte que ce travail de thèse a été mis en œuvre.

Au cours de la série 1, le protocole élaboré a été celui décrit dans le travail de Tanneur [1]. Le chirurgien se lavait les mains 2 fois 1 minute avec le savon Rivadouce. Après les 3 premières interventions, les résultats ont montré des contaminations des

boites de prélèvements dans 50% après lavage et 100% à la fin des interventions. Ces résultats étaient donc très différents de ceux attendus. Même si les prélèvements avant lavage présentaient une contamination bactérienne très importante (polycontamination) et ceux d'après lavage une contamination très faible (1 à 2 colonies) à modérée (10 colonies), les résultats étaient totalement insatisfaisants. Une première analyse a conduit à la modification du protocole de prélèvement, une contamination manuportée étant fortement suspectée. Elle pouvait provenir du manipulateur des boites de prélèvements. Cela paraît évident pour le chirurgien 4 sur le prélèvement duquel a été mis en évidence un Enterococcus spp. Ce germe n'appartient ni à la flore résidente ni à la flore transitoire. Il est bien issu de la contamination du prélèvement. Dans les cas 1 et 3, la mise en évidence d'un S. epidermidis ou S. capitis avant lavage peut également laisser penser que le germe est issu de la contamination : dans le cas contraire, la bactérie aurait été identifiée avant lavage puisque la présence des autres germes ne peut pas masquer le développement des colonies de Staphylococcus spp.. C'est pourquoi, dans la deuxième partie de la première série, le manipulateur redoublait de vigilance et portait des gants stériles.

Un deuxième point a été identifié : lors du retrait des gants (changement ou fin d'intervention), le chirurgien retirait les 2 gants avant de réaliser le prélèvement bactériologique, risquant de contaminer une de ses mains avec l'autre gant. A partir du chirurgien 5, le premier gant a été retiré et le prélèvement réalisé immédiatement ; puis il a été procédé de la même manière pour le second gant. Ces modifications ont semble-t-il porter leurs fruits puisque de 50% de contamination immédiatement après lavage, les chiffres sont tombés à 17,3%. La technique de prélèvement joue bien un rôle important. C'est un élément d'autant plus important, que lors de l'habillage du chirurgien, l'ouverture du matériel et le changement de gants, l'opérateur et le chirurgien lui-même peuvent être à l'origine d'une contamination qui est loin d'être négligeable.

Un problème de contamination aéroportée a également été envisagé. Une étude réalisée en 2005 dans l'un des blocs chirurgicaux de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse [1] montrait que ce site présentait une contamination importante de l'air ambiant : en moyenne 562 UFC/m³ d'air. Les bactéries identifiées étaient des *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus epidermidis* et *Aeromonas hydrophila*. Dans un premier temps, il semblait raisonnable de penser que certaines des contaminations observées au cours de cette étude puissent trouver leur origine dans les mouvements d'air induits par le manipulateur de la boîte lors de l'ouverture et de la fermeture de celle-ci ainsi que par le chirurgien lors de la réalisation du prélèvement. Ces hypothèses

(contaminations manu- et aéroportées) pourraient expliquer la contamination des prélèvements par des germes non isolés sur les mains avant lavage.

Aucune corrélation ne semble possible entre le degré de contamination des mains avant lavage (quelques colonies à polycontamination) et la stérilité du prélèvement après lavage. Tous les cas de figure ont été rencontrés au cours de l'étude : des prélèvements polycontaminés avant lavage étaient stériles après lavage, d'autres peu contaminés le sont restés après lavage. Si à court terme, les résultats ont été améliorés, ceux à long terme sont restés insatisfaisants. En effet, avant les modifications, les prélèvements réalisés à la fin des interventions étaient tous contaminés ; après les modifications, ils n'étaient plus que 5 sur 6... C'est mieux mais loin d'être acceptable.

Enfin, la dernière hypothèse a été la technique de lavage des mains elle-même. En effet, des lavages d'une minute sont courts : en 1 minute, rien n'assure que la totalité des mains et avant-bras soit correctement savonnée. La taille du chirurgien peut être une variable importante à prendre en considération. Le protocole suivait les recommandations d'utilisation du produit : le chronomètre était mis en route au début du lavage pour 1 minute et non lorsque la totalité des mains et des avant-bras étaient recouverts de savon. Le problème est que le temps de contact ne pouvait atteindre 1 minute sur la totalité de la surface à laver. Or, lors du lavage, si l'effet mécanique est important, il en est de même pour le temps de contact entre le savon et la peau. Dans sa pratique courante, le vétérinaire recherche un produit efficace qui lui permette d'obtenir les effets recherchés le plus rapidement possible. Les consignes doivent alors être précises et sûres. Ainsi, pour améliorer les résultats, un troisième lavage d'une minute supplémentaire a été décidé pour débuter la série 2.

La réduction significative des contaminations suite à la mise en place des nouvelles mesures d'hygiène et l'augmentation du temps de lavage des mains par la réalisation d'un lavage d'une minute supplémentaire tend à démontrer l'importance des contaminations externes et de la durée des lavages. Seulement 8,3% des prélèvements immédiatement après lavage étaient contaminés dans la seconde série. C'est une amélioration considérable mais les résultats ne sont toujours pas parfaits. Immédiatement après lavage, les prélèvements auraient dû tous être stériles, d'autant que tous les chirurgiens qui ont participés à l'étude étaient des personnes expérimentées. Les erreurs techniques sont donc plus rares et devraient être compensées par le protocole de lavage. Dans le cas contraire, il faut changer de produit ou adapter le protocole. C'est d'autant plus important que, dans une Ecole Vétérinaire, nous travaillons avec des étudiants en phase d'apprentissage, sujets aux erreurs techniques. Le

protocole doit donc être irréprochable afin de limiter les risques d'erreurs et de contamination. L'apprentissage des bonnes pratiques associé à la réalisation d'un protocole simple et efficace garantissent l'efficacité du lavage des mains.

La seconde qualité du savon évaluée par notre étude a été sa rémanence. Pour cela, il faut s'intéresser aux résultats des prélèvements intermédiaires et finaux. En fin d'intervention, 90% des prélèvements étaient contaminés dans la première série contre seulement 17% dans la seconde. Exceptée une intervention de 300 minutes, les durées d'intervention ont été similaires. En revanche, les interventions de la première série ont été plus septiques que celles de la seconde série. Deux hypothèses ont donc pu être émises : cette réduction de la contamination pouvait être liée au nouveau protocole de lavage des mains ou au caractère moins septique des interventions.

Plusieurs hypothèses ont été rapportées dans la littérature pour expliquer ces contaminations per-opératoires. Les contaminations aéroportées et manuportées restent possibles. Outre les mesures prises, le contrôle de ces contaminations passerait également par des mesures plus lourdes et plus coûteuses soit l'installation d'une ventilation en surpression qui filtre l'air entrant et sortant. La plus faible contamination des prélèvements de la série 2 peut d'ailleurs s'expliquer en partie par ce phénomène. En effet, 5 interventions sur 6 ont été réalisées dans un bloc chirurgical équipé d'une ventilation en surpression.

La porosité des gants pourrait entraîner une contamination des mains à partir du site opératoire. Au cours de notre étude, 5 prélèvements réalisés au sein du site chirurgical ont permis d'isoler des germes (4 dans la série 1 et 1 dans la série 2). Les prélèvements des chirurgiens correspondant étaient soit stériles (série 2 et 1 de la série 1), soit contaminés. Aucun des germes isolés sur les mains en fin d'intervention n'a été identique à ceux isolés sur les écouvillons. Il n'y a donc pas eu de contamination des mains par le site chirurgical au travers des gants ou lors du changement de gants. Dans le cas contraire, la rémanence du produit n'a pas permis aux germes de se développer. Quoi qu'il en soit, si un germe a pu franchir les gants dans un sens, il aurait pu le faire également dans l'autre sens. Or, les bactéries isolées sur les écouvillons n'étaient majoritairement pas des bactéries de la flore résidente. Le plus souvent, c'étaient des bactéries dont la présence pouvait être expliquée soit par l'affection du patient (par exemple *E. coli* dans le cadre d'une péritonite septique) soit par le site opératoire (par exemple *Proteus spp.* et entérocoques lors d'exérèse de glandes anales). D'après les prélèvements des mains des chirurgiens correspondants, aucune de ces contaminations

in situ ne trouve son origine dans une contamination de chirurgien à patient et inversement

Les contaminations per-opératoires peuvent également provenir de la recolonisation de la surface cutanée des mains par les bactéries composant la flore des bras. Un argument important en faveur de cette hypothèse est la présence de bactéries de la flore résidente sur la totalité des prélèvements après lavage, à l'exception d'un seul qui ne peut être issu que d'une contamination (Enterococcus spp.). Ce phénomène semble être ralenti en fonction du temps de lavage des mains. Le temps de lavage de la série 1 semble être trop court pour empêcher cette recolonisation. Il est donc possible que la rémanence du savon soit influencée par le temps de contact entre la peau et le principe actif. Le petit nombre de données ne nous permet pas de conclure de manière définitive à ce sujet. Néanmoins, plus l'intervalle entre la fin du lavage des mains et le retrait des gants est grand, plus le risque de recontamination des mains est important. L'étude de Tanneur avait présenté un prélèvement stérile 4h après lavage des mains : la rémanence du produit était encore effective [1]. Ce n'est pourtant pas ce que nous avons observé dans ce travail : tous les prélèvements, à l'exclusion d'un, étaient contaminés en fin d'intervention dans la série 1 même si ce dernier restait inférieur à 4h. Les premières contaminations ont été mises en évidence dès 1 heure. La contamination par le site chirurgical ayant été exclue, la recontamination par les germes des bras est la plus probable. Elle remet donc en question la rémanence du produit. Néanmoins, la série 2 montre des résultats plus encourageants puisque 10 prélèvements sur 12 ont été stériles, y compris à 5 heures (300 minutes) après lavage. La rémanence serait donc bien proportionnelle au temps de contact entre le savon et la peau. Ainsi, l'augmentation du nombre de lavages et donc du temps de contact savon - peau améliore l'efficacité immédiate et à long terme du savon. Il reste que la série 2 n'a pas permis d'obtenir la totalité des prélèvements stériles réalisés après lavage.

Dans les 2 séries, certaines observations ont été surprenantes :

- certains prélèvements contaminés sont devenus stériles soit entre le lavage et le changement de gants (chirurgiens 3 et C), soit entre le changement de gants et la fin de l'intervention (chirurgien B) ;
- chez certains sujets, le nombre de colonies isolées n'a pas augmenté au cours de l'intervention chirurgicale (chirurgiens 2 et 6).

Le passage à la stérilité entre le prélèvement réalisé immédiatement après lavage et le changement de gants pourrait être expliqué par l'effet rémanent de la chlorhexidine. Cet effet est très positif car il permet d'assurer une efficacité plus importante du produit qui agit à court terme en éliminant les germes mais aussi à long terme en évitant la recontamination par les germes situés à proximité (bras) et en éliminant les germes encore présents (lavage imparfait) ou bien issus d'une contamination externe tel qu'un changement de gants par exemple. Néanmoins, dans le cas du chirurgien 3, il faut également évoquer une autre possibilité : ces prélèvements ont été réalisés simultanément à ceux du chirurgien 4 au cours de la même intervention. Ainsi, les prélèvements au changement de gants de ces chirurgiens auraient pu être intervertis suite à une erreur d'identification du prélèvement ou lors du traitement des différents échantillons. Si cette hypothèse est vérifiée, alors la seule observation qui pourrait encore être surprenante est qu'entre le changement de gants et la fin de l'intervention, les 2 colonies de S. epidermidis disparaissent au profit d'une colonie de S. hominis, phénomène observé dans plusieurs cas. La mise en évidence de germes en cours d'étude déjà présents sur les mains avant lavage peut s'expliquer par une recontamination à partir des bras. Si le germe identifié est différent, l'hypothèse de la contamination est la plus probable. Enfin, si le germe est de la même espèce mais d'un genre différent, alors deux hypothèses sont possibles :

- l'un est issu de la contamination,
- l'identification du genre n'est pas bonne. Cette identification est réalisée à l'aide d'une galerie API reposant sur la mise en évidence de 17 sucres. La combinaison de ces 17 réponses (changement de couleur au sein de la cupule) permet d'identifier un genre. Néanmoins, certains genres ne diffèrent que par un seul sucre ce qui peut conduire à des confusions lorsque le changement de couleur est douteux.

Quoi qu'il en soit, dans notre étude, l'identification de l'espèce aurait suffit car la connaissance du genre ne permettait pas d'apporter des informations indispensables. Ainsi, la variation du genre peut vraisemblablement s'expliquer soit par une contamination si le germe était absent lavage des mains, soit par une erreur d'identification.

Dans les cas où la charge bactérienne n'a pas évolué, le phénomène peut également être expliqué par la rémanence du produit, mais pourquoi ne pas avoir obtenu la stérilité comme dans les cas précédents ? Ces prélèvements ont été obtenus dans la série 1. Le temps de lavage (2 x 1 minute) a vraisemblablement été insuffisant pour assurer une rémanence du produit permettant l'élimination des colonies bactériennes présentes mais suffisante pour empêcher leur multiplication. Cette observation est plutôt

positive car elle démontre que le produit apporte une certaine sécurité même si le protocole n'est pas parfaitement respecté.

Un dernier point à discuter est la tolérance de ce savon Rivadouce[®]. Deux participants ont présenté des réactions d'intolérance. La chlorhexidine est connue pour provoquer des réactions allergiques. Les autres chirurgiens n'ont présenté aucune intolérance ni lésion sur les mains. Cette observation mériterait d'être étudiée plus sérieusement en suivant pendant 1 ou 2 semaines des chirurgiens qui se lavent les mains plusieurs fois par jour afin de mieux connaître les effets du savon lors d'usages intensifs et répétés.

III CONCLUSION

Cette étude nous a permis de noter une meilleure efficacité immédiate et durable du protocole de la série 2. Il convient de souligner que la répartition aléatoire des interventions entre les deux protocoles a entraîné une différence importante en terme de risques septiques entre les deux séries. Néanmoins, l'augmentation du temps de contact entre le produit et la peau a permis d'améliorer notablement les résultats à court terme (stérilité des prélèvement immédiatement après lavage) ainsi qu'à long terme (augmentation du nombre de prélèvements stériles en fin d'intervention).

Cette étude pourrait être poursuivie par d'autres études en conditions chirurgicales en évaluant différents temps de lavages afin de déterminer une durée optimale permettant d'obtenir une concentration optimale en principe actif sur la surface cutanée se traduisant par une stérilité systématique des prélèvements immédiatement après lavage mais également en fin d'intervention. Si l'objectif est de limiter le nombre de lavages, le protocole pourrait être complété par une friction finale à l'aide d'une solution hydro-alcoolique afin de renforcer à court terme les effets antiseptiques du savon. Néanmoins, ces produits sont connus pour leur absence de rémanence. Il faudrait également s'assurer qu'ils n'altèrent pas les capacités de rémanence de la chlorhexidine.

Il est important d'envisager d'autres protocoles expérimentaux qui permettraient d'évaluer l'efficacité sur les bactéries anaérobies telles que *Propionibacterium spp*.

De plus, pour observer un éventuel effet opérateur, il faudrait multiplier les manipulations sur différents chirurgiens et étudier lesquels sont les plus sujets à la recontamination en fonction des caractéristiques de la peau. En effet, certaines caractéristiques de la peau, propres à chacun telles que le pH, la transpiration, peuvent influencer l'efficacité du savon, notamment sur le long terme.

Les réactions d'intolérance mériteraient une étude spécifique de toxicité, aiguë et chronique sur un grand nombre d'individus, afin de connaître mieux le risque *a priori*. Notre étude comportait un trop faible effectif pour tirer des conclusions définitives et pour observer les effets sur tous les types de peaux.

Enfin, pour envisager une utilisation la plus large possible de ce savon, il faudrait également le tester sur la peau des animaux pour réaliser la désinfection chirurgicale pré-opératoire du site d'intervention.

En conclusion, ce savon désinfectant Rivadouce® permet de respecter les critères de la définition de la désinfection chirurgicale, en effectuant trois lavages d'une durée d'une minute. Ainsi, l'association des principes actifs avec des agents surgraissants ne semble pas altérer l'effet bactéricide de la chlorhexidine et des ammoniums quaternaires. En effet, cette association permet d'éliminer la flore cutanée transitoire et de réduire très fortement la flore cutanée résidente et ceci pendant des durées allant jusqu'à plus de 4 heures, durée suffisante pour pratiquer la plupart des interventions chirurgicales courantes. Néanmoins, cette étude nous a encore démontré qu'il convenait de rester extrêmement vigilant lors du lavage des mains afin de limiter les erreurs techniques y compris chez les personnes expérimentées.



Direction de l'Enseignement et de la Vie Universitaire

AGREMENT ADMINISTRATIF

Je soussigné, A. MILON, Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, certifie que

Melle MASSON Aurore, Véronique

a été admis(e) sur concours en : 2002

a obtenu son certificat de fin de scolarité le : 14 Juin 2007 n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

Je soussignée, Patricia MEYNAUD-COLLARD, Maître de Conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, autorise la soutenance de la thèse de :

Melle MASSON Aurore, Véronique

intitulée:

Evaluation per-opératoire de l'efficacité d'un savon antiseptique à base de chlorhexidine sur la désinfection des mains

Le Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse Docteur Patricia MEYNAUD-COLLARD Vu : Le Directeur

de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Professeur Alain MILON

Vu:

Le Président de la thèse :

Professeur Paul BONNEVIALLE

Vu le: 5 - JUIL. 2007

Le Président

de l'Université Paul Sabatier

Professeur Jean-François SAUTEREAU



IV BIBLIOGRAPHIE

- 1- TANNEUR M.L., Etude de l'efficacité in vivo d'un savon à base de chlorhexidine. Thèse de doctorat vétérinaire, Toulouse, France, 2006.
- 2- JAMAL A., WILKINSON S., Department of Surgery, University of Tasmania, Hobart, Tasmania, Australia. The mechanical and microbiological integrity of surgical gloves. ANZ J Surg. 2003 Mar;73(3):140-3.
- 3- HENTZ R.V., TRAINA G.C., CADOSSI R., ZUCCHINI P., MUGLIA M.A., GIORDANI M. The protective efficacy of surgical latex gloves against the risk of skin contamination: how well are the operators protected? J Mater Sci Mater Med. 2000 Dec;11(12):825-32
- 4- JOHANET H., CHOSIDOW D., MARMUSE J.P., BENHAMOU G. Perforations and porosity of surgical gloves. Frequency, mechanism, risk. Ann Chir. 1996;50(4):352-5
- 5- C.CLIN PARIS-NORD. Recommandations de bonnes pratiques d'utilisation des antiseptiques et des désinfectants en milieu hospitalier [en ligne]. Paris, France. Mai 2000. (page consultée le 21/05/07).

Adresse URL: http://umvf.cochin.univ-paris5.fr/article.php3?id article=338

6- Banque de Donnée Automatisée sur les Médicaments (BIAM). Chlorhexidine gluconate. [en ligne].France.1192.2001. (page consultée le 20/04/07).

Adresse URL: http://www2.biam2.org/www1/Sub860.html

7- MIMOZ.O, CLEVENOT.D. Texte des experts: antisepsie cutanée, gestion des pansements et de la ligne veineuse, actualisation de la 12e conférence de consensus en réanimation et médecine d'urgence (Paris 94)[en ligne].Poitiers, France,2002. (page consultée le 12/04/07).

Adresse URL: http://www. srlf.org/actualisation/reactualisation-12-conf/Omimozinfkt.htm

8- HAXHE J.J, ZUMOFEN.H. Notion d'hygiène hospitalière [en ligne]. Faculté de médecine, Université catholique de Louvain, UCI Bruxelles, 2003. (page consultée le 21/05/07).

Adresse URL: http://www.md.ucl.ac.be/didac/hosp/cours/HHo.htm#top

9- Dr Ally ABBARA. Ecologie microbienne de la peau, la flore cutanée et ses caractéristiques [en ligne].France.2004. (page consultée le 21/05/07).

Adresse URL: http://www.aly-abbara.com/livre_gyn_obs/termes/hygiène/flore_transitoire
_résidente_peau_mains.html

10- HAXHE J.J, ZUMOFEN.H. Hygiène des mains [en ligne]. Faculté de médecine, Université catholique de Louvain, UCI Bruxelles, octobre 2000 (page consultée le 20 Mai 2005).

Adresse URL: http://www.md.ucl.ac.be/didac/hosp/cours/mains.htm

11- GROSSET Jacques. Hygiène hospitalière [en ligne]. Tours, France. Faculté de médecine de Tours, juin 2004 (page consultée le 12/04/07).

Adresse URL: http://www.med.univ-tours.fr:enseign/santepub/doc-ped/prevention/prevention-IN/lavage-mains.htm

12- CHUPS – Bactériologie – DCEM 1 [en ligne]. Paris, France. Faculté de médecine de la Pitié-Salpétrière (page consultée le 08/06/07)

Adresse URL: http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/POLY.TDM.html

- 13- CARRELET.T, POSPISIL.F. Objectif mains; Guide technique pour l'hygiène et la protection des mains. Publications C.CLIN SUD-Est, Tabloid Communication ,Paris, 2001; 49-52.
- 14- NEWSOM SWB, Ignaz Philipp Semmelweiss Journal of Infection Control 1993, 23 ; 175-187
- 15- L. PASTEUR, compte-rendu de l'académie des sciences. Séance du 28 Avril 1878
- 16- PRICE, The bacteriology of normal skin Journal of infections Diseases 1936, 63; 301-318

- 17- J.B. HANN. The source of the résident flora. The Hands 1973, 5; 247-252
- 18- K.J. MCGINLEY, Composition and density of microflora in the subungual space of the hand. Journal of clinical Microbiology 1988, 26, 950-953
- 19- HORN, Infection control and hospital Epidemiology 1988, 9; 189-193
- 20- E. LARSON A causual link between handwashing and risk of infection?

 Examination of the evidence. Infection control and Hospital Epidemiology 1988, 9; 2836
- 21- B.N. DOEBBELING, The New England Journal of Medicine 1992 327; 88-93
- 22- D. GOULD, Nurses' hands as vector of hospital acquired infection: a review. Journal of Advanced Nursing 1991, 16; 1216-1225
- 23- Agence de santé publique du Canada, Utilisation de l'alcool pour l'hygiène des mains : de nouvelles études comparatives s'ajoutent aux données existantes [en ligne], 01/01/03, page consultée le 08/06/07.

Adresse URL: http://www.phac-aspc.gc.ca/publicat/ccdr-rmtc/03vol29/rm2901fb.html

24- EUZEBY J.P., Dictionnaire de bactériologie vétérinaire : flores normales et pathologiques du chien et du chat [en ligne]. Toulouse, France. 27 décembre 2002. Page consultée le 08/06/07.

Adresse URL: http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/

25- Dr Ally ABBARA. Les antiseptiques [en ligne]. France. 2004. (page consultée le 08/06/07).

Adresse URL: http://www.aly-abbara.com/livre_gyn_obs/termes/hygiène/antiseptiques_classification_caracteristiques.html

26- B. LEJEUNE, M. ROTHAN-TONDEUR, Le lavage et l'antiseptie des mains.

Laboratoire de microbiologie et de Santé Publique. CHU de Brest et Unité d'hygiène Hospitalière. Groupe hospitalier Charles Foix - Jean Rostand AP-HP. 25/04/07. (Page consultée le 08/06/07).

Adresse URL: http://www.sffpc.org/index.php?pg=connaiss hygiene1

27- Dr Ally ABBARA. Comparaison des différentes techniques d'hygiène des mains [en ligne]. France. 2004. (page consultée le 25/05/07).

Adresse URL: http://www.aly-abbara.com/livre_gyn_obs/termes/hygiène/hygiène_mains
_antiseptiques_caractéristiques.html

- 28- N.K.R. Kelsall, R.K.L. Griggs, K.E. Bowker et G.C. Bannister, Should finger rings be removed prior to scrubbing for theatre? J Hosp Infect 2006 April 62 (4) 450 2.
- 29- Didier Pittet, Andreas Widmer. "Hygiène des mains : nouvelles recommandations". Swiss -NOSO Infections nosocomiales et hygiène hospitalière : aspects actuels. Volume 8 N° 4 ; Bulletin de décembre 2001.
- 30- Fiche de présentation du savon désinfectant Rivadouce® remise aux vétérinaires par le laboratoire Axience (2004).
- 31- Laboratoire Rivadis. Notice d'instruction, Dossier pharmacien : savon désinfectant Rivadouce ®, lavage hygiénique des main et douche préopératoire. Janvier 2003.
- 32- BELLOIN. J-C. L'hygiène dans l'industrie alimentaire, les produits et application de l'hygiène. Les désinfectants: les agents oxydants non halogènes [en ligne]. Food and Agriculture Organization of the United Nations (page consultée le 25 Mai 2005)
 Adresse URL: http://www.fao.org/DOCREP/004/T0587F/T0587F05.htm
- 33- CLEVENOT D, ROBERT.S, DEBAENE.B, MIMOZ.O. Analyse critique de la littérature sur l'utilisation comparée de deux antiseptiques lors du cathétérisme vasculaire ou rachidien.

Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation 22 (2003) 787-797.

- 34- MARCHETTI. MG, KAMPF. G, FINZI. G, SALVATORELLI. G. Evaluation of the bactericidal effect of five products for surgical hand disinfection according to prEN 12054 and prEN 12791. Journal of Hospital Infection. Novembre 2003, 55(33):238.
- 35- GIROU. E, LOYEAU. S. Efficacy of handrubbing with alcohol based solution versus standard handwashing with antiseptic soap: randomised clinical trial. British Medical Journal. Aout 2002. 325-362.

- 36- MULBERY. G, SNYDER. AT, HEILMAN. J, PYRECK. J.Evaluation of a waterless scrubless chlorhexidine gluconate / ethanol surgical scrub for antimicrobial efficacy. American Journal of Infection Control. Decembre 2001. 29: 377-382.
- 37- HERRUZO-CABRERA. R, VIZCAINO-ALCAIDE. MJ, FDEZ-ACINORO.MJ. Usefullness of an alcohol solution of N-Duopropenide for the surgical antisepsis of hands compared with handwashing with iodine-povidonr and chlorhexidine: clinical essay. Journal of Surgery Research. Novembre 2000. 94: 6-12

V ANNEXES

ANNEXE 1 : Exemples de Normes AFNOR et EN applicables aux antiseptiques et désinfectants miscibles à l'eau [1] :

Norme	Activité	Souches testées	Exigences d'activité	Remarques
NF T 72-150 NF T 72-151 (annulées en oct.1997) remplacées par NF T 72-152 (NF EN 1040) (publiée en avril	Bactéricidie	Staphylococcus aureus Enterococcus hirae Pseudomonas aeruginosa Escherichia coli Mycobacterium smegmatis	réduction de la population bactérienne de 5 log en 5 minutes	Certains produits n'ont qu'une activité spectre 4 pas d'activité sur M. smegmatis
1997)	Bactéricidie	Staphylococcus aureus Pseudomonas aeruginosa	5 log en 1 ou 5 ou 10 ou 15 ou 30 ou 45 ou 60 minutes	
NF T 72-170 NF T 72-171	Bactéricidie (en présence de substances interférentes)	5 souches bactériennes (NFT 72-150/1)	5 log en 5 minutes	substances interférentes : eau dure et/ ou protéines
NF T 72-190 (Méthode porte- germes)	Bactéricidie Fongicidie Sporicidie	5 souches bactériennes (NFT 72-150/1), 4 souches fongiques (NFT 72-200/1) 3 souches bactériennes sporulées (NFT 72-230/1)	5 log 4 log 3 log (temps non précisés)	
NF T 72-180 NF T 72-181	Virucidie Virucidie	Poxvirus, Poliovirus, Adenovirus Bactériophages	Réduction de 4 log en 15, 30 ou 60 minutes	NF T 72-181 : pas d'application dans ledomaine médical
NF T72-200 NF T72-201 (annulées en déc.1997) remplacées par NF T 72-202 (NF EN 1275) (publiée en juin 1997)	Fongicidie	Candida albicans Absidia corymbifera Penicillium verrucosum Cladosporium cladosporoides Candida albicans Aspergillus niger	Réduction de 4 log en 15 minutes Réduction de 4 log en 5 ou 15 ou 30 ou 60 minutes	Action délicate à évaluer sur les moisissures
NF T 72-230 NF T 72 231	Sporicidie	Bacillus subtilis var niger Bacillus cereus Clostridium sporogenes	réduction de 5 log en 60 min à 20°C ou 5 min à 75° C	
NF EN 1499 T 72-501	Lavage hygiénique des mains	Escherichia coli	activité supérieure ou égale à celle du produit de référence temps de contact 30 ou 60 secondes	Nouveau concept normes européennes phase2-étape 2
NF EN 1500 T 72-502	Friction hygiénique des mains	Escherichia coli		
XP T 72-300 XP T 72-301	Bactéricidie Fongicidie Sporicidie	Souches des normes ci- dessus ou autres souches à préciser	5 log 4 log 3 log	Température, temps de contact, substances interférentes et souches au choix du fabricant ou de l'utilisateur, à préciser

Les normes en gras correspondent aux normes appliquées au savon testé dans cette étude

ANNEXE 2: Composition de la flore résidente [8,16]:

Genre	Espèces	Localisation	Densité
Staphylococcus	S. epidermidis	Tous les territoires cutanés, mais surtout sur la face, les narines, les creux axillaires	- Zones humides : 10 ³ à 10 ⁶ UFC/cm ²
	S. haemolyticus	Les zones humides : - bras - jambes - espaces interdigitaux	- Zones sèches : 10 à 10 ³ UFC/cm ² C
	S. hominis	Les creux axillaires, les plis inguinaux, le périnée	
	S. aureus	Chez 19 à 40 % de la population au niveau des narines, des creux axillaires et les plis inguinaux	
	S. haemolyticus S. hominis S. simulans S. epidermidis	Espèces principales au niveau des mains.	4 à 7 log ₁₀ /cm ²
	S. haemolyticus	Prédominent, avec les Corynebacterium dans les espaces interdigitaux.	
Corynebacterium	C. lipophiles	Abondantes au niveau : - des narine - espaces interdigitaux - le périnée	
	C. jeikeium	Colonise: - les mains du personnel hospitalier: jusqu'à 18 % - la peau du sujet sain: 11 à 36 % - la peau des malades non immunodéprimés: 13 à 79 % - la peau des malades immunodéprimés: 40 à 82 %	
	C. urealyticum	Portage cutané fréquent en milieu hospitalier	
	C. jeikeium C. urealyticum C. lipophiles C. urealyticum C. minutissimum	Espèces principales au niveau des mains. Avec les <i>S. haemolyticus</i> , ils prédominent dans les espaces interdigitaux des mains.	
Propionibactérium	P. acnes	Il apparaît à la puberté au niveau : - des zones riches en acides gras libres : cuir chevelu, ailes du nez, face - sur les muqueuses - il colonise le canal du follicule pilo-sébacé en superficie	
	P. granulosum P. avidum		
Autres genres	Micrococcus lutéus Micrococcus varians		
	Streptococcus Groupes A, B, C Brevibacterium	Au niveau des espaces interdigités	
	Malassezia	En zones cutanées lipidiques	-

ANNEXE 3 : Résultats bactériologiques de la 1ère intervention chirurgicale

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE LIBERTE-EGALITE-FRATERNITE



LABORATOIRE VÉTÉRINAIRE DÉPARTEMENTAL

RAPPORT D'ANALYSES

 N° de dossier : 07 - 160

N° DIPLABO : 070208002152

Nom ou raison sociale : Société AXIENCE – Dr FLAUS

Prénom:

Adresse: Tour ESSOR – 14, rue SCANDICCI 93500 PANTIN

Téléphone: 01 41 83 23 12

N° de cheptel :

Vétérinaire prescripteur : Dr MEYNAUD

Adresse: ENVT – Service de chirurgie

Recherche effectuée : Flore manuelle sur 3 prélèvements.

Flore sur distributeur de savon. Ecouvillon de plaie de laparotomie.

Echantillon	Culture - numération	Identification
1 avant lavage	21 colonies	Bacillus
		Corynebactérie
2 après lavage T0	1 colonie	Staph. capitis
3 fin de chir.	1 colonie	Staph. epidermidis
4 savon	0 colonie	
5 écouvillon	0 colonie	

LA DIRECTRICE DU LABORATOIRE

ANNEXE 4 : Résultats bactériologiques de la 2ème intervention chirurgicale

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE LIBERTE-EGALITE-FRATERNITE



LABORATOIRE VÉTÉRINAIRE DÉPARTEMENTAL

RAPPORT D'ANALYSES

 N° de dossier : 07 - 168

N° DIPLABO : 070208002178

Nom ou raison sociale : Société AXIENCE – Dr FLAUS

Prénom:

Adresse: Tour ESSOR – 14, rue SCANDICCI 93500 PANTIN

Téléphone: 01 41 83 23 12

N° de cheptel :

Vétérinaire prescripteur : Dr MEYNAUD

Adresse: ENVT – Service de chirurgie

Recherche effectuée : Flore manuelle sur 4 prélèvements.

Ecouvillon de plaie de cystotomie

Echantillon	Culture - numération	Identification
1 avant lavage	51 colonies	Staph.epidermidis
		Bacillus
2 après lavage T0	0 colonie	
3 chgt de gants	4 colonies	Staph.epidermidis
4 fin de chir.	4 colonies	Staph.epidermidis
5 écouvillon		Klebsiella oxytoca

LA DIRECTRICE DU LABORATOIRE

ANNEXE 5 : Résultats bactériologiques de la 3ème intervention chirurgicale

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE LIBERTE-EGALITE-FRATERNITE



RAPPORT D'ANALYSES

 N° de dossier : 07 - 169

N° DIPLABO : 070208002180

Nom ou raison sociale : Société AXIENCE – Dr FLAUS

Prénom:

Adresse: Tour ESSOR – 14, rue SCANDICCI 93500 PANTIN

Téléphone: 01 41 83 23 12

N° de cheptel :

Vétérinaire prescripteur : Dr MEYNAUD

Adresse: ENVT – Service de chirurgie

Recherche effectuée : Flore manuelle sur 3 prélèvements.

Ecouvillon de plaie de péritonite septique.

Echantillon	Culture - numération	Identification
1 avant lavage	polycontaminé	Acinetobacter baumanii
1' avant lavage	polycontaminé	Acinetobacter baumanii
2 après lavage T0	2 colonies	Staph. epidermidis
2' après lavage T0	0 colonie	
3 gants	0 colonie	
3' gants	2 colonies	Staph. epidermidis
4 fin de chirurgie	1 colonie	Staph. hominis
4'fin de chirurgie	1 colonie	Enterococcus faecium
5 écouvillon		E. coli

LA DIRECTRICE DU LABORATOIRE

ANNEXE 6 : Résultats bactériologiques de la 4ème intervention chirurgicale

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE LIBERTE-EGALITE-FRATERNITE



LABORATOIRE VÉTÉRINAIRE DÉPARTEMENTAL

RAPPORT D'ANALYSES

 N° de dossier : 07 - 245

N° DIPLABO : 070221002951

Nom ou raison sociale : Société AXIENCE – Dr FLAUS

Prénom:

Adresse: Tour ESSOR – 14, rue SCANDICCI 93500 PANTIN

Téléphone: 01 41 83 23 12

N° de cheptel :

Vétérinaire prescripteur : Dr MEYNAUD

Adresse: ENVT – Service de chirurgie

Recherche effectuée : Flore manuelle sur 4 prélèvements.

Ecouvillon de plaie de cystotomie.

Echantillon Culture - numération		Identification
1 avant lavage	60 colonies	Entero. Faecium
		coryne
2 après lavage T0	0 colonie	
3 chgt de gants	0 colonie	
4 fin de chirurgie	0 colonie	
5 écouvillon	1 sorte de colonie	Serratia marcescens

LA DIRECTRICE DU LABORATOIRE

ANNEXE 7 : Résultats bactériologiques de la 5ème intervention chirurgicale

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE LIBERTE-EGALITE-FRATERNITE



LABORATOIRE VÉTÉRINAIRE DÉPARTEMENTAL

RAPPORT D'ANALYSES

 N° de dossier : 07 - 244

N° DIPLABO : 070221002949

Nom ou raison sociale : Société AXIENCE – Dr FLAUS

Prénom:

Adresse: Tour ESSOR – 14, rue SCANDICCI 93500 PANTIN

Téléphone: 01 41 83 23 12

N° de cheptel :

Vétérinaire prescripteur : Dr MEYNAUD

Adresse : ENVT – Service de chirurgie

Recherche effectuée : Flore manuelle sur 3 prélèvements.

Ecouvillon de chirurgie du voile du palais.

Echantillon	Culture - numération	Identification
1 avant lavage	30 colonies	Staph. epidermidis
		coryne
2 après lavage T0	0 colonie	
3 fin de chirurgie	10 colonies	Staph. epidermidis
4 écouvillon	0 colonie	

LA DIRECTRICE DU LABORATOIRE

ANNEXE 8 : Résultats bactériologiques de la 6ème intervention chirurgicale

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE LIBERTE-EGALITE-FRATERNITE



LABORATOIRE VÉTÉRINAIRE DÉPARTEMENTAL

RAPPORT D'ANALYSES

 N° de dossier : 07 - 267

N° DIPLABO : 070227003238

Nom ou raison sociale : Société AXIENCE – Dr FLAUS

Prénom:

Adresse: Tour ESSOR – 14, rue SCANDICCI 93500 PANTIN

Téléphone: 01 41 83 23 12

N° de cheptel :

Vétérinaire prescripteur : Dr MEYNAUD

Adresse: ENVT – Service de chirurgie

Recherche effectuée : Flore manuelle sur 3 prélèvements.

Ecouvillon de plaie d'urétrostomie.

Echantillon	Culture - numération	Identification	
1 avant lavage 62 colonies		Staph. epidermidis	
		coryne	
2 après lavage T0	1 colonie	Staph. epidermidis	
3 fin de chirurgie	1 colonie	Staph. epidermidis	
4 écouvillon	0 colonie		

LA DIRECTRICE DU LABORATOIRE

ANNEXE 9 : Résultats bactériologiques de la 7ème intervention chirurgicale RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

LIBERTE-EGALITE-FRATERNITE



RAPPORT D'ANALYSES

 N° de dossier : 07 - 288

N° DIPLABO : 070228003345

Nom ou raison sociale : Société AXIENCE – Dr FLAUS

Prénom:

Adresse: Tour ESSOR – 14, rue SCANDICCI 93500 PANTIN

Téléphone: 01 41 83 23 12

N° de cheptel :

Vétérinaire prescripteur : Dr MEYNAUD

Adresse: ENVT – Service de chirurgie

Recherche effectuée : Flore manuelle sur 6 prélèvements.

Ecouvillon 1 de poumon (pyothorax). Ecouvillon 2 de plèvre (pyothorax).

Echantillon	Culture - numération	Identification
1 avant lavage	>100 colonies	Staph. saprophyticus
		Coryne, bacillus.
1' avant lavage	32 colonies	Staph. saprophyticus
		Coryne, bacillus.
2 après lavage T0	0 colonie	
2' après lavage T0	0 colonie	
3 fin de chirurgie	2 colonies	Staph. saprophyticus
3' fin de chirurgie	3 colonies	Staph. saprophyticus
4 écouvillon 1	0 colonie	
4 écouvillon 2	0 colonie	

LA DIRECTRICE DU LABORATOIRE Viviane TKACZUK-MOQUAY

ANNEXE 10 : Résultats bactériologiques de la 8ème intervention chirurgicale

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE LIBERTE-EGALITE-FRATERNITE



LABORATOIRE VÉTÉRINAIRE DÉPARTEMENTAL

RAPPORT D'ANALYSES

N° de dossier : 07 - 296

N° DIPLABO: 070302003499

Nom ou raison sociale : Société AXIENCE – Dr FLAUS

Prénom:

Adresse: Tour ESSOR – 14, rue SCANDICCI 93500 PANTIN

Téléphone: 01 41 83 23 12

N° de cheptel :

Vétérinaire prescripteur : Dr MEYNAUD

Adresse : ENVT – Service de chirurgie

Recherche effectuée : Flore manuelle sur 3 prélèvements.

Ecouvillon de glandes annales.

Echantillon	Culture - numération	Identification
1 avant lavage	10 colonies	Staph. hominis
		Staph. simulans
2 après lavage T0	0 colonie	
3 fin de chirurgie	4 colonies	Staph. hominis
4 écouvillon	4 colonies	Proteus
		Enterococcus avium

LA DIRECTRICE DU LABORATOIRE

ANNEXE 11 : Résultats bactériologiques des interventions 1 et 2 de la série 2 RAPPORT D'ANALYSES

 N° de dossier : 08 - 575

N° DIPLABO : 080506006967

Nom ou raison sociale : Société AXIENCE – Dr FLAUS

Prénom:

Adresse: Tour ESSOR – 14, rue SCANDICCI 93500 PANTIN

Téléphone: 01 41 83 23 12

N° de cheptel :

Vétérinaire prescripteur : Dr MEYNAUD

Adresse: ENVT – Service de chirurgie

Recherche effectuée : Flore manuelle sur 3 prélèvements.

Ecouvillon de glandes annales.

Prélèvement	Echantillon	Culture - numération	Identification
	DM T0	3 colonies différentes	Staph. capitis
			Staph. Saprophyticus
			Micrococcus spp
	DM T1	1 colonie	Staph. Saprophyticus
	DM T1,5	Négative	
	AA avant lavage	3 colonies différentes	Staph. capitis
Flore manuelle			Staph. Saprophyticus
riore manuene			Micrococcus spp
	AA après lavage	Négative	
	AA fin de chir	Négative	
	II avant lavage	2 colonies différentes	Brevibacterium
			Micrococcus spp
	II après lavage	Négative	
	II fin de chir	Négative	

Prélèvement	Echantillon	Culture - numération	Identification
	AB T0	3 colonies différentes	Bacillus
			Staph. capitis
			Staph. Saprophyticus
	AB T1	Négative	
Flore manuelle	AB T1,5	Négative	
riole manuelle	AB fin	Négative	
	SP T0	1 type de colonie	Staph. capitis
	SP T1	Négative	
	SP T1,5	1 colonie	Staph. hominis
	SP fin	Négative	
Ecouvillon	Embout ortho	Négative	
Ecouvillon	Grasset gauche	Négative	

LA DIRECTRICE DU LABORATOIRE

ANNEXE 12 : Résultats bactériologiques des interventions 3, 4 et 5 de la série 2 RAPPORT D'ANALYSES

 N° de dossier : 08 - 650

N° DIPLABO : 080529008181

Nom ou raison sociale : Société AXIENCE – Dr FLAUS

Prénom:

Adresse: Tour ESSOR – 14, rue SCANDICCI 93500 PANTIN

Téléphone: 01 41 83 23 12

N° de cheptel :

Vétérinaire prescripteur : Dr MEYNAUD

Adresse: ENVT – Service de chirurgie

Recherche effectuée : Flore manuelle sur 6 prélèvements.

5 écouvillons.

Prélèvement	Echantillon	Culture - numération	Identification
	1 To	30 colonies	Corynebactéries
			Staph. epidermidis
			Staph. hominis
	1 T1	Négative	
	1 Tfin	Négative	
	2 To	58 colonies	Corynebactéries
			Staph. epidermidis
Flore manuelle			Staph. hominis
20/05/08			Aerococcus viridans
	2 T1	Négative	
	2 Tfin	Négative	
	1 T'o	35 colonies	Bacillus
			Staph xylosus
			Staph cohnii
	1 T'1	Négative	
	1T'fin	1 colonie	Staph epidermidis

Prélèvement	Echantillon	Culture - numération	Identification
	2 T'o	2 colonies	Corynebacteries
Flore manuelle 20/05/08			Staph epidermidis
	2 T'1	Négative	
	2 T'fin	Négative	
	1 To	>100 colonies	Corynebacteries
			Staph epidermidis
			Staph capere
			Staph xylosus
	1 T1	Négative	
Flore manuelle	1 Tfin	Négative	
21/05/08	2 To	4 colonies	Corynebacteries
			Bacillus
			Staph capere
			Staph xylosus
	2 T1	Négative	
	2 Tfin	Négative	
	Arthroscopie	Négative	
Ecouvillons 20/05/08	Laparotomie	Négative	
	Métacarpe	Négative	
	Métatarse	8 colonies	Staph epidermidis

LA DIRECTRICE DU LABORATOIRE

ANNEXE 13 : Résultats bactériologiques de la 6^{ème} intervention chirurgicale de la série 2

RAPPORT D'ANALYSES

 N° de dossier : 08 - 669

N° DIPLABO: 0805300008216

Nom ou raison sociale : Société AXIENCE – Dr FLAUS

Prénom:

Adresse: Tour ESSOR – 14, rue SCANDICCI 93500 PANTIN

Téléphone: 01 41 83 23 12

N° de cheptel :

Vétérinaire prescripteur : Dr MEYNAUD

Adresse: ENVT – Service de chirurgie

Recherche effectuée : Flore manuelle sur 6 prélèvements.

5 écouvillons.

Prélèvement	Echantillon	Culture - numération Identificati	
	To	nbreuses colonies	Staph. xylosus
Flore manuelle			Oershovia spp
26/05/08	T1	Négative	
	Tfin	1 colonie	Brevibacterium spp
Ecouvillons	Arthroscopie	Négative	

LA DIRECTRICE DU LABORATOIRE

Imprimer à TOULOUSE par la S.A.R.L. NOTREL



84, chemin des Capelles • 31300 TOULOUSE notrel.sarl@wanadoo.fr http://www.photocopie-imprimerie-notrel.com